



江苏省人民医院  
JIANGSU PROVINCE HOSPITAL

2017南京国际药代会

# 人体 $^{14}\text{C}$ -AME临床研究在创新药 研发中的作用和实践

邵凤 博士

南京医科大学第一附属医院

江苏省人民医院 I期临床研究室

June 17, 2017

德术并举 病人至上

# 提纲

1

**$^{14}\text{C}$ -ADME/AME研究概述**

2

为什么需要开展人体 **$^{14}\text{C}$ -AME**研究？

3

何时需要开展 **$^{14}\text{C}$ -AME**研究？

4

临床研究方案设计要点？（案例）

德术并举 病人至上

# 概 况

## □ 美国:

- 美国有80-90%创新药会开展 $^{14}\text{C}$ 物料平衡研究
- 最早的人体 $^{14}\text{C}$ - AME研究可追溯到1967年
- $^{14}\text{C}$ -AME是物料平衡和代谢转化研究的金标准

## □ 中国:

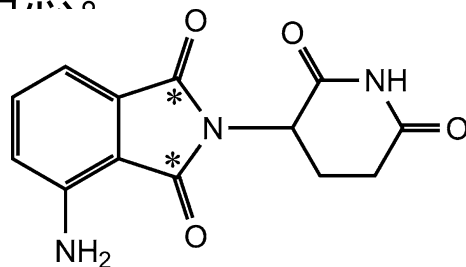
- 2009-2010年, 向国内学术界/工业界推广:FDA工业界标准的 $^{14}\text{C}/^3\text{H}$ 物料平衡研究
- 2012年开展首项符合工业界标准要求 $^{14}\text{C}/^3\text{H}$  -ADME 大鼠的研究
- 2013年06-11月, 江苏省人民医院开展了我们国家首项符合工业界标准要求的 $^{14}\text{C}$ 物料平衡的注册临床研究
- 一直到今天, 国内完成或在研 $^{14}\text{C}$ 项目数8-10项
- 国内已完全有能力和条件开展 $^{14}\text{C}$ -AME临床研究

德术并举 病人至上

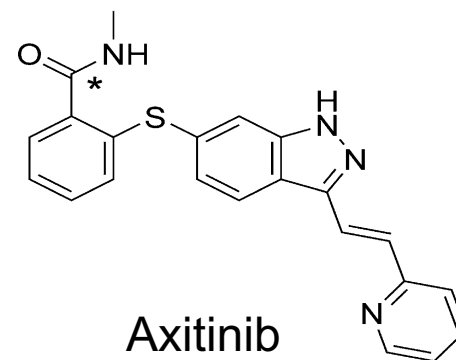
# $^{14}\text{C}$ -AME/ $^{14}\text{C}$ -ADME?

## □ $^{14}\text{C}$ -AME?

用 $^{14}\text{C}$ 标记药物（给分子装上GPS），研究药物在体内吸收、分布、代谢、排泄的过程，精确评价药物在体内的物料平衡，代谢转化，鉴定代谢物的结构信息。



Pomalidomide



Axitinib

## □ 仪器?



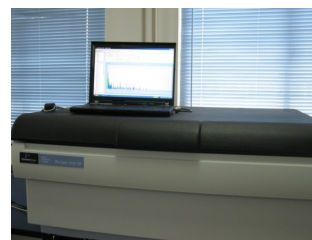
高效液相



质谱检测仪



固体闪烁计数器



液体闪烁计数器



在线同位素检测仪



## □ 研究内容3-1

物料平衡研究：利用液体闪烁仪测定得到每个受试者各时间间隔排泄物中所含总放射性量，与每个受试者实际放射性给药量相比，最终得到每个受试者体内的物质平衡数据及累积排泄曲线。

$$\text{物料平衡 (\%)} = \frac{\text{各时间段排泄物总放射性量}}{\text{实际放射性给药量}} \times 100\%$$

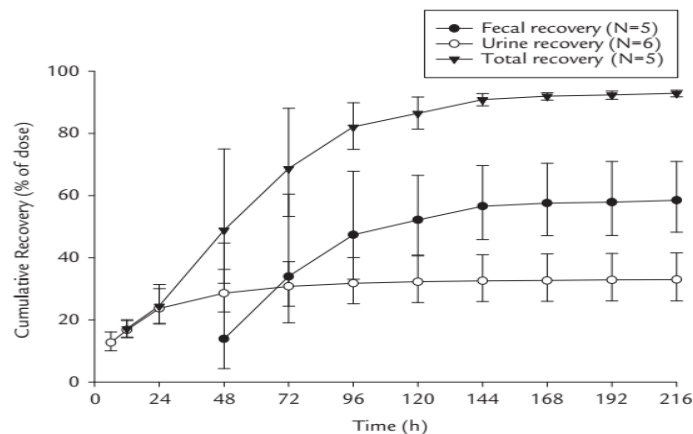


Figure 3. Cumulative recovery of radioactivity in excreta. Data are given as geometric mean (geometric SD).

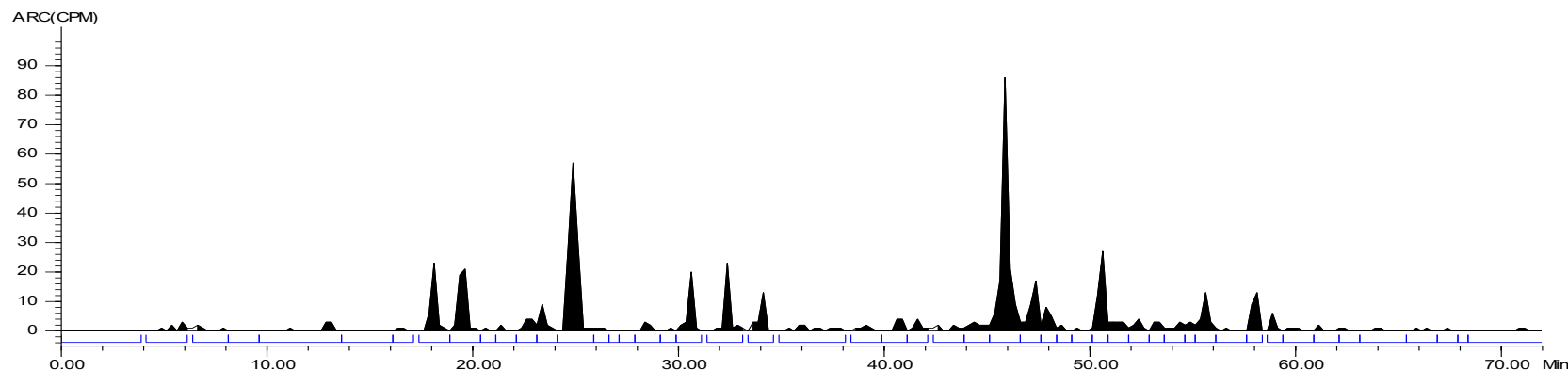
# $^{14}\text{C}$ -AME/ $^{14}\text{C}$ -ADME?

## □ 研究内容3-2

采用高效液相色谱与在线或离线同位素检测仪联用，获得放射性同位素代谢物谱

=> 定量分析血浆中原形药和主要代谢产物占血浆总放射性的百分比

=> 定量分析排泄物（尿和粪）中代谢产物占总给药量的百分率



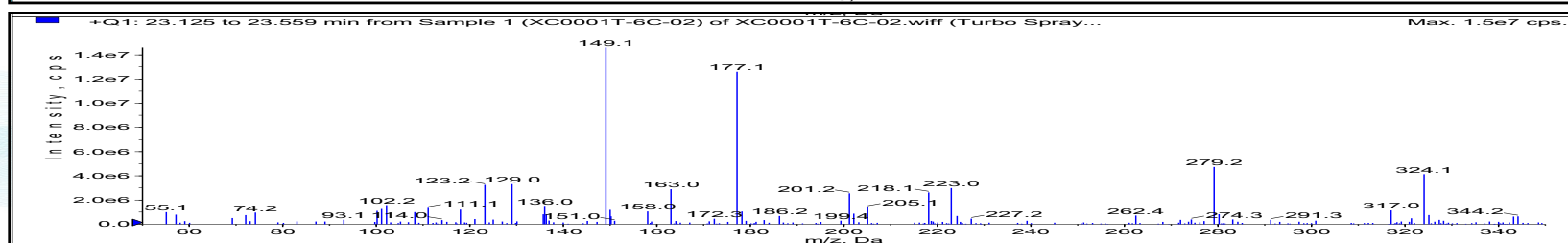
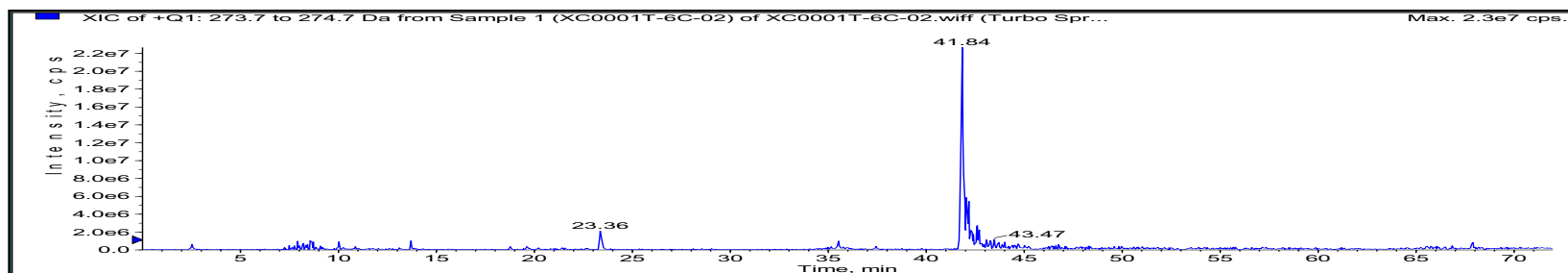
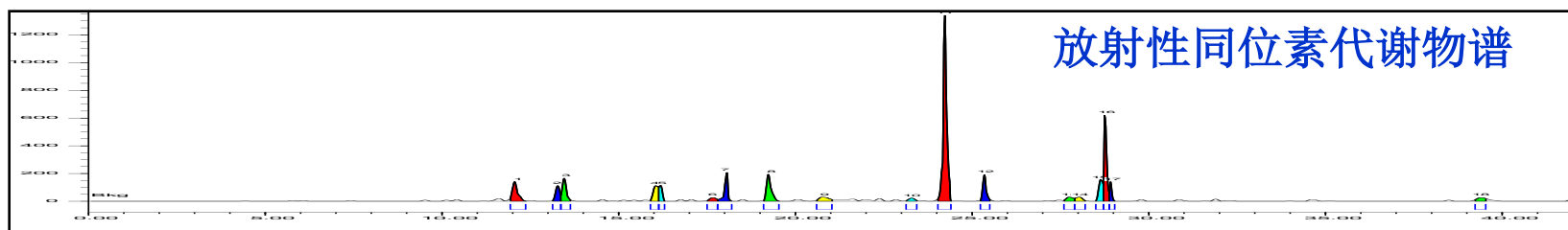
放射性同位素代谢物谱

德求并举 病人至上

# $^{14}\text{C}$ -AME/ $^{14}\text{C}$ -ADME?

## □ 研究内容 3-3

利用同位素示踪及质谱技术，对血浆（大于或接近10% AUC）、尿液和粪便（> 5%给药量）中代谢物进行结构鉴定，获得原药在人体内的主要代谢途径



# $^{14}\text{C}$ -AME可达成的目标

- ❑ 受试药物（原药+代谢物）物料平衡
- ❑ 受试药物主要排泄途径
- ❑ 原药及总放射性药物的药代动力学性质
- ❑ 了解 $>10\%\text{AUC}$  的代谢产物
- ❑ 确证用于毒性研究的动物种属选择是否正确
- ❑ 代谢物的结构鉴定
- ❑ 代谢物在排泄和血液循环中的排泄比例

# 提纲

1

**$^{14}\text{C}$ -ADME/AME研究概述**

2

**为什么需要开展人体 $^{14}\text{C}$ -AME研究？**

3

**何时需要开展 $^{14}\text{C}$ -AME研究？**

4

**临床研究方案设计要点？（案例）**

德术并举 病人至上

# 为什么做 $^{14}\text{C}$ -AME?

□ 创新药的研发需要知道:

多少进入体内? 变成了什么? 排出了多少?

- 人体内物料平衡
- 代谢物安全性评价

德术并举 病人至上

# 为什么开展？-法规和注册需要

❑ FDA Guidance : Safety Testing of Drug Metabolites  
Guidance for Industry (2008,2016)

❑ CFDA 指南：  
药物代谢产物安全性试验技术指导原则（2012）

如果在临床开发过程中发现的代谢产物在实验动物种属中不存在，或在动物中水平远低于人体水平，则建议进行进一步的动物试验以确定该代谢产物的潜在毒性。

德术并举 病人至上



## □ FDA Guidance, 2016

We encourage the identification of any differences in drug metabolism between animals used in nonclinical safety assessments and humans as early as possible during the drug development process.<sup>8,9</sup> The discovery of disproportionate drug metabolites late in drug development can potentially cause development and marketing delays.

Generally, metabolites identified only in human plasma or metabolites present at disproportionately higher levels in humans than in any of the animal test species should be considered for safety assessment. Human metabolites that can raise a safety concern are those

FDA 鼓励尽早开展动物和人体代谢种属差异的研究，**尽早发现**人体高比例代谢产物，开展安全性评价，避免对研发进度的影响



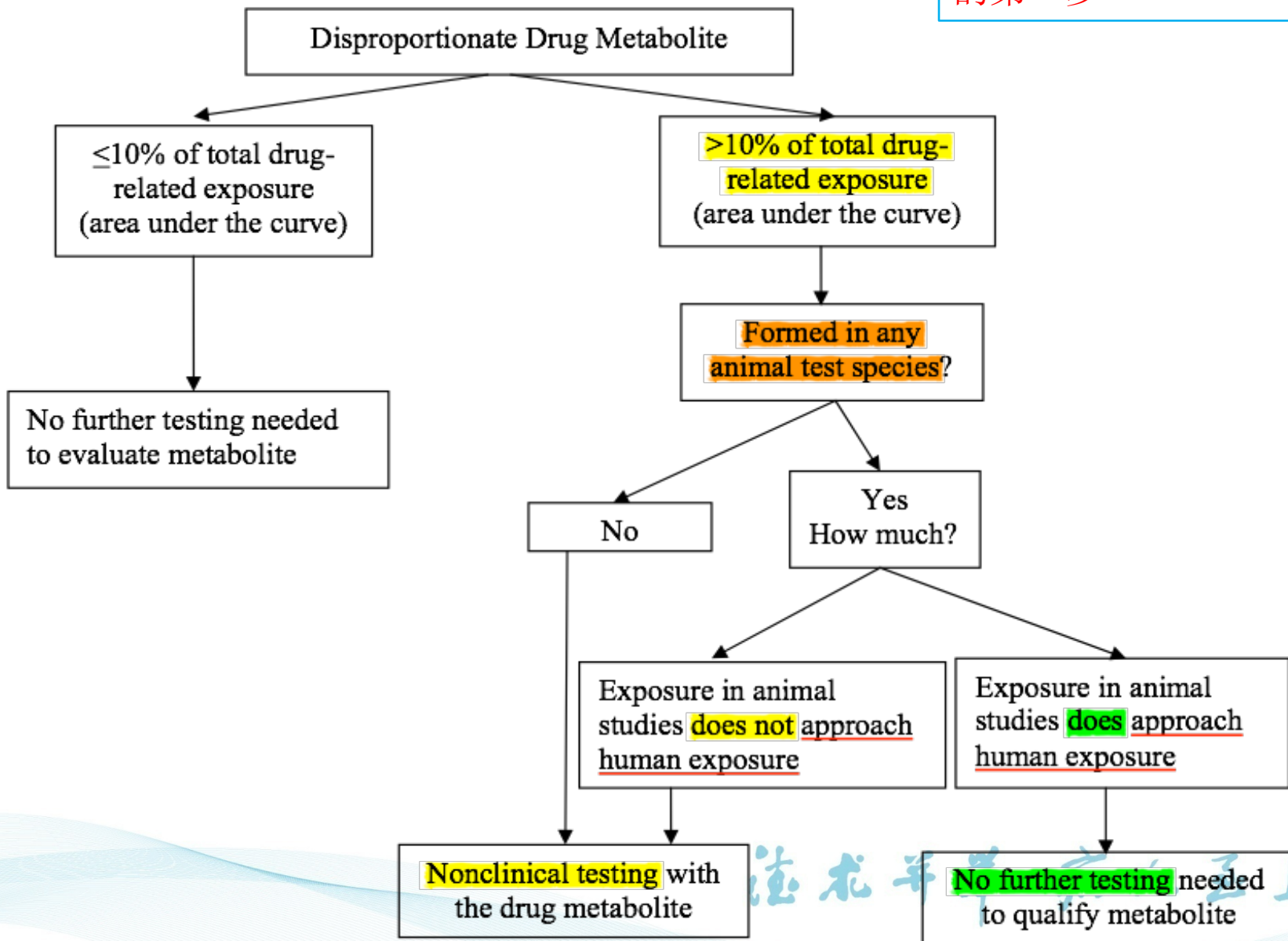
## □ CFDA 指南，2012

需尽早确证人体中可能存在的高比例药物代谢产物，这可以为非临床试验的合理性提供证明，有助于阐明和制订临床试验计划，并避免药物开发进程的延迟。通常首先采用体外试验来预测动物和人体的药物代谢产物的安全性试验。如果在体外代谢研究提示有人体的高比例药物代谢产物，可考虑开展动物和人体的同位素标记法的代谢研究，为开展高比例药物代谢产物的临床前安全性研究提供依据。

FDA: 2016年

## APPENDIX A: DECISION TREE FLOW DIAGRAM

完成<sup>14</sup>C-AME研究仅是代谢物安全性评价的第一步



# 提纲

1

**$^{14}\text{C}$ -ADME/AME研究概述**

2

为什么需要开展人体 $^{14}\text{C}$ -AME研究？

3

何时需要开展 $^{14}\text{C}$ -AME研究？

4

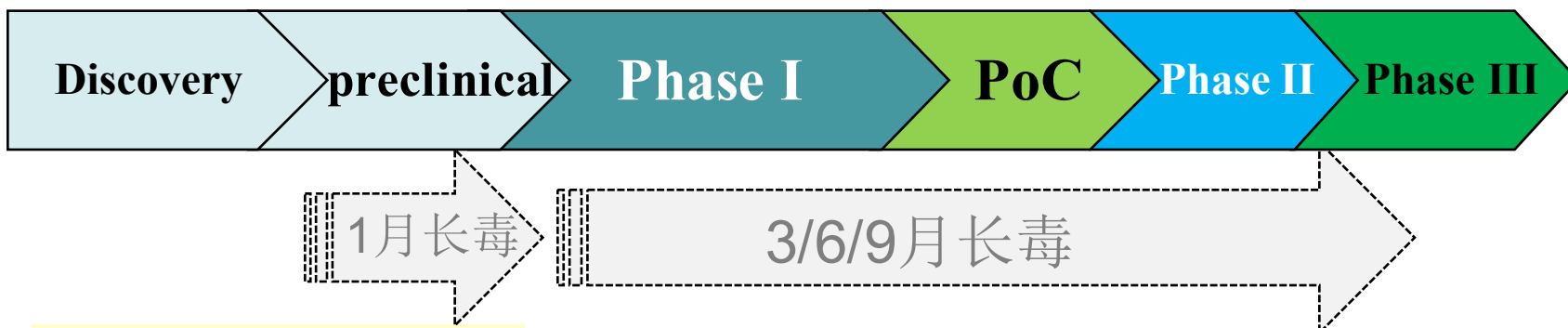
临床研究方案设计要点？（案例）

德术并举 病人至上

# 何时开展？

## Approach 1: phase I

Comments:  
Low risk for delay



- ADME(鼠, 犬, 猴)
- 代谢和种属差异研究(肝细胞, 微粒体, 单克隆抗体CYP 酶)

- 原药毒代

- 代谢物结构鉴定

- 代谢物毒代

- FIH-SAD, MAD

Human  $^{14}\text{C}$ -AME

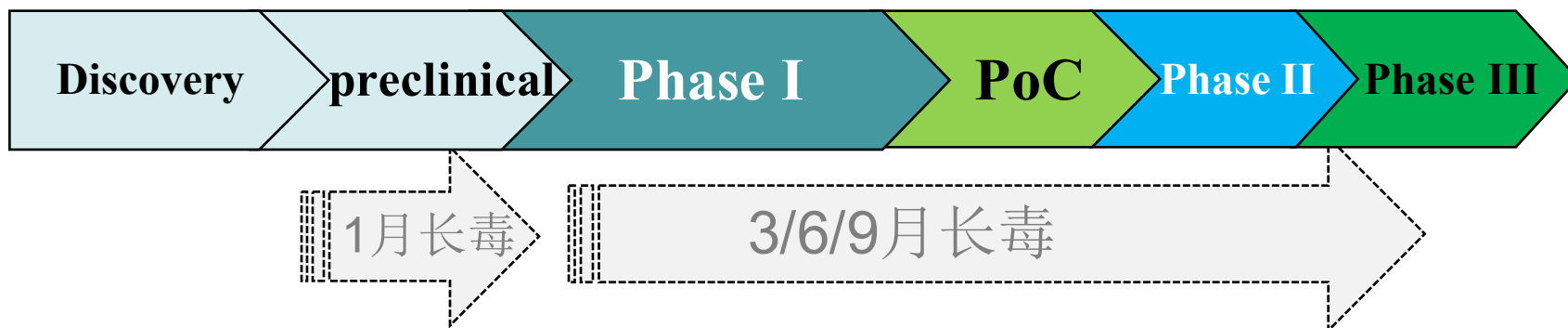
$^{14}\text{C}$ -ADME  
QWBA

德求并举 病人至上

# 何时开展？

## Approach 2: Post-PoC

Comments:  
High risk for delay



- ADME(鼠, 犬, 猴)
- 代谢和种属差异研究(肝细胞, 微粒体, 单克隆抗体CYP 酶)

- 原药毒代

- FIH-SAD, MAD

$^{14}\text{C}$ -ADME  
QWBA

Human  
 $^{14}\text{C}$ -AME



- 代谢物结构鉴定
- 代谢物毒代

德求开市 病人至

# 何时开展？

## Approach 3: Post-PoC

Comments:

Risk between 1&2



- ADME(鼠, 犬, 猴)
- 代谢和种属差异研究(肝细胞, 微粒体, 单克隆抗体CYP 酶)

• 原药毒代

• 代谢物结构鉴定

• 代谢物毒代

**<sup>14</sup>C-ADME  
QWBA**

• FIH-SAD, MAD

• 代谢物特征

• 人体生物样本中代谢物研究

• 评估人体特异性代谢物和高比例代谢物

Comments:

Low risk for delay

**Human <sup>14</sup>C-  
AME**



德求并举 病人至上

# 何时开展？（小结）



Intensive ADME

Human 14C-  
AME



Approach 1:  
Low risk for delay

General ADME

Human 14C-  
AME



Approach 2:  
High risk for delay

Intensive ADME

Human 14C-  
AME



Approach 3:  
Risk between 1&2

# 提纲

1

**$^{14}\text{C}$ -ADME/AME研究概述**

2

为什么需要开展人体 **$^{14}\text{C}$ -AME**研究？

3

何时需要开展 **$^{14}\text{C}$ -AME**研究？

4

临床研究方案设计要点？（案例）

德术并举 病人至上

# 人体 $^{14}\text{C}$ -AME临床设计要点

- 受试者：病人？健康人？
- 入排标准？
- 剂量？
- 收集哪些生物样本？
- 收集多长时间？

德术并举 病人至上



## □ 受试者选择-健康人 or 患者（4~6例）

### ➤ 我们的既往研究：

- xx替尼1, xx替尼3: 健康人
- xx替尼2, xx替尼4: 晚期恶性肿瘤患者

➤ 是否有健康人phase I 数据？耐受性数据？安全窗？

➤ 是否长半衰期？

➤ 临床前<sup>14</sup>C-ADME, &QWBA 是否支持选择健康人？



## □ 入排标准

### ➤ $^{14}\text{C}$ 辐射的考虑

- 以往曾经接受过大剂量辐射照射者，或在以后的1年内还有接受辐射照射计划者

### ➤ 药代动力学研究考虑

- 代谢酶的影响？相互作用？
- 限制咖啡（8杯以上）？
- 试验前30天或试验期间使用过任何抑制或诱导肝脏对药物代谢的药物

### ➤ 常规临床研究考虑



## □ 剂量

- $^{14}\text{C}$ : QWBA,  $\sim 100\text{uCi}$  ( $\sim 1\text{mSv}$ )
- 冷药剂量: 药效剂量/临床剂量(phase III)

## □ 剂型

- 粉末-混悬液给药



江苏开年病人至上



## □ 生物样本

- 主要：血液，尿液，粪便
- 其他：痰液等其他体液，如胸水



## □ 样本收集时间-采集终点指标

➤ 血液样本采集终点为连续两个时间点血药浓度  $< 150$  DPM/mL (检测限)

➤ 尿液和粪便的采集终点为总累计排泄量达到90%或连续两天的累计排泄量均 $< 1\%$ 给药量

➤ 我们的既往研究:

- xx替尼1: ~ 1周; xx替尼2: ~3个月 (原药 $T_{1/2}$ :~100h)
- xx替尼3,: ~2周; xx替尼4: ~10天 (原药 $T_{1/2}$ :7~8h)

# 案例分析

## □ [ $^{14}\text{C}$ ]司美替尼人体内吸收、代谢和排泄的研究

Clinical Therapeutics/Volume 38, Number 11, 2016

### Metabolism, Excretion, and Pharmacokinetics of Selumetinib, an MEK1/2 inhibitor, in Healthy Adult Male Subjects



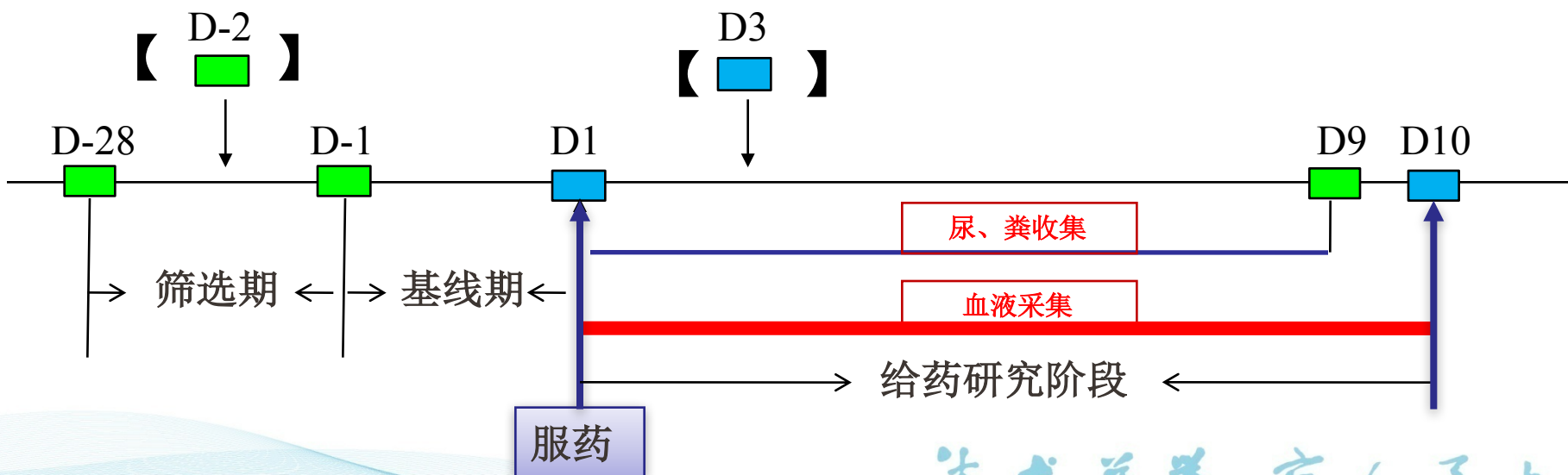
Angela W. Dymond, MSc<sup>1</sup>; Colin Howes, PhD<sup>1</sup>; Christine Pattison, MChem (Hons)<sup>1,\*</sup>; Karen So, MD<sup>2</sup>; Gabriella Mariani, MD<sup>2</sup>; Mark Savage, BSc<sup>3</sup>; Stuart Mair, MBChB<sup>4</sup>; Gill Ford, BSc<sup>5</sup>; and Paul Martin, PhD<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>AstraZeneca, Macclesfield, United Kingdom; <sup>2</sup>Global Medicines Development, AstraZeneca, Royston, United Kingdom; <sup>3</sup>York Bioanalytical Solutions, Discovery Park, United Kingdom; <sup>4</sup>Quotient Clinical Ltd, Nottingham, United Kingdom; and <sup>5</sup>Quotient Bioresearch Ltd, Rushden, United Kingdom

德求并举 病人至上

# 研究设计

- 单中心、开放、单剂量的临床试验研究
- 男性健康志愿者（6名）
- 试验剂量75 mg，辐射安全剂量17.07MBq
- 样本采集：血液，尿，粪



德术并举 病人至上

# 研究目的

- 原药及N-去甲基代谢物和总放射性药物整体药代动力学性质
- 药物物质平衡信息
- 药物生物转化途径
- 评价司美替尼在人体内药代动力学整体特征及安全性

# 入排标准

- 入选：50-65岁的男性健康受试者；
- 入选：受试者必须自愿并且签署知情同意书，同意遵守研究方案的要求。
- 入选：略
- 排除：服药前一年内参加过放射性暴露量 $>5\text{ mSv}$ 的受试者，或服药前5年内 $>10\text{mSv}$ 的受试者。
- 排除：（略）

# 样本采集

## □ 样本采集：

- 血样：0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、6、8、12、24、48、72、96、120、144、168、192、216和240h；
- 尿样及粪便：服药后0~6、6~12、12~24、24~48、48~72、72~96、96~120、120~144、144~168、168~192、192~216h；

注：由于一名受试者在服药后的第一周内无粪便样本，将排泄样本的采集时间延长至216h。

德术并举 病人至上

# 结果：药动学特征

## ① [ $^{14}\text{C}$ ]司美替尼的总放射性和药代动力学特征：

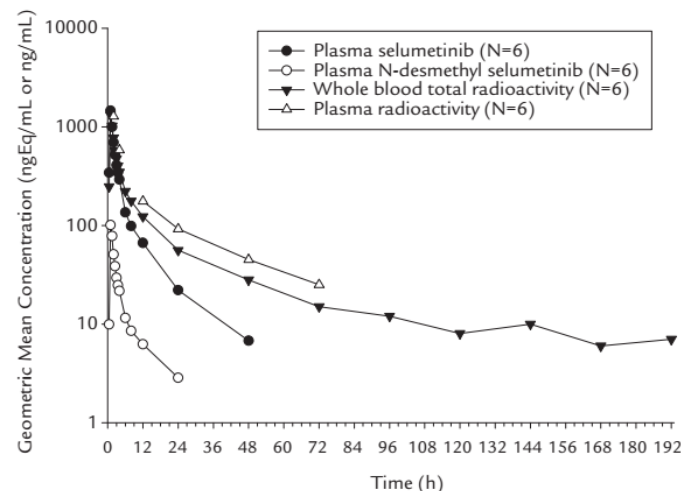


图 1 Profile of plasma and blood radioactivity and selumetinib and *N*-desmethyl selumetinib in plasma over time (semilogarithmic scale).

表 1 Concentration ratios (%) to total plasma radioactivity (N = 6). Data are given as geometric mean (%CV).

| Ratio                                  | 2 h         | 4 h          | 12 h        | 24 h        | 48 h        | 72 h        |
|----------------------------------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Plasma selumetinib                     | 54.2 (6.0)  | 50.0 (7.1)   | 37.7 (14.9) | 24.1 (5.6)  | 15.1 (19.6) | ND (ND)     |
| Plasma <i>N</i> -desmethyl selumetinib | 3.98 (14.3) | 3.72 (11.7)  | 3.54 (9.9)  | 3.11 (20.4) | ND (ND)     | ND (ND)     |
| Whole blood                            | 60.3 (6.6)  | 59.7 (6.6)   | 69.7 (7.5)  | 61.0 (3.9)  | 61.5 (4.5)  | 60.4 (4.1)  |
| Distribution into RBCs*                | 5.94 (75.7) | 3.60 (109.5) | 17.9 (25.0) | 5.59 (87.0) | 6.18 (77.3) | 6.74 (45.7) |

ND = not determined; RBCs = red blood cells.

\*The distribution into RBCs was determined by  $[(C_{wb} - (1 - Ht) \cdot C_p) / C_{wb}] \cdot 100$ , where  $C_{wb}$  is concentration in whole blood,  $C_p$  is concentration in plasma, and  $Ht$  is hematocrit ( $Ht$  was the mean value of the laboratory  $Ht$  data obtained from Day -1 and follow-up).

□ 给药后全血与血浆总放射性浓度比值在60-70%之间，且并未随时间改变而改变，提示放射性物质与血细胞无显著性结合。

德求并举 病人至上

# 结果：药动学特征

② 血浆中非标记司美替尼及其代谢物N-去甲基司美替尼和全血中总放射性强度的药代动力学参数：

表 2 Summary of key pharmacokinetic parameters (N = 6).

| Parameter                            | Plasma<br>Selumetinib | Plasma N-desmethyl<br>Selumetinib | Whole Blood<br>Radioactivity |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| AUC, GM (%CV), ng h/mL               | 4510 (19.2)           | 351 (23.1)                        | 8200 (26.8)                  |
| C <sub>max</sub> , GM (%CV), ng/mL   | 1520 (28.5)           | 109 (23.9)                        | 1390 (17.6)                  |
| T <sub>max</sub> , median (range), h | 1.00 (1.00–1.50)      | 1.00 (1.00–1.50)                  | 1.00 (1.00–1.50)             |
| t <sub>1/2</sub> , mean (SD), h      | 13.7 (5.04)           | 9.40 (1.01)                       | 56.8 (48.0)                  |
| CL/F, mean (SD), L/h                 | 15.7 (2.87)           | NR                                | 8.78 (2.07)                  |
| V/F, mean (SD), L                    | 146 (48.5)            | NR                                | 359 (232)                    |

CL/F = apparent clearance; GM = geometric mean; NR = not reported; V/F = apparent volume of distribution.

德求并举 病人至上

# 结果：物料平衡

## ③ [14C]司美替尼的累积排泄和物质平衡：

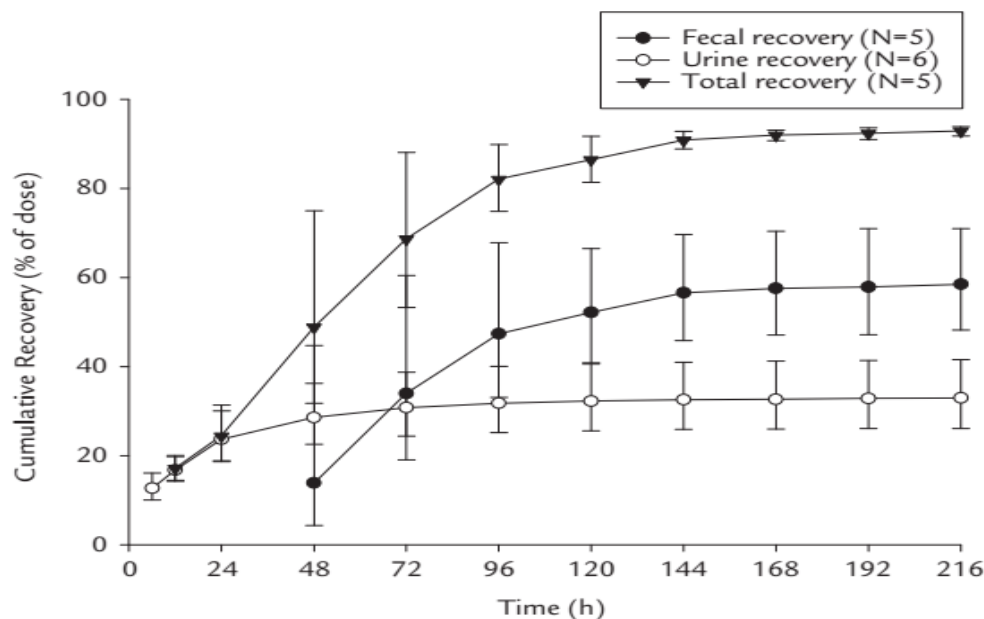


图 2

Cumulative recovery of radioactivity in excreta. Data are given as geometric mean (geometric SD).

□ 给药后总回收率为93%，其中粪便中为59%，为主要排泄途径，尿液中为33%。

德求并举 病人至上

# 结果：代谢物谱及结构确证

## ④ 血浆中代谢物谱：

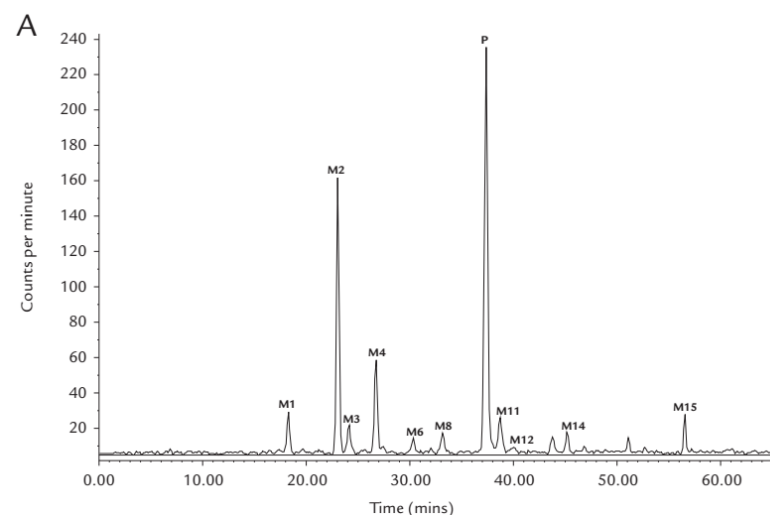


表3 血浆中 $[^{14}\text{C}]$ 司美替尼及其代谢物占血浆总放射性强度的平均百分率 (%)

| 分析物         | 结构                   | M/Z | 百分率        |
|-------------|----------------------|-----|------------|
| Selumetinib | 原药                   | 459 | 40%        |
| M2          | 脱乙二醇、葡萄糖醛酸化、脱质子      | 571 | 22%        |
| M1          | N-去甲基化、葡萄糖醛酸化、氧化/内环化 | 557 | 各占<br>2-7% |
| M3          | N-去甲基化、葡萄糖醛酸化        | 619 |            |
| M4          | 葡萄糖醛酸化               | 633 |            |
| M8          | N-去甲基化               | 433 |            |
| M11         | N-去甲基化、氧化            | 457 |            |
| M15         | 酰胺基水解、羧酸化            | 398 |            |
| M14         | 脱乙二醇                 | 397 | <2%        |

图3 Reconstructed radiochromatography of AUC in pooled human plasma after a single 75-mg oral dose of  $[^{14}\text{C}]$ -selumetinib in a representative subject.

德求并举 病人至上

# 结果：代谢物谱及结构确证

## ⑤ 尿液中代谢物谱：

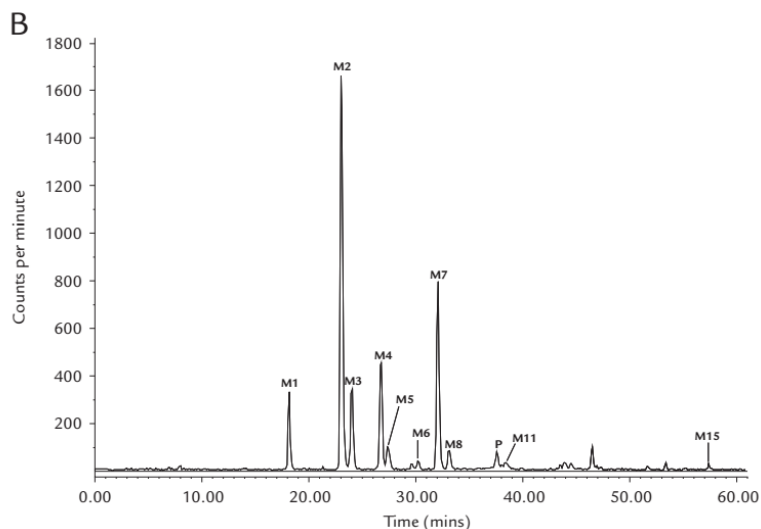


表4 尿液中 $[^{14}\text{C}]$ 司美替尼及其代谢物占给药剂量的平均百分率 (%)

| 分析物         | 结构                   | M/Z | 百分率         |
|-------------|----------------------|-----|-------------|
| Selumetinib | 原药                   | 459 | $\leq 1\%$  |
| M2          | 脱乙二醇、葡萄糖醛酸化、脱质子      | 571 | 10%         |
| M1          | N-去甲基化、葡萄糖醛酸化、氧化/内环化 | 557 | 各占<br>1-10% |
| M3          | N-去甲基化、葡萄糖醛酸化        | 619 |             |
| M4          | 葡萄糖醛酸化               | 633 |             |
| M7          | 葡萄糖醛酸化               | 633 |             |
| M8          | N-去甲基化               | 433 |             |
| M11         | N-去甲基化、氧化            | 457 |             |
| M14         | 乙二醇部分丢失              | 397 |             |
| M15         | 酰胺基水解、羧酸化            | 398 |             |

图4 Reconstructed radiochromatography of AUC in pooled human urine after a single 75-mg oral dose of  $[^{14}\text{C}]$ -selumetinib in a representative subject.

# 结果：代谢物谱及结构确证

## ⑥ 粪便中代谢物谱：

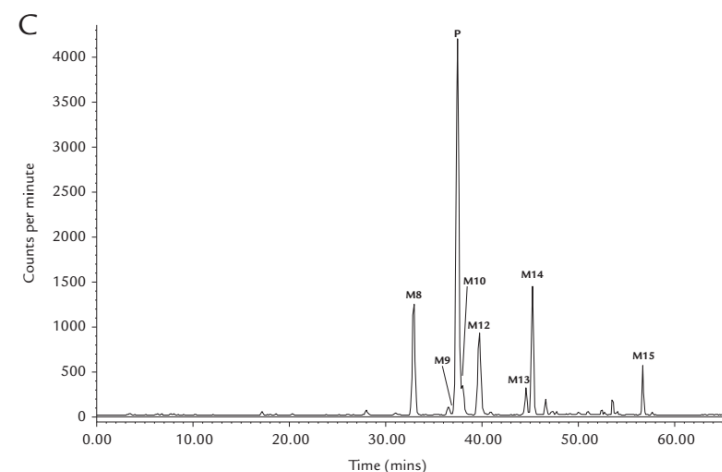


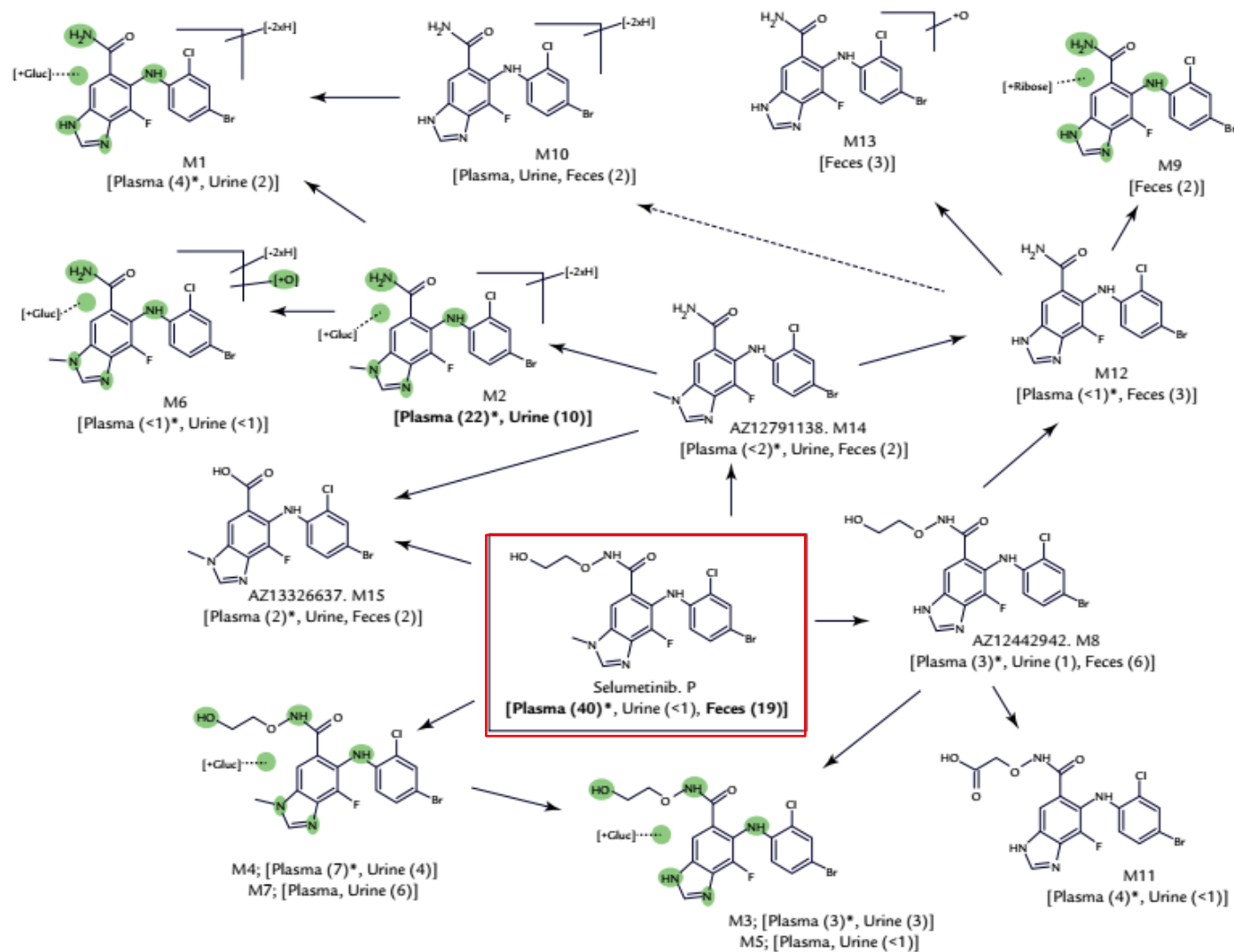
表5 粪便中 $[^{14}\text{C}]$ 司美替尼及其代谢物占给药剂量的平均百分率 (%)

| 分析物         | 结构                    | M/Z | 百分率        |
|-------------|-----------------------|-----|------------|
| Selumetinib | 原药                    | 459 | 19%        |
| M14         | 脱乙二醇                  | 397 | 各占<br>1-9% |
| M8          | N-去甲基化                | 433 |            |
| M15         | 酰胺基水解、羧酸化             | 398 |            |
| M12         | N-去甲基化、脱乙二醇           | 383 |            |
| M13         | N-去甲基化、脱乙二醇、单氧化       | 399 |            |
| M9          | N-去甲基化、乙二醇部分丢失、<br>缀合 | 515 |            |
| M10         | 乙二醇部分丢失、脱质子           | 395 |            |

图5 Reconstructed radiochromatography of AUC in pooled human feces after a single 75-mg oral dose of  $[^{14}\text{C}]$ -selumetinib in a representative subject.

# 结果：代谢通路

● 司美替尼在人体内可能的代谢途径：



# 结果：安全性特征

- 经研究者评估，整个试验过程中所报告的不良事件症状轻微，且与司美替尼无关，试验结束后均得到解决。
- 试验药物在健康男性受试者中的安全性和耐受性良好。

德术并举 病人至上

# 结论

- 司美替尼主要通过**粪便**排泄。
- 司美替尼在**血浆**中主要以**原形药形式**存在；主要代谢物为M2，占血浆总放射性的22%。
- 司美替尼在体内主要的**代谢途径**包括**N-去甲基化、直接葡萄糖醛酸化、I相代谢物的葡萄糖醛酸化、氧化等。**
- 司美替尼在健康男性人群的**安全性和耐受性良好。**

# $^{14}\text{C}$ -AME 临床试验成功的关键



&



受试者的权益、安全和健康  
必须高于对科学和社会利益的考虑。

德术并举 病人至上

# 致 谢!!!

□ 研究顾问： 江骥 教授 （北京协和医院）

□ 检测单位： 南京美新诺医药科技有限公司

江苏万略医药科技有限公司

□ 江苏省人民医院临床研究团队：

I期临床研究室； 核医学科； 肿瘤科； 急诊科

□ 受试者： **12例健康志愿者， 13位肿瘤患者**

□ 申办方提供的课题

德术并举 病人至上



江苏省人民医院  
JIANGSU PROVINCE HOSPITAL

# 谢谢聆听！

邵凤：[shaofengnj@163.com](mailto:shaofengnj@163.com)

“十三五”：同位素示踪技术临床研究评价技术平台

德术并举 病人至上