

主
编

王治乔 袁伯俊

新 药

临床前安全性 评价与实践

XINYAO

LINCHUANGQIAN ANQUANXING

PINGJIA YU SHIJIAN



军事医学科学出版社

新药临床前安全性评价与实践

主 编	袁伯俊	王治乔	
编 者	王爱平	廖明阳	顾长虹
	刘俊平	吴 浩	袁本利
	刘宝兴	石 涛	张淑英

军事医学科学出版社

内容简介

本书重点介绍新药临床前安全性评价的目的意义、主要内容和基本要求,尤其是在实际工作中所碰到的问题,提出了解决的办法,对暂时难以定论的问题也表明了作者的观点。本书的内容包括概述、影响毒性作用的因素、急性毒性试验、长期毒性试验、致突变性试验、致癌性试验、生殖毒性试验、其他毒性试验、毒理作用机理研究、毒理病理学研究和新药临床前安全性评价组织管理和规范化等。可供新药研究和开发人员、药理毒理研究人员、其他从事药物安全性评价人员及研究生、医药学生和临床医师等有关人员参考。

* * *

图书在版编目(CIP)数据

新药临床前安全性评价与实践/袁伯俊,王治乔主编.

北京:军事医学科学出版社,1997.11

ISBN 7-80121-038-7/R·026

I.新… II.①袁…②王… III.药物-安全试验 IV.R 965.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(97)第 22017 号

* * *

新药临床前安全性评价与实践

主 编 袁伯俊 王治乔

责任编辑 石 涛 王国晨

军事医学科学出版社出版

(北京太平路 27 号 邮政编码:100850)

新华书店北京科技发行所发行

北京四环科技印刷厂印刷

开本:787 mm×1092 mm 1/16 印张:16 字数:390 千字

1997 年 11 月第 1 版 1997 年 11 月第 1 次印刷

印数:1-5000 册 定价:25.00 元

ISBN 7-80121-038-7/R·026

(购买本社图书,凡有缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换)

序 言

自有人类以来,就有寻找新药的社会实践活动。评价新药,说到底,是疗效和毒性的评价。

为了评价新药的毒性,人类付出过沉重的代价。“神农尝百草,一日而遇七十毒”。此话,固然是极大地夸张了的,或者竟是古代竹简剥蚀后的误书。但毕竟反映,在古代,新药的发现是靠人自己服用尝试的。而这种尝服,是时常会引起中毒的。因尝试新药而中毒的事例不绝于史。可以说,各国古代辉煌的药物学宝库是靠人类自身的实践和牺牲堆积起来的。

实验医学的兴起,使新药毒性评价可以用动物先作试验,这就减少了许多人的牺牲。但即使这样,本世纪以来,新药毒性事件仍时有发生。有些是可以避免而不幸发生了的,如 30 年代法国的有机锡事件。有些是当时难以避免的,如 60 年代初德国的反应停事件。新药毒性反应越来越多地出现在各种新药试用的不同时期,这就要求在新药临床前安全性评价工作中完成越来越多的指标和观察项目。这就是为什么本世纪下半叶以来新药临床前安全性评价工作发展如此之快,要求如此之高的原因。吃一堑,长一智,人类总是在总结过去的经验教训中规划未来的。

诚然,动物试验做得再多,也无法完全预测人用后的结果。但如果现在能做的工作还不尽心地做的话,那么新药在人身上使用的风险将会更大。这就是为什么各国要定期召开协调会,统一认识和技术要求,制订 GLP 规范的理由。一个新药的潜在毒性越是早被发现,它所导致的损失就越小。不少新药就是在临床前安全性评价中发现了严重毒性被淘汰而避免了盲目开发和人体药物的毒性事件。单就这一点来说,实验毒理学已功不可没。

袁伯俊、王治乔主编的这本书收集了当代新药安全性评价的理论和方法,详尽地说明了各种毒性试验的机理和技术要求。从事这方面工作的人员阅读本书,可以一窥全豹,知所适从。尤其可贵的是作者都是长期从事本专业的科技人员,书中融注了他们亲身实践的经验 and 感受,这与一般的资料汇编和摘译是不一样的。在安全性评价这一专业领域内,这样性质的一本书,国内还没有。在新世纪到来的前夕,本书的出版,定会有利于我国新药安全性评价工作水平的提高,有利于到下世纪初叶促使我国这方面工作与国际接轨。这当然是值得庆贺的一件事。是为序。

秦伯益

一九九七年国庆节

前 言

新药临床前安全性评价是新药评价的核心内容之一,也是提供临床医师安全使用新药的主要依据,为此得到了各国医药卫生部门的重视。国际上每2年就召开一次协调会议,商讨和解决临床前毒理学研究中需要解决的问题,世界上许多国家的新药研究都对毒理学研究有明确规定和要求,并制订了大致相同又适合各国国情的GLP法规。我国于1985年正式颁布实施的《新药审批办法》中对临床前毒理学评价有了较详细的要求,接着分别制订了西药、中药临床前毒理学评价的指导原则。1994年又正式颁布实施我国的GLP法规,这些法规的贯彻实施对保证和提高新药临床前安全性评价的质量起了很大的作用,迄今未见报道经国家批准(1985年以后)的新药在临床使用中发生严重的药害事件,而且GLP法规的实施对毒理学学科的建设,毒理学队伍的发展都有促进作用,可谓功不可没。

事物在变化,社会在前进,科学在发展,技术在进步,新药审批办法中对临床前安全性评价的内容和要求,毒理学指导原则的内容和要求,也都随着不断的实践而不断修改、补充,以更趋完善,许多补充规定的制订便是明证。尽管如此,无论是指导原则也好,GLP法规也罢,都只能是一个基本框架,由于化合物千变万化,新药也各种各样,在执行指导原则的具体实践中就碰到许多困难和问题,主要是难以符合指导原则的要求,给临床前安全性评价带来了一定的难题。本书除了介绍新药临床前毒理学评价的原则、内容和要求外,结合作者的经验详细讨论了在实际研究工作中可能碰到的许多困难和问题,提出了克服困难和解决问题可供参考的方法,这可能就是本书最重要的特点之一。此外对当今毒理学的研究热点如比较毒理学和毒性机理(含靶器官毒理学)研究也作了介绍,以供同道参考。从这个意义上讲,此书可能对新药临床前安全性评价有抛砖引玉的作用。

由于作者知识面有限,在某些方面实践经验还不足,错误和缺点在所难免,衷心希望读者阅后提出批评和指正。

作 者

1997.6

目 录

第一章 概 述	(1)
第一节 临床前安全性评价的目的意义.....	(1)
一 历史教训不可忘记.....	(2)
二 正确评估新药临床前的安全性评价.....	(3)
第二节 基本内容和要求.....	(5)
一 基本内容.....	(5)
二 基本要求.....	(6)
第三节 评价程序.....	(7)
第二章 影响毒性作用的因素	(9)
第一节 药物理化性质对毒性作用的影响.....	(9)
一 脂水分配系数.....	(9)
二 电离度	(10)
三 溶解度	(10)
第二节 种属差异和个体差异对毒性作用的影响	(10)
一 实验动物的种属和品系与毒性反应	(11)
二 实验动物个体因素与毒性效应	(14)
第三节 赋形剂及给药途径	(16)
一 赋形剂与毒性效应	(16)
二 给药途径与毒性效应	(17)
第四节 实验室条件与操作技术	(19)
一 实验室条件与毒性效应	(19)
二 操作技术与毒性效应	(22)
第三章 急性毒性试验	(23)
第一节 目的意义	(23)
一 了解新药急性毒性的强度	(23)
二 可计算新药相对毒性参数	(24)
三 为临床毒副反应的监测提供参考依据	(25)
四 为长期毒性、蓄积毒性和特殊毒性试验选择剂量提供依据.....	(26)
五 其他方面	(26)
第二节 基本内容和要求	(27)
一 动物	(27)
二 给药途径	(27)
三 剂量和分组	(27)
四 给药容积	(27)
五 观察记录	(27)
六 剖检	(28)

七	结果处理	(28)
八	最大耐受剂量测定	(28)
第三节	急性毒性试验中 LD_{50} 计算方法	(29)
一	急性毒性试验中 LD_{50} 计算方法	(29)
二	常用计算方法简介	(29)
第四节	有关问题	(34)
一	对急性毒性试验的不同看法	(34)
二	急性毒性试验中应注意的问题	(36)
第四章	长期毒性试验	(43)
第一节	目的意义	(43)
第二节	基本内容和要求	(43)
一	动物	(44)
二	饲养管理	(44)
三	受试药	(44)
四	给药途径	(44)
五	剂量及分组	(44)
六	给药周期	(45)
七	检测指标	(45)
八	恢复期观察	(45)
九	检测指标的时间	(45)
十	资料整理	(46)
第三节	剂量设计	(46)
一	重要性	(46)
二	要求	(46)
三	方法	(47)
四	剂量的表示方法	(47)
五	剂量用体表面积和体重表示的换算	(48)
六	剂量设计中的几个实际问题	(48)
第四节	有关问题	(50)
一	对受试药的要求	(51)
二	对动物的要求	(51)
三	对饲养管理的要求	(53)
四	必须重视预测	(53)
五	合理分组	(54)
六	给药途径	(54)
七	实验周期	(55)
八	指标选择	(57)
九	方法公认	(60)
十	测试次数	(60)

十一 停药观察	(60)
十二 数据处理	(61)
十三 结果分析	(61)
十四 资料整理	(61)
第五章 特殊毒理评价	(63)
第一节 特殊毒理评价概述	(63)
第二节 各国新药特殊毒理评价的要求	(64)
第三节 我国新药特殊毒性试验的要求与特点	(67)
第四节 特殊毒性试验结果的判断与评价	(69)
第五节 新药特殊毒性试验中常遇到的几种情况及处理原则	(72)
一 试验项目不符合《新药审批办法》要求	(72)
二 剂量设计中的问题	(72)
三 试验方法的适用性问题	(73)
四 新药试验样品的溶解性问题	(74)
第六节 新药特殊毒性试验的对照问题	(75)
一 空白对照	(75)
二 阴性对照	(75)
三 溶剂对照	(75)
四 其他对照	(75)
五 阳性对照	(75)
六 代谢活化剂(S9)对照	(75)
第六章 新药临床前致突变性试验方法	(78)
第一节 鼠伤寒沙门氏菌营养缺陷型回复突变试验	(78)
一 试验准备	(78)
二 诱变试验操作步骤	(85)
三 试验剂量设置	(86)
四 代谢活化	(86)
五 对照	(87)
六 试验结果的分析与判定	(87)
第二节 中国仓鼠肺成纤维细胞(CHL)染色体畸变试验	(89)
一 细胞染色体试验基本设备	(89)
二 细胞培养器皿和用品	(91)
三 细胞培养用品的清洗和消毒	(91)
四 培养液和各种常用溶液的配制	(92)
五 试验细胞的准备	(94)
六 新药的细胞毒性测定及试验浓度的确定	(96)
七 细胞染色体畸变试验	(97)
八 细胞收获与染色体标本的制备	(98)
九 染色体畸变观察	(99)

十 染色体畸变结果的判定·····	(101)
第三节 啮齿动物微核试验·····	(102)
一 试验器材准备与动物要求·····	(102)
二 试剂及染色液配制·····	(104)
三 小鼠骨髓微核试验的设计·····	(104)
四 微核玻片标本的制作·····	(106)
五 标本染色与镜检计数·····	(107)
六 结果判定·····	(107)
第七章 新药致癌性试验·····	(111)
第一节 药物致癌性问题·····	(111)
第二节 新药致癌性试验前提·····	(112)
第三节 新药致癌试验方法·····	(112)
一 叙利亚地鼠胚胎细胞体外恶性转化试验·····	(112)
二 小鼠致癌试验·····	(115)
第八章 生殖毒性试验·····	(117)
第一节 试验准备·····	(117)
一 试验前的基础资料准备·····	(117)
二 试验动物的预算和请领·····	(118)
三 试验动物的检疫·····	(118)
四 试验动物的驯养·····	(119)
五 试验动物的标记·····	(119)
六 一般生殖毒性试验的准备工作·····	(120)
七 致畸敏感期毒性试验的准备工作·····	(121)
八 围产期毒性试验的准备工作·····	(121)
第二节 试验设计·····	(122)
一 动物选择·····	(122)
二 剂量设计的原则和依据·····	(123)
三 动物分组·····	(123)
四 给药方法·····	(124)
第三节 试验程序·····	(129)
一 交配·····	(129)
二 妊娠动物的判别·····	(131)
三 动物处死方法·····	(132)
四 观察指标·····	(133)
五 操作方法·····	(135)
第四节 结果分析和评价·····	(149)
一 一般生殖毒性试验统计指标及数据处理·····	(149)
二 致畸敏感期毒性试验的统计指标及数据处理·····	(149)
三 围产期毒性试验的统计指标及数据处理·····	(150)

第九章 其他毒性试验	(152)
一 皮肤用药毒性试验.....	(152)
二 腔道用药毒性试验.....	(157)
三 药物依赖性试验.....	(159)
四 抗生育药毒性试验.....	(162)
五 细胞毒性抗肿瘤药毒性试验.....	(163)
六 制剂常规安全试验.....	(164)
第十章 毒性作用机理	(170)
第一节 概述.....	(170)
一 从不同层次解释中毒机理.....	(170)
二 研究中毒机理的思路与步骤.....	(172)
第二节 肝脏毒理.....	(173)
一 外源性化学物质可能引起的肝损害类型.....	(173)
二 肝脏毒理研究方法.....	(176)
第三节 肾脏毒理.....	(177)
一 肾脏易受外源性化学物质损害的原因.....	(177)
二 中毒性肾损害的类型.....	(178)
三 常见肾脏毒物.....	(178)
四 肾脏毒性作用机理.....	(178)
五 肾脏毒理研究方法.....	(179)
第四节 神经系统毒理.....	(180)
一 神经性毒物的作用特点.....	(181)
二 神经系统病变分型.....	(181)
三 具有神经毒性的药物.....	(182)
四 神经毒理研究方法.....	(182)
第五节 免疫毒理.....	(185)
一 外源性化学物质对免疫系统作用的特点.....	(185)
二 具有免疫毒性的外源性化学物质.....	(185)
三 外源性化学物质对免疫功能影响的表现.....	(186)
四 对免疫功能影响的机理.....	(187)
五 免疫毒理研究方法.....	(188)
第六节 其他器官毒理.....	(192)
一 眼睛毒理.....	(192)
二 药物对耳的毒性作用.....	(194)
第十一章 毒理病理学检查	(197)
第一节 病理学检查的目的和意义.....	(197)
一 目的和意义.....	(197)
二 病理学检查的特点.....	(197)
第二节 病理学检查涉及的基本问题.....	(198)

一	受试药物和动物的一般情况	(198)
二	实验设计中实际与理论的差别	(199)
三	病理学检查中须注意的几个问题	(199)
四	详细记录观察结果为诊断提供完整病理资料	(200)
五	药物毒性作用的靶器官和蓄积库及生物转化	(200)
六	诱癌试验的病理检查	(201)
第三节	病理检查	(202)
一	病理检查的层次	(202)
二	实验动物解剖和一般检查	(202)
三	取材	(205)
四	固定	(206)
五	显微镜检查	(207)
六	药物或毒物致靶器官损伤的基本病变和作用机理	(210)
七	影响形态观察的因素	(211)
八	病理诊断的鉴别	(212)
第四节	药物毒性作用引起各脏器的病理学损伤	(212)
一	药物引起肝脏的损伤	(212)
二	药物引起肾脏的损伤	(216)
三	药物引起肺脏的损伤	(216)
四	药物引起消化道的损伤	(217)
五	药物引起心血管系统的损伤	(218)
六	药物引起脾脏的损伤	(218)
七	药物引起免疫器官的损伤	(219)
八	药物引起肾上腺的损伤	(219)
九	药物引起神经系统的损伤	(219)
十	药物引起骨和关节肌肉的损伤	(220)
十一	药物引起眼球的损伤	(221)
十二	药物引起听觉的损伤	(221)
十三	药物引起皮肤的损伤	(221)
第十二章	新药临床前安全性评价组织管理与规范化	(223)
第一节	优良实验室规范的源起	(223)
第二节	在我国实施 GLP 的必要性	(224)
第三节	世界各国颁布 GLP 规范概况	(225)
第四节	GLP 规范常用的术语	(226)
第五节	GLP 规范的主要内容	(227)
一	人员的组成和职责	(227)
二	标准操作规程	(228)
三	试验计划书的制订	(229)
四	供试品与对照品的管理	(230)

五	实验动物的饲养与管理.....	(231)
六	总结报告书的撰写.....	(231)
七	记录、资料和标本的管理	(232)
八	质量保证部门.....	(232)
九	试验研究的实施.....	(234)
十	设施的监督检查.....	(235)
第六节	对实施 GLP 的几点看法	(236)

第一章 概 述

药品是一种特殊商品。其质量优劣不仅与人们的健康密切相关,还对子孙后代的健康有影响。世界各国政府的医药管理部门对新药的审批管理都很重视,有越来越严格的趋势,这是必要的,对人民健康有利。为此而制订了一套新药审批的法规文件,其中对安全性评价的指导原则尤为重要,各国一般都参照美国 FDA 的 GLP 要求,制订了适合各国国情的 GLP。我国在 1994 年,由国家科委正式颁布并实施我国的 GLP 法规,即《药品非临床研究质量管理规定》(试行),无疑对提高我国新药临床前安全性评价工作水平,赶上并和国际 GLP 要求接轨,进而对毒理学的发展都有很大意义。

新药临床前安全性评价,即毒理学评价的发展史表明,无论是美国 FDA 的 GLP,还是我国的 GLP,均是在实践中不断补充、修改和完善的标准操作程序。任何一个法规性的文件,即使像 GLP 那样详细的法规性文件,甚至更进一步,象标准操作程序(SOP),也都只能是一个指导原则。在具体执行中碰到的问题,由于药品(西药、中药、生物制品)的千差万别,加上各国、各实验室及各负责人的不同,也有大同小异的理解,硬件很重要,而最重要的软件之一,即具体参加操作硬件人员的素质就显得更重要,在一定意义上说,最好的法规,最优良的实验室,必须要有高素质的人去执行才能产生真正符合事实,符合科学的结果和结论。

新药临床前安全性评价涉及内容广泛,分一般毒性评价和特殊毒性评价两大部分,其主要有急性毒性试验、长期毒性试验(反复给药毒性试验)、特殊毒性试验、皮肤用药及腔道用药毒性试验、药物依赖性试验及抗生育药及细胞毒性抗肿瘤药的毒性评价等。涉及学科有一般毒理学、生化毒理学、细胞毒理学、分子毒理学、靶器官毒理学、免疫毒理学、生殖毒理学、遗传毒理学、临床毒理学、病理学、药理学、生理学、生物化学和组织化学等等,因此它是一门综合性的毒理学评价,是新药评价核心内容之一,不仅涉及本单位本学科,也涉及到兄弟单位及邻近学科,也是一个纵横交错的系统评价过程。

我国新药审批办法正式实施不过十余年,GLP 法规刚刚颁布(1994 年),新药临床前毒理学评价指导原则也需在实践中补充、修改和完善,在实际工作中更有许许多多问题值得探讨,因此研讨新药临床前安全性评价技术和实践既有迫切的现实意义,同时为使我国研制的新药早早打入国际市场,使我国新药研制水平和国际接轨,参与国际竞争,确保研制新药的安全性,为人类健康和长寿服务,从而更具有深远的社会价值。

第一节 临床前安全性评价的目的意义

新药临床前安全性评价的目的非常清楚,就是提供新药对人类健康危害程度的科学依据,预测上市新药对人体健康的有害程度,淘汰危害大的,权衡有危害的,通过危害小的,理想的是没有危害的新药,使新药成为人类同疾病作斗争的有力武器。

一般来讲,使上市新药在临床剂量下无毒或毒性很小,对保证患者的安全有重大意义,而新药临床前安全性评价的真正意义也在于此。

但是,随着科学技术、化学工业和制药工业等的迅速发展,美国《化学文摘》登记的化学品约有1000万种,常用的也有10万种,在美国现有6.2万种化学品需管理,每年投放市场的新化学品约1500种左右。1992年联合国环境与发展大会将有毒化学品列为21世纪全球7大环境问题之一。药品就是用于人的化学品。早在公元1274年我国的宋慈以及公元1541年瑞士的Paraselsis均指出“所有的东西都是毒物,没有一种不是毒物,即万物皆毒”。而适当的剂量和不同临床用途就将药物和毒物区别开来,这就是说任何药物及所谓无毒药物超过限量或改变应用范围或用药途径都有可能变成毒物。如一般认为无毒的维生素等超过限量也会对人产生毒性作用,给病人带来外加的损害和痛苦。当然,从总体来讲,新的化学品的不断问世,给人类带来文明和福音,但同样也带来污染和毒害。

对于许多非药用化学品,人们可采取各种措施,尽量避开,不去接触,或尽量减少接触量,使之不产生毒害。但对于防治疾病的药物来说,人们是无法避开的,甚至有些慢性病需终生用药。因此,对其安全性的要求就更高。我国自1985年实施新药审批办法以来至1996年底,共收审新药4000余种,已批准上市1999种,约占50%,而另外50%左右未被批准上市的新药中,有相当一部分就是因毒理学评价没有通过评审。国外也是如此,许多新药因安全性评价通不过而不能投放市场。

相反,回顾新药评价历史,就更可以看到许多药害事件的发生就是由于当时没有进行临床前毒理学评价或没有进行充分而完善的毒理学评价造成的。血的教训不应忘记,历史惨案不应重现,回顾历史很有必要,警示当今意义重大。

一 历史教训不可忘记

(1) 1935年至1937年,美国用二硝基酚减肥引起白内障、骨髓抑制死亡177人。

(2) 1937年美国的二甘醇磺胺酞剂事件造成107人死亡,是因没有进行任何动物毒性试验就上临床造成的。

(3) 1954年至1956年,法国的有机锡胶囊事件引起207人视力障碍,其中102人死亡。主要原因是当时急性毒性试验仅观察24h,不仅LD₅₀不准确,以为毒性不大,更主要的是24h内不能出现神经毒性症状。如果当时急性毒性观察3d或7d,则这一悲惨事件完全可以避免。

(4) 1959年到1962年的沙利度胺(反应停)惨案,则是因当时主客观条件所限,未能进行完善的多种动物的致畸试验,引起万名婴儿畸形。

(5) 1966年至1972年,日本的氯碘喹啉事件则是由于长期毒性评价不完善而造成千人失明或下肢瘫痪。

(6) 1937年至1959年,美国妇女用黄体酮保胎,治疗先兆流产,结果使600多名女婴发生生殖器男性化。早在1939年就已知化学合成的孕激素分子结构似男性激素,可使后代雌性动物雄性化。其实在动物上早已发现毒性,仅仅因未引起人们足够的重视而造成这一悲剧。

当然除了药品的危害外,许多食品、化学品及燃烧剂都可引起接触者的中毒或死亡。如1929年的镭中毒事件是由于当时忽视危险和缺乏规章制度,允许用镭液涂画表面的女工用嘴唇润湿画刷造成的。

通过食物、水或空气污染而发生大规模中毒也屡有发生。如在中世纪的欧洲,成千上万人因吃了被麦角菌污染的黑麦做的面包而死亡。后来还发生周期性流行的麦角中毒,中毒症状是小动脉痉挛、坏疽、幻觉或其他精神性症状。又如1951年,法国一个农村大部分村民就因吃了这种污染的面包而发生暂时性的精神病。1959年,摩洛哥因橄榄油中混入含有三邻位磷酸甲苯酯的石油使10 000人发生神经脱髓鞘性麻痹。1948年,多罗拿和宾夕法尼亚州引起5910(占接触人的34%)人发病,是因烟雾中毒造成呼吸道和心血管疾病。1952年,英国伦敦地区烟雾中毒死亡达5000人。这些均提醒人们凡对与人类有接触的各种各样物质,诸如染料、食品、杀虫剂、油漆、农药、化妆品、化肥、洗涤剂,都有必要进行安全性评价。当然这已不属本书范围,可参阅有关工业毒理学、食品毒理学和环境毒理学等专著。一些食品添加剂(人工甜味剂环拉酸类 cyclamates、食品染料红色2号、牲畜助长剂己烯雌酚、调味剂谷氨酸钠均对动物有害而被禁止应用)也可造成人中毒。如1966年,加拿大魁北克各医院发生不寻常心肌病病人48名,经详细调查是由于喝了一酒厂的啤酒,该厂在啤酒中加了抗泡沫剂硫酸钴,它对人心脏有毒性。

二 正确评估新药临床前的安全性评价

新药临床前安全性评价固然意义重大,但又有一定局限性,因为它的正确性是受多因素影响(详见第二章),有的是无法克服的。因此根据临床前毒性评价来预测临床的安全性是有一定风险的,一新药上临床后出现毒副反应的报道也说明了这一点。Venning 1982年报道35篇论文中有25种药在临床出现了在动物上未曾见到的毒副反应。美国FDA所属药物毒副反应自动报告系统SRS报告,1970年一年内在美国就有49种新药在临床引起了未曾遇见到的毒副反应。1983年Venning征求了9国10名药政管理人员和医师的意见,总结了10种最重要的药物毒副反应,依次为:普拉洛尔(心得宁)引起眼粘膜皮肤综合征;口服避孕药引起血栓性栓塞症;止痛药特别是非那西汀引起肾损伤;苯乙双胍(降糖灵)引起乳酸性酸中毒;拟交感性喷雾剂引起哮喘致死;氯碘喹啉引起亚急性脊髓-视神经病变;己烯雌酚引起子代妇女阴道癌;氯霉素引起再障;氟烷引起黄疸;二甲麦角新碱引起腹膜后纤维变性等。上述资料表明,按照目前药政管理法的规定,进行周密、细致、认真的临床前毒理学评价,固然可以在一定程度上提高新药上临床的安全性,但仍不能完全排除新药上临床时的风险。WHO在《临床前药物安全实验原则》一书中指出:“虽然事先对生物活性物质进行了最细致彻底的科学研究,但给人用时总是不可避免地冒一定风险”。造成风险的原因主要来自两方面:一方面是新药本身;另一方面来自现有毒理学评价手段。新药不断地改变着化学结构和由之而产生的药理毒理学特征,总不同于已有的老药,因而也往往超出人们原有的知识、经验和评价手段所达到的预测能力。同样,现有的评价手段也未必完全适应“新药”评价的需要。更主要的还是临床前毒理学评价的基本手段是动物毒性实验,而动物实验还存在着许多缺点,有些缺点甚至是难以克服的。

(1) 实验动物和人对药物反应的种属差异,即有的反应只出现于动物,有的反应只出现于人,如口服避孕药常见的一般毒性反应有恶心、头痛、不规则出血、乳房痛及血栓,但在动物上反应不出来。又如动物对甲醇的眼毒性反应轻,而人比较敏感,因动物眼内有一种特异酶,它能将甲醇转化成低毒的甲酸盐。动物与人共同出现的反应仅占一部分。如1979年Fletcher根据动物和人对45种药(分属19种药理作用类型)的毒性反应所作的对比分析,估算出动物

和人共同的反应平均仅占一个药总反应的 25% 左右。这是一种笼统的、平均的概念，而事实上，很可能就某种药来说，人与动物的共同反应占很高的比率，而对另一种药来说共同反应可能占很小的比率。

(2) 实验动物的数量有限，那些发生率低的毒性反应，在少量的动物中难以发现。

表 1-1 为发现新药的毒性作用在毒性试验中所需的动物数

人体毒性作用发生率	动物数* (0.95 机率)
100	1
50	5
20	14
10	29
5	59
1	299
0.1	2995
0.01	29956

* 至少发现有一只动物产生毒性反应(假设人和动物对药物毒性反应的发生率相同)

据统计(表 1-1)，要想确定发生率为 5% 的反应，至少需要 59 只动物，而确定发生率为 1% 或 0.1% 的反应，则分别需要 299 及 2995 只动物。而用这样多的动物做试验，显然是不可能的。而新药上临床后，出现某种发生率很低却又非常严重的毒性反应的例子并不少见。近年来，一种名叫苯噻洛芬(benoxaprofen)的非甾体抗炎剂，就是以万分之一的发生率使 61 名病人中毒死亡。

(3) 常规毒性试验所用的动物多系实验室培育的品种，反应较单一，而临床病人很广泛，对药物的敏感性各不相同，有的可能对某种药物非常敏感而出现特异性反应(idiosyncratic reaction)。

(4) 毒性实验所用的动物多是健康的，而临床用药的病人则可能同时患有多种疾病。而某种疾病的存在往往会成为发生某种毒性反应的必须条件。

(5) 动物毒性试验中采用大剂量的做法也与临床用药相差甚远，特别是那些毒性低、给药量很大的药，有时会给实验结果造成假象。如在进行乳糖的长期毒性试验时，大剂量导致钙性肾病(calcium nephropathy)，此结果令人费解，后经深入研究分析，才弄清钙性肾病并不是乳糖直接造成的，而是由于乳糖剂量过大，超过了小肠的水解吸收能力，使大量乳糖残留于肠内，引起肠道细菌发酵，导致腹泻、失水、失钠，使肾小管代偿性地增加对钠钙的重吸收，久之引起钙性肾病。

但是，我们必须看到临床前毒理学评价的预测能力在不断提高，绝不是停留在一种固定水平上。在新药临床前毒理学评价的发展史上，有许多成功的例子。如致癌、致畸、生殖及三代生殖试验等的试验方法和模型就是在发现了一些化学物质致癌、药物反应停致畸、麻醉用气体影响男性麻醉师的生殖能力并引起女性麻醉师流产，己烯雌酚用于防止流产而使子代女性成

熟后出现阴道癌等反应后建立起来的。又如,在临床发现青霉素严重的过敏反应致许多病人死亡后,人们便进行多方面的深入研究,了解到引起过敏反应的机理是由于青霉素在人体内遇到蛋白质等含氨基的物质后,生成青霉噻唑酸等半抗原,找出了与人类有同样反应的动物模型——豚鼠,建立起检测这类药物的致敏方法。再如氨基葡萄糖苷类抗生素,在临床使用时,出现耳和肾毒性,经大量深入研究,发现对耳的毒性是由于药物浓集于内耳的内淋巴液中,引起内耳损伤而致。而对肾的毒性是由于这类药物及它们的代谢产物主要经尿排泄,并在肾近曲管上皮中浓集和滞留,从而直接损伤肾近曲管上皮组织,引起病变。在阐明了发生机理的基础上,筛选出合适的动物模型,建立起特异的评价方法。又如三环类抗抑郁药及安定镇痛药,在临床过量或长期服用引起病人心血管系统的损害,导致突然死亡。Zbinden 等用生理学、生物化学和形态学等综合手段对比了人与动物对这类药物的心血管系统变化,找出共同的特异性观察指标,建立起评价这类药物对心脏损伤的实验方法。可见,通过上述方法和模型的建立,大大提高了动物实验中对这些药物毒副作用的预测能力,相信,随着医药科学的发展,通过药物毒理学家们的不断努力,药物毒理学将更快发展和成长,新药临床前毒理学评价的预测能力将得到大大的提高。

第二节 基本内容和要求

一 基本内容

为了保证新药在临床应用的安全性,尽可能减少给患者带来的不利,临床前安全性评价就必须提供尽可能多的实验资料,因此临床前安全性评价的内容也十分丰富,参照新药审评的基本要求,新药临床前安全性评价有以下基本内容,当然根据各类药及制剂的特点不同有所变动。

- (1) 全身性用药小鼠或(和)大鼠及狗的急性毒性试验;
- (2) 全身性用药大鼠或(和)狗及猴的长期毒性试验;
- (3) 皮肤用药的急性毒性试验;
- (4) 皮肤用药的长期毒性试验;
- (5) 皮肤用药的刺激性试验;
- (6) 皮肤用药的过敏试验;
- (7) 眼用药的刺激性试验;
- (8) 滴鼻剂和吸入剂的急性毒性试验;
- (9) 滴鼻剂和吸入剂的刺激性试验;
- (10) 直肠、阴道用药的急性毒性试验;
- (11) 直肠、阴道用药的刺激性试验;
- (12) 直肠、阴道用药的长期毒性试验;
- (13) 遗传毒性试验;
- (14) 生殖毒性试验;
- (15) 致癌试验;