



辽宁中医药大学

Liaoning University of Traditional Chinese Medicine

实验动物药代动力学研究 的实验设计与评价

Test design and evaluation of Experimental animal
pharmacokinetics for new drugs

辽宁中医药大学实验动物中心-梁喜才

新药开发现状

认识新药发现、开发的风险 淘汰过程的残酷性

目前新药淘汰的分类

- 疗效 (10-20%)
- 毒性 (30-40%)
- 代谢动力学 (30-40%) 关心
- 商业因素 (<10%)





辽宁中医药大学

Liaoning University of Traditional Chinese Medicine

目录

CONTENTS



研究目的与意义



试验设计的要求



研究项目内容



毒代研究

一、研究目的与意义

1. 目的

- 实验动物药代动力学研究是阐明新药在体内**吸收（absorption）**、**分布（distribution）**、**代谢（metablism）**和**排泄（excretion）**的经时过程（简称ADME）及动力学特征；
- 获得新药的基本药代动力学参数, 揭示新药在体内动态变化规律, 为新药的开发研究提供科学依据。



一、研究目的与意义

2. 药物的药动学特性

- 实验动物药代动力学研究是阐明新药在体内**吸收（）**、**分布（）**、**代谢（）**和**排泄（）**的经时过程（简称ADME）及动力学特征；
- 获得新药的基本药代动力学参数, 揭示新药在体内动态变化规律, 为新药的开发研究提供科学依据。



一、研究目的与意义

3. 意义

- ¶ 为设计和优化临床研究给药方案提供重要依据，确保临床研究用药的安全性和合理性；
- ¶ 有助于我们了解药效或毒性的靶器官，阐明药效或毒性产生的基质；
- ¶ 为药效和毒理学评价提供重要线索，对发展更为安全有效的
新药及拟定中毒解救措施具有指导意义。



一、研究目的与意义

4. 研究的六项基本原则

实验动物药代动力学研究，要遵循以下基本原则：

- 试验目的明确
- 分析方法可靠
- 试验设计合理
- 所得参数全面，满足评价要求
- 对试验结果进行综合分析与评价
- 具体问题具体分析



二、试验设计的要求

1. 试验药品

- 应提供受试药物的名称、剂型、批号、来源、纯度
- 保存条件及配制方法
- 使用的受试药物及剂型应尽量与药效学或毒理学研究使用的一致（**同一批次**）
- 研制单位应提供质检报告



二、试验设计的要求

2. 试验动物

一般采用成年和健康的动物。常用动物种属有小鼠、大鼠、兔、豚鼠、犬、小型猪和猴等。选择动物的原则如下：

- 首选动物：尽可能与药效学和毒理学研究一致。
- 尽量在清醒状态下试验，动力学研究最好从同一动物多次采样。
- 创新药应选用两种或两种以上的动物，其中一种为啮齿类动物；另一种为非啮齿类动物（如犬、小型猪或猴等）。其它类型的药物，可选用一种动物，建议首选非啮齿类动物。
- 经口给药不宜选用兔等食草类动物。



雌雄兼用



二、试验设计的要求

3. 剂量选择

- 动物体内药代动力学研究应设置至少三个剂量组，其高剂量最好接近最大耐受剂量，中、小剂量根据动物有效剂量的上下限范围选取。
- 主要考察在所试剂量范围内，药物的体内的动力学过程是属于线性还是非线性，以所得结果有利于解释药效学和毒理学研究中的发现，并为新药的进一步开发和研究提供信息。

4. 给药途径

- 所用的给药途径和方式，应尽可能与临床用药一致。



二、试验设计的要求

5. 生物样品中药物分析方法的选择

- ✓ 对于小分子化学药物目前常用的生物样品分析方法主要有以下几种：
 - 色谱法：包括高效液相色谱法（HPLC）、气相色谱法（GC）、色谱-质谱联用法（LC-MS、GC-MS）；
 - 免疫学方法：包括放射免疫分析法、酶联免疫分析法、荧光免疫分析法等；
 - 放射性核素标记法（ $^3\text{H}/^{14}\text{C}/^{125}\text{I}$ ）。
- ✓ 大分子药物的药代动力学研究分析手段有：生物检定法（Bioassay）、同位素标记法（radiolabels）、免疫分析法（Immunoassay）、理化分析技术等。



三、研究项目内容

内容概要

- 1 血药浓度-时间曲线
- 2 药物的吸收
- 3 药物的分布
- 4 药物的排泄
- 5 药物与血浆蛋白的结合
- 6 药物的生物转化
- 7 对药物代谢酶活性的影响
- 8 药代动力学与毒代动力学



三、研究项目内容

1. 血药浓度-时间曲线

(1) 受试动物数

- 以血药浓度-时间曲线的每个时间点有不少于5个数据为限计算所需动物数。最好从同一动物多次取样。如由多只动物的数据共同构成一条血药浓度-时间曲线，应相应增加动物数，以反映个体差异对试验结果的影响。
- 建议受试动物采用**雌雄各半**，如发现动力学存在明显的性别差异，应增加动物数以便**认识试验药物的药代动力学的性别差异**。
- 对于单一性别用药，可选择与临床用药一致的性别。



三、研究项目内容

(2) 采样点的确定

- 给药前需要采血作为空白样品。
- 给药后的一个完整的C-T曲线，采样时间点的设计应兼顾药物的吸收相、平衡相（或峰浓度附近）和消除相。
- 一般在吸收相至少需要**2-3**个采样点，平衡相在峰浓度附近至少需要**3**个采样点，消除相需要**4-6**个采样点。对于吸收快的药物，应尽量避免第一个点是**C_{max}**。
- 整个采样时间至少应持续到**3-5**个半衰期，或持续到血药浓度为**C_{max}**的**1/10-1/20**。
- 为保证最佳采样点，建议在正式试验前，选择**2-3**只动物进行预试验。



三、研究项目内容

(3) 药代动力学参数的估算

- 将试验中测得的各受试动物的血药浓度-时间数据分别进行药代动力学参数的估算，求得受试物的主要药代动力学参数。
- 静脉注射给药，应提供 $t_{1/2}$ （消除半衰期）、 V_d （表观分布容积）、 AUC （血药浓度-时间曲线下面积）、 CL 或 CL/f （清除率）等参数值；
- 血管外给药，除提供上述参数外，尚应提供 C_{max} 和 T_{max} 等参数，以反映药物吸收的规律。
- 提供一些统计矩参数，如： MRT 、 $AUC_{(0-t)}$ 和 $AUC_{(0-\infty)}$ 等，对于描述药物药代动力学特征的描述也有意义。



三、研究项目内容

2. 药物的吸收

- 对于经口给药的**新药**，应进行整体动物试验，尽可能**同时**进行**血管内给药的试验**，提供绝对生物利用度。
- 如有必要，可进行体外吸收模型（如Caco-2细胞模型）、在体或离体肠道吸收试验以阐述药物吸收特性。
- 对于其它血管外给药的药物及某些改变剂型的药物，应根据立题目的，尽可能提供绝对生物利用度。



三、研究项目内容

3. 药物的分布

- 选用大鼠或小鼠做组织分布试验较为方便。选择一个剂量（一般有效剂量）给药后，至少测定药物在心、肝、脾、肺、肾、胃肠道、生殖腺、脑、体脂、骨骼肌等组织的浓度，以了解药物在体内的主要分布组织。
- 特别注意药物浓度高、蓄积时间长的组织和器官，以及在药效或毒性靶器官的分布（如对造血系统有影响的药物，应考察在骨髓的分布）。参考C-T曲线的变化趋势，选择至少3个时间点分别代表吸收相、平衡相和消除相的药物分布。
- 若某组织的药物浓度较高，应增加观测点，进一步研究该组织中药物消除的情况。每个时间点，至少应有5个动物的数据。



三、研究项目内容

3. 药物的分布

- 做组织分布试验，必须注意取样的代表性和一致性。
- 同位素标记物的组织分布试验，应提供标记药物的放化纯度、标记率（比活性）、标记位置、给药剂量等参数；提供放射性测定所采用的详细方法，如分析仪器、本底计数、计数效率、校正因子、样品制备过程等；提供采用放射性示踪生物学试验的详细过程，以及对生物样品测定时对放射性衰变所进行的校正方程等。
- 尽可能提供给药后不同时相的整体放射自显影图像。



三、研究项目内容

4. 药物的排泄

- 尿和粪的药物排泄：将动物放入代谢笼内，按一定的时间间隔分段收集尿或粪的全部样品，测定药物浓度。
- 粪样品凉干后称重（不同动物粪便干湿不同），按一定比例制成匀浆，记录总体积，取部分样品进行药物含量测定。
- 计算药物经此途径排泄的速率及排泄量，直至收集到的样品测定不到药物为止。
- 每个时间点至少有5只动物的试验数据。
- 应采取给药前尿及粪样，并参考预试验的结果，设计给药后收集样品的时间点，包括药物从尿或粪中开始排泄、排泄高峰及排泄基本结束的全过程。
- 胆汁排泄：一般用大鼠在乙醚麻醉下作胆管插管引流，待动物清醒后给药，并以合适的时间间隔分段收集胆汁，进行药物测定。



代谢笼



三、研究项目内容

5. 药物与血浆蛋白的结合

- 研究药物与血浆蛋白结合**试验可采用多种方法**，如平衡透析法、超过滤法、分配平衡法、凝胶过滤法、光谱法等。
- **多浓度（重复试验三次）**，以了解药物的血浆蛋白结合率是否有浓度依赖性。
- 一般情况下，只有游离型药物才能通过脂膜向组织扩散，被肾小管滤过或被肝脏代谢，因此药物与蛋白的结合会明显影响药物分布与消除的动力学过程并降低药物在靶部位的作用强度。
- 建议根据药理毒理所采用的动物种属，进行**动物与人血浆蛋白结合率比较试验**，以预测和解释动物与人在药效和毒性反应方面的相关性。



三、研究项目内容

6. 药物的生物转化（药物的代谢）

- 对于**新药**，需了解在体内的生物转化情况，包括转化类型、主要转化途径及其可能涉及的代谢酶。
- 对于**新的前体药物**，除对其代谢途径和主要活性代谢物结构确证外，应对原药和活性代谢物进行系统的药代动力学研究。
- 而对主要在体内以代谢消除为主的药物（原形药排泄 $<50\%$ ），生物转化研究则可分为两个阶段：临床前可先采用色谱方法或放射性核素标记方法分析和分离可能存在的代谢产物，并用色谱-质谱联用等方法初步推测其结构。
- 当多种迹象提示可能存在有较强活性的代谢产物时，应尽早开展活性代谢产物的研究，以确定开展代谢产物动力学试验的必要性。



三、研究项目内容

7. 对药物代谢酶活性的影响

- 对于创新药，应观察药物对药物代谢酶，特别是细胞色素P450同工酶的诱导或抑制作用。
- 在临床前阶段可以用底物法观察对动物和人肝微粒体P450酶的抑制作用，比较种属差异。
- 药物对酶的诱导作用可观察整体动物多次给药后的肝P450酶或在药物反复作用后的肝细胞（最好是人肝细胞）P450酶活性的变化，以了解该药物是否存在潜在的代谢性相互作用。



三、研究项目内容

8. 药代动力学与毒代动力学

- 毒代动力学研究通常结合毒性研究进行，将获得的药代动力学资料作为毒性研究的组成部分，以评价全身暴露的结果。
- 药代动力学和毒代动力学研究的目的不同，但两者又是相互联系的，其分析方法是相同的，技术可以共享或相互借鉴
- 最高剂量采用接近动物最大耐受量所得到的动力学参数，对毒代动力学试验设计有直接的参考价值
- 药物组织分布研究结果可为评价药物毒性靶器官提供依据
- 药物与血浆蛋白结合试验的结果也是估算血药浓度与毒性反应关系的依据
- 生物转化研究所提供的代谢产物资料有助于判断可能引起毒性反应的成分和毒代动力学研究应检测的成分



四、毒代研究内容

- 试验设计一般用卫星实验开展毒代动力学研究
 - ◎ 在同一条件研究毒性和毒代问题 具更好的可比性
 - ◎ 避免单独的毒代研究出现与毒性研究的差异
 - ◎ 克服因采样过多影响毒性研究结果
 - ◎ 要求有一定的动物数
- 国际协调会议（ICH）1994规范毒代研究制定毒代研究指导原则
- 我国SFDA将制定相应指导原则（另发布）
- 实验要求在GLP规范下进行毒代动力学评价



四、毒代研究内容

对毒代研究机构的要求

- **GLP**原则指导
- 硬件条件基本与毒性研究相同条件
- 药代研究的生物分析条件
- 软件条件 **GUIDALINE** 和 **SOP**
- 人员条件毒理与药代的结合
- 质量保证体系



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 一次给药毒性研究
 - 毒性研究早期进行
 - 由暴露速度和暴露程度预测毒性
 - 提供长期毒性实验方案设计的依据
 - 解释一次给药的毒性结果



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 长期毒性实验
(卫星实验)
- 动物选择符合药效要求
- 多剂量设计
- 毒性研究与毒代研究同步设计并实施
- 一天暴露量与最后一次给药的暴露量比较
- 稳态浓度与AUC



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 组织分布实验
(ICH原则)
- 单剂量分布实验为临床前药物安全评价的基础实验
- 多剂量分布实验必要
 - 器官组织积蓄
 - 组织半衰期长
 - 稳态浓度高
 - 靶器官毒性明显或特异分布



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 组织分布实验的针对性
- 选择一定剂量
- 特定动物种属
- 选择给药时间
- 采样一般不低于1周，稳态测定不长于3周，长半衰期药物不必使药物完全消除
- 特定组织为测定目标



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 遗传毒性的毒代研究
 - 遗传毒性阳性的药物
 - 测定体内药物暴露水平
 - 测定骨髓浓度
 - 测定血药浓度



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 生殖毒性中的毒代研究
 - 注意动物在妊娠期和授乳期与正常动物的差异
 - 重点研究胚胎毒性和对子代的影响
 - 采集母体和胎子或新生儿测定浓度和暴露量



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 致癌实验中的毒代研究

- 用药3 个月的药物必须进行致癌实验 （ JAPAN ）
- 用药6 个月的药物必须进行致癌实验 （ USA, EEC, ICH ）
- 致癌实验中能产生一系列全身毒性
- 在不同阶段测定暴露量 （ 原形或代谢物 ）
- 有无线性动力学过程



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 生物技术药物的毒代研究
 - 一般化学药物的毒代研究程序不适用与生物技术药物
 - 免疫的介入影响药代和毒代过程
 - 动物选择应考虑免疫的介入
 - 放射性标记物对结果的误导



四、毒代研究内容

毒代研究的实验内容

- 生物技术药物的毒代研究
 - 一般化学药物的毒代研究程序不适用与生物技术药物
 - 免疫的介入影响药代和毒代过程
 - 动物选择应考虑免疫的介入
 - 放射性标记物对结果的误导





辽宁中医药大学

Liaoning University of Traditional Chinese Medicine

谢谢





辽宁中医药大学实验动物中心

Laboratory Animal Center of Liaoning University of Traditional Medicine

- 视频引用
- https://www.bilibili.com/video/BV1j54y1r7NF/?spm_id_from=autoNext

辽宁中医药大学

Liaoning University of Traditional Chinese Medicine

