

药物安全性评价研究中供试品的检测与分析

李耀庭, 梁金强, 黄芝瑛*

中山大学药学院 药物安全性评价中心, 广东 广州 510006

摘要: 供试品的检测与分析是保证药物非临床安全性评价结果可靠性的关键性因素。本文从药物安全性评价中供试品的含量检测方法验证、取样分析、含量准确性分析、稳定性分析、均匀性分析、分析结果和超标准结果的处理、剩余样品的处理等方面进行了讨论, 并提出作者的看法。

关键词: 供试品; 药物非临床研究; 安全性评价; 检测与分析

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2014)06-0541-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.06.016

Detection and analysis of test samples in drug safety evaluation

LI Yao-ting, LIANG Jin-qiang, HUANG Zhi-ying

Center of Safety Evaluation on New Drug, School of Pharmaceutical Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China

Abstract: The detection and analysis of test samples are key factors to ensure the dependability of nonclinical safety evaluation. This paper comprehensively discussed the practices of analysis on the test samples including method validation for formulation, sample, concentration, stability, homogeneity, interpretation of results, OOS results, and disposition of excess sample.

Key words: test article; nonclinical drug study; safety evaluation; analysis

供试品系指供非临床研究的药物或拟开发为药品的物质^[1]。供试品的管理是影响药物安全性评价质量的重要环节之一。只有给予实验动物正确的、质量稳定的、剂量准确的供试品, 才会使得接下来开展的各种毒性试验结果真实、可靠。只有规范化的供试品管理, 才能保障整个实验的顺利进行。供试品的管理过程包括接收、保存、检测与分析、分发、使用、留样、剩余样品的处理等, 其管理原则遵循对供试品实施总量控制、条件控制及过程控制, 并保证所有的相关内容完整的原始记录及符合相应标准操作规程^[2]。

随着药品非临床研究质量管理规范 (good laboratory practice for nonclinical study, GLP) 不断地发展, 国内药物安全性评价研究的水平与质量逐渐与国际接轨, 必然向供试品管理提出更高的行业要求。通过比较各国 GLP 规范发现, 日本对供试品及对照品的处理最为严格, 严格要求对供试品的特性进行分析, 特别是与溶媒进行混合时必须对稳定性和均匀性进行分析^[3]。而中国的 GLP 规范及 GLP 机构检查办法中, 仅要求对供试品制剂进行质量分

析。因此供试品的检测与分析的加入, 保障了供试品的质量在试验过程中稳定和可控。对于规范供试品的管理和提高整个 GLP 体系的水平, 意义深远。本文从药物安全性评价中供试品的含量检测方法验证、取样分析、含量准确性分析、稳定性分析、均匀性分析、分析结果和超标准结果的处理、剩余样品的处理等方面进行了讨论, 并提出实际操作中应注意的有关事项。

1 检测方法的建立

为了开展供试品检测与分析的研究, 必须先建立供试品含量检测方法。供试品含量检测方法是进行供试品的含量准确性、稳定性、均匀性等后续研究的前提。供试品含量检测方法通常是由委托方在供试品送检时提供的, 再经安评机构的实验室对方法学进行完整验证。该方法需要满足系统适应性测试、储备标准液比对、性能检验、标准曲线、线性、范围、准确度、日内和日间精密度、专属性、定量限等方法学验证的内容^[4-5]。

2 取样分析

在供试品接收后, 必须对其进行检测分析。检

收稿日期: 2014-07-14

作者简介: 李耀庭 (1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为药物评价。Tel: 15652509459 E-mail: lytlll@163.com

*通信作者 黄芝瑛, 研究员, 博士生导师。Tel: (020)39943092 E-mail: hzhiying@mail.sysu.edu.cn

测供试品的含量(或浓度)和稳定性,并出具复核报告。当复核报告与委托方提供的质检报告的含量(或浓度)一致,且在规定的时间内含量(或浓度)保持稳定,则可进行试验。如果检测出来供试品的含量与提供的质检报告不符,要求委托方重新提供新的一批供试品,再经过检测。如此循环,直到供试品的含量与质检报告相符,方可开始后续试验。

3 准确性分析

对于给药时不产生配制行为的供试品,按照委托方提供的含量检测方法进行含量准确性分析。对于供试品需和介质混合配制的情况,应先对其含量检测方法进行方法学验证。如果混合物中任一组分有失效期,应在容器标签上标明,两种以上组分均有失效日期的,以最早的失效日期为准。供试品的含量检测的频率应根据具体的试验而调整:(1)单次给药的毒性试验(包括单次给药毒性试验、安全性药理试验、遗传毒性试验和局部毒性试验等),除注射原液外一般在溶液配制后,给予供试品前检测1次;(2)重复给药毒性试验(包括重复给药毒性试验、生殖毒性试验和免疫毒性试验等)根据给药周期的长短调整检测次数,3个月试验(含3个月以下)检测2次(第1次给予供试品之前、最后1次给予供试品之前或毒代动力学试验采血前),6个月(含3个月到6个月之间)试验检测3次(第1次给予供试品之前、90天给予供试品之前和最后1次给予供试品之前或毒代动力学试验采血前),9个月(含6到9个月)试验检测4次(第1次给予供试品之前、90天、180天给予供试品之前和最后1次给予供试品之前或毒代动力学试验采血前),针对注射原液多次给药毒性试验按照以上的时间点对原液进行检测^[6]。检测得到的供试品实际含量与实验方案规定的含量偏差不超过 $\pm 10\%$ 。

4 稳定性分析

在供试品的使用前,就要完成对供试品的稳定性分析,为专题负责人开展试验提供稳定性的信息。对于影响供试品稳定性的储存条件(室温、冷藏、冷冻等)应进行考察。对经配制后使用的供试品,在配制过程和配制后涉及的影响因素也要考察,如浓度、溶媒、温度、搅拌方法和速度、配制后储存时间等。通常在实验验证和毒性研究期间对供试品的最低浓度和最高浓度进行稳定性分析。取样的时间点根据供试品的性质、储存条件和储存期限等确

定。取样量应以能做3次检测的样品量为准。按照已建立的供试品含量检测方法进行分析,分析结果与0时测定的结果进行比较。结果接受范围视不同剂型而定:溶液 90.0%~110.0%、相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD) $\leq 10\%$,混悬液 85.0%~115.0%、RSD $\leq 10\%$,固体 80.0%~120.0%、RSD $\leq 15\%$ 。备份样品要储存在从配制到最后剂量分析整个研究期间存放的相同条件。

5 均匀性分析

试验开始时,除真溶液外,所有剂型的供试品都要进行均匀性分析。通常在供试品首次配制后的低浓度和高浓度进行均匀性分析。如果样品体积大小变化显著(20%~50%),需要重新进行分析。要求对样品的上中下3个部位取样分析,每个部位取1次,取样量应以能够做3次检测的样品量。按照供试品含量检测方法进行测定,计算每个部位的回收率和RSD,单点回收率、每个部位平均回收率和整体平均回收率之间的RSD应小于等于5%。

6 化学药物、中药制剂、生物制品的检测与分析特点

根据供试品的不同种类和特点,应采取相应的检测分析方法对其质量进行评价。化学药物可按照药物分析和药物质量标准等规范要求进行检测。中药制剂由于其所含物质复杂且成分不确定。以单一成分来评价其质量,难以反映中药制剂发挥的整体疗效^[7-8]。因此在建立中药制剂含量检测方法时,应以中医药理论为指导,选择一些具有生理活性的主要化学成分,作为有效或指标成分,建立多组分多指标的含量测定与指纹图谱技术相结合的方法。生物制品的质量检测应包括有效成分含量测定和效力测定^[9-11]。进行如浓度测定(含菌数或纯化抗原量)、蛋白质含量测定、免疫力试验、活菌数或病毒滴度测定、血清学试验和稳定性试验等。

7 分析数据的审核、报告、归档

分析人员在完成供试品的检测与分析后,对生成的数据需要进行审核,确认数据无误后交由审核人进行二次审核。审核人在相应的表格上写上姓名和日期以表示审核完毕。如果实验室采用电子数据采集系统,审核人应以电子签名审核。经过审核的数据应根据具体项目报告给专题负责人。专题负责人将原始数据整理装订,以供查阅。在试验结束后,专题负责人按照标准操作规程(standard operating procedures, SOP)的要求整理数据交到资料保管室,并编号归档。供试品分析的数据应至少保存至药物

上市后5年。

8 偏离实验方案或 SOP 的处理和 OOS 结果的处理

如果供试品分析或供试品配制物分析的过程未遵从实验方案或 SOP, 需要记录偏离过程, 并将偏离实验方案或 SOP 的记录表交给专题负责人核实和批准^[12]。专题负责人在总结报告中需对偏离过程和数据的可靠性予以描述和评价。当供试品分析的原始数据出现超标准结果 (out-of-specification, OOS), 专题负责人应该对出现 OOS 结果的原因进行调查。专题负责人先进行实验室调查, 包括以下步骤: (1) 与分析人员讨论检测方法, 确认分析人员严格按照 SOP 执行了正确的程序; (2) 检查分析所得原始数据, 并识别出反常或可疑的信息; (3) 确认控制环境的设施、实验仪器、器具的状态、校正和操作情况; (4) 确定使用了合适的对照品、溶剂、试剂和其他溶液, 并且它们均符合质量控制标准; (5) 对原留样进行重新检验; (6) 记录并保存评估的证据。

如果最初的评估显示在获得 OOS 结果所进行的分析过程没有明显错误, 同时对留样进行再检验时仍然不能确定实验室错误时, 应进行全面调查, 对所有与供试品检测分析相关的文件和记录复核和额外的实验室测试。额外的实验室测试包括: (1) 最初样品一部分的再检验; (2) 从该批中重新取样样品的检验; (3) 偏离值的检验^[13]。通过调查, 明确出现 OOS 结果的原因, 提出针对性补救措施。若无法补救的, 应以偏离实验方案或 SOP 报告。

9 检测分析后剩余样品的处理

供试品检测分析后剩余的样品应交还到供试品管理员, 供试品管理员待试验结束后再统一交到废弃物管理员处, 并填写《废弃物交接记录》。废弃物应依据委托方要求归还或交给有资质的专业公司集中处理。对环境及人员有安全隐患的废弃物应倒入专用的废液桶中, 盖紧桶盖, 直接交由专业公司处理。

10 结语

药物安全性评价研究的实施对新药的研发至关重要, 它不仅提高了新药研发的水平, 还降低了药物临床使用的潜在风险。随着 GLP 不断发展, 对于供试品的管理提出了更加严格的要求。当药物毒性试验中给予质量不过关、含量不准确的供试品, 将会极大地影响试验结果的可靠性。在供试品管理过程中加入供试品的检测与分析, 保证了供试品的质量稳定, 保障了试验结果的真实可信, 同时也使得

GLP 体系更加规范。

目前, 新药申报和相关技术评价指导原则中对于供试品的分析未提出详细的要求。本文在结合本安评中心 SOP 的基础上, 对供试品的检测与分析如含量准确性分析的含量偏差值的接受范围、稳定性分析按照剂型划分不同的判定标准、均匀性分析中计算不同部位平均回收率进行比较、超标准结果的处理等, 提出了个人的看法和实际操作中的注意事项, 以供参考。同时, 针对供试品都按照化学药的质量标准进行检测的现状, 作者认为供试品应分成化学药物、中药制剂、生物制品三大类, 其检测指标和检测手段应具体问题具体分析。对于成分复杂且不确定的中药制剂, 应选取与药效或生物效应相关的成分作为指标; 对于生物制品不仅要检测其含量还要进行效力测定, 以保障其质量符合试验要求。

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理总局. 药物非临床研究质量管理规范 [S]. 2003.
- [2] 李佐刚, 王秀文, 王军志. 药物临床前安全评价过程中供试品的 GLP 管理 [J]. 中国药事, 2007, 21(6): 371-375.
- [3] 高利娟, 宋丽丽. 我国药品 GLP 发展的比较分析 [D]. 郑州: 河南大学, 2013: 38-39.
- [4] Tavernier I, Van Bockstaele E. Trends in quality in the analytical laboratory. II. analytical method validation and quality assurance [J]. *Trends Analytical Chem*, 2004, 23(8): 535-552.
- [5] Whitmire M L, Peter B, Henry T R, et al. Non clinical dose formulation analysis method validation and sample analysis [J]. *AAPS J*, 2010, 12(4): 628-634.
- [6] 孟祥, 孙祖越. 供试品检测在 GLP 研究中的意义及规范化要求 [J]. 毒理学杂志, 2011, 25(6): 471-473.
- [7] 伍振峰, 杨明. 中药制剂质量控制的方法模式分析与研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1332-1336.
- [8] 周爱珍, 尹华. 中药制剂质量标准现代化的探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(7): 1457-1459.
- [9] 中国药典 [S]. 三部. 2010: 5-9.
- [10] 杭太俊, 于治国, 范国荣. 药物分析 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 531-532.
- [11] 郭中平. 实施《中国药典》2010 年版三部完善生物制品质量控制 [J]. 中国药事, 2010, 24(7): 627-630.
- [12] 张伟, 杨威, 李波, 等. 中国药物 GLP 理论与实践 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2013.
- [13] 常鸿彦, 米永峰. CGMP 关于药品检验结果的调查与处理 [J]. 齐鲁药事, 2007, 26(10): 630-631.