

[综述]

# 开展临床前药物依赖评价的判断依据及其研究方法的概述

李芊芊\* 张颖丽 王三龙\*\*

(中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心、  
药物非临床安全评价研究北京市重点实验室,北京,100176)

**摘要** 候选药物的研发涉及对潜在疗效和安全性的彻底评估。目前监管机构和开发者目标都集中在候选药物的长期毒性、生殖毒性、遗传毒性的开展,而对药物依赖性评价研究的重视度远远不够,这可能会使具有依赖性的药物流入市场。因此本文根据国内外指导原则和参考文献探讨了开展临床前药物依赖评价的判断依据以及简要概述研究方法,为市场监管和开发者评估新靶点药物提供可靠的依据。

**关键词** 药物成瘾/依赖; 中枢神经系统; 血脑屏障; 药物辨别; 自身给药

doi: 10.13936/j.cnki.cjdd1992.2018.05.004

中图分类号 R96

## 1 前言

新药研发,首先最应关注的是病人的安全用药。潜在的威胁因素之一是药物误用或者药物滥用。药物滥用是指违背了公认的医疗用途和社会规范而使用药物,且用药后产生欣快感或其他的精神作用,从而导致了长期依赖药物的行为。滥用药物目前不仅局限于毒品(海洛因、可卡因和甲基苯丙胺),某些处方药和非处方药也具有一定的成瘾性,且销售额出现逐年增长趋势,如治疗注意力缺陷多动症的兴奋剂(如利他林)<sup>[1]</sup>和治疗疼痛的阿片类药物(如盐酸羟考酮控释片剂)<sup>[2]</sup>。

具有成瘾性处方药和非处方药滥用已成为严重的全球健康新问题。在过去10年,在美国,这个问题增加了使用者终身并发症(例如艾滋病/艾滋病、丙型肝炎)的风险,增加了自杀或意外过量用药造成的死亡率,以及增多了犯罪、成瘾和生产力丧失有关的社会问题<sup>[3]</sup>。欧洲也观察到了类似现象<sup>[4]</sup>。我国近年来使用阿片类处方药也在逐年增多。因此,要防止这个问题继续恶化,需要监管机构和制药公司对新化合物进行合理评估,在新药上市前判断新化合物是否具有依赖性,基于此,美国、欧盟等都相继提出临床前药物依赖研究的指导原则,为监管机构提供依据。本文根据国内外指导原则及文献,

探讨了开展临床前评价药物依赖的判断依据及简述了其评价的研究方法,为开发者和相关机构提供参考依据。

## 2 药物依赖概念及其作用机制

药物依赖性是指药物长期与机体相互作用,使机体在生理机能、生化过程和/或形态学发生特异性、代偿性和适应性改变的特性,停止用药可导致机体的不适和/或心理上的渴求。有研究表明其发生原因与异常的学习记忆有关。成瘾性药物剥夺了正常记忆的神经环路,形成了长期维持的药物记忆,从而导致成瘾者反复复吸<sup>[5]</sup>。所参与的脑区有杏仁核、伏隔核、腹纹状体和前额叶皮质<sup>[6]</sup>。目前研究发现,多巴胺能神经系统、谷氨酸能神经系统、 $\beta$ -肾上腺素能受体等都参与药物成瘾作用机制。研究提示,中脑腹侧被盖区(Ventral tegmental area, VTA)的多巴胺(Dopamin, DA)神经元在学习记忆中起重要作用<sup>[7]</sup>。这些神经元在奖赏性记忆出现时短暂的放电,而成瘾药物,如可卡因,通过药理作用可诱导DA神经元放电<sup>[8]</sup>。研究提示,多巴胺受体D1和D3的部分激动剂和拮抗剂可以降低啮齿动物和非人类灵长类的药物条件位置偏爱,其结果证明D1和D3受体参与药物奖赏作用及觅药行为<sup>[9]</sup>。其次,谷氨酸是大脑中的一种主要兴奋性神经递质,其中N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体是离子型谷氨酸受体的一个亚型,研究提示NMDA受体与成瘾性相关,NMDA拮抗剂可抑制

\* E-mail: lily\_lqq@163.com

\*\* 通信作者: E-mail: wangsanlong@nifdc.org.cn

MK-801 对可卡因致敏作用<sup>[10]</sup>。β-肾上腺素受体下游信号通路的激活可由 G 蛋白或者 β-arrestin 信号通路所介导,β-Arrestins 在细胞中泛素化表达,研究发现,激活前额叶下边缘皮层 β-arrestin 介导的受体信号通路能促进可卡因成瘾的消退学习;而破坏该信号通路则可严重损害成瘾消退学

习<sup>[11]</sup>。因此,新化合物的作用靶点,特别是脑区内的靶点,是我们考虑新药是否有潜在依赖性的重要因素之一,且与神经递质或神经通路相关的新化合物应该作为重点的考察对象,表 1 重点概括了与药物依赖作用机制相关的药物类别。

表 1 与药物依赖作用机制相关的药物列表

药物类别	药物作用靶点	相关内容
单胺类神经递质抑制剂	单胺类神经递质:去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)等	五羟色胺再摄取抑制剂(SSRIs)
中枢神经系统兴奋剂	多巴胺(DA)	注意力缺失过动症(ADHD)药物
抗焦虑药	γ-氨基丁酸(GABA)	苯二氮草类
NMDA 拮抗剂	NMDA(离子谷氨酸受体亚型)	苯环己哌啶,氯胺酮
大麻素类	内源性大麻素受体	脂肪酸酰胺水解酶(FAAH)抑制剂
阿片类	阿片类受体	吗啡,芬太尼

### 3 开展临床前药物依赖安全评价判断依据

#### 3.1 物理化学性质是决定临床前药物依赖评价关键因素之一

新药研发,是一个耗时耗资的过程,开发者本着节约成本的原则,选择性的完成必要项目,新药物靶点是否需要进行临床前药物成瘾安全评价,通常最先关注的是否能够进入血脑屏障。

血脑屏障是指脑毛细血管壁与神经胶质细胞形成的血浆与脑细胞之间的屏障,以及由脉络丛形成的血浆和脑脊液之间的屏障,这些屏障能够阻止某些物质(多半是有害的)由血液进入脑组织。血脑屏障是由内皮细胞组成,这些内皮细胞与其他组织的内皮细胞相比有较少的开孔,且他们有大量的外排泵,有效的将物质从大脑中运送出去。这个系统可以有效的抵抗对机体有害的物质进入脑区,从而起到保护机体的作用。目前新药的研发主要有小分子化药、生物分子药物,其最主要的区别在于分子量的大小,小分子药物分子量远远小于 1000 Da,而生物分子药物通常大于 1 kDa,分子量越大,分子的直径越大,如水的直径通常为 ~3 埃(~埃)或 ~0.3 纳米(纳米),它足够小可以在细胞之间通过(通过细胞旁转运);而血清白蛋白,分子量为 65-70 kDa,有效实验直径为 7-8 nm,很难通过血脑屏障进入脑<sup>[12]</sup>。综上,分子量大小是药物是否进入脑区的重要因素,也是考虑药物是否具有潜在依赖性的关键考察问题。

除大小外,小分子药物的高亲脂性和中性电荷会影响它们通过扩散进入大脑的能力。小分子通常可以在生理 pH 下以不带电荷的形式和离子化(酸

或碱)形式之间的平衡存在;不带电荷的形式,如亲脂性,可以穿过血脑屏障。具有酸性和碱性官能化学基团(即两性离子)的小分子在生理 pH 下不能以不带电荷的形式存在,易被电离和亲水,且通常不能穿过血脑屏障。类似地,由酸和碱官能团组成的生物制剂,例如氨基酸成分,在生理 pH 下以带电的极性形式存在,因此不能进入中枢神经系统。事实上,研究显示进入大脑的治疗性单克隆抗体的浓度相对于全身(血浆)浓度仅为 0.01% - 0.35%<sup>[13]</sup>。因此生物制剂的脑渗透相对不足,相对需要进行临床前药物依赖安全评价的要求降低。

根据大分子不能进入血脑屏障的理论,生物制剂药物通常不用进行临床前药物依赖性安全评价,但是目前发现治疗缺血性中风,多发性硬化症,帕金森病等疾病的生物制剂易到达脑区;其次,一些生物制剂可能导致高血浆浓度,如果血浆浓度 > 100 mg/mL 的单克隆抗体,可导致脑水平 > 0.35 mg/mL。鉴于较高剂量的相应长的血浆半衰期,加上脑内未清除的单克隆抗体,如果脑区内存在任何脱靶结合,也可能引起成瘾的潜在危险性。此外,许多研究者正在研发跨血脑屏障运输单克隆抗体的研究<sup>[14]</sup>,例如“特洛伊木马”技术,该技术利用了血脑屏障中受体的存在,将关键物质运输到脑实质中。因此除小分子药物外,某些生物制剂也要考虑临床前药物依赖性安全评价。

#### 3.2 药物作用机制是决定临床前药物依赖评价关键因素之一

研究发现谷氨酰胺、去甲肾上腺素、5-羟色胺、

$\gamma$ -氨基丁酸、乙酰胆碱、类阿片受体、正甲基天冬氨酸受体和大麻素受体等在成瘾生物学中发挥着重要的作用<sup>[15]</sup>。谷氨酰胺兴奋传播与生理和病理条件有关,如学习、记忆、神经元可塑性和情绪,而许多神经和精神疾病,包括神经变性疾病、癫痫、中风、创伤性脑损伤、抑郁、焦虑和精神错乱等,都提示谷氨酰胺异常。同时,大多研究也表明谷氨酸神经传递在诱导成瘾行为中起着关键作用。目前研发的金属趋向性谷氨酸受体,作为治疗许多神经精神障碍,包括成瘾的药物靶点<sup>[16]</sup>。5-羟色胺系统在药物相关行为方面及药物成瘾起到重要的作用:可卡因、苯丙胺、甲基苯丙胺、吗啡/海洛因、大麻、酒精和尼古丁。5-羟色胺转运体缺失,增加大鼠觅药行为,研究提示5-HT在短期和长期可卡因成瘾起到的作用与谷氨酸神经传递相关<sup>[17]</sup>。因此,受试药物与上述相关靶点作用可能增加成瘾的风险性;其次,小分子药物是随意结合和/或具有活性代谢物,可能与非预期靶点(包括大脑神经递质受体和/或转运体)相互作用,增加药物依赖的风险;此外,某些小分子药物甚至可能在结构上与内源性配体相似,可能与大脑相关受体或转运体结合,从而导致药物成瘾的危险。FDA在2017年修订的指导原则中提出<sup>[18]</sup>,临床前安全评价,应利用体外受体-配体结合研究进行综合筛选,以确定试验药物及其主要代谢物在大脑中的作用部位。可能的中枢神经系统作用位点包括受体、转运蛋白和离子门控通道系统。值得注意的是,新的药理作用机制可能与先前未被确认的药物依赖性有关。受体配体结合的研究结果可以帮助确定哪些体外功能测定。因此,临床前药效试验完成后,体外小分子与受体结合实验也是有必要开展的,从而确定药物是否具有依赖性的危险。

#### 4 临床前药物依赖性评价的研究方法

关于临床前药物依赖性安全性评价,主要涉及体外和体内动物模型试验,相关指南的提出是有助于评价新药药物依赖的潜力。在2006年,欧洲医药管理局EMA提出临床前药物依赖评价指南<sup>[19]</sup>,在2009年,ICH修订了其临床前药物依赖评价指南(ICH M3 [R2])<sup>[20]</sup>,FDA在2010年提出了临床前药物依赖评价指南<sup>[21]</sup>,并在2017年又再一次修订了其指南<sup>[18]</sup>。上述指导原则提出具有中枢神经系统的活性化合物或者可能引起中枢/外周神经毒性的化合物,需要进行临床前药物依赖安全评价,从而明确母体化合物和代谢物是否具有药物成瘾性潜在危险。指导原则还提出临床前评价药物成瘾试验种属的选择、给药剂量、给药方法及评价试验方法的选

择,以及药物成瘾评价方法为自身给药、条件位置偏爱、药物辨别、躯体依赖试验等,下面对相关内容进行详细论述。

##### 4.1 种属的选择

通常,临床前药物依赖评价首选动物是啮齿类动物,首先因为啮齿类动物已被证实可用于这些研究,其次是由于该物种具有成本低和可得性的优势。除了啮齿类动物,非人灵长类动物也经常被用于滥用评估。在毒理学实验设计中适当考虑3Rs原则是至关重要的,特别是对于那些动物有限的,应尽量减少不必要的动物使用。ICH指南M3(R2)非临床安全研究表明,使用啮齿类动物其药物活性目标与人类一致时,应在啮齿动物中进行非临床滥用评估。非人灵长类动物应只能在有明确的证据表明,它们可以预测药物成瘾潜力以及啮齿动物模型是不能够足以说明的情况下使用。另外,在研究中使用两种性别动物是最佳的<sup>[22]</sup>。在研究中使用的动物的数量应该基于统计学分析,以确保样本大小适合于检测可归因于试验药物的行为变化。

##### 4.2 给药方法的选择

通常选择临床给药途径,然而,监管指导文件规定,由于药物普遍滥用不止一条途径,以及那些显然不是预期的临床路径(例如,静脉,吸入(吸烟),或吹入,而不是预期的口服途径),应考虑其他给药途径,并在可行时进行测试。大多数小分子药物用于口服给药,并且由于它们的化学特性经常避免静脉给药途径。

##### 4.3 动物模型

**4.3.1 条件位置偏爱实验** 条件性位置偏爱(Conditioned place preference, CPP)是常用的药物模型。各国指导原则中都提及该模型可作为临床前药物依赖的评价模型。该技术通常用于评价非静脉给药的候选化合物的奖赏效果。由于该模型不能达到自身给药的模拟,所以该模型不能确定候选药物是否在几天或几周内仍保持增强。因此对于静脉给药的药物,美国和欧盟指导原则不提倡只做CPP,建议采用CPP和自身给药两种模型。然而,有些情况下,当一种药物不适合静脉给药的,或其半衰期较长,自身给药会引起药物积累,那么CPP就是重要选择的模型之一。

**4.3.2 自身给药实验** 药物的精神依赖性产生对该药的渴求,对觅药行为和用药行为具有强化效应。研究提示某些药物能使动物产生类似或强于自然奖赏的效应,而这些药物几乎都能使人形成依赖,在动物则形成自身给药。另外,研究发现大鼠吗啡静脉自身给药实验,发现吗啡作为正性强化剂能维持动

物的操作行为。根据这些研究,自身给药实验被用于药物依赖实验。

自身给药实验基于操作式条件反射,实验动物主动踩压踏板或碰触鼻触器后,获得一定药物,这些药物对动物产生渴望或是厌恶,而这一作用强化了实验动物的行为,实验动物通过训练可以进行主动觅药。在建立操作式条件反射时,大多数与条件刺激相结合,如声音刺激或光刺激,动物在进行鼻触或压杠时获得药物,同时伴随声音出现或信号灯关闭,这些条件刺激可以使动物获得条件性强化能力<sup>[23]</sup>。根据其实验原理,确定新化合物是否最终能够使动物维持自身给药。为了确定实验是可靠的,需要增加阳性药物和阴性药物。尽量选择与新靶点药物相同药理学活性的阳性药物。

**4.3.3 药物辨别实验** 药物辨别实验(drug discrimination, DD)是一种研究药物的辨别刺激性质的行为药理学实验方法。它可以判断一种药物在控制行为方法,是否具有辨别刺激功能,即能否使动物辨别或区分两种或两种以上的药物情形,继而产生不同的行为反应<sup>[24]</sup>。

药物鉴别分析是一项操作任务,动物可以选择杠杆,以指示是否使用了与训练药物相似的有感间信号的活性物质。这种方法不是专门用来评估药物的增强作用,而是可以提供有关物质作用机制的信息。在操作任务中建立可靠的反应机制,动物首先给予训练药物,观察者在观察区域观察到已知的药物反应,再给予新的化合物,辨别与训练药物是否有相似或不同的药物反应。典型的情况是,所选择的训练药物具有与试验物质相似的药理和/或行为作用。目前研究者发现,一些新的具有成瘾性药物,如具有幻觉反应的代谢性谷氨酸受体5(mGluR5)拮抗剂不能呈现与传统药物一致的药理作用,但是与不给药的动物相比,

给予mGluR5拮抗剂动物都出现明显的药物反应,因此对于临床前药物依赖安全评价,要特别注意在药物辨别实验中没有显现与传统一致的药物,这些药物可能使人类产生精神性反应,且有可能具有潜在依赖性<sup>[25]</sup>。

**4.3.4 躯体依赖反应** 躯体依赖是由于长期使用某种药物而产生的一种状态,这种药物产生了耐受性,而且由于停止服用或剂量减少(突然停止使用)或服用已知的拮抗剂而产生了消极的身体症状。非临床研究,主要考察连续给予受试物至少两周后,突然停止给药,观察动物的戒断症状,与同类的代表药物作对比,按照戒断症状的严重程度判断受试药的依赖性潜力。躯体依赖实验,通常有自然戒断试验和催促试验。其中自然戒断试验的戒断症状发作持续时间长,对戒断症状的评价有一定困难。而催促试验,在短时间内给予动物大剂量受试药,然后注射受体对抗剂,观察和记录是否出现戒断症状及其戒断程度,相对自然戒断试验,催促试验的戒断症状出现的更快,表现的更明显,但催促试验只适用于竞争性受体对抗剂的阿片类药物。

## 5 结论

抗抑郁症药物、抗精神兴奋药物、治疗酒精成瘾药物以及治疗PTSD药物越来越多进入市场,另外研究发现,有一些上市的新靶点药物与某些生物药的副作用是出现头痛及头晕,因此,小分子靶点药物、某些生物制剂以及神经系统药物需要进行系统非临床和临床药物依赖性研究评估。但进行必要药物依赖性评估时,需要考虑如上所述的必要因素,对新靶点药物做出正确的评估,为市场监管给出可靠的意见。

## 6 参考文献

- [1] Ismi O, Yildirim V, Vayisoglu Y, et al. The effect of methylphenidate on the hearing of children with attention deficit hyperactivity disorder [J]. *Int Arch Otorhinolaryngol*, 2018, 22, 3: 220-224.
- [2] Schmidt-Hansen M, Bennett MI, Arnold S, et al. Oxycodone for cancer-related pain [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 22: CD003870. doi: 10.1002/14651858.CD003870.pub6.
- [3] Meyer AM, Patel SK, Rattana TP, et al. Mody prescription opioid abuse: a literature review of the clinical and economic burden in the United States [J]. *Pop Health Manag*, 2014, 17: 372-387.
- [4] van Amsterdam J, van den Brink W. The misuse of prescription opioids: a threat for Europe? [J]. *Curr Drug Abuse*, 2015, 8: 3-14.
- [5] Milton AL, Everitt BJ. The persistence of maladaptive memory: addiction, drug memories and anti-relapse treatments [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2012, 36: 1119-1139.
- [6] Hsiang HL, EPP JR, Van den Oever MC, et al. Manipulating a "cocaine engram" in mice [J]. *J Neurosci*, 2014, 34: 14115-14127.
- [7] Schultz W. Neuronal reward and decision signals: from theories to data [J]. *Physiol Rev*, 2015, 95, 3: 853-951.
- [8] Covey DP, Roitman MF, Garris PA. Illicit dopamine transients: reconciling actions of abused drugs [J]. *Trends Neurosci*, 2014

- ,37:200-210.
- [9] Volkow ND, Wise RA, Baler R. The dopamine motive system: implications for drug and food addiction[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2017, 18: 741-752.
- [10] Chen J, Ma Y, Fan R, et al. Implication of Genes for the N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Receptor in Substance Addictions[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55: 7567-7578.
- [11] Liu X, Ma L, Li HH, et al.  $\beta$ -Arrestin-biased signaling mediates memory reconsolidation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 4483-4488.
- [12] Gabathuler R. Development of new peptide vectors for the transport of therapeutic across the blood-brain barrier[J]. *Ther Deliv*, 2010, 1: 571-86.
- [13] Shah DK, Betts AM. Antibody biodistribution coefficients: inferring tissue concentrations of monoclonal antibodies based on the plasma concentrations in several preclinical species and human[J]. *MAbs*, 2013, 5: 297-305.
- [14] Watts RJ, Dennis MS. Bispecific antibodies for delivery into the brain[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2013, 17: 393-399.
- [15] Kalivas PW, Volkow ND. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice[J]. *Am J Psychiatry*, 2005, 162: 1403-1413.
- [16] Pomierny-Chamioł L, Rup K, Pomierny B. Metabotropic glutamatergic receptors and their ligands in drug addiction[J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 142: 281-305.
- [17] Caffino L, Verheij MMM, Que L, et al. Increased cocaine self-administration in rats lacking the serotonin transporter: a role for glutamatergic signaling in the habenula[J]. *Addict Biol*, 2018, 24: doi: 10.1111/adb.12673. [Epub ahead of print].
- [18] FDA. Assessment of Abuse Potential of Drugs Guidance for Industry U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2017.
- [19] EMA. Guideline on the non-clinical investigation of the dependence potential of medicinal products. Evaluation of medicines for human use. European Medicines Agency (EMA), 2006.
- [20] ICH. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH harmonised tripartite guideline. Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals M3(R2), current step 4 version, 2009.
- [21] FDA. Guidance for industry, assessment of abuse potential of drugs, Draft Guidance, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2010.
- [22] O'Connor EC, Chapman K, Butler P, et al. The predictive validity of the rat self-administration model for abuse liability[J]. *Neurosci Beh Rev*, 2011, 35: 912-938.
- [23] Mead AN. Appropriate experimental approaches for predicting abuse potential and addictive qualities in preclinical drug discovery[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2014, 9: 1281-1291.
- [24] Swedberg MD. Drug discrimination: A versatile tool for characterization of CNS safety pharmacology and potential for drug abuse[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2016, 81: 295-305.

收稿日期: 2018-08-19

修回日期: 2018-09-30

## (上接第327页)

- [38] 罗菊芬. 经皮穴位电刺激对甲基苯丙胺依赖者稽延期戒断症状影响的临床观察[D]. 福建: 福建中医药大学, 2017: 1-19.
- [39] Li SX, Shi J, Epstein DH, et al. Circadian alteration in neurobiology during 30 days of abstinence in heroin users[J]. *Biol Psychiatry* 2009, 65(10): 905-912.
- [40] 张国富, 任艳萍, 盛利霞, 等. 海洛因依赖者垂体-甲状腺轴变化[J]. *临床精神医学杂志* 2008, 18(4): 217-219.
- [41] 郭崧, 盛利霞, 程宇航, 等. 海洛因依赖者自然戒断后免疫学动态变化[J]. *中国药物依赖性杂志* 2002, 11(4): 269-273.
- [42] 朱伟, 张建兵, 周文华, 等. 东莨菪碱脱毒治疗对海洛因依赖者血清瘦素水平营养状态的影响[J]. *中国药物依赖性杂志*, 2003, 12(2): 113-115.
- [43] 谢海啸, 张文辉, 叶波, 等. 海洛因依赖者骨代谢的变化[J]. *实用医学杂志* 2007, 23(23): 3770-3771.
- [44] 章海凌. 海洛因依赖者骨代谢生化指标、瘦素水平和骨密度的改变[A]. 浙江省医学会. 中国《骨质疏松与骨矿盐疾病诊疗指南》专题研讨班暨浙江省骨质疏松与骨矿盐疾病防治进展学术年会论文集汇编[C]. 杭州: 浙江省医学会, 2007: 137-139.

收稿日期: 2018-07-01

修回日期: 2018-08-20