

ICS 13.100
C 52

GBZ

中华人民共和国国家职业卫生标准

GBZ/T 240.29—2011

化学品毒理学评价程序和试验方法 第 29 部分：毒物代谢动力学试验

Procedures and tests for toxicological evaluations of chemicals—
Part 29: Toxicokinetics test

2011-08-19 发布

2012-03-01 实施



中华人民共和国卫生部 发布

前 言

根据《中华人民共和国职业病防治法》制定本部分。

GBZ/T 240《化学品毒理学评价程序和试验方法》现分为以下四十四部分：

- 第 1 部分：总则；
- 第 2 部分：急性经口毒性试验；
- 第 3 部分：急性经皮毒性试验；
- 第 4 部分：急性吸入毒性试验；
- 第 5 部分：急性眼刺激性/腐蚀性试验；
- 第 6 部分：急性皮肤刺激性/腐蚀性试验；
- 第 7 部分：皮肤致敏试验；
- 第 8 部分：鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验；
- 第 9 部分：体外哺乳动物细胞染色体畸变试验；
- 第 10 部分：体外哺乳动物细胞基因突变试验；
- 第 11 部分：体内哺乳动物骨髓嗜多染红细胞微核试验；
- 第 12 部分：体内哺乳动物骨髓细胞染色体畸变试验；
- 第 13 部分：哺乳动物精原细胞/初级精母细胞染色体畸变试验；
- 第 14 部分：啮齿类动物显性致死试验；
- 第 15 部分：亚急性经口毒性试验；
- 第 16 部分：亚急性经皮毒性试验；
- 第 17 部分：亚急性吸入毒性试验；
- 第 18 部分：亚慢性经口毒性试验；
- 第 19 部分：亚慢性经皮毒性试验；
- 第 20 部分：亚慢性吸入毒性试验；
- 第 21 部分：致畸试验；
- 第 22 部分：两代繁殖毒性试验；
- 第 23 部分：迟发性神经毒性试验；
- 第 24 部分：慢性经口毒性试验；
- 第 25 部分：慢性经皮毒性试验；
- 第 26 部分：慢性吸入毒性试验；
- 第 27 部分：致癌试验；
- 第 28 部分：慢性毒性/致癌性联合试验；
- 第 29 部分：毒物代谢动力学试验；
- 第 30 部分：皮肤变态反应试验-局部淋巴结法；
- 第 31 部分：大肠杆菌回复突变试验；
- 第 32 部分：酵母菌基因突变试验；
- 第 33 部分：果蝇伴性隐性致死试验；
- 第 34 部分：枯草杆菌基因重组试验；
- 第 35 部分：体外哺乳动物细胞程序外 DNA 合成(UDS)试验；
- 第 36 部分：体内哺乳动物外周血细胞微核试验；

- 第 37 部分:体外哺乳动物细胞姊妹染色单体交换试验;
- 第 38 部分:体内哺乳动物骨髓细胞姊妹染色体交换试验;
- 第 39 部分:精子畸形试验;
- 第 40 部分:繁殖/生长发育毒性筛选试验;
- 第 41 部分:亚急性毒性合并繁殖/发育毒性筛选试验;
- 第 42 部分:一代繁殖试验;
- 第 43 部分:神经毒性筛选组合试验;
- 第 44 部分:免疫毒性试验。

.....

本部分为 GBZ/T 240 的第 29 部分。

本部分由卫生部职业卫生标准专业委员会提出。

本部分由中华人民共和国卫生部批准。

本部分起草单位:中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所。

本部分主要起草人:侯粉霞、孙金秀、郑玉新、李斌、刘海龙、程秀荣。

化学品毒理学评价程序和试验方法

第 29 部分：毒物代谢动力学试验

1 范围

GBZ/T 240 的本部分规定化学品毒物代谢动力学试验的目的、试验方法、评价报告和结果解释。本部分适用于化学品的毒物代谢动力学试验。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GBZ/T 224 职业卫生名词术语

GBZ/T 240.1 化学品毒理学评价程序和试验方法 第 1 部分：总则

3 术语和定义

GBZ/T 240.1、GBZ/T 224 界定的术语和定义适用于本文件。

3.1

代谢 metabolism

外源性化学品在生物体内发生化学变化的全过程。

3.2

吸收 absorption

外源化合物通过某种方式进入体内的过程。

3.3

分布 distribution

经吸收外源化合物和(或)代谢产物在体内的循环、分布过程。

3.4

排泄 excretion

外源化合物和(或)代谢产物向体外转运的过程。

4 试验目的

为了获得足够的有关受试样品的吸收、分布、生物转化以及排泄的信息，从而了解它的毒作用机理。通过试验所获得的受试样品基本的毒物代谢动力学参数，可以了解受试样品及其代谢物在组织和(或)器官内是否具有潜在的蓄积性和诱导生物转化的作用。根据这些资料，在对人的危险度评价中可用于估计动物的毒性资料[特别是慢性毒性和(或)致癌性资料]的外推是否合适和恰当。

5 试验方法

毒物代谢动力学试验的第一阶段为获取与代谢相关的基本资料，第二阶段为附加试验。第二阶段

试验方法取决于掌握受试样品的毒性资料以及第一阶段的试验结果。第一阶段常采用经口染毒途径，如果受试样品有其他的接触途径，第一阶段试验中也应包括经皮和(或)吸入途径染毒。

5.1 动物选择

首选大鼠进行试验，也可选用其他已被证明的更敏感的动物种属。

5.2 受试样品

5.2.1 采用放射性同位素示踪法要求的标记物：

- a) 放射活性试验物质的纯度最好达到 95% 以上；
- b) 同位素标记物的活性强度和给药剂量，应满足标记的受试样品及其代谢产物活性测定的最低检测限，同位素标记物应具有相对稳定性；
- c) 杂质含量等于或大于 2% 时，应对杂质的种类和含量进行评价并报告。

5.2.2 采用非放射的测定方法，其特异性和敏感性应等于或大于放射性测定方法。

5.2.3 染毒

首选经口灌胃染毒。特殊的情况下，受试样品可经胶囊或混入饲料喂饲染毒。应根据动物体重确定实际的染毒剂量。

5.3 预试验

建议通过预试验选择受试样品毒物代谢动力学试验及代谢试验的条件。

5.4 第一阶段试验

5.4.1 简介

目的是测定低剂量一次性染毒后受试样品生物转化和代谢动力学的的数据，并可测定所产生的代谢产物从体内排泄的速率、途径以及代谢产物的类型。

5.4.2 动物的数量和性别

第一阶段试验中，初成年雄性大鼠至少需要 4 只。如果有证据证明不同性别的动物的毒性存在明显的差别，则应同时使用两种性别的动物。

5.4.3 剂量设计

采用一次性给予受试样品的方法。染毒的剂量应保证在排泄物中检测到它的代谢产物。选择剂量时，如果没有其他的毒性资料可参考，可按照 LD_{50} 的几分之一计算。对于低毒性物质，最大的染毒剂量为 1 000 mg/kg 体重。

5.4.4 检测分析

5.4.4.1 排泄

分别在不同的时相测定尿液、粪便和呼出气的放射活性。试验得到的数据(从尿液、粪便和呼出气中排出的受试样品量占所给予剂量的百分比)可用于测定受试样品排泄的速率和程度、有助于建立总量平衡(即给予受试样品的总量或总放射性与所测得的各组织分布量、血液含量及排泄物中含量总和的一致性)，这些数据结合代谢动力学参数还可用于评定受试样品吸收的程度。

动物应放在单独的代谢笼中收集排泄物。排泄物的收集应在染毒后第 7 天结束，或者当至少 90%

的受试样品被排泄时就终止收集。在收集尿液的第1天,应在染毒后第6 h、12 h、24 h分别收集并测定尿液中总的放射活性。第2天起,每天收集24 h尿液,测定尿液中总的放射活性,直至试验结束。粪便中总的放射活性的测定在染毒后24 h开始,之后每天测定一次,直至试验结束。染毒后24 h内,如果呼出气中受试样品少于1%时,应终止对CO₂或其他挥发性物质的收集。

5.4.4.2 组织分布

5.4.4.2.1 第一阶段试验结束时,处死动物,收集并冷冻下列组织:肝脏、脂肪、胃肠道、肾脏、脾脏、全血以及残余的尸体。证实需要测定的上述这些组织以及残余的尸体中的放射活性占受试样品总放射活性(结合的和未结合的放射活性)的百分比。如果亚慢性或慢性试验表明受试样品具有靶器官毒性,那么,也应分析靶器官中受试样品的放射活性。吸入试验中的肺组织和经皮染毒试验的皮肤,也应测量其放射性。

5.4.4.2.2 也可采用全身自显影技术进行定量测定,可用于测定受试样品在某种器官中是否蓄积或受试样品在某一种组织中特殊的分布类型。

5.4.4.3 代谢

收集动物的排泄物,定性、定量测定其中未发生转化的受试样品及其代谢产物的量。应在每个时相对代谢产物进行简要的描述。如样品量不够或放射活性较低,也可将几个时相尿液或粪便收集到一起。应采用适当的方法对受试动物的尿液、粪便和呼出气进行定性和定量测定。受试样品中的代谢产物的含量等于或大于5%时,尽量测定其中的所有的代谢产物,从而了解受试样品的代谢谱。如果在这一阶段试验中未能实现对其代谢产物进行评价,那么,在最后的评价报告中应对其进行解释。如果有助于对受试样品的危险性评价,那么排泄物中代谢产物的含量虽然少于受试样品总量的5%,也要求对其代谢产物进行评价。尽可能对受试样品及其代谢产物的结构用认可的方法进行评价。

5.5 第二阶段试验

5.5.1 吸收

若第一阶段的试验不能确定受试样品吸收程度,或粪便中受试样品的量占所给受试样品总量的20%以上时,要求测定受试样品的吸收程度。测定受试样品的吸收程度时,或者经静脉给予受试样品,然后测定排泄物中的放射活性;或者受试样品经口染毒后,测量胆汁中的放射活性。

经静脉给予受试样品时,对至少3只雄性大鼠(某些情况下也同时使用两种性别、注射体积为1 mL/kg的动物)进行单剂量一次性给予受试样品(不超过第一阶段经口染毒使用的剂量)。经口染毒给予受试样品时,按照第一阶段所述的方法对受试样品进行测定。测定胆汁中的受试样品应选用经口染毒。试验至少采用3只雄性大鼠(某些情况下也同时使用两种性别的动物)进行胆管插管,将受试样品一次性经口给药。随后通过在其胆管上插管采集48 h~72 h的胆汁,监测胆汁分泌液中放射活性的大小,观察受试样品是否经胆汁排泄及所占总量的百分比。

5.5.2 受试样品在组织中的分布时点

试验中选择对哪些组织进行测定取决于受试样品的靶器官毒性和(或)致癌毒性等相关资料;所需要观察的时点数取决于第一阶段试验中得到的代谢动力学方面的资料,时点的选择可灵活掌握。

每个时点都应采用适当的剂量对3只大鼠经口染毒,然后,测定受试样品在所选定组织中分布随时间变化的过程。使用单性别的实验动物即可,除非发现有性别差异。评价组织分布时应使用适当的方法对分布于组织的总量及对代谢产物的量进行评价。

5.5.3 血浆代谢动力学

试验的目的是获得受试样品的基本毒物代谢动力学参数(半衰期、表观分布容积、吸收速率常数、曲线下面积)的估计值。代谢动力学资料可用于解决生物利用度和阐明清除率的饱和是否是呈剂量-依赖关系的。在进行该试验时,每组至少应有3只大鼠,2个剂量组,常选择主要毒性试验的NOAEL和LOAEL。受试样品染毒后,应对每只实验动物在适当的时间点采用适当的方法进行取血样,使用合适的方法分析全血和血浆中总的放射活性(或者,在采用非放射性测定方法时,测定受试样品的总量)并计算受试样品在全血及血浆中含量的比率。使用合适的软件进行参数分析。

血浆代谢动力学参数主要包括:

- $T_{1/2a}$ (a相半减期);
- $T_{1/2b}$ (b相半减期);
- k_a (吸收速率常数);
- k_e (排泄速率常数);
- k_m (代谢速率常数);
- T_{max} (血中最大浓度时间,峰值时间);
- c_{max} (血中最大浓度);
- V_c (中央室表观容积);
- V_d (表观分布容积);
- AUC(曲线下面积);
- CL(清除率);
- F (吸收分数,%)。

5.5.4 诱导试验

5.5.4.1 在下列情况下,应进行生物转化的诱导试验:

有证据表明,受试样品的代谢过程被诱导后其毒性增加;受试样品的剂量和代谢之间无线性关系;第一阶段试验中,通过对受试样品代谢产物评价,表明有可能存在有毒性的代谢产物;用可以起诱导作用的一种因素进行诱导,测定被诱导酶的活性;用可以引起诱导作用的一种因素进行诱导,测定被诱导酶的活性。

有数种体内和体外方法可用于评价酶诱导的作用。如果证实了受试样品的诱导作用,就应说明这种诱导作用与亚慢性和(或)慢性毒性的关系。

5.5.4.2 如果上述体外或体内试验的结果证明在受试样品的代谢过程中其毒性发生明显的改变,这时应测定I相和II相反应酶的活性。这些结果有助于将有关的酶与受试样品对人体的危险性联系起来,因为,某些存在于动物体内的同工酶在人体内却不存在,相反,人体的某些同工酶在动物体内不存在。

5.5.5 生理性模型

在测定药物和外来化学品分布的代谢动力学参数时,常使用建立模型的传统方法,即将哺乳动物机体用单纯的数学模型表示。另外,最近使用了一些模型,它们考虑了动物本身的生理过程,可以限定受试样品分布的一些生物特点以及组织中剂量与组织反应的关系。应用这些所谓的生理性模型,也允许将一种动物的试验结果外推到另一种动物的试验结果,这在进行危险性评价时常常是必需的。应鼓励将这种生理性模型作为试验工具来解决与受试样品生物转化和代谢动力学有关的问题。生理性模型所得到的试验结果有助于对受试样品在动物与人类之间的生物转化和毒物代谢动力学进行比较和在特定接触条件下的危险度进行评价。

6 评价报告

除 GBZ/T 240.1 规定的一般项目外,评价报告还应包括以下内容:

- a) 受试样品:应注明放射性同位素的类型、标记的部位、标记物的比活性以及放射性纯度进行说明。
- b) 试验方法:受试样品的配制和所用介质,动物组数及每组的动物数;受试样品的剂量以及给予的体积;染毒途径;染毒次数;禁食时间;每只动物的总的放射活性;动物管理;样品收集;样品的管理;评价各种代谢物所用的分析方法;对各种代谢物进行定性和定量分析;所用的其他测定试验及其方法(应说明代谢产物分析方法的合理性)。
- c) 统计分析方法:要注明毒物代谢动力学参数分析程序。
- d) 试验结果:试验结果应符合以下要求:
 - 结果中应综合所有的试验数据,用适当的统计表格表示;也可给出有代表性的色谱及分光光度法测定的数据。说明受试样品可能的代谢途径和各种代谢产物的分子结构。
 - 结果中还应包含下列内容:
 - 1) 说明采用其他的染毒途径的正当性;
 - 2) 说明毒物代谢动力学及代谢试验中所选择的剂量水平的正当性;
 - 3) 对毒物代谢动力学和代谢试验的设计中的预试验进行描述;
 - 4) 说明尿液、粪便和呼出气中放射活性的回收量及所占百分比,如经皮染毒试验,应说明皮肤、皮肤冲洗液的回收率中残余的放射活性;
 - 5) 每克组织中所含有的受试样品占给予的受试样品总量的百分比及质量;
 - 6) 包括动物各组织及粪、尿排泄物在内的总的回收率及覆盖装置和代谢笼清洗液中的总回收率;
 - 7) 经相关的途径染毒后,血浆中代谢产物的含量及其毒物代谢动力学参数;
 - 8) 经相关的途径染毒后,受试样品的吸收速率和程度;
 - 9) 排泄物中受试样品及其代谢产物(其含量占染毒总量的百分比)的量;
 - 10) 有关每只动物的资料。
- e) 结论:讨论和结论中应包含如下内容:
 - 对受试样品的代谢途径进行合理解释;
 - 尽可能说明是否有性别差异;
 - 对各种代谢产物的性质、含量、清除率、潜在的生物蓄积性和组织的残留量进行合适的讨论;
 - 试验者应根据试验结果,简明地提出试验的结论。

7 第一阶段试验中其他的染毒途径

7.1 经皮染毒

7.1.1 经皮染毒时,应设立 1 个(或多个)剂量组。经皮染毒的受试样品应溶解在适当的溶剂中,采用适当的染毒体积。试验开始前,剪去受试动物躯干区域的毛。若采用剃毛的方法,应在试验前 24 h 进行。剪毛和剃毛时,应注意避免损伤皮肤,以免改变皮肤的通透性。受试样品涂敷的面积约占动物体表面积的 10%。对于高毒性物质,其在皮肤的涂敷面积可少于体表面积的 10%。用式样统一的薄膜尽可能多地覆盖涂敷部位。试验中所有动物的染毒面积应相同。涂敷区域应采用适当的方法覆盖。染毒后应将每只动物单独饲养。

7.1.2 皮肤冲洗试验:为了评价用稀肥皂水或水冲洗染毒部位的受试样品后受试样品被清除的程度,必须进行冲洗试验。一般采用单一剂量,对2只动物的皮肤进行染毒。染毒后2 min~5 min,用稀肥皂水或水冲洗染毒区域的皮肤。必须测定冲洗液中受试样品的量来评价冲洗效果。除非受试样品具有腐蚀性,否则受试样品至少应在皮肤上涂敷6 h。去掉涂敷物后,必须对染毒部位按皮肤冲洗试验的要求进行冲洗。应测定覆盖物及冲洗液中受试样品的量。试验结束时,处死动物,取下染毒部位的皮肤,并适当地取下其中的一部分,测定皮肤中残留的放射活性。

7.2 经吸入染毒

经吸入染毒时,应采用1种(或多种)浓度的受试样品。剂量的选择应符合设计要求。吸入染毒时应采用锥形鼻套或头套的方式,防止受试样品经其他途径被吸收。如果针对受试样品的特异性采用了其他的吸入染毒方式,应说明改进其染毒方式的正当性。每组动物进行一次性染毒,染毒时间一般为4 h~6 h。

8 结果解释

本试验能够提供受试样品对实验动物的毒物代谢动力学资料。虽然其试验结果仅能有限地外推到人,但它可为人群接触的危险性评价及其毒作用机制提供有价值的信息。
