

国家药监局药审中心关于发布《纳米药物质量控制研究技术指导原则（试行）》《纳米药物非临床药代动力学研究技术指导原则（试行）》《纳米药物非临床安全性评价研究技术指导原则（试行）》的通告(2021 年第 35 号)

发布日期：20210827

为规范和指导纳米药物研究与评价，在国家药品监督管理局的部署下，药审中心组织制定了《纳米药物质量控制研究技术指导原则（试行）》《纳米药物非临床药代动力学研究技术指导原则（试行）》《纳米药物非临床安全性评价研究技术指导原则（试行）》（见附件 1-3）。根据《国家药监局综合司关于印发药品技术指导原则发布程序的通知》（药监综药管〔2020〕9 号）要求，经国家药品监督管理局审查同意，现予发布，自发布之日起施行。

特此通告。

- 附件：1.纳米药物质量控制研究技术指导原则（试行）
2.纳米药物非临床药代动力学研究技术指导原则（试行）
3.纳米药物非临床安全性研究技术指导原则（试行）

国家药监局药审中心
2021 年 8 月 25 日

纳米药物质量控制研究技术指导原则 (试行)

二〇二一年八月

目 录

一、概述	1
二、整体思路	2
三、纳米药物的分类	3
四、纳米药物的质量控制研究	5
(一) 纳米药物的基本信息	5
(二) 纳米药物的质量控制指标	5
(三) 纳米药物的质量评价	7
3.1 纳米药物的原辅料质量控制	8
3.2 纳米药物的粒径大小及分布	9
3.3 纳米药物的结构及形态	11
3.4 纳米药物的表面性质	11
3.5 纳米药物的包封率和载药量	12
3.6 纳米药物的体外溶出或释放	13
3.7 注射用纳米药物的内毒素和无菌控制	14
(四) 纳米药物全过程质量控制	14
(五) 纳米药物的稳定性研究	17
(六) 纳米药物的上市后变更	17
五、参考文献	17
六、附录	20

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。纳米药物的最终产品或载体材料的外部尺寸、内部结构或表面结构具有纳米尺度（100nm 及以下），或最终产品或载体材料的粒径通常在 1000nm 以下，且具有明显的尺度效应。纳米药物一般具有明确的物理界面。

与普通药物制剂相比，纳米药物具有基于纳米结构的尺度效应，有可能具有以下潜力：（1）增加药物的溶解度，提高难溶性药物的口服吸收，或显著降低食物效应和个体间差异；（2）通过包载或复合药物，提高药物的体内外稳定性，或改善药物的溶出或释放行为；（3）改善药物对组织器官或细胞的选择性，提高药物疗效和/或降低药物的不良反应；（4）制成特殊制剂后实现新的给药途径，优化药物联合治疗策略，或提高候选药物的成药性；（5）改变药物的最终制剂形态、贮存条件或给药方式等，降低贮存和运输成本，提高药品生产和使用的便利性，或改善患者顺应性等。

安全、有效、质量可控性是药物研发和评价所遵循的基本原则。纳米药物特殊的纳米尺寸、纳米结构和表面性质等可能导致药物体内外行为的明显变化，从而实现临床获益。同时，纳米尺度效应带来的安全性风险可能也会相应增加。

因此，对纳米药物质量的深入研究和有效控制，对保障纳米药物的有效性和安全性非常重要。鉴于纳米药物的组成、结构、理化性质、制备工艺、临床配制和使用方法等与传统药物可能具有较大差异，纳米药物的质量控制研究在遵循一般性的相关技术指导原则的基础上，可能需要重新设计、优化和验证纳米药物适用的分析和表征方法，对纳米药物相关的质量属性进行研究。

本指导原则在参考国内外已上市纳米药物的相关信息、相关指导原则、监管机构或行业协会的研讨报告、科研文献等的基础上，结合我国纳米药物研发现状而起草，旨在为纳米药物的质量控制研究提供技术指导。

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与技术的进展和经验积累，相关内容将不断完善和适时更新。

二、整体思路

纳米药物质量控制的整体思路是基于药物评价的风险评估策略，重点关注纳米药物的质量属性对安全性和有效性的影响。

基于风险评估的质量控制研究可包括以下几方面：（1）纳米药物的类型、组成和结构；（2）纳米药物最终贮存形式、给药途径和方式、治疗目的等；（3）纳米药物表征方法的准确性和适用性；（4）纳米药物制备工艺可控性，包括中间控

制、控制策略的耐用性等，对产品关键质量属性的影响；（5）纳米药物的质量属性对药品贮存和使用过程中的稳定性、药物的体内释放、药物及其载体的药代动力学、体内分布、药效学、安全性以及作用机制的影响。

对纳米药物的关键质量属性进行重点研究和充分表征，不仅有利于纳米药物制备工艺参数的优化和关键质量属性的确定，为全面质量控制和药品质量标准的建立提供依据，也有利于探究纳米药物的生物学特性和作用机制等，提高纳米药物体内行为的可预测性，为非临床和临床研究提供参考。

三、纳米药物的分类

本指导原则将纳米药物分为三类：药物纳米粒、载体类纳米药物和其它类纳米药物。

药物纳米粒通常是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不同剂型。其中，常以药物活性物质为原料，通过自上而下、自下而上或其它方法制备相应的药物纳米粒。自上而下法常通过研磨或均质等方法，将难溶性药物的大颗粒分散成小颗粒，一般无需有机溶剂；自下而上法常将难溶性药物溶解于良溶剂后与其不良溶剂混合，并通过适当方法控制析出颗粒的大小和分布。

载体类纳米药物是指以天然或合成的聚合物、脂质材料、蛋白类分子、无机材料（可代谢排出）等作为药物递送的载

体材料，基于特定的制备工艺，将原料药包载、分散、非共价或共价结合于纳米载体形成的具有纳米尺度的颗粒。按载体材料的种类和结构等，载体类纳米药物包括但不限于脂质体（Liposomes）、聚合物纳米粒（Polymeric nanoparticles）、聚合物胶束（Polymeric micelles）、纳米乳（Nanoemulsions）、蛋白结合纳米粒（Protein-bound nanoparticles）、无机纳米粒（Inorganic nanoparticles）等。载体类纳米药物可通过高压均质法、薄膜分散法、溶剂注入法、乳化溶剂扩散法、乳化溶剂蒸发法等工艺制备。

其它类纳米药物包括具有纳米药物特征的抗体药物偶联物、大分子修饰的蛋白质药物等。

本指导原则适用于药物纳米粒和载体类纳米药物。药物纳米粒和载体类纳米药物通常在体内外均具有明确的物理界面，其纳米结构可表现出纳米尺度效应，应进行严格的质量控制研究。载体类纳米药物涉及载体材料，其质量控制研究与药物纳米粒有所不同。

四、纳米药物的质量控制研究

（一）纳米药物的基本信息

纳米药物的基本信息包括申请类型、制剂分类、组成、粒径、剂型、给药途径和具体给药方式等。由于纳米药物具有特殊的结构与尺度属性，因此除处方组成和辅料列表之外，还应对纳米药物和纳米载体材料的结构（实心、囊泡、核壳

或多层结构等)和形态(球状、棒状、圆盘状等)等进行详实描述;需明确各处方组成成分的主要功能(如增溶剂、载药载体、包衣稳定剂、配体修饰靶向递送剂等);还建议提供药物与载体的结合方式,以及药物或载体材料在纳米结构中的空间分布等信息。

(二) 纳米药物的质量控制指标

在纳米药物的研发过程中,应对纳米药物和纳米材料质量相关的性能指标进行系统评价和考察。相对而言,性能指标可分为纳米相关特性和制剂基本特性两大类。应重点关注与纳米药物生产过程相关的质量指标(如无菌、冻干复溶等)和可能与体内行为相关的质量指标(如粒径、表面电荷、药物释放度等)。根据研究结果选择相应的质量控制指标,酌情列入纳米药物的质量标准中。

纳米特性相关的性能指标包括平均粒径及其分布、纳米粒结构特征、药物/聚合物摩尔比、微观形态、表面性质(电荷、比表面积、包衣及厚度、配体及密度、亲疏水性和软硬度等)、包封率、载药量、纳米粒浓度、纳米粒稳定性、药物从载体的释放,以及聚合物的平均分子量及其分布、临界胶束浓度、临界聚集浓度等。其中纳米粒的稳定性包括药物和载体的化学稳定性,以及纳米药物和载体的物理稳定性等,应关注纳米药物的聚集状态及演变过程。

制剂基本特性相关的质量控制指标包括特性鉴别、含量

测定、有关物质、残留溶剂等，以及不同剂型药典要求的质量评价指标，如注射液的 pH 值、黏度、渗透压、细菌内毒素、无菌、不溶性微粒等，口服固体制剂的重量差异、崩解时限、体外溶出度或释放度、微生物限度等。

需要注意的是，不同纳米药物的质量研究重点和内容可能不同，应根据纳米药物的结构、组成、功能、用法和临床用途等，按“具体问题具体分析”的原则，设置具有针对性的、科学合理的评价指标。例如：对于药物纳米粒可研究其结晶性等；对于载体类纳米药物可研究药物存在形式和状态、药物与载体的结合方式等；对临床即配型纳米药物应关注临床配制过程中关键纳米特性的变化等。

基于风险评估的纳米药物质量控制研究需要确定其关键质量属性。纳米药物的关键质量属性(Critical quality attributes, CQAs)及其限度范围的确定应考虑到影响产品性能的所有直接和潜在因素，包括制剂的质量属性、中间体的质量属性、载体材料和/或辅料等的质量属性等。应特别关注这些质量属性在制备、贮存和使用过程中的变化对最终产品性能的影响。应重点考察与纳米特性直接相关的质量属性。

纳米药物的质量控制指标和 CQAs 研究，可用于纳米药物的处方工艺筛选和稳定性考察等，并为后续的非临床研究乃至临床研究提供参考和依据。

（三）纳米药物的质量评价

为了对纳米药物和载体材料进行全面的质量控制研究，必须建立相应的质量控制方法，并进行优化和验证。鉴于纳米药物和载体材料的多样性，对现有方法需进行规范的方法学验证；也可建立更具有针对性的检测方法并进行系统验证；应通过不同方法之间的比较验证等来证明方法选择的合理性。

在选择质量控制方法时，应注意不同方法提供的产品信息不同，应充分考虑不同方法之间的互补性，以实现纳米药物关键质量属性的全面覆盖和系统研究；同时应关注拟表征的质量属性与拟采用的检测方法之间的契合度，以保证研究方法的适用性。如：（1）采用何种检测方法能更好地表征纳米药物的特性（粒径测定可比较激光衍射、光散射或显微技术等）；（2）检测时样品的处理过程（如稀释、干燥、超声、过滤等）是否会改变纳米药物的性状等；（3）分析仪器或材料是否会与纳米药物发生相互作用（如滤膜吸附等）。

在进行相关质量控制研究时，应考虑分析样本的取样是否具有代表性，取样点是否代表各阶段产品的状态（生产中、中间体、成品、储存过程中、临床使用中），取样数量是否符合检验检测要求等。

纳米药物的质量评价包括但不限于以下方面。

3.1 纳米药物的原辅料质量控制

对于纳米药物，其原料药和关键辅料的质量是影响药物质量的重要因素，应考察不同来源原辅料的质量并进行相应的质量控制研究。

药物纳米粒一般由原料药、稳定剂和其他非活性成分组成。除对原料药进行常规质量控制之外，还应关注其粒径、晶型等。同时，鉴于相关辅料可能对药物纳米粒的形成、粒径大小、稳定性、生物利用度、生物相容性等产生重要影响，应对最终制剂中的相关辅料进行质量控制研究。药物纳米粒中其他非活性成分包括冻干保护剂、制备过程中用到的溶剂和试剂等。

载体类纳米药物一般由原料药、载体材料和其他非活性成分组成。载体材料包括天然或合成脂质、聚合物、蛋白类等。载体材料关系到活性成分的包载、保护以及最终产品的体内外性能，应明确载体类材料的规格、纯度、分子量和分子量分布范围等，并通过处方工艺和质量控制研究等证明载体材料选择的合理性。

在纳米药物的开发过程中，辅料的选择和使用应综合考虑其功能性和安全性。在纳米药物中按常规用量和方式使用药用辅料时，按一般药用辅料进行质量控制即可。为了获得特殊功能，有时在纳米药物的开发过程中需要改变常规辅料的性能、使用方式或用量，此时应重点关注这些改变带来的

安全性风险。如将现有常规辅料制备成具有纳米结构的辅料，或减小辅料粒径至纳米尺度后，应进行相应的质量控制研究；有时纳米药物开发中需要制备和使用新的纳米材料、载体材料或辅料，此时除按一般药用辅料的要求进行相应的质量控制研究外，在纳米药物的质量控制研究中，应选择其关键质量属性进行研究（见“（二）纳米药物的质量控制指标”），必要时部分质量指标可列入纳米药物的质量标准中。

在改变常规辅料性能或使用新辅料时，需要结合辅料及其组合物的真实暴露水平、暴露时间和给药途径等，开展系统的非临床安全性评价，具体可参考辅料非临床安全性评价相关指导原则。

3.2 纳米药物的粒径大小及分布

纳米药物的粒径大小不仅影响活性成分的载药量和释放行为，也与药代动力学、生物分布和清除途径等密切相关，甚至可能与纳米药物的递送机制相关。纳米药物的粒径分布涉及到纳米药物质量稳定或变化的程度。因此，纳米药物的粒径大小和分布对其质量和药效作用具有重要影响，是纳米药物重要的质量控制指标。准确的粒径及分布的控制对于保证纳米药物的质量稳定性是必需的。对纳米药物的粒径与分布的控制标准，可根据纳米药物的类型、给药途径和临床需求等综合选择制定。

应选择适当的测定方法对纳米药物的粒径及分布进行

研究，并进行完整的方法学验证及优化。粒径及分布通常采用动态光散射法（Dynamic light scattering, DLS）进行测定，需要使用有证标准物质（Certified reference material, CRM）进行校验，测定结果为流体动力学粒径（Rh），粒径分布一般采用多分散系数（Polydispersity index, PDI）表示。除此之外，显微成像技术[如透射电镜（Transmission electron microscopy, TEM）、扫描电镜（Scanning electron microscopy, SEM）和原子力显微镜（Atomic force microscopy, AFM）]、纳米颗粒跟踪分析系统（Nanoparticle tracking analysis, NTA）、小角 X 射线散射（Small-angle X-ray scattering, SAXS）和小角中子散射（Small-angle neutron scattering, SANS）等也可提供纳米药物粒径大小的信息。对于非单分散供试品，可考虑将粒径测定技术与其它分散或分离技术联用。

3.3 纳米药物的结构及形态

纳米药物的结构和形状可能影响纳米药物在体内与蛋白质和细胞膜的相互作用、药物的释放、纳米颗粒的降解和转运等。不同纳米技术制备的纳米结构包括实心纳米粒、空心纳米囊、核-壳结构或多层结构等；纳米药物常见的形状包括球状、类球状、棒状或纤维状等。纳米药物的结构形状可通过电子显微镜等不同的技术方法进行检测。

必要时可选择适当的方法，检测并控制纳米药物中包封药物的存在形式和/或晶体状态等，从而保证药物质量的可靠

性。研究方法包括电镜法 (Electron microscopy, EM)、X 射线粉末衍射法 (X-ray powder diffraction, XRD)、差示扫描量热法 (Differential scanning calorimetry, DSC)、偏振光显微镜检查等。

3.4 纳米药物的表面性质

纳米药物的表面电荷可能影响其聚集性能和稳定性、与细胞的相互作用和生物分布等。表面电荷取决于纳米药物的粒径大小、组成以及分散介质等。纳米药物的表面电荷一般是基于 Zeta 电位进行评估。Zeta 电位的测定值依赖于测定条件, 如分散介质、离子浓度、pH 和仪器参数等, 应选择适当的方法和介质进行研究, 如相分析动态光散射法 (Phase analysis light scattering, PALS)、电泳光散射法 (Electrophoretic light scattering, ELS) 或可调电阻脉冲感应技术 (Tunable resistive pulse sensing, TRPS) 等。

纳米药物表面的包衣或功能化修饰可能改善其生物相容性、增加体内循环时间、实现靶向递送等。采用适当的表征技术对纳米药物的表面结构等进行分析可提供评价信息。相关研究方法包括 X 射线光电子能谱技术 (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)、X 射线能量色散谱 (Energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDS)、飞行时间-次级离子质谱分析法 (Time-of-flight secondary ion mass spectrometry, TOF-SIMS)、核磁共振 (Nuclear magnetic resonance, NMR)、

元素分析（Elemental analysis）或高效液相色谱法（High Performance Liquid Chromatography, HPLC）等。

3.5 纳米药物的包封率和载药量

对于载体类纳米药物，药物的包封可以增加药物在体内外的稳定性、控制药物释放速度、改变药物的体内分布等，载体的载药能力需要满足临床使用剂量和给药方式的要求。包封率和载药量与纳米药物处方组成和制备工艺等密切相关，应结合具体药物的特点、给药途径以及治疗剂量等进行标准的制定。

包封率是指包封的药量与纳米药物中总药量的比值。包封率测定的关键是分离游离药物与包封药物，分离的方法包括葡聚糖凝胶柱法、超速离心法和超滤法等。应根据纳米药物的特点进行方法的适用性研究和验证。

载药量是指装载的药量与载体类纳米药物量（药量+载体量）的比值。载药量与药物-载体的相互作用程度有关。低载药量可能导致辅料使用量过多、纳米粒浓度增加或注射体积变大等，使得临床应用受限，且成本和安全性风险可能增加。

3.6 纳米药物的体外溶出或释放

药物的溶出或释放是纳米药物的重要质量属性，对药物的吸收、体内安全性和有效性、体内外稳定性等可能有明显影响。体外溶出或释放不仅是纳米药物的质量控制指标，也

可在一定程度上反映纳米药物的体内行为。

无论是使用现有方法，还是修订或重新建立方法，纳米药物的溶出或体外释放测定法均应经过充分验证，以确保方法的准确性和重现性；对于产品之间存在的可能影响其临床疗效的差异，应具有较好的区分性，对方剂和生产过程中的变化具有一定的敏感性。

在进行体外溶出或释放测定时，应重点关注游离药物与纳米药物的分离过程，应充分考虑方法的适用性，详细描述所用方法、试验条件和参数（如设备或仪器的型号规格、介质、搅拌或旋转速度、温度、pH 值、表面活性剂的类型及其浓度、酶和蛋白等），以说明方法选择的合理性。一般应绘制完整的释放曲线，至释放达到平台期，或释放 80%以上。

3.7 注射用纳米药物的内毒素和无菌控制

在评估纳米药物的免疫毒性和安全性时，无菌和细菌内毒素的控制非常重要。应根据纳米药物的特性和处方组成，选择适宜的无菌检测方法和检验条件，并证明方法适用性。内毒素通常用鲎试剂（*Limulus Amebocyte Lysate*, LAL）法测定，有三种形式：显色、浊度和凝胶检测。在一些情况下纳米颗粒可能会干扰 LAL 测定，导致结果不准确或重现性差。常见的干扰包括有色纳米制剂会干扰荧光测定，纳米混悬剂会干扰浊度测定，以及用纤维素滤器过滤的纳米颗粒会产生假阳性。在使用某一种 LAL 法测定受到干扰时，应考虑

采用另一种测定形式。

（四）纳米药物全过程质量控制

一般认为，仅通过检测最终产品的质量属性来保证产品质量是不充分的，有必要加强从生产到使用的全过程的质量控制，以确保纳米药物的质量。具体而言，要对纳米药物所用到的原料药、辅料、包装材料等以及生产阶段、运输阶段、临床配制和使用阶段等分别进行相应的质量控制研究，避免不同阶段纳米药物的关键质量属性产生明显变化，并影响其人体安全性和有效性等。

对于药物纳米粒，其原辅料的质量控制见“3.1 纳米药物的原辅料质量控制”部分。对于载体类纳米药物，聚合物等载体材料不仅应按照药用辅料标准进行检测，而且其生产过程也应作为纳米药物制备过程的一部分，进行严格的质量控制，以保证其制备工艺和质量的可靠性。对载体材料的过程控制一般应包括：合成、提取和纯化过程；任何起始物料的来源、规格、分子量及分布范围；生产过程中的杂质或反应副产物；关键中间体的识别和控制；生物来源或利用生物技术获得的物质作为起始材料时，应符合相关药用要求等。

为确保制备工艺的可靠性，应对纳米药物制备工艺参数和生产设备采取在线或过程控制，应提供详细的生产工艺开发研究资料、生产设备的厂家、型号等信息；应对制备过程和关键工艺参数进行详细的描述，并制定合理的过程控制策

略，如关键步骤的生产条件和时限、关键生产设备的规格和设置、关键中间体的质量控制标准、保存条件与时限等；建立和确定 CQAs 对于纳米药物制备的过程控制和优化都非常重要，应在系统研究的基础上根据纳米药物的特性建立完善合理的检测指标；应重视纳米药物关键生产工艺的优化和验证，如对药物纳米粒的均质工艺条件、无菌纳米药物的无菌工艺条件等进行充分的优化和筛选，并进行全面的验证。另外，纳米药物制备工艺研究是一个动态的持续的过程，应随着研究的进展进行相应的调整和验证，以保证最终产品质量连续可靠。

对于无菌纳米药物，由于许多纳米药物因其组成和结构的复杂性，可能无法通过常规的终端灭菌程序进行灭菌，除菌过滤工艺操作也存在一定的难度，应关注生产过程中对微生物负荷的控制和监测，如原辅料和内包材的质量控制、过滤系统的设计、灭菌/除菌过滤工艺参数的研究、生产时限控制等。

纳米药物的生产规模也会影响其质量、安全性和有效性。生产规模的改变可能会影响其表观理化性质、制剂或产品稳定性和工艺材料的残留等，从而影响纳米药物的体内作用、药代动力学与组织分布，进而影响药物的疗效和安全性。因此，应特别关注生产批量对纳米药物质量可控性的影响，在改变生产规模时应进行全面的质量对比检查。为了全面评估

批次间的一致性，不仅要考虑纳米药物的理化性质，还必须考察其生物功能、药物释放行为或其它因素。同样地，尽早建立 CQAs 并监测不同批次的相关参数，有助于不同批次纳米药物之间的质量衔接性（如早期开发批和正式商业批），保障纳米药物批间的一致性。当纳米药物应用于临床时，应评估其批间差异。注册批和商业批的生产工艺及批量原则上应保持一致。

（五）纳米药物的稳定性研究

除了开展常规的药物稳定性研究以外，建立适当的方法来准确评估纳米药物的稳定性非常重要。可能会影响纳米药物稳定性的因素包括：聚合物或纳米颗粒的降解、纳米颗粒的聚集、药物的降解、载体内药物的泄漏、表面修饰分子或包衣材料的降解等。通过简单的粒径和表面电荷测定有时难以全面评估纳米粒的稳定性，需要结合纳米药物自身特点，建立符合要求的评价方法或指标。

稳定性试验应关注但不限于以下指标及其变化：粒径及分布、粒子形状和电荷；药物或纳米颗粒的分散状态；纳米颗粒的再分散性；药物的体外溶出、释放或泄漏；纳米颗粒的降解（包括表面配体的清除或交换）；纳米颗粒与包材的相容性；配制和使用中与稀释液、注射器、输液袋等的相容性。

纳米药物稳定性的研究包括储存期间、配制阶段和临床使用中的稳定性以及影响因素考察。

（六）纳米药物的上市后变更

纳米药物上市后的药学变更研究可参考相关指导原则，根据变更对产品质量的影响程度开展药学比较研究、非临床研究、体内生物等效性（Bioequivalence, BE）研究或临床研究等。应保留关键批次的样品用于变更前后的数据对比。

变更研究的深入程度取决于纳米药物自身特征、变更类型及变更阶段等。提供的变更资料应包括不同批次纳米药物的体外关键性质的比较，特别是可能受变更影响或不能确定影响程度的检测指标。体内研究则应证明变更后药品的安全性和有效性是否发生改变等。

五、参考文献

- [1] FDA. Guidance for Industry: Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology. 2014.
- [2] FDA. Guidance for Industry: Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials（draft）. 2017.
- [3] FDA. Nanotechnology: A report of the U.S. Food and Drug Administration Nanotechnology Task Force, 2007.
- [4] FDA. Guidance for Industry: Liposome Drug Products Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation. 2002.
- [5] US National Institutes of Health Campus. Report on the 2016 Global Summit on Regulatory Science (GSRS16): Nanotechnology Standards and Applications [EB/OL]. 2016.
- [6] EMA. Surface coatings: general issues for consideration regarding

- parenteral administration of coated nanomedicine products. 2013.
- [7] EMA. Data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product. 2015.
- [8] EMA. Data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product. 2013.
- [9] EMA. Development of block-copolymer-micelle medicinal products. 2014.
- [10] MHLW. Reflection paper on nucleic acids (siRNA)-loaded nanotechnology-based drug products. 2016.
- [11] MHLW. Guideline for the Development of Liposome Drug Products. 2016.
- [12] Nanomedicine Characterisation Laboratory. Assay Cascade. <http://www.euncl.eu/about-us/assay-cascade>.
- [13] 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.
- [14] NMPA.盐酸多柔比星脂质体注射液仿制药研究技术指导原则（试行）. 2020.
- [15] Taha MS, Padmakumar S, Singh A, et al. Critical quality attributes in the development of therapeutic nanomedicines toward clinical translation. Drug delivery and translational research. 2020, 10 (3): 766-790.
- [16] Tyner KM, Zheng N, Choi S, et al. How Has CDER Prepared for the Nano Revolution? A Review of Risk Assessment, Regulatory Research, and Guidance Activities. The AAPS journal. 2017, 19 (4): 1071-1083.
- [17] Crist RM, Grossman JH, Patri AK, et al. Common pitfalls in

- nanotechnology: lessons learned from NCI's Nanotechnology Characterization Laboratory. *Integrative Biology*. 2013, 5 (1): 66-73.
- [18] Rawal M, Singh A, Amiji MM. Quality-by-Design Concepts to Improve Nanotechnology-Based Drug Development. *Pharm Res*. 2019, 36 (11): 153.
- [19] Pallotta A, Boudier A, Creusot B, et al. Quality control of gold nanoparticles as pharmaceutical ingredients. *Int J Pharm*. 2019, 569: 118583.
- [20] Ansar SM, Mudalige T. Direct and simultaneous determination of intra-liposomal and external sulfate in liposomal doxorubicin formulations by capillary electrophoresis/inductively coupled plasma-tandem mass spectrometry (CE/ICP-MS/MS). *Int J Pharm*. 2019; 561: 283-288.
- [21] Coty J-B, Vauthier C. Characterization of nanomedicines: A reflection on a field under construction needed for clinical translation success. *J Control Release*. 2018, 275: 254-268.
- [22] Varenne F, Hillaireau H, Bataille J, et al. Application of validated protocols to characterize size and zeta potential of dispersed materials using light scattering methods. *Colloid Surface A*, 2019, 560, 418-425.
- [23] D'Souza S. A review of in vitro drug release test methods for nano-sized dosage forms. *Adv. Pharm.*, 2014, 2014 (2), 1-12.
- [24] Fontana F, Figueiredo P, Zhang P, et al. Production of pure drug nanocrystals and nano co-crystals by confinement methods. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2018, 131, 3-21.

六、附录

纳米药物物理化学属性的常用表征方法

属性	方法	测量参数	优势	劣势
粒径	动态光散射 (DLS)	液体动力学粒径	操作方便, 成本低, 速度快	不适合多分散体系, 分辨率低, 不适合非球形纳米药物
	粒子示踪分析 (NTA)	液体动力学粒径	操作方便, 成本低, 速度快, 逐粒测量	需要进行更多的方法优化, 小颗粒分辨率低, 不适用非球形纳米药物
	可调电阻脉冲感应技术 (TRPS)	原始粒径	操作方便, 成本低, 速度快, 逐粒测量	不适用于小颗粒 (<40 nm), 不适用非球形纳米药物
	差分离心沉降法 (DCS)	液体动力学粒径	操作方便, 可分离, 分辨率高	适用低密度粒子, 不适用非球形纳米药物
	场流分离串联多角度光散射检测器或 (FFF-MALS)	液体动力学粒径	高分辨率, 自动化, 形状区分	需要复杂的条件优化和校准, 偏向大颗粒, 需要专人操作
	电镜 (EM)	核粒径	直接可视化, 形状信息, 高分辨率	密集型, 低通量, 干燥样品, 低密度原子不太敏感
粒径分布	动态光散射 (DLS)	PDI	多分散性的简要描述	小颗粒被大颗粒隐藏, 不适用于多分散体系
	粒子示踪分析 (NTA)	粒子群大小	逐粒测量	分辨率有限
	可调电阻脉冲感应技术 (TRPS)	粒子群大小	逐粒测量	不适用于小粒径的纳米药物
	差分离心沉降法 (DCS)	粒子群大小	有分离性	不适用于多分散体系
	场流分离串联动态光散射或多角度光散射检测器 (FFF-DLS, FFF-MALS)	粒子群大小	有分离性, 高分辨率	对大颗粒有偏差, 需要专人操作
	电镜 (EM)	粒子群大小	高分辨率, 逐粒测量, 可视化	低能量
形状	电镜 (EM)	形态	直接可视化, 适用不同形状和结构	需要专人操作, 低能量, 低密度原子不太灵敏
	X 射线衍射 (XRD)	结构信息	非常敏感	需要高度的专业知识, 而不是直接获得形状
	原子力显微镜	形貌	超分子组装体	需要专业知识, 横向分辨率

	(AFM)			有限
表面电荷	电泳光散射法 (ELS)	Zeta 电位	高分辨率	不适合多分散, 高度依赖条件 (电导率、pH、溶剂等), 表观值
	Zeta 粒子示踪分析	Zeta 电位	操作方便, 成本低, 速度快	小颗粒分辨率有限, 表观值
	可调电阻脉冲感应技术 (TRPS)	Zeta 电位	操作方便, 成本低, 速度快, 逐粒	不适用小粒径的纳米药物, 表观值
	电声光谱	Zeta 电位	操作方便, 成本低, 速度快, 逐粒	模型复杂, 表观值
表面化学	X 射线光电子能谱法 (XPS)	表面组成	适合于浓缩样品	要干燥样品, 易产生偏差, 需要专人操作
	二次离子质谱 (SIMS)	表面组成	半定量, 化学分析	需要技术, 干燥样品和恶劣的条件可能改变纳米药物
	核磁共振 (NMR)	接枝大分子的量	三维分辨率, 表面和内部成分分析, 高灵敏度	需要氘化介质, 没有构象信息
	色谱质谱联用	接枝大分子的量	高灵敏度, 可自动化的	没有沉积、构象和同质性信息
	紫外可光或荧光光谱	靶分子连接	可用, 定量	没有配体方向的信息、依赖配体
	表面等离子共振技术 (SPR)	靶分子连接	低成本, 直接, 量化	间接, 缺乏可靠的方法
体外药物释放和载药量	液相色谱 (LC)	载药量	高灵敏度	需要样品制备、优化和纳米药物的溶解
	分子排阻色谱或固相萃取联用色谱	药物释放	定量、易自动化、灵敏度高	低通量, 需要稀释, 诱导药物释放
	透析	药物释放	稳健, 低洗脱量, 适用于复杂系统 (血浆)	耗时, 不适用于复杂介质, 活性成分易吸附于膜上
	超滤	药物释放	平衡条件, 软法, 介质连续性	膜被颗粒堵塞, 活性成分吸附于膜上, 方法苛刻

应谨慎选择表征纳米药物理化性能的仪器和技术, 充分理解仪器测量的基本原则和被测量物的实际性能, 应理解测量值与拟报告质量属性之间的相关性。另外, 还应了解仪器是否具有测定需要的精密度和准确性, 及其检测限和耐用性。

纳米药物非临床安全性研究技术指导原则 (试行)

二〇二一年八月

目录

一、概述	1
二、基本原则	2
三、基本内容	2
(一) 试验系统的选择	2
(二) 受试物	3
(三) 试验设计的基本考虑	4
3.1 给药剂量	4
3.2 对照组设置	4
3.3 检测时间和频率	5
3.4 结果分析和风险评估	5
(四) 重点关注内容	5
4.1 免疫原性和免疫毒性	5
4.2 神经系统毒性	6
4.3 遗传毒性	7
4.4 致癌性	8
4.5 生殖毒性	8
4.6 制剂安全性	9
4.7 毒代动力学	9
(五) 不同给药途径的特殊关注点	10
四、不同申报类型的要求	11
五、参考文献	12

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。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）》。

纳米药物由于其特殊的纳米尺度效应和纳米结构效应等理化特性，具有较为特殊的生物学特性。纳米药物在体内可能通过被动靶向、主动靶向、物理靶向、化学靶向等方式高选择性地分布于特定的器官、组织、细胞、细胞内结构，改变原形药物的药代动力学特征如体内组织分布，并进而影响其安全性和有效性。同样，由于纳米药物的特殊性，适用于普通药物非临床前安全性评价策略并不一定完全适合于纳米药物，除了常规毒理学评价外，还有许多特别关注之处。通过获得较为全面的非临床安全性研究数据，充分考虑和全面评估纳米药物的潜在风险，从而为其临床试验设计和临床合理用药提供信息。

本指导原则适用于药物纳米粒、载体类纳米药物，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

药物非临床安全性评价相关指导原则的一般原则适用于纳米药物，同时应基于纳米药物的特性，开展针对性的非临床安全性研究。由于纳米药物情况复杂，本指导原则不可能涵盖各种纳米药物非临床安全性试验的全部内容，其安全性研究应遵循“具体问题具体分析”的原则。试验设计应符合随机、对照、重复的基本原则。

创新纳米药物应进行全面系统的非临床安全性评价研究。应基于纳米药物结构及其功能的表征信息，结合其物理化学性质，对其非临床安全性进行研究。

三、基本内容

（一）试验系统的选择

在纳米药物非临床安全性研究时，为获得科学有效的试验数据，应选择适合的试验系统。选择试验系统时，在充分调研受试物的药效学、药代动力学研究等相关文献资料的基础上，还至少应考虑以下因素：试验系统对纳米药物的药效学反应差异，如敏感性、特异性和重现性；实验动物的种属、品系、性别和年龄等因素。如果选择特殊的试验系统，应说明原因和合理性。

由于纳米药物具有特殊的理化性质，一般情况下，可根据纳米药物的特点先开展体外试验进行早期筛选和安全性

风险预评估，如细胞摄取及相互作用、补体激活情况等研究。

在进行动物体内试验时，若已知特定动物种属对某些纳米药物的毒性更为敏感，应考虑将其用于试验。

随着纳米药物的不断发展，替代的毒性测试方法可能有助于研究纳米药物与生物系统的相互作用。快速发展的成像技术以及多种毒理组学技术（如基因组学、蛋白质组学和代谢组学等）可考虑作为毒性评价的补充研究。

（二）受试物

受试物应能充分代表临床拟用样品。应提供生产过程、关键质量特征、制剂等方面的信息，如稳定性（药物和载体的化学稳定性、物理稳定性）、分散剂/分散方法、纳米特性（粒径、粒径分布、比表面积、表面电荷、表面配体等）、表面性质（包衣及厚度、配体及密度等）、载药量、浓度、溶解性、药物从载体的释放、纳米药物的聚集状态及变化过程、表征的方法和检测标准等。

由于在储存和运输等不同条件下纳米药物活性形式的稳定性以及纳米药物的功能性、完整性、粒径范围、载体材料的稳定性及可能降解产物等可能发生变化，试验前应考虑在不同的时间间隔内使用合适的技术方法对纳米药物的纳米特性（粒径分布、表面性质、药物载量等）和分散稳定性（在介质中溶解、均匀分散或团聚/聚集）进行测定和量化。

纳米药物可能产生团聚或者存在稀释后包裹药物释放

改变等可能性。若纳米药物需稀释和/或配制后给药，应关注纳米药物配制后在不同浓度、溶媒、体外细胞培养液或者其它体外试验体系下的稳定性、均一性和药物释放率等特征是否发生改变。体外试验需要评估受试物是否在体外细胞培养液或者其它体外系统中产生团聚，需要测试满足体外试验浓度和时间条件下纳米药物颗粒大小是否发生改变，评估体外试验进行安全性评价的可行性。

（三）试验设计的基本考虑

纳米药物非临床安全性研究的试验设计除遵循普通药物非临床安全性研究的一般原则外，还应关注以下几个方面：

3.1 给药剂量

纳米药物由于溶解性、稳定性等多方面因素与普通药物有差异，可能会影响到试验中拟给予的最大给药剂量。

在描述纳米药物的剂量反应关系时，除采用传统的质量浓度外，可考虑同时提供质量浓度和纳米颗粒数目/比表面积的剂量单位信息。

3.2 对照组设置

对于包含新药物活性成分的纳米药物，建议设计单独的药物活性成分组，以考察纳米药物与单独的药物活性成分相比在安全性的差异。

对于包含新纳米载体的纳米药物，一般应设计单独的无药纳米载体组，以考察新纳米载体的安全性及其对活性药物

成分的安全性的影响。

3.3 检测时间和频率

部分纳米药物在组织中的清除速度较慢，即使停药一段时间后仍可能存在蓄积，应根据纳米药物在不同组织器官中的蓄积情况合理设置毒性指标的检测时间点和检测频率，必要时可考虑适当延长恢复期的时间和/或设置多个恢复期观察时间点。

3.4 结果分析和风险评估

应重点关注纳米药物及其活性成分和/或载体材料相关的神经系统、生殖系统和呼吸系统毒性、遗传毒性、致癌性、免疫原性、免疫毒性等，对组织靶向性、毒性特征和作用机制进行综合分析和评估。

在免疫功能评估时，应考虑对免疫激活（如补体系统、细胞因子分泌、诱导抗体反应和过敏反应等）或免疫抑制的影响，必要时关注对单核吞噬细胞系统功能的影响。

在对产品或工艺进行变更（如产品或工艺优化）之前，应根据变更的程度及风险，谨慎评估对产品安全性的影响。必要时，需开展非临床对比研究。

（四）重点关注内容

4.1 免疫原性和免疫毒性

纳米药物主要经单核吞噬细胞系统（mononuclear phagocytic system, MPS）的吞噬细胞清除。由于吞噬细胞主

要由聚集在淋巴结和脾脏的单核细胞和巨噬细胞以及肝巨噬细胞（Kupffer 细胞）等组成，因此纳米粒子更容易聚集到肝脏、脾脏和淋巴组织等器官组织。此外，纳米颗粒在体内可能会与体液的不同成分相互作用，在纳米材料表面吸附不同生物分子（以蛋白质分子为主）形成生物分子冠层（如蛋白冠），进而被免疫细胞表面受体识别，容易被免疫细胞捕获吞噬，或者蓄积于单核吞噬细胞系统，产生免疫原性和免疫毒性，还可导致类过敏反应。

在纳米药物的研发和使用过程中，应关注纳米药物由于其特殊性质、靶点情况、拟定适应症、临床拟用人群的免疫状况和既往史、给药途径、剂量、频率等相关因素导致的免疫原性和免疫毒性风险，根据免疫反应的潜在严重程度及其发生的可能性，确定相应的非临床安全性评价策略，采用“具体问题具体分析”原则进行免疫原性和免疫毒性的风险评估，必要时结合追加的免疫毒性研究进行综合评价。应考虑到纳米药物可能存在免疫增强、免疫抑制、补体活化、炎症反应、过敏反应、细胞因子释放等风险，设计特异性的试验进行评估。免疫原性和免疫毒性相关评估方法可参考《药物免疫原性研究技术指导原则》、ICH S8 等指导原则中的相关要求。

4.2 神经系统毒性

纳米药物与普通药物相比更容易透过血脑屏障，在某些情况下可能会增加安全性担忧。一些纳米药物透过血脑

屏障后进入中枢神经系统，产生相应的生物学效应和/或导致神经毒性。因此，对于纳米药物，应关注纳米药物透过血脑屏障的情况（如血脑浓度比值），评估其潜在神经毒性作用。纳米药物的神经毒性研究应根据受试物分布特点，结合一般毒理学、安全药理学试验结果等综合评价神经毒性风险，并根据评估结果决定是否需要开展进一步的补充研究。对于具有潜在神经毒性风险的纳米药物，建议开展体外毒性研究（如，神经细胞活力测定和细胞功能测定）和体内动物试验。体内动物试验主要包括神经系统的安全药理学试验，以及结合重复给药毒性试验开展的神经系统评价，必要时可考虑开展神经行为学试验和使用成像技术追踪纳米药物及载体在神经系统内的迁移、分布和吸收等研究。

某些纳米药物由于其药代特征的改变可能引起外周神经毒性，应根据品种具体情况进行针对性研究。

4.3 遗传毒性

新药物活性成分的纳米药物和新纳米载体/辅料需要开展遗传毒性评价。由于纳米药物对活性成分的载药量、释放行为和细胞摄取程度有影响，也与药代动力学、生物分布和清除途径以及药物递送机制等密切相关，因此，建议根据纳米药物的作用特点，以遗传毒性标准组合试验为基础，设计合适的试验并开展研究。

某些纳米药物细胞摄取程度可能不同于普通药物，因此进行体外遗传毒性试验时应分析其细胞摄取能力。细菌回复突变试验（Ames）可能不适合于检测无法进入细菌内的纳米药物。体外哺乳动物细胞试验建议使用可摄取纳米药物的细胞系，同时应考虑纳米药物在细胞内发挥作用的浓度、时间点进行合适的试验设计，并同时分析细胞摄取能力。进行体内遗传毒性试验时，需通过适当方式研究确定纳米药物在骨髓、血液等取样组织中有暴露且不会被快速清除，否则可能导致假阴性结果。

4.4 致癌性

纳米药物开展致癌试验的必要性以及致癌性试验要求可参考 ICH S1 指导原则。

4.5 生殖毒性

纳米药物可能容易通过胎盘屏障、血睾屏障、血乳屏障等生物屏障，从而对生殖器官、生育力、胚胎-胎仔发育、子代发育产生不良影响。因此，应关注纳米药物的生殖毒性风险。生殖毒性评价的研究策略、试验设计、实施和评价等参考 ICH S5 指导原则，同时应关注纳米药物在生殖器官的分布和蓄积情况。在生育力与早期胚胎发育试验中，如果纳米药物存在蓄积或延迟毒性，可考虑适当延长交配前雄性动物给药时间，除常规精子分析（如精子计数、精子活力、精子形态）外，必要时可增加检测精子功能损伤的其它指标。在

围产期毒性试验中，应注意考察 F1 子代的神经毒性、免疫毒性、免疫原性等毒性反应情况，必要时可开展更多代子代（如 F2、F3 等）的生殖毒性研究。

4.6 制剂安全性

对于注射剂型，在进行体外溶血试验时应关注纳米药物在溶液中是否会存在团聚现象。若发生团聚，因对光线存在折射和散射的效应可能会导致测量结果失真，不宜采用比色法（分光光度计）进行体外溶血试验，推荐采用体内溶血的方法进行试验。

4.7 毒代动力学

纳米药物受其尺度、表面性质和形状等物理化学性质的影响，药物的转运模式发生变化，其体内吸收、分布、代谢、排泄等药代动力学行为均可能发生明显变化，进而引起有效性与安全性方面的改变。部分纳米药物可能在组织中存留的时间较长，组织暴露量高于系统暴露量，尤其毒性剂量下在组织中的存留时间可能会明显比药效剂量下更长，在体内某些组织器官发生蓄积，这种蓄积作用在纳米药物多次给药后，可能产生明显的毒性反应。因此，应通过毒代动力学研究纳米药物在全身和/或局部组织的暴露量、组织分布和清除（必要时）以及潜在的蓄积风险，为纳米药物的毒性特征的阐释提供支持性数据。

对于非临床安全性评价中的毒代动力学研究及体内药

物分析方法的具体技术要求，可参考《纳米药物非临床药代动力学研究指导原则（试行）》和《药物毒代动力学研究技术指导原则》《药物非临床药代动力学研究技术指导原则》中的相应内容。

（五）不同给药途径的特殊关注点

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；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；此外，不同于普通药物，纳米药物可能与光照相互作用，从而影响皮肤与光的相互作用。因此，毒性试验中应注意考察不同皮肤状态、不同影响因素下纳米药物在给药局部和全身的暴露量差异以及相应的毒性风险。

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以及相应的毒性风险。

鼻腔给药：鼻腔粘膜穿透性较高且代谢酶相对较少，对纳米药物的分解作用低于胃肠粘膜，有利于药物吸收并进入体循环。纳米药物还可能通过嗅神经通路和粘膜上皮通路等透过血脑屏障进入脑组织。因此，应关注鼻腔给药的系统暴露量升高以及脑内暴露量升高而带来的安全性风险。

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，因此对于吸入制剂，应关注局部/呼吸毒性。还应关注不溶性载体类纳米药物在肺部的蓄积和转移以及相应的毒性风险。

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，非临床安全性评价时应关注可能的影响；此外，血液相容性可能会发生变化。

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，毒理学试验应考虑到这一点，并包含不溶性纳米成分可能蓄积的组织的评估。

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。

四、不同申报类型的要求

对于将已经批准上市的药品通过改良制成纳米药物（包括活性成分或非活性成分），应考虑这种变更可能影响药物的吸收、分布、代谢和排泄（ADME）以及可能对毒性产生何种潜在影响。

当不涉及新辅料/载体时，在前期的普通药物的非临床安全性研究资料基础上，通常先开展药物的 ADME 研究以及桥接性毒理学试验，通常包括重复给药毒性试验和/或生物相容性试验（如注射剂的制剂安全性试验）。若改良型纳米药物的体内药代动力学和分布特征发生改变，且其安全性风险发生

变化，则可能需进行更多的研究，如其它相关安全性对比研究以及针对特定器官、特定系统的毒性研究，如细胞摄取试验、生殖毒性试验和安全药理学试验等。在某些情况下，当纳米物质不是活性成分时，评估其对毒性的影响可能有助于解释桥接性试验的研究结果，因此应考虑设置仅包含纳米组分的单独给药组。当涉及新的辅料/载体时，需对新辅料/载体进行全面的安全性评价。

对于已上市纳米药物的仿制纳米药物，因纳米药物特殊的理化性质，仿制纳米药物与原研纳米药物在生产工艺和质量控制的细微差异都可能影响其制剂的理化性质，并可能通过影响原料药和制剂稳定性以及药物的正常释放，进而影响仿制纳米药物的质量属性及其相关的有效性和安全性。因此，仿制纳米药物的开发应首先关注药学一致性。非口服给药途径（如，经皮肤、粘膜、腔道、血管给药）的仿制纳米药物，在药学一致的基础上，应开展采用非临床药代动力学对比性研究，以及制剂安全性试验，以评估其对用药局部产生的毒性（如刺激性和局部过敏性等）和/或对全身产生的毒性（如全身过敏性和溶血性等）。

五、参考文献

- [1] CDER, FDA. Guidance for Industry: Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials (draft). 2017.
- [2] MHLW/EMA. Joint MHLW/EMA reflection paper on the development

- of block copolymer micelle medicinal products. 2013.
- [3] CHMP, EMA. Guideline on core SmPC and Package Leaflet for nano-colloidal technetium (^{99m}Tc) albumin. 2016.
- [4] CHMP, EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product. 2015.
- [5] CHMP, EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product. 2013.
- [6] FDA. Guidance for Industry: Considering whether an FDA-regulated product involves the application of nanotechnology. 2014.
- [7] OECD. Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. No.43. Genotoxicity of manufactured nanomaterials: Report of the OECD expert meeting [EB/OL]. 2014.
- [8] ICH. Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use S2(R). 2011.
- [9] OECD. Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No.63. Physical-chemical parameters: measurements and methods relevant for the regulation of nanomaterials. 2016.
- [10] OECD. Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No. 36. Guidance on Sample Preparation and Dosimetry for the Safety Testing of Manufactured Nanomaterials. 2012.

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.