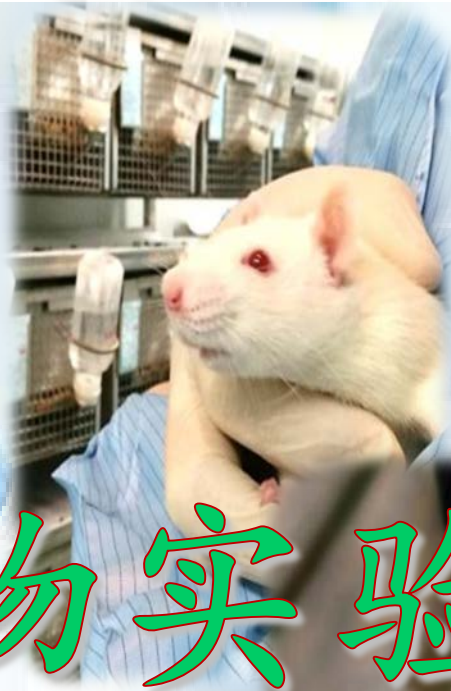
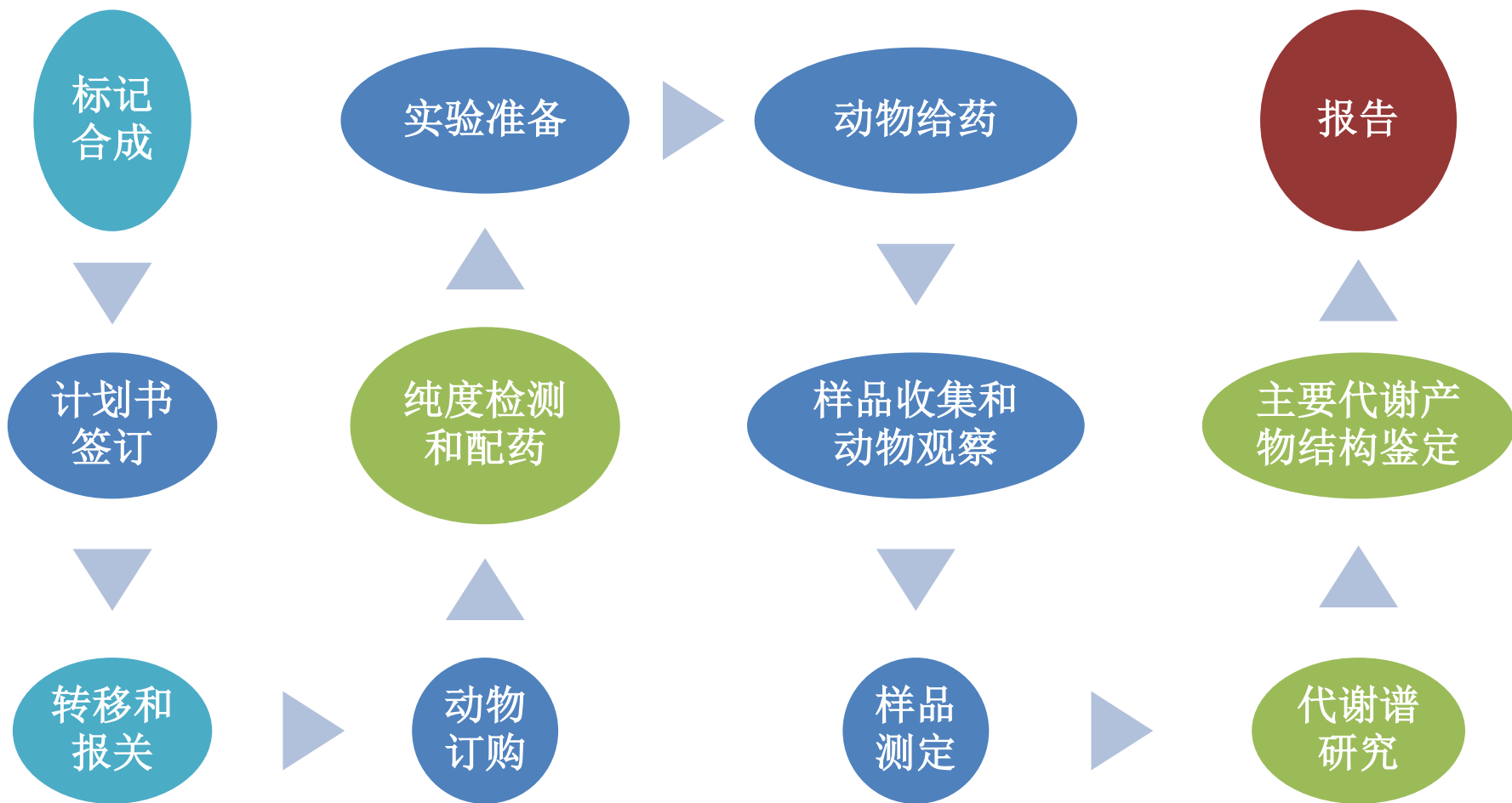


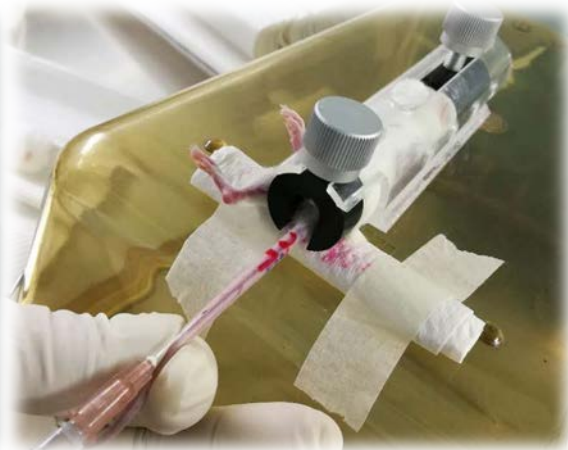
动物实验技术



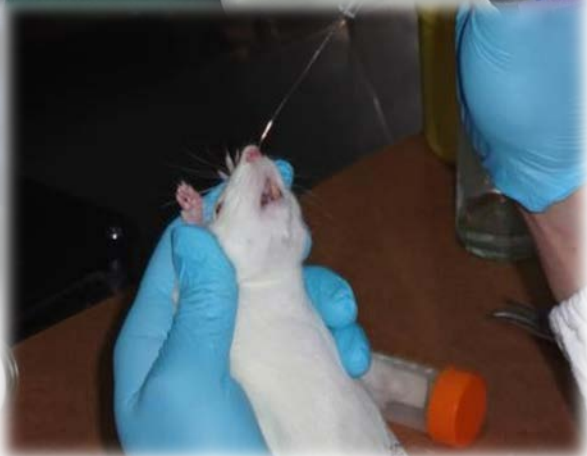
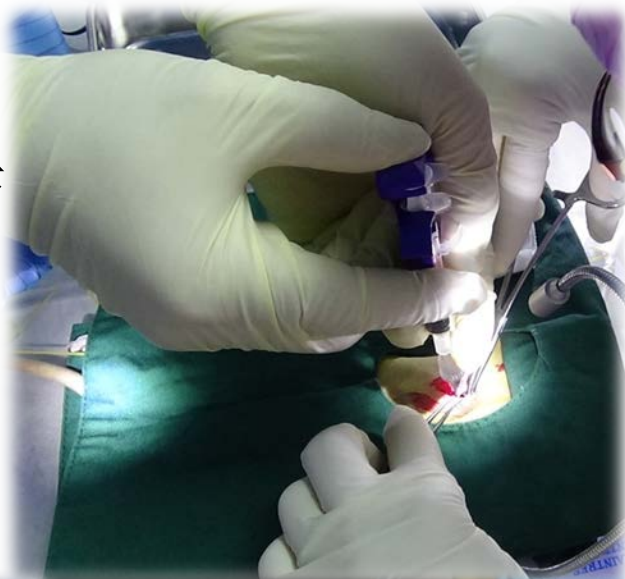
ADME实验流程功能化



- 口服（灌胃、鼻饲、吞服胶囊或片剂）
- 静脉注射（快速推注或缓慢推注）
- 肌肉注射或皮下注射



- 皮肤局部给药，滴眼给药
- 鼻腔给药，支气管给药，胸腔喷涂给药
- 膝关节注射，玻璃体注射
- 十二指肠给药，阴道给药
- 脑植入给药



- 采血方法：颈静脉采血、心脏采血、尾静脉采血
- 采血后，1小时内低温离心，分离血浆，干冰转移



样品收集 — 尿粪

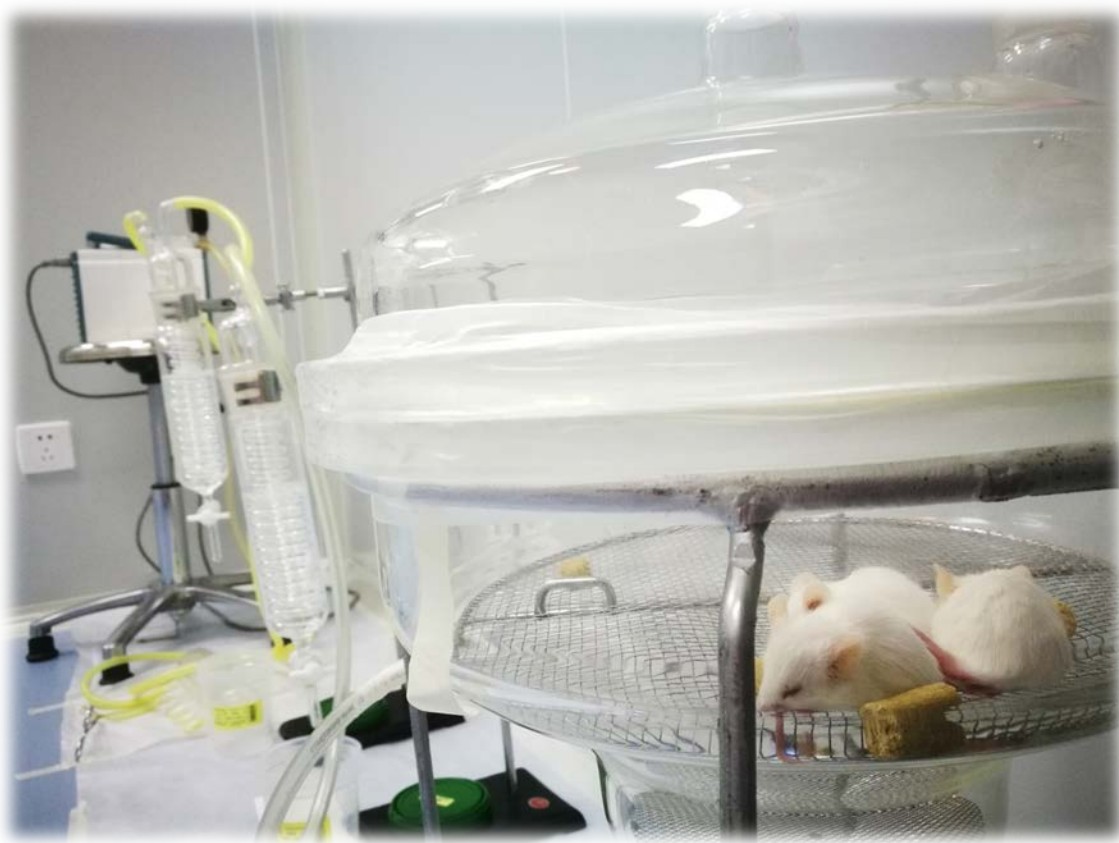
- ✓ 尿液收集盒需置于干冰盒内，以防氧化、蒸发和降解
- ✓ 常温收集粪便，及时转移至收集盒内，尤其是氚标化合物
- ✓ 每天收集笼具冲洗液，末次收集笼具清洗液
- ✓ 称量收集前后的样品收集盒，记录实际样品重量



- ✓使用胆管插管手术（BDC）的大鼠
- ✓胆汁收集盒置于干冰盒
- ✓胆汁收集期间，用电解质液代替饮用水
- ✓收集胆汁超过3天，需同时输注胆盐替代液



- ✓ 常规收集24 h内的呼出气体
- ✓ 大鼠单笼收集
- ✓ 小鼠三只一笼收集
- ✓ 同时收集尿粪样品

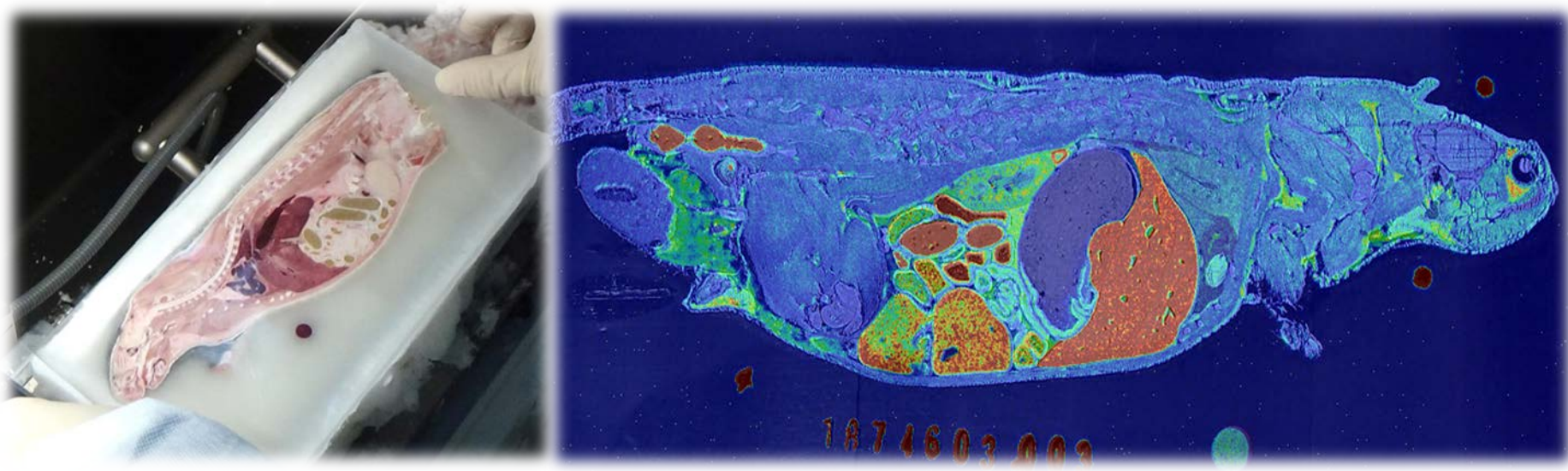


样品收集 — 解剖法

- ✓先心脏穿刺采血，采集尽可能多的体内循环血液
- ✓按血灌流速率及预测的浓度高低，分器械、分操作员采集组织
- ✓灌胃给药的动物，最后采集胃肠道，避免消化道内药物残留污染
- ✓称量收集前后的样品收集盒，记录实际样品重量



- ✓可直观、完整、全面地显示在组织、亚器官中分布情况
- ✓从2000年起，在发达国家已取代传统的解剖方法，并被法规部门认可
- ✓可满足人体放射性剂量估算的数据要求
- ✓可应用于合并用药或改剂型后药物分布及靶点结合的药效和毒性评价中



样品处理及分析

血浆的处理和分析

化冻, 排序, QC标签, 拍照



涡旋



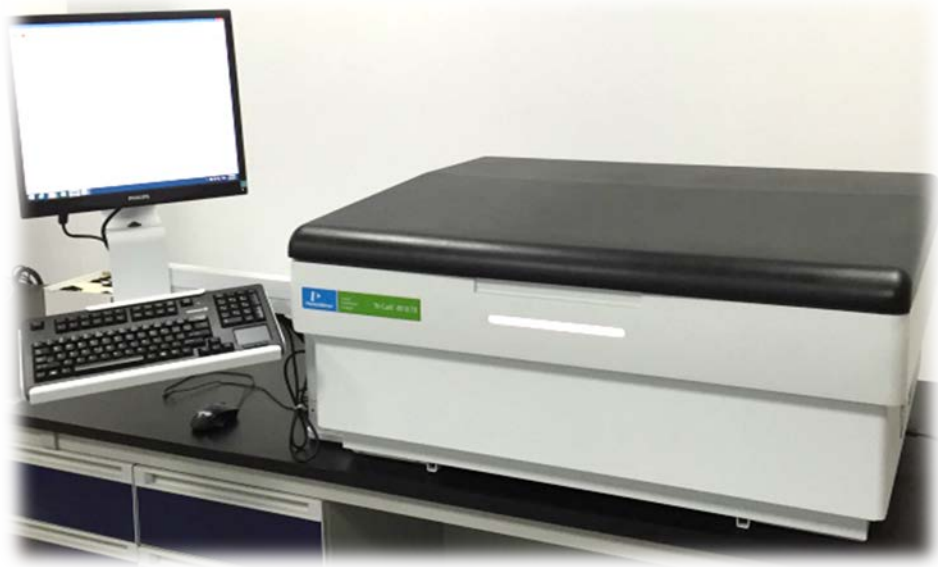
称取至闪烁瓶



上机, 检测总放射性



加入闪烁液, 混匀, 静置



全血的处理和分析

化冻，排序，QC标签，拍照



涡旋



称取至燃烧舟，挥去水分



充分氧化燃烧，测定总放射性



尿液/胆汁的处理和分析

化冻, 排序, QC标签, 拍照



混匀



称取至闪烁瓶



上机, 检测总放射性



加入闪烁液, 混匀, 静置



粪便的处理和分析

加50%IPA浸泡



称总重



通风橱中匀浆



冰冻状态下打粉



称取2份至燃烧舟中，挥干或烘干



充分氧化燃烧，测定总放射性



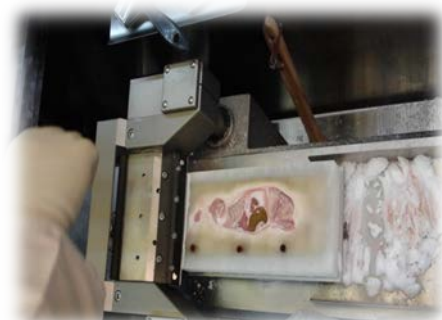
QWBA的处理和分析



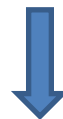
-70°C 冷冻



-70°C 包埋



-20°C 切片



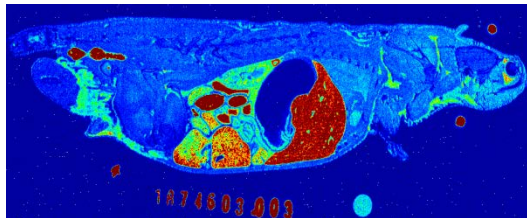
-20°C 脱水



曝光显影, 扫描

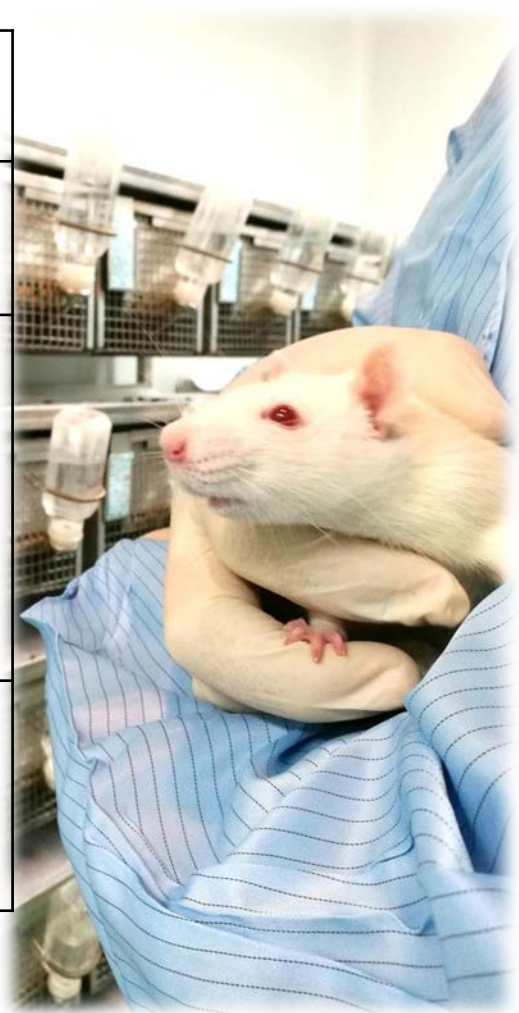


图像叠加, 数据处理



常规动物实验方案

| 组别 | 动物数量 | 给药途径 | 给药剂量 | | 采样时间点 (小时) |
|----|---------------|----------|-------|-------|---|
| | | | mg/kg | mL/kg | |
| 1 | 3雄3雌 JVC大鼠 | 单次 静注 | 低剂量 | 5 | 给药前 (0) 及给药后0.083、 0.25、0.5、1、2、4、8、 10和24 |
| 2 | 3雄3雌 JVC大鼠 | 单次 口服 | 低剂量 | 10 | 给药前 (0) 及给药后0.25、 0.5、1、2、4、6、8、10和 24 |
| 3 | 3雄3雌 JVC大鼠 | 单次 口服 | 中剂量 | 10 | |
| 4 | 3雄3雌 JVC大鼠 | 单次 口服 | 高剂量 | 10 | |
| 5 | 3雄3雌 JVC大鼠 | 多次 口服 | 中剂量 | 10 | 第1、5、6、7次给药前 (0) , 及第7次给药后0.25、0.5、 1、2、4、6、8、10和24 |

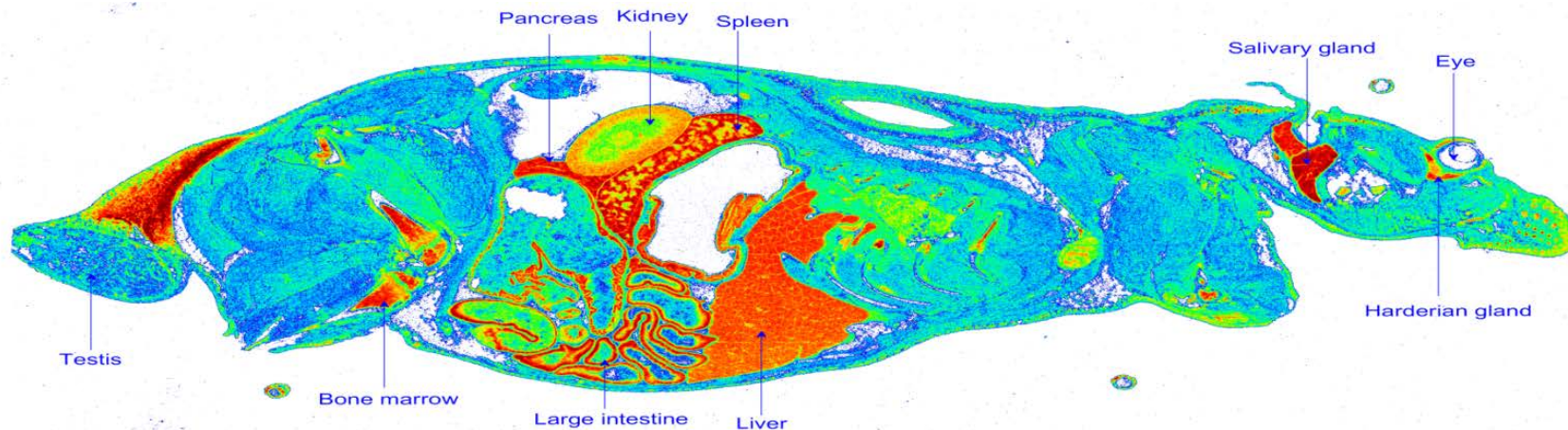


常规实验方案 一犬PK

| 周期 | 动物数量 | 给药途径 | 给药剂量 | | 采样时间点 (小时) |
|-----|-------------|----------|-------|-------|---|
| | | | mg/kg | mL/kg | |
| 1 | 3雄3雌 比格犬 | 单次 口服 | 低剂量 | 5 | 给药前 (0) 及给药后0.25、0.5、1、 2、3、4、5、6、8、10和24 |
| 清洗期 | | | | | |
| 2 | 3雄3雌 比格犬 | 单次 静注 | 低剂量 | 1 | 给药前 (0) 及给药后0.083、0.25、 0.5、1、2、4、6、8、10和24 |
| 清洗期 | | | | | |
| 3 | 3雄3雌 比格犬 | 多次 口服 | 中剂量 | 5 | 第1次给药前 (0) 及给药后0.25、0.5、 1、2、3、4、5、6、8、10和24 ，第5次和第6次给药前，第7次给药前 (0) 及给药后0.25、0.5、1、2、3、 4、5、6、8、10和24 |
| 清洗期 | | | | | |
| 4 | 3雄3雌 比格犬 | 单次 口服 | 高剂量 | 5 | 给药前 (0) 及给药后0.25、0.5、1、 2、3、4、5、6、8、10和24 |

| 组别 | 目的 | 数量 | 给药途径 | 给药剂量 | | 采样时间点/间隔 (小时) |
|----|---------|--------------|------|--------|-------|--|
| | | | | μCi/kg | mL/kg | |
| 1 | 药动学/代谢 | 3雌3雄 JVC | 静脉 | 100 | 5 | 血浆: 给药前和给药后0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 72 |
| 2 | 药动学/代谢 | 3雌3雄 JVC | 口服 | 100 | 10 | 血浆: 给药前和给药后0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 72 |
| 3 | 尿粪排泄/代谢 | 3雌3雄 整体 | 口服 | 100 | 10 | 尿/粪: 给药前和给药后0-8, 8-24(粪便0-24), 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 |
| | | | | | | 每日收集笼具冲洗液, 末次收集清洗液 |
| | | | | | | 结束时处死动物, 保留动物尸体 |
| 4 | 胆汁排泄/代谢 | 3雌3雄 BDC | 口服 | 100 | 10 | 胆汁: 给药前和给药后0-4, 4-8, 8-24, 24-48, 48-72 |
| | | | | | | 尿/粪: 0-8, 8-24(粪便0-24), 24-48, 48-72 |
| | | | | | | 每日收集笼具冲洗液, 末次清洗液 |
| 5 | 组织分布 | 12雌12雄 整体 | 口服 | 100 | 10 | 全血/血浆/组织: 0.5, 2, 8, 24, 168 |
| 6 | 对照 | 1雌1雄 | 口服 | 无 | 10 | 全血/血浆/组织: 24 |

| 组别 | 动物数量 | 采集时间点 |
|----|--------------|--|
| 1 | 5雌5雄 SD大鼠 | 5个时间点，每个时间点1雌1雄 比如0.5, 2, 8, 72, 168小时 |
| 2 | 9雄 LE大鼠 | 9个时间点，每个时间点1雄 最后2个时间点仅收集样品，暂不进行测定 比如0.5, 4, 8, 24, 72, 168, 336, 504小时 |



| 目的 | 数量 | 给药途径 | 给药剂量 | | 采样时间点/间隔（小时） |
|-------------------------|------|------|--------|-------|---|
| | | | μCi/kg | mL/kg | |
| 药动学 /尿粪 排泄/代 谢 | 3雌3雄 | 口服 | 10 | 2 | 血浆：给药前和给药后0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 72和168 |
| | | | | | 尿/粪：给药前和给药后0-8, 8-24(粪便0-24), 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 |
| | | | | | 每日收集笼具冲洗液，末次收集清洗液 |

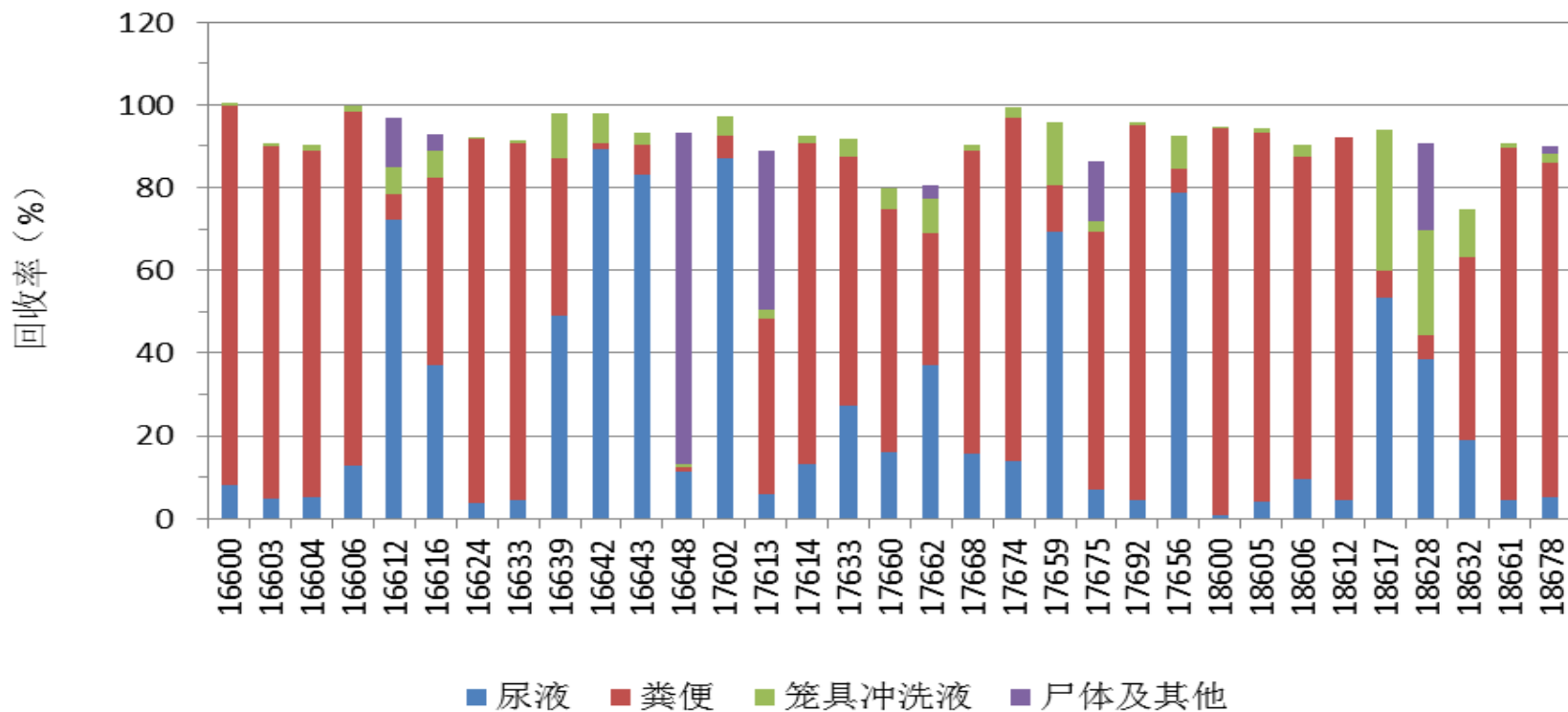
| 目的 | 数量 | 给药途径 | 给药剂量 | | 采样时间点/间隔（小时） |
|-------------------------|------|------|--------|-------|---|
| | | | μCi/kg | mL/kg | |
| 药动学 /尿粪 排泄/代 谢 | 3雌3雄 | 口服 | 30 | 2 | 血浆：给药前和给药后0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 72和168 |
| | | | | | 尿/粪：给药前和给药后0-8, 8-24(粪便0-24), 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, 144-168 |
| | | | | | 每日收集笼具冲洗液，末次收集清洗液 |



已完成的ADME研究

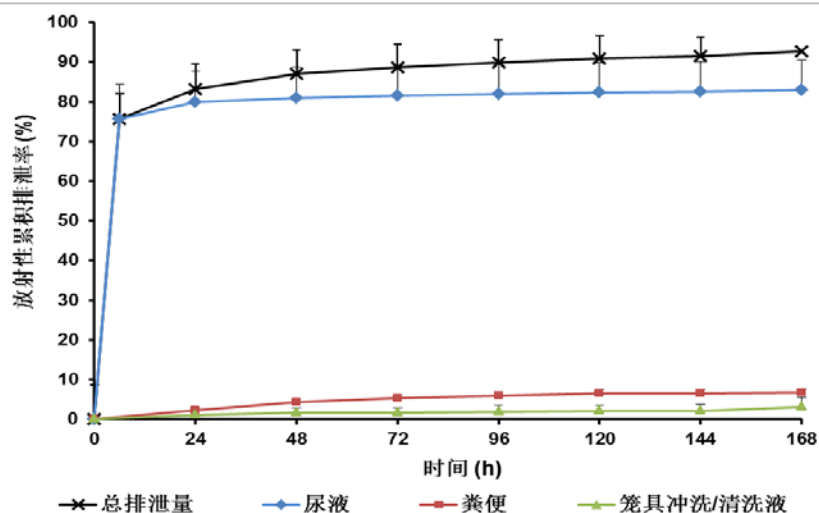
| Species | Isotope | Type of Project | Test Articles | No. of Project |
|---------|---------|---------------------|---|----------------|
| Rats | 14C | ADME | Small Molecules, Medical Device, etc | 19 |
| Rats | 3H | ADME | PDL1, ADC, Antibody, Medical Device, etc | 10 |
| Mice | 14C | ADME | Peptide | 1 |
| Mice | 3H | Tissue distribution | PDL1, ADC, Antibody, Small Molecules | 7 |
| Rabbits | 3H | ADME | Small Molecules, Medical Device | 2 |
| Dogs | 14C | AME | Small Molecules | 1 |
| Monkeys | 14C | ADME | Small Molecules | 2 |
| Monkeys | 3H | ADME, PK/PD | Small Molecules | 1 |



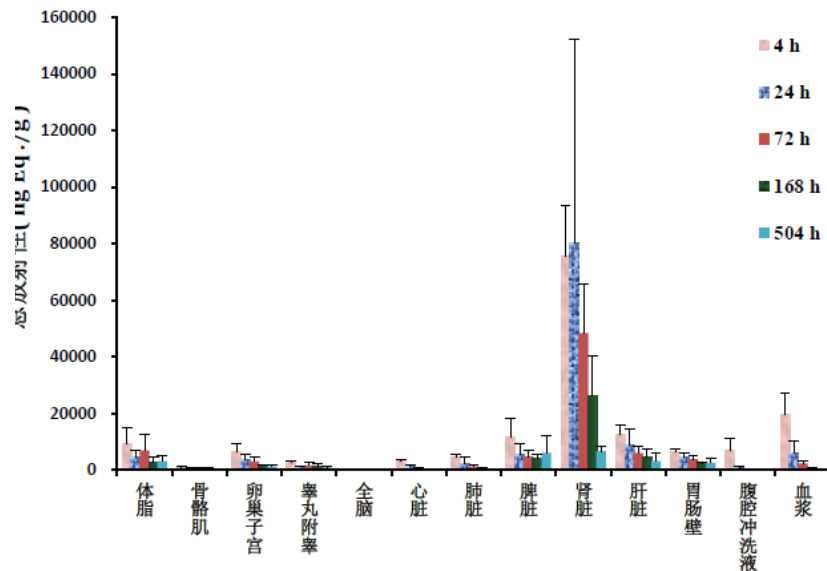
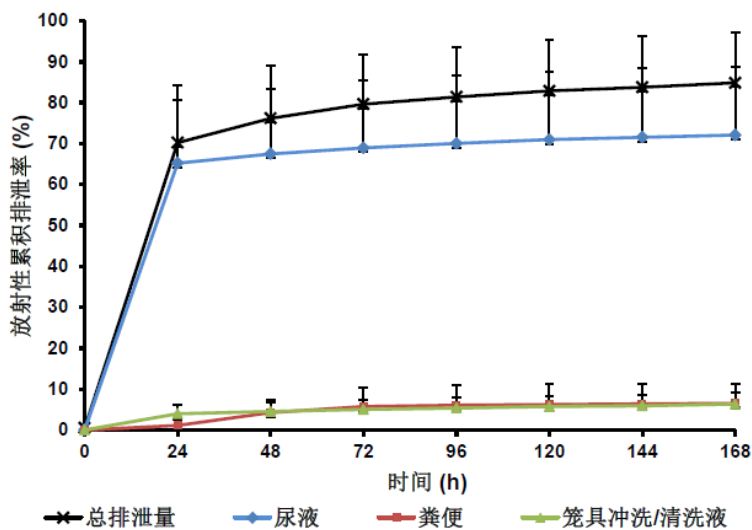


案例分享

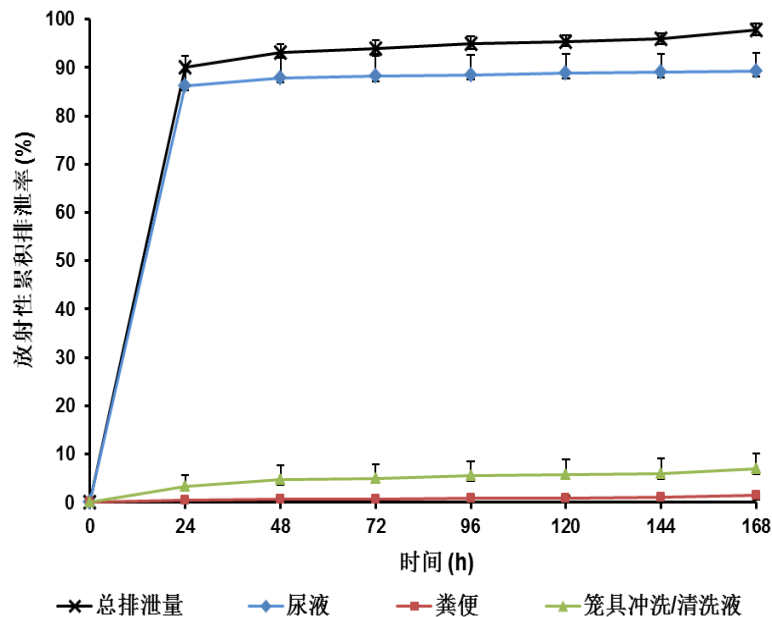
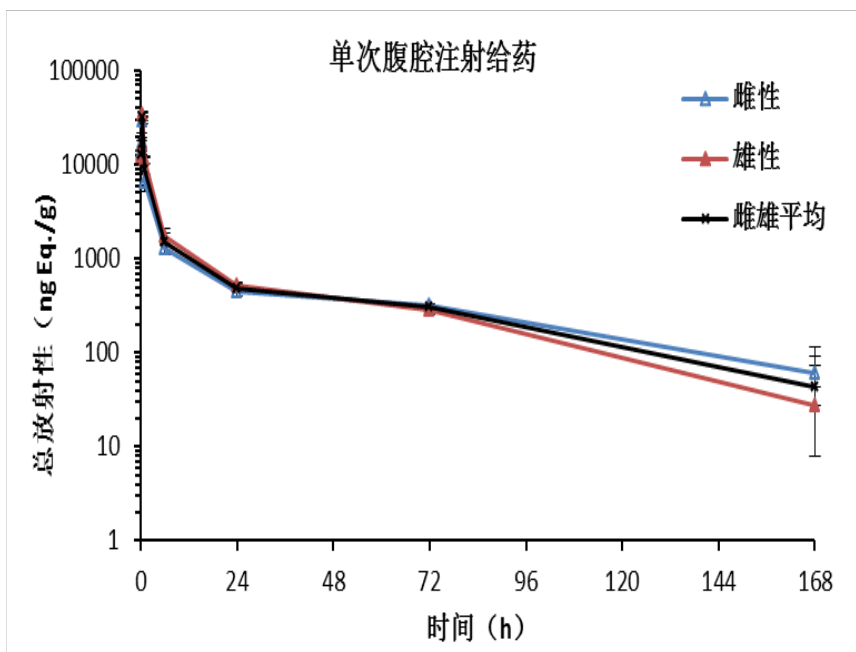
- 适应症：膝关节注射，变形性膝关节炎的辅助治疗
- 标记位点：氚标记在PEG上（PEG分子量<5000）
- 研究内容：新西兰白兔体内的ADME研究



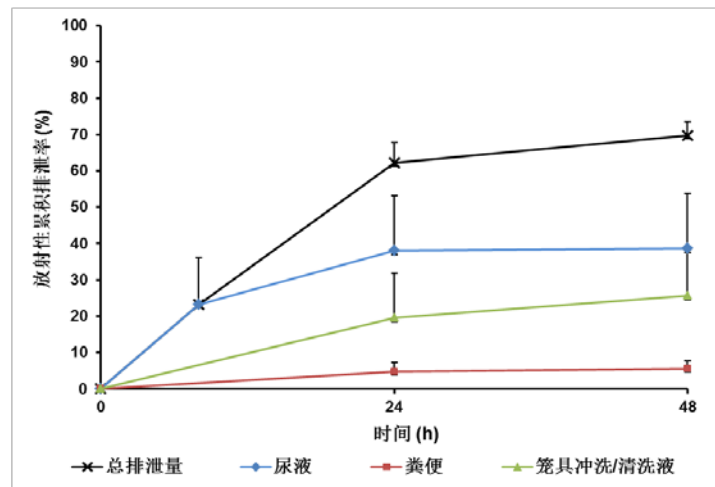
- 实验动物：大鼠，制作肝脏创面模型
- 标记位点：氘标记在纤维素的壳聚糖上
- 研究内容：吸收、分布、排泄和降解过程



- 实验动物：大鼠
- 标记位点：氚标记在褐藻胶寡糖上
- 研究内容：吸收、分布、排泄和降解过程



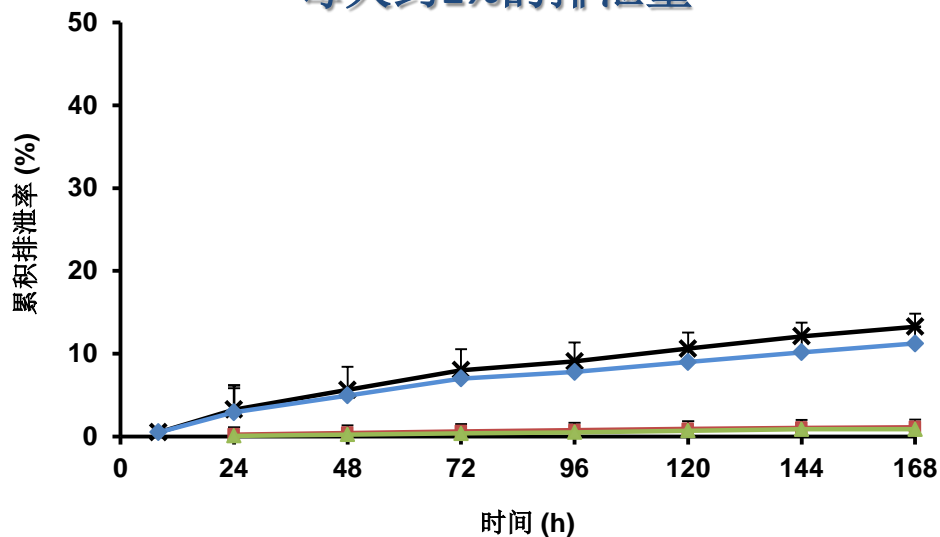
- 实验动物：小鼠
- 标记位点：碳十四标记在氨基酸上
- 研究内容：小鼠体内的ADME研究



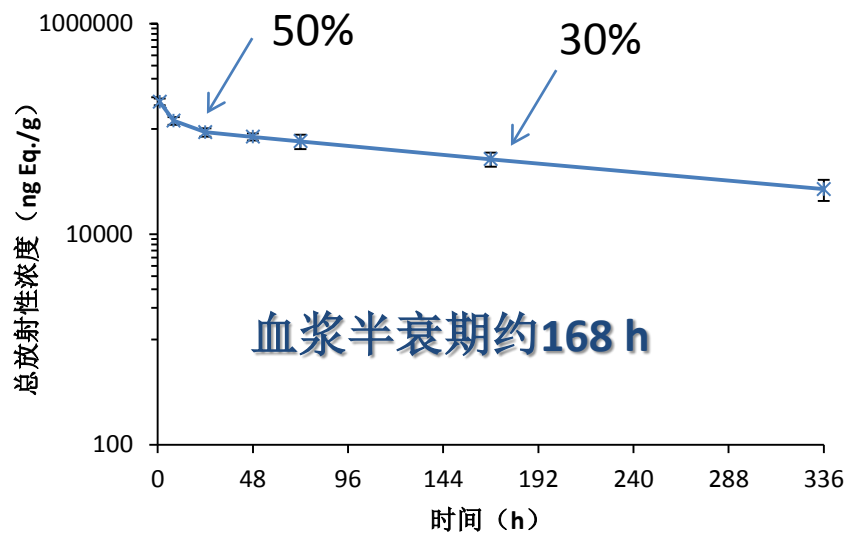
| 性别 (笼数) | 尿液 (%) | 粪便 (%) | 笼具冲/清洗液 (%) | 尸体 (%) | 二氧化碳 (%) | 总回收率 (%) |
|--------------|-----------|-----------|----------------|-----------|--------------|-------------|
| 雌雄 (n=6笼) | 50.89 | 5.60 | 9.24 | 2.73 | 22.42 | 90.88 |

- 实验动物：大鼠
- 标记位点：氚标记在单抗上
- 研究内容：大鼠静脉给药后的PK和排泄

每天约1%的排泄量



—*— 总排泄量 —◆— 尿液 —■— 粪便 —▲— 笼具冲洗/清洗液

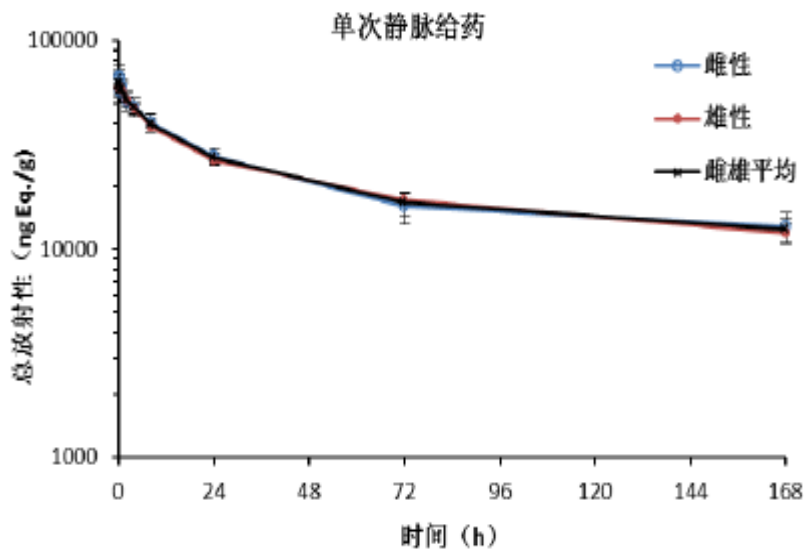


—*— 血浆总放射性

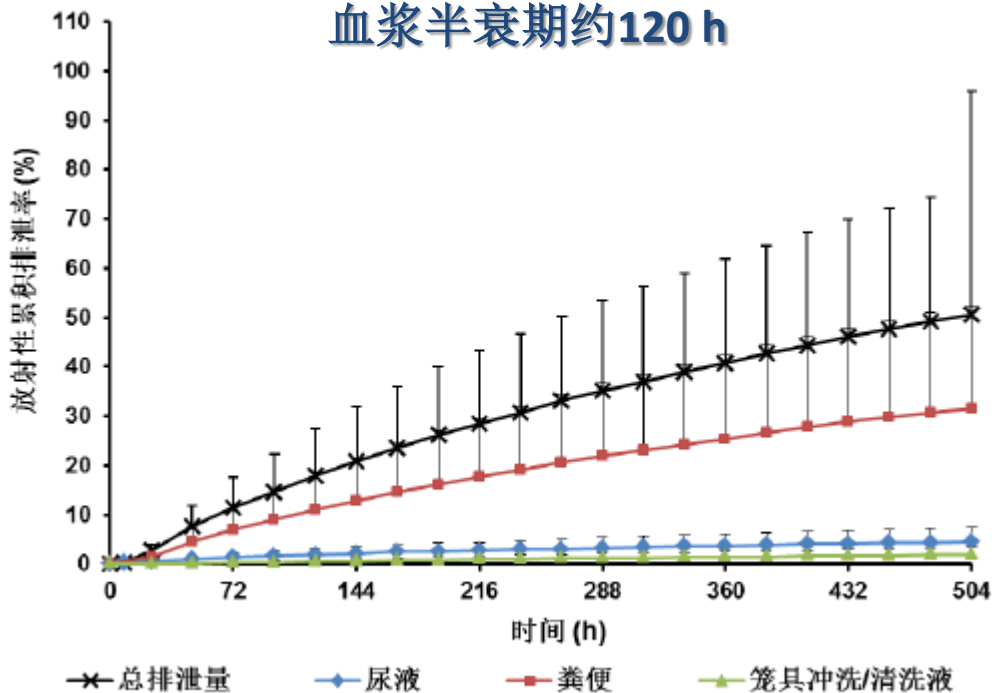


- 适应症：抗癌
- 标记位点：氙标记在小分子药物的缬氨酸上
- 研究内容：**大鼠**体内的AME研究

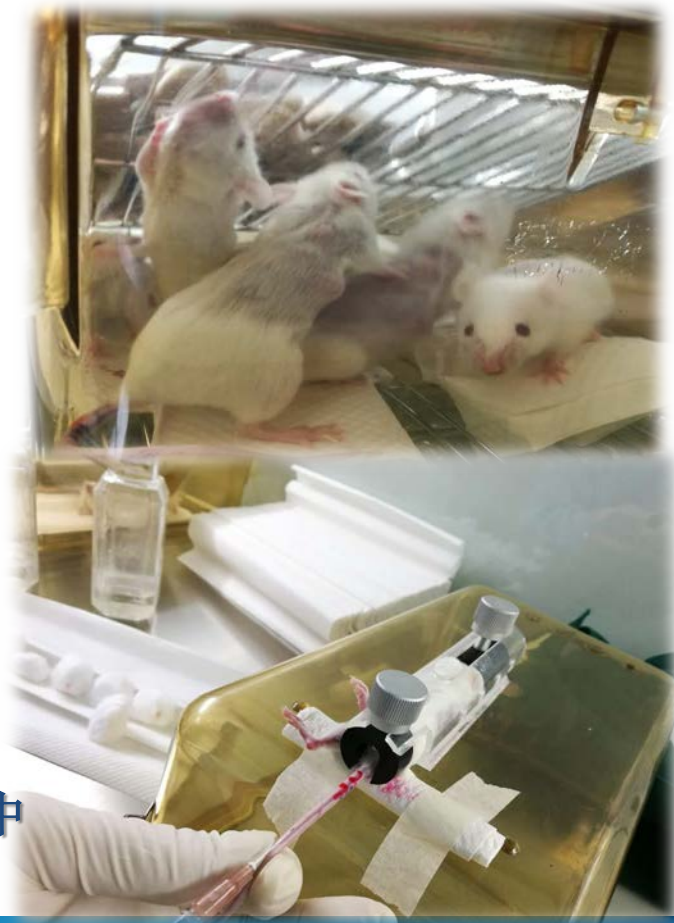
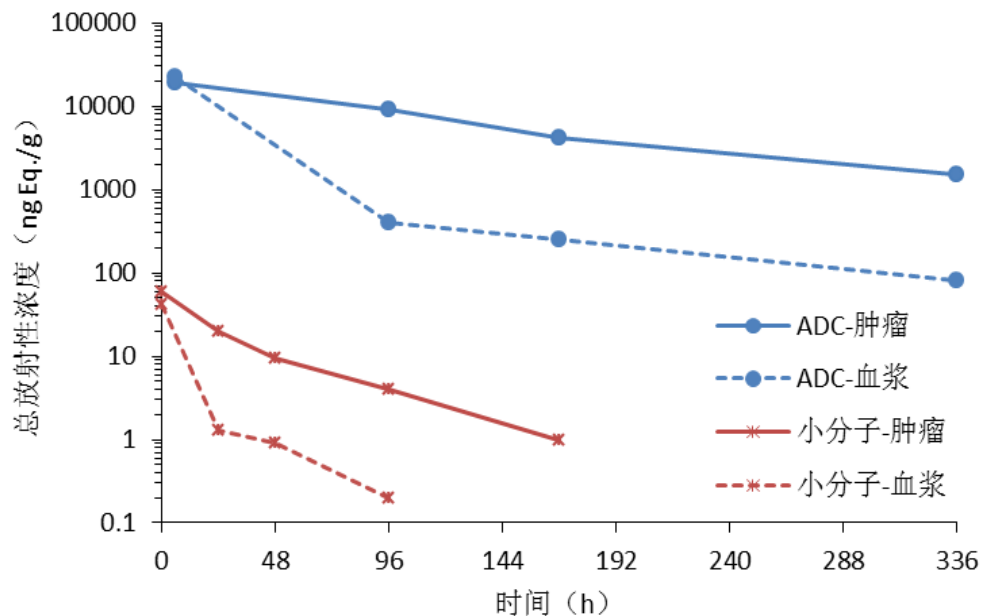
每天2.5%的排泄量



血浆半衰期约120 h



➤ 研究内容：**荷瘤鼠**体内的组织分布研究，并与小分子药物比较



- ✓ 总放射性主要分布于血浆和肿瘤
- ✓ 肿瘤中总放射性浓度于6 h达峰，约占给药量的7%
- ✓ 肿瘤中消除慢于血浆，336 h约是血浆的10倍，肿瘤中放射性约占给药量的0.2%

小分子新药的QWBA结果

雄性Long-Evans rats给予100 mg/100 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ [^{14}C]TA后 放射性分布情况

