

**ICH S3A：毒物動力學指引說明：**

**毒性研究之全身性暴露量評估**

**以微採樣為核心**

**問答集**

**(Toxicokinetics: The Assessment of Systemic**

**Exposure in Toxicity Studies**

**Focus on Microsampling**

**Questions and Answers)**

**衛生福利部食品藥物管理署**

**中華民國 114 年 1 月**

# 前言

國際醫藥法規協和會(International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)於 2017 年發布 ICH S3A Q&As(Questions and Answers to ICH S3A: Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies Focus on Microsampling S3A Q&As)指引，針對毒物動力學研究整合微採樣方法前所需考量之要點做探討，了解其益處及限制，進而評估主要試驗動物的毒物動力學，並且藉由透過減少或消弭對毒物動力學衛星試驗動物的需求而對 3R(替代、減少、優化)產生重要貢獻。

# 目錄

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| 一、緒論-範圍-----                   | 1 |
| 二、微採樣應用基本原則-----               | 2 |
| 三、對安全性評估之影響-----               | 3 |
| 四、生物分析方法相關議題-----              | 4 |
| 五、附件：問答集與 ICH S3A 指引章節對照表----- | 5 |

# ICH S3A：毒物動力學指引說明：毒性研究之全身性暴露量評估

## 以微採樣為核心 問答集

### 序

S3A 指引於 1994 年成功施行，然而因為近年在分析方法敏感度的進步，微採樣技術已廣泛應用於毒物動力學評估。本問答集針對毒物動力學研究整合微採樣方法前所需考量之要點做探討，了解其益處及限制，進而評估主要試驗動物的毒物動力學，並且藉由透過減少或消弭對毒物動力學衛星試驗動物的需求而對 3R(替代/減少/優化)產生重要貢獻。

### 一、緒論-範圍

#### (一) (問 1)微採樣的定義是什麼？

**答 1** 在本文件中，微採樣意指用來採集極少量血液(通常 $\leq 50 \mu\text{L}$ )的方法，一般用於測量藥品及/或其代謝產物之濃度，進而計算相對應的毒物動力學參數。適合微採樣技術之基質包含血液以及從中提取之血漿或血清，可為液體或是乾燥形式以利運輸、儲存以及後續分析。毒物動力學微採樣可應用於齧齒類或非齧齒類動物，本問答集不包含在非由血液提取基質中執行之微採樣。

#### (二) (問 2)微採樣的效益或優勢是什麼？

**答 2** 最小化血液採樣可以降低動物的疼痛及緊迫，增進齧齒類及非齧齒類動物的福祉(優化)，亦可以於評估毒物動力學時取消衛星試驗組只進行主要研究，或是在齧齒類研究時降低該主要研究中衛星試驗組所需的動物數量(減少)。該效益對小鼠尤其明顯，因為對於使用傳統採樣的毒物動力學研究來說，衛星試驗組中小鼠通常被大量使用。微採樣的主要科學優勢在於可直接在相同的動物身上評估安全性數據以及藥品暴露量間的關係。

## 二、 微採樣應用基本原則

### (一) (問 3)微採樣適用於哪種藥品和安全性評估研究上？

**答 3** 一般來說，微採樣適用於包含生物藥品在內的大多數藥品，然而無論分析物為何，皆應針對個案情況來評估測量方法的敏感度是否足以分析可得的少量樣本。

微採樣可用於單劑量、重複劑量以及其他所有的毒理學研究(例如：致癌性、幼年期、生殖研究)。依照 S3A 指引所述，使用微採樣時，於具有代表性的亞組執行採樣是可被接受的。已發表的範例顯示，由成年動物獲取少量血樣並不會影響關鍵的獸醫臨床病理學或病理參數。然而在大多數或全數樣本之藥品濃度低於定量極限(例如：外用或吸入性給藥之暴露量)的情況下，並不適合使用微採樣。但若微採樣使用的生物分析方法與常規樣本體積分析方法有相同的較低定量極限，則即使在大多數或全數樣本低於定量極限的情況下，仍然可以使用微採樣。

### (二) (問 4)毒物動力學研究應用微採樣時所需之考量要點為何？

**答 4** 如同其他動力學採樣方式，為了適當地執行微採樣，必須先開發並驗證生物分析方法(藥品非臨床研究品質管理規範研究可依據當地法規指引驗證方法)以確保分析結果的可靠性。建立微採樣方法時，應謹慎評估下列分析特性(包含但不限於)：較低定量極限、準度、精度、在儲存前稀釋基質所造成之影響，以及在整個採樣、儲存、加工過程中生物基質內分析物之穩定度。當傳統方法已應用於某些研究中，且其他研究欲使用微採樣時，必須比較微採樣與傳統方法在給定基質下的暴露量測量，該比較在毒物動力學樣本呈現的條件截然不同時(例如：微採樣的乾燥樣本與傳統採樣的液體樣本)特別重要，可透過另外執行藥品動力學研究測量基質濃度時間曲線下面積以及/或  $C_{max}$  來實現比較，但前提是評估的濃度需在合適的範圍內，且兩者的參數需經過比較。若有執行藥品動力學研究的必要，應於執行含有微採樣程序的決定性研究(definitive study)前完成。可依據個案條件免除為比較上述兩種方法而另外執行藥物動力學研究的必要，並且提供合適的科學說明，例如：使用類似的測定條件來測試從相同採樣部位獲得的血液、血漿血清。

比較過程中，可透過在少量的動物身上於不同時間點進行多次血液樣本微採樣，然後測量分析物濃度，以確認採樣的變異性。在理想狀態下，所有的毒物動力學以及臨床暴露量比較研究都應該使用相同的基質。當研究使用了不同的基質時，應考量血液參數、血漿蛋白結合率、藥品的血液/血漿(或血清)濃度比率等相關因素，定義藥品濃度以及基質種類間的關係，以確保研究可使用不同基質的測量值適當地評估全身性暴露量。

### (三) (問 5)微採樣的血液採集方式有哪些？

答 5 可於尾靜脈或隱靜脈等處使用毛細管或其他適當之微型採血裝置來採集血液，採集之血液以及從中提取的血漿或血清，無論是液體或乾燥之形式，皆可用來測量藥品濃度。在某些情況下，液體樣本可在儲存、運送、後續分析前以合適的媒液或空白基質稀釋。也有乾燥樣本的方法，即直接將樣本塗抹在纖維素等種類的材質上等待乾燥。可使用採集卡(裝置)上全部的樣本或取用一固定直徑的部分樣本來分析。隨著近期在微採樣方法上的進步以及持續的改良，目前已可精準採集所需血量，讓所有採集的樣本都可用於分析，不需要額外的容積測量。另外，新開發的技術也可於適當的驗證後被考慮使用。

## 三、對安全性評估的影響

### (一) (問 6)要如何評估血液樣本對毒性數據的影響以及主要研究的動物福祉？

答 6 從主要研究動物採集血液樣本時，需考量血液採集對動物生理狀態的影響，考量因素包含：(1)在一定時間內取樣的體積與數量、(2)試驗藥品的性質(例如：藥品對紅血球的影響、抗凝血效應、血流動力學性質)、(3)試驗系統(例如：物種、年齡、體重、總血量)、(4)採集部位。由於頻繁以及重複採血很可能會影響血液參數等生理數據，應適當地建立採樣方案，微採樣亦同。為求慎重，應記錄體重改變、進食狀況、血液參數(例如：紅血球數、紅血素、血球容積值、紅血球平均體積、電解質、總蛋白)等相關動物數據以及所有對採血部位造成的影響(例如：組織損壞、發炎)。為在特定研究條件下確認各個潛在作用是否與試驗藥品或程序有關，需評估前述參數並將有相同樣本數及數量的藥品試驗組與配對控制組做比較。若先前研究已指出頻繁採血會惡化與試驗藥品有關的血液參數變化，或合理懷疑試驗藥品的藥理作用可能會引發該變化，研究即使使用微採樣技術，也應在毒物動力學評估時使用衛星試驗組。在提供科學根據的前提下，亦可以將稀疏採樣\*與微採樣技術合併使用。

\*稀疏採樣在毒物動力學研究中通常包含在特定時間點從所有的藥品處理動物身上採集少量的血液樣本，這些樣本採集時間點分配給不同的動物，通常允許部分重複，再使用統計推論來確立試驗化合物的濃度時間行為。研究主持人可透過適當研究設計來減少所需的樣本數目以及採集的血量，在達成傳統毒物動力學目的的同時，避免採樣對動物健康狀況所造成的可能影響。

#### 四、 生物分析方法相關議題

##### (一) (問 7)開發與驗證液體或乾燥樣本處理的生物分析方法時所需之考量要點為何？

答 7 除各地區生物分析指引中所提及的分析方法驗證外，研究在分析透過微採樣取得的樣本時，亦應考量下列要點：

使用液體採樣時應注意以下幾點：(1)確保樣本同質性(例如：移液)、(2)處理少量樣本可能產生的問題(例如：在儲存和後續冷凍或解凍過程中可能產生冷凍或乾燥作用)、(3)有限的樣本數可能導致定量下限上升、(4)在細小容器或毛細管中添加抗凝血劑可能會造成樣本稀釋、(5)採集容器可能會增加對分析物的吸收(即表面積對採集量的比值增加)、(6)維持適當的樣本保存條件、(7)樣本污染的風險以及使用特定方法時重複採樣的困難度。

使用乾燥採樣時(例如：在纖維素或非纖維素採集卡上點上血點、聚合物基質等)，選擇的方法需有足夠、可再現的回收率，且應盡可能選擇基質對藥品偵測的干擾較小的方法。若使用血點收集的方式，需確保分析物的偵測不受血球容積值影響，特別是分析對象為小分子藥品時更是如此。血球容積對分析物偵測的影響可以透過在不同血球容積值的血液加入已知濃度的試驗藥品來測量。另外，確認血點的均質性也同等重要，可透過評估從同一血點的不同部位取出多個部分樣本並測量各部分樣本內的分析物濃度，或透過放射性標誌評估來實現。只要能夠使用裝置採集正確的血量並分析完整的樣本，就能夠最小化上述問題。應依照當地指引執行已測樣本再分析(*incurred sample reanalysis*)，且應確保留下足夠的樣本量以及重複數(*replicate*)(例如：血點、容器、移液管尖端)執行已測樣本再分析。

五、 附件：問答集與 ICH S3A 指引章節對照表

| 指引章節      | 一、緒論 | 二、毒物動力學研究之目的以及可設定參數 | 三、一般性考量原則   | 四、不同毒性試驗領域之毒物動力學特定面相 | 五、補充備註 | 六、參考文獻(其他指引) |
|-----------|------|---------------------|-------------|----------------------|--------|--------------|
| 1.1 (問 1) | 1    |                     | 3.10        |                      | 註 1    |              |
| 1.2 (問 2) | 1    |                     | 3.5         |                      | 註 1    |              |
| 2.1 (問 3) |      | 2                   |             | 4                    |        |              |
| 2.2 (問 4) |      |                     | 3.1<br>3.10 |                      |        |              |
| 2.3 (問 5) |      |                     | 3.10        |                      |        |              |
| 3.1 (問 6) |      |                     | 3.3<br>3.5  |                      |        |              |
| 4.1 (問 7) |      |                     | 3.10        |                      | 註 1    |              |