

# 纳米药物非临床药代动力学研究技术 指导原则（试行）

二〇二一年八月

# 目录

一、概述.....	1
二、基本原则.....	1
(一) 基本考虑.....	1
(二) 受试物.....	2
三、载体类纳米药物药代动力学研究.....	2
(一) 体外试验.....	3
1.1 生物样本中的稳定性.....	3
1.2 血浆蛋白吸附.....	3
1.3 蛋白冠研究.....	4
1.4 细胞摄取与转运.....	4
(二) 体内试验.....	4
2.1 吸收.....	5
2.2 分布.....	6
2.3 代谢.....	6
2.4 排泄.....	7
2.5 药物相互作用.....	7
(三) 样品分析.....	7
3.1 分析方法.....	7
3.2 样品处理方法.....	8
3.3 分析方法学验证.....	9
(四) 数据分析及评价.....	9

四、药物纳米粒药代动力学研究.....	10
五、其他需关注的问题 .....	11
(一) 不同给药途径纳米药物的特殊考虑点.....	11
(二) 不同申报情况的考虑 .....	12
六、名词解释 .....	13
七、参考文献.....	13

## 一、概述

本指导原则所述纳米药物系指利用纳米制备技术将原料药等制成的具有纳米尺度的颗粒，或以适当载体材料与原料药结合形成的具有纳米尺度的颗粒等，及其最终制成的药物制剂。与普通药物相比，纳米药物具有基于纳米结构的尺度效应，可以实现多种目标。纳米药物通常分为三类：药物纳米粒、载体类纳米药物和其它类纳米药物。纳米药物的范围、特点及分类信息参见《纳米药物质量控制研究技术指导原则（试行）》。

本指导原则适用于载体类纳米药物和药物纳米粒，不适用于其它类纳米药物。

本指导原则的起草基于当前对纳米药物的科学认知，随着纳米药物科学研究的进展和经验积累，相关内容将不断完善和适时更新。

## 二、基本原则

### （一）基本考虑

药物非临床药代动力学研究相关指导原则的一般原则适用于纳米药物。但与普通药物相比，纳米药物因其特殊的纳米尺度效应和纳米结构效应等理化特性，使其具有特殊的生物学特性，从而导致其药代动力学特征与普通药物可能存在较大差异，如组织分布、蓄积和清除等。此外，

由于纳米药物理化性质的特殊性及其体内可能存在多种形态，对其药代动力学研究方法提出了特殊要求。

因此，本指导原则主要描述了与其它指导原则中非临床药代动力学研究建议不一致的特殊情况。研究者需根据不同纳米药物的特点，科学合理地进行试验设计，并对试验结果进行综合评价，为非临床有效性及安全性评价提供参考，以支持开展相应的临床试验。

## （二）受试物

应采用工艺相对稳定、能充分代表临床拟用样品的受试物开展非临床药代动力学研究。

受试物在贮存、运输、配制和测定过程中，所包含的纳米粒子的性质有可能发生变化（如聚集、泄漏、结构破坏等），从而导致其动力学行为改变，而不能真实反映纳米药物的药代动力学特征。因此，在上述过程中需确保受试物的相关性质不发生明显改变。

基于纳米药物的特殊性，对受试物的其它要求参见《纳米药物非临床安全性研究技术指导原则（试行）》。

## 三、载体类纳米药物药代动力学研究

与普通药物相比，载体类纳米药物具有特殊的纳米尺寸、纳米结构和表面性质等，这可能导致药物的理化性质和生物学行为发生变化，如提高药物的体内外稳定性、改善药物的溶解性、改善药物的释放特性、促进药物的跨膜

转运、改变药物的药代动力学特征、体内分布以及对组织器官或细胞的选择性等。充分了解载体类纳米药物的体内、体外药代动力学信息对其非临床安全性和有效性评价具有重要的意义。

### （一）体外试验

鉴于当前技术手段的局限性，某些体内信息尚无法准确获得，但在体外模拟情况下，可以对某些体内相关行为进行预测性分析。针对载体类纳米药物开展的体外试验包括但不限于以下内容：

#### 1.1 生物样本中的稳定性

在体内试验前，应对载体类纳米药物在合适的动物种属和人的全血或血浆、其它生理体液、生物组织匀浆中的体外稳定性进行研究，观察指标包括载体类纳米药物泄漏或释放情况、载体材料降解、载药纳米粒的分散程度等。

#### 1.2 血浆蛋白吸附

对于具有长循环效应的纳米药物，其体内（尤其是全血或血浆中）的滞留时间是决定纳米药物向单核吞噬细胞系统（**Mononuclear Phagocyte System, MPS**）以外的靶部位定向分布的关键因素之一，而血浆调理素（如免疫球蛋白、补体蛋白等）的吸附及其介导的吞噬作用则是体内长循环时间的最主要限制因素。因此，对于经注射进入体循环或经其它途径给药但最终进入体循环的纳米药物，应在

体外进行血浆蛋白吸附试验，以评价血浆蛋白对纳米药物的调理作用。试验中可选用提纯的蛋白对吸附作用进行定量考察。

### 1.3 蛋白冠研究

在体内环境中，蛋白可能附着于载体类纳米药物表面形成蛋白冠，蛋白冠的形成可能影响纳米药物的血液循环时间、靶向性、生物分布、免疫反应和毒性等。必要时，可考虑采用动物和人血浆在模拟体内条件下对蛋白冠的组成及其变化进行定性和/或定量分析。

### 1.4 细胞摄取与转运

细胞对纳米药物的摄取与转运可能与普通药物存在差异。必要时，在充分考虑纳米药物体内处置过程的基础上，选择适当的细胞系进行细胞摄取以及胞内转运过程和转运机制的研究。

## （二）体内试验

载体类纳米药物进入体内后，存在载药粒子、游离型药物、载体材料及代谢产物等多种形态成分。“载药粒子-游离型药物-载体材料”始终处于一个动态的变化过程中，对其体内相互关系进行全面解析，是载体类纳米药物药代动力学研究的关键。

## 2.1 吸收

载体类纳米药物可能通过静脉、皮下或肌肉等多种给药途径进入机体，给药途径是决定纳米药物吸收的重要因素。如：静脉给药后，纳米药物载药粒子直接进入体循环；经皮下或肌肉途径给药后，载药粒子主要通过淋巴系统吸收（主要为局部淋巴结），然后进入体循环。

普通药物的体内吸收特征主要通过测定体循环中的活性药物浓度来体现。载体类纳米药物与普通药物的区别在于其功能单位“载药粒子”的存在。因此，需要分别测定血液中游离型药物和负载型药物的浓度，另外建议测定血液中载体材料和载药粒子的浓度（以质量计），以进一步获得体内药物释放动力学及载体解聚/降解动力学的相关信息。

采集生物样本时，应合理选择采样时间点和采样持续时间，以充分反映纳米粒子在体内的清除过程。通常认为初始分布相（如静脉注射给药 30 分钟内）的信息对于评估纳米药物从血液循环中的消除过程至关重要，因此应特别关注。

值得注意的是，某些载体类纳米药物静脉注射（如聚乙二醇化载药粒子）可诱导免疫反应。再次注射后，在血液中会被加快消除，甚至丧失长循环特性，并且在肝脾等 MPS 组织的聚集量增加，即“加速血液清除”（Accelerated

Blood Clearance, ABC) 现象。因此, 此类载体类纳米药物在多次给药试验时, 建议考察是否存在 ABC 现象。

## 2.2 分布

纳米药物在组织器官中的分布取决于载药粒子自身的物理化学性质及其表面特性; 同时, 还受到血中蛋白结合、组织器官血液动力学、血管组织形态(如间隙大小)等多种因素的影响。与普通药物不同, 载体类纳米药物在体内始终存在“载药粒子-游离型药物-载体材料”多种形态的动态变化过程。其中载药粒子是药物的运输工具和储库, 靶部位/靶点(如肿瘤组织)中的游离药物是发挥药效的物质基础, 而其它组织中的游离药物、载药粒子、载体材料等则可能是导致毒性/不良反应的物质基础。

因此, 应进行不同组织中总药物分布研究, 如可行, 建议对靶器官和潜在毒性器官中的游离型药物和负载型药物分别进行测定。对于缓慢生物降解或具有明显穿透生理屏障性质的高分子载体材料, 建议进行不同组织中总载体材料的分布研究。同时, 鼓励在不同组织中进行总粒子分布动力学和释药动力学研究。

## 2.3 代谢

载体类纳米药物中的活性药物及其解聚的载体材料在体内主要经肝脏和其它组织中的代谢酶代谢。此外载药粒子易被 MPS 吞噬, 进而被溶酶体降解或代谢, 可能对

药物和载体材料代谢/降解产物的种类和数量产生影响。因此，应确定活性药物和载体材料的主要代谢/降解途径，并对其代谢/降解产物进行分析。

## 2.4 排泄

载体类纳米药物中的活性药物和载体材料可能通过肾小球滤过和肾小管分泌进入尿液而排泄，或通过肝脏以胆汁分泌形式随粪便排泄。载药粒子自身一般不易经过上述途径直接排泄，需解聚成载体材料或载体材料降解后主要经肾脏排泄。因此，应确定给药后活性药物的排泄途径、排泄速率及物质平衡。同时鉴于载体材料的特殊性，建议根据载体材料的具体情况对其开展排泄研究。

## 2.5 药物相互作用

载体类纳米药物进入体内后可能会对代谢酶和转运体产生影响。联合用药时，可能发生基于载药粒子、游离型药物、载体材料与其它药物之间的相互作用，而带来潜在的安全性风险。建议评估载体类纳米药物是否存在对代谢酶及转运体的抑制或诱导作用。

### （三）样品分析

#### 3.1 分析方法

试验时需根据载体类纳米药物的具体情况采用合适并经过验证的分析方法。

活性药物的常用分析方法有：高效液相色谱法（HPLC）、液相色谱-串联质谱法（LC-MS/MS）、荧光标记法、放射标记法、酶联免疫吸附测定法（ELISA）等。

鼓励对载药粒子进行体内检测。可采用荧光、放射性物质等标记载药粒子，采用小动物活体荧光成像仪（IVIS）、单光子发射计算机断层成像术（SPECT）、全身放射自显影等示踪载药粒子，并基于影像信号进行半定量分析。在适用条件下，鼓励采用环境响应探针，如基于聚集导致淬灭（ACQ）、Föster 能量共振转移（FRET）、聚集诱导发光（AIE）效应的近红外荧光探针，标记载药粒子，进行载药粒子的体内定量或半定量分析。

高分子载体材料由于其自身及其体内代谢/降解产物分子量呈多分散性，采用荧光或放射标记的方法可对其进行体内定性和半定量分析，但是需通过试验证明标记物在体内不会脱落或被代谢。随着 LC-MS/MS 法在高分子材料中的广泛应用，可尝试采用 LC-MS/MS 法进行载体材料体内定性与定量分析研究。

### 3.2 样品处理方法

载体类纳米药物在进入体内后，活性药物一般会以游离型与负载型药物的形式存在，在进行药代动力学研究时需要二者进行有效分离。分离生物样本中游离型/负载型药物的常用方法包括平衡透析、超速离心、超滤、固相

萃取、排阻色谱、柱切换色谱等。目前，尚没有适用于所有类型纳米药物的标准处理方法，应基于载药粒子和活性药物的性质来选择合适的方法。

对于体内游离型/负载型药物的测定主要包括直接法与间接法。直接法是分别测定游离型药物和载药粒子中的负载型药物，更能准确体现暴露量；间接法是测定总药物浓度和游离型药物浓度，取二者差值即为负载型药物浓度。为保证测定的准确性，两种方法在样品处理和分离过程中，均需确保载药粒子、游离型药物、解聚材料等不同形态成分的状态不能发生变化。

载药粒子在组织匀浆过程中易被破坏或释放药物，从而可能导致无法准确测定组织中不同形态药物或载体材料的真实浓度，因此，建议选择合适的组织样品预处理与分离方法。

### 3.3 分析方法学验证

建立载体类纳米药物体内分析方法学时，建议校正曲线及质控的生物样本模拟给药后载药粒子、游离型药物、负载型药物、载体材料的体内实际状态进行制备。

分析方法学验证内容参照相关指导原则。

#### （四）数据分析及评价

应有效整合各项试验数据，选择科学合理的数据处理及统计方法。如用计算机处理数据，应注明所用程序的名

称、版本和来源，并对其可靠性进行验证。

对所获取的数据应进行科学和全面的分析与评价，综合评价载体类纳米药物的药代动力学特点，分析药代动力学特点与药物的制剂选择、有效性和安全性的关系，基于体外试验和动物体内试验的结果，推测临床药代动力学可能出现的情况，为药物的整体评价和临床试验提供更多有价值的信息。

普通药物在进入体内达到分布平衡后，一般情况下药物在循环系统中的浓度与在靶组织中的浓度呈正相关，基于血药浓度的传统药代动力学模型，可以间接反映药物在靶组织中的浓度及其药理效应。但是载体类纳米药物在体内一直存在着释药过程，在测定载药粒子、载体材料、负载与游离型药物浓度的基础上，结合纳米药物发挥药效的作用方式，鼓励建立适合于纳米药物的药代动力学模型，以评估载体类纳米药物的药代动力学行为。

#### **四、药物纳米粒药代动力学研究**

药物纳米粒通常采用特定制备方法直接将原料药等加工成纳米尺度的颗粒，然后再制成适用于不同给药途径的剂型。纳米粒子的形成可能明显改变活性药物的溶出特征及其与机体的相互作用，因此其体内药物动力学行为可能发生明显改变。药物纳米粒是由药物自身形成的固态粒子，与载体类纳米药物有一定的相似性，因此其药代动力

学研究可参考载体类纳米药物的研究思路，并根据药物纳米粒的特征进行适当调整。

药物纳米粒的体内过程也可以采用标记法进行研究，但由于药物纳米粒的骨架排列紧致，标记物不易被包埋。药物纳米粒的标记可采用杂化结晶技术，探针的使用应不影响药物纳米粒的基本理化性质和药代动力学行为。

仅以提高表观溶解度和溶解速率为目的的口服药物纳米粒的药代动力学研究可参考非纳米药物的研究思路。

## 五、其他需关注的问题

### （一）不同给药途径纳米药物的特殊考虑点

对于不同给药途径的纳米药物，在进行非临床药代动力学研究时，除了上文所涉及的研究内容外，尚需要关注以下内容：

经皮给药：纳米药物可能具有较高的毛囊渗透性或分布至局部淋巴结处。不同皮肤状态（如完整、破损、患病）可能影响纳米药物透皮的渗透性。因此，在评估经皮给药纳米药物的暴露程度时应考虑相关影响。应注意考察不同状态下纳米药物在给药局部和全身的暴露量差异，并为毒理学试验设计提供暴露量参考信息。

皮下给药：与其它给药途径（如皮肤给药）相比，皮下给药后纳米药物进入角质层下，具有更高的致敏潜力，

也可能增强对其它过敏原的敏感性。需关注不溶性纳米药物在皮下的蓄积和转移。

吸入给药：由于纳米药物可广泛分布于肺泡表面，并透过肺泡进入血液循环，纳米药物的肺部沉积、呼吸组织中的分布以及系统生物利用度可能与比纳米药物更大的粒子不同。应关注不溶性载体类纳米药物在肺内的蓄积及转移。

静脉给药：与普通药物相比，纳米药物静脉给药后其活性成分可能具有不同的组织分布和半衰期，非临床药代动力学研究时应予关注。

口服给药：对于口服药物，制备成纳米药物通常是为了提高药物活性成分的生物利用度。如果口服药物中含有不溶性纳米成分，其非临床药代动力学研究应该评估不溶性纳米成分的组织分布、排泄与蓄积情况。

对于其他特殊给药途径的纳米药物，研究时需采取具体问题具体分析的策略。

## （二）不同申报情况的考虑

对于已上市的药品通过制剂技术改造形成的改良型纳米药物，应考虑改良后可能影响药物的吸收、分布、代谢和排泄。当不涉及新辅料/新载体材料时，在已有非临床药代动力学研究的基础上，应开展纳米药物与普通药物对比的药代动力学研究，包括组织分布研究。对于载体类纳

米药物，还应关注载药粒子的体内释放/解聚的速率及分布。特别是当载药粒子及活性药物的组织分布发生改变时，需要有针对性地分别说明其分布特点与蓄积程度。当涉及新辅料/新载体材料时，还应研究新辅料/新载体材料的药代动力学特征。

对于已上市纳米药物的仿制药，因纳米药物的特殊性，受试制剂与参比制剂处方和工艺的差异可能导致药物体内药代动力学行为发生改变，从而带来有效性和安全性的变化，仅通过药学对比研究往往不足以充分提示受试制剂与参比制剂体内行为的差异。基于上述考虑，在开展人体生物等效性研究或临床试验前，应选择合适的动物种属进行非临床药代动力学对比研究，必要时进行组织分布比较，以充分提示受试制剂与参比制剂在系统暴露和/或在药效/毒性靶器官分布上的一致性。

## 六、名词解释

载药粒子：以载体材料将活性药物包载、分散、非共价或共价结合所形成的纳米尺度整体颗粒。

游离型药物：从载药粒子中释放至粒子外的药物。

负载型药物：存在于载药粒子中未被释放的药物。

## 七、参考文献

[1] CFDA. 药物非临床药代动力学研究技术指导原则. 2014.

[2] NMPA. 化学药品注射剂仿制药（特殊注射剂）质量和疗效一致

性评价技术要求.2020.

[3] NMPA. 药物相互作用技术指导原则（试行）》.2020.

[4] CDER, FDA. Guidance for Industry: Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials(draft). 2017.

[5] CDER, FDA. Guidance for Industry: Liposome Drug Products: Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation. 2018.

[6] CHMP, EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product. 2013.

[7] CHMP, EMA. Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products, 2013.