

阿霉素脂质体犬肝动脉栓塞后的体内分布与药代动力学研究

吴道澄 (第四军医大学药物化学教研室, 西安 710032)

朴相浩 王执民 张国民 徐山淡 (第四军医大学唐都医院放射科, 西安 710038)

文爱东 (第四军医大学西京医院药剂科, 西安 710032)

摘要 用阿霉素脂质体与碘油混合后对犬经导管肝动脉栓塞, 用反相高效液相色谱法研究了阿霉素在犬体内的分布及药代动力学。结果显示, 阿霉素脂质体—碘油栓塞组犬血浆阿霉素浓度显著低于阿霉素灌注组 ($P < 0.01$) 和阿霉素—碘油栓塞组 ($P < 0.05$), 而其血浆阿霉素消除半衰期和肝组织中阿霉素浓度与后两组相比则显著增加 ($P < 0.01$ 及 $P < 0.05$)。说明阿霉素脂质体与碘油混合肝动脉栓塞后可显著提高阿霉素对肝脏的靶向性, 延长阿霉素消除半衰期。

关键词 阿霉素 脂质体 肝动脉栓塞 药代动力学 高效液相色谱法

阿霉素(adriamycin, ADM)具有抗肿瘤活性高, 抗肿瘤谱广, 疗效好等特点而广泛应用于肿瘤化疗^[1], 但由于对心脏及骨髓的毒副作用^[2]使其应用受到了限制。研究表明将 ADM 包于脂质体中可降低其心脏毒性, 提高体内滞留时间而提高疗效^[3~5]。本文用阿霉素脂质体(adriamycin liposome, LADM)与碘油以“泵”法混合后对犬经导管肝动脉栓塞, 用高效液相色谱法研究了其 ADM 的体内分布及药代动力学。

1 材料和方法

1.1 材料 盐酸阿霉素对照品: 上海医药工业研究院; 盐酸阿霉素: 浙江海门制药厂(批号950426); 盐酸正定霉素: 意大利爱宝药厂; 4%碘油: 上海信宜制药厂; 盐酸阿霉素脂质体根据文献(6)方法加以改进制成(阿霉素含量2.0 mg/ml, 脂质含量50~70 mg/ml, 平均粒径 196 ± 18.2 nm); 其它试剂均为分析纯。肝动脉导管(5F或6F单弯导管 COOK 公司); 血管造影机(Polydrot-100X线机, 德国西门子公司); 日本 Shimadzu LC-6A 高效液相色谱仪, RF-530荧光检测器, C-R3A 数据处理仪, YWG-C₁₈H₃₇ 柱(300 mm×5 mm)。

1.2 动物及给药方法 健康杂种犬15条, 体重为 10.6 ± 1.8 kg, 雌雄各半(本校实验动物中心提供),

随机分成3组, 每组5条, 以6%戊巴比妥按30 mg/kg 静脉麻醉后固定于血管造影机台上, 在X线影像透视下, 采用 Seldinger's 插管技术, 经股动脉插管至肝动脉, 按如下方案给药: I 组 ADM 水溶液 2.0 mg/kg; II 组 ADM—碘油(最终相当于 ADM 2.0 mg/kg, 用时先配成 2.0 mg/ml 的 ADM 溶液加入 2 ml 60% 泛影葡胺, 再于 5 ml 碘油以“泵”法混合均匀); III 组 LADM—碘油(最终相当于 ADM 2.0 mg/kg, 用时取 LADM 加 2 ml 60% 泛影葡胺, 再于 5 ml 碘油以“泵”法混匀), 给药后定时从股静脉取血, 用 HPLC 法测定 ADM 的浓度。

1.3 高效液相色谱测定方法 按文献(7)略加改进后制作, 色谱条件: 流动相 甲醇—0.01 mol/L⁻¹ 磷酸二氢铵—冰乙醇(70:30:0.5), 流速 1.0 ml·min⁻¹, 激发波长 450 nm, 发射波长 530 nm, 室温。

1.4 样品的采集和预处理

1.4.1 血样 在给药后的 5, 10, 15, 30, 45 min 和 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36 和 48 h 分别从股静脉抽取全血 2 ml, 分离血浆, 即取 1.0 ml 血浆加内标物盐酸正定霉素标准液 20 ml (20 ug/ml)混匀, 加氯仿—甲醇(4:1)混合液 5.0 ml 振摇 5 min 后离心 (300 r·min⁻¹), 取氯仿层

用N₂吹干,残渣加50 μl 甲醇定容,进样40 μl。
1.4.2 肝组织样品 3组实验犬均于10,24和48 h做腹腔切开术,从左侧肝叶上取约1.2 g肝组织加磷酸缓冲液(pH 7.8)2.0 ml,用直流恒温搅拌器以6000 r/min匀浆)加内标20 ul(20 μg/ml),再加氯仿-甲醇(4:1)混合液5.0 ml,提取方法同血样,残渣以100 ul 甲醇定容,进样40 ul。

1.4.3 数据统计 将三组犬给药后的血药浓度值在微机上用MCPKP^[10]程序采用非线性最小二乘法自动拟合求得ADM房室模型及药代动力学参数,权重选择 $W=1/C^2$ 。

2 结果与讨论

2.1 用内标法求得血浆及肝组织中ADM的回归方程分别为:(Y为ADM内标峰面积比,X为ADM浓度)血浆中 $Y=0.003273X-0.1382$ ($r=0.9996$, $n=5$)ADM线性范围20~120 μg·ml⁻¹

$Y=0.003016X-0.1602$ ($r=0.9986$, $n=6$) ADM线性范围为100~600 μg/ml。肝组织中 $Y=1.982X-0.467$ ($r=0.9998$, $n=6$) ADM浓度在0.3~4.2 μg·g⁻¹范围内线性良好,在S/N=3时,ADM最低检出浓度为15 μg/ml,血浆中ADM的平均回收率为102%,RSD 2.7%,肝组织中ADM的平均回收率为98.6%,RSD 3.1%。

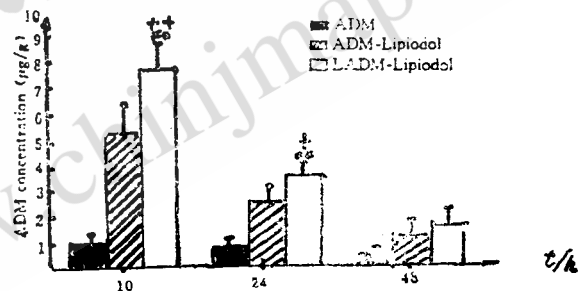
2.2 三组犬肝组织及血浆中ADM浓度测定结果 给药后10, 24和48 h对三组犬平行实施开腹手术,取左侧肝叶经HPLC法测定,结果见图1,可以发现,三组犬给药后10 h, LADM-Lipiodol组在肝脏中ADM的含量显著高于ADM及ADM-Lipiodol组($P<0.01$), 24 h时仍显著高于ADM组($P<0.01$)及ADM-Lipiodol组($P<0.05$),直至48 h仍显著高于ADM组($P<0.05$)。三组犬外周血中ADM血药浓度HPLC测定结果见表4,可以发现在10 h和24 h时外周静脉血中,Ⅲ组的ADM水平明显低于Ⅰ组($P<0.01$),明显低于Ⅱ组($P<0.05$),至48 h仍显著低于Ⅰ组,从ADM在肝及外周静脉中的运转变化趋势可见, LADM-Lipiodol组外周扩散程度最低,因而对外周及其它器官产生的毒副作用会更小,预示阿霉素脂质体的碘油混合物用于肝动脉栓塞将会大大减小阿霉素的毒性并获得较高的抗癌效果。三组犬血浆中

表1 犬肝动脉给药后ADM的经时血液浓度

(2mg/kg, $\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Time (min)	ADM	ADM-lipiodol	LADM-lipiodol
5	1058.04 ± 182.29	529.10 ± 102.00	
10	681.92 ± 82.30	348.20 ± 80.23	139.28 ± 12.30****
15	462.30 ± 62.30	231.22 ± 65.11	97.10 ± 10.32****
30	200.00 ± 23.06	102.31 ± 23.31	47.06 ± 8.59****
45	132.00 ± 12.53	65.28 ± 12.34	31.98 ± 6.30****
60	111.06 ± 8.69	53.62 ± 8.21	27.35 ± 5.62****
120	98.81 ± 8.20	48.41 ± 6.85	25.66 ± 4.87***
180	85.30 ± 7.36	43.72 ± 6.34	24.05 ± 4.20***
240	81.20 ± 7.62	42.63 ± 4.36	23.87 ± 5.08***
360	78.20 ± 8.64	41.82 ± 4.25	23.67 ± 3.31***
480	76.10 ± 6.91	41.01 ± 3.64	23.51 ± 5.91***
600	73.14 ± 6.87	40.86 ± 3.27	23.08 ± 4.34***
720	69.31 ± 6.93	40.45 ± 3.74	22.91 ± 3.82***
1440	56.20 ± 7.21	38.24 ± 4.11	21.30 ± 2.22***
2160	41.10 ± 5.60	30.12 ± 3.02	19.92 ± 3.65***
2880	31.26 ± 4.32	20.84 ± 1.91	17.34 ± 3.81*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs ADM group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs ADM-lipiodol group.



ADM浓度与时间的函数方程为:

$$\text{ADM 溶液 } C = 1473e^{-0.0815t} + 93.37e^{-0.0004t}$$

$$\text{碘油阿霉素 } C = 707.38e^{-0.0735t} + 47.43e^{-0.0003t}$$

碘油阿霉素脂质体

$$C = 275.02e^{-0.0735t} + 24.91e^{-0.0002t}$$

ADM在三组犬体内代谢均符合二房室开放模型,其拟合参数结果见表2。从中可以看出,Ⅲ组的 $T_{1/2\beta}$ 很显著高于Ⅰ组($P<0.01$),显著高于Ⅱ组($P<0.05$),这可能是LADM-Lipiodol在肝脏中有更缓慢的释放,并逐渐扩散至外周静脉及组织中,进而延长了机体对ADM的半衰期,从总清除率CLB结果来看,Ⅲ组显著少于Ⅰ组($P<0.05$),

表2 犬肝动脉给药后ADM的药代动力学参数比较

Parameter	ADM	ADM-Lipiodol	LADM-Lipiodol
$\alpha(\text{min}^{-1})$	0.00815 ± 0.0214	0.0799 ± 0.0114	0.0793 ± 0.0328
$\beta(\text{min}^{-1})$	0.0004 ± 0.0001	0.0003 ± 0.0001	$0.0002 \pm 0.0001^*$
$T_{1/2\alpha}(\text{min})$	8.5062 ± 1.8234	8.6762 ± 2.3198	8.7382 ± 3.5821
$T_{1/2\beta}(\text{min}^{-1})$	1732.5 ± 36.5	2310.0 ± 577.5	$3465.0 \pm 115.5^{**}$
$K_{12}(\text{min}^{-1})$	0.0707 ± 0.0246	0.0711 ± 0.0362	0.0714 ± 0.0410
$K_{21}(\text{min}^{-1})$	0.0062 ± 0.0022	0.0053 ± 0.0021	0.0067 ± 0.0026
$K_{el}(\text{min}^{-1})$	0.060 ± 0.0032	0.0038 ± 0.0011	$0.0014 \pm 0.0006^{**}$
$VI(\text{L} \cdot \text{kg}^{-1})$	0.0013 ± 0.0007	0.0027 ± 0.0009	0.0067 ± 0.0071
$VB(1 \cdot \text{kg}^{-1})$	0.0199 ± 0.0086	0.0403 ± 0.0085	$0.0798 \pm 0.0271^{***}$
$CLB(\text{ML} \cdot \text{min} \cdot \text{kg}^{-1})$	0.0178 ± 0.0041	0.0124 ± 0.0052	$0.0087 \pm 0.0035^*$
$AUC(\mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{ml}^{-1})$	263020 ± 14211	196930 ± 12246	$215360 \pm 13268^{**}$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs ADM group, * $P < 0.05$ vs ADM-lipiodol group.

这也说明了Ⅱ组在机体内的清除是较为缓慢的。上述结果表明,用LADM代替ADM用于肝动脉栓塞化疗可具有缓释效果,降低了对心脏等器官的毒性。本试验的研究为临床中晚期或不可手术切除的肝癌患者提供了新的治疗希望。

参 考 文 献

- 1 Vincent, Chuang, Sidney W. Hepatic artery embolization in the treatment of hepatic neoplasms. *Diagn Radiol*, 1981, 140: 51~58
- 2 Kunihiro O, Seiji T, Lakatsune N et al. Arterial Chemembolization of hepatocellular carcinoma with mitomycin C microcapsules. *Radiology*, 1984, 152: 51~55
- 3 Van Hoese J, QGCM, Steerenberg PA, Gommelin DJA et al. Reduced cardiotoxicity and nephrotoxicity with preservation of anti-tumor activity of doxorubicin entrapped in stable liposomes, *Cancer Res*,

- 1984, 44: 3698~3705
- 4 Gabizon A, Dagan D, Goren Y et al. Liposomes as in vivo carriers of adriamycin: reduced cardiac uptake and preserved antitumor activity in mice. *Cancer Res*, 1982, 42: 4734~4739
- 5 孙淑英, 顾学裘. 脂质体作为抗癌 抗生素载体的研究概况. 沈阳药学院学报, 1989, 6: 73~78
- 6 Forssen EA, Tokes ZA. Improved therapeutic benefits of doxorubicin entrapment in cationic liposomes *Cancer Res*, 1983, 43: 546~550
- 7 何素梅, 魏树礼, 吴传斌等. 反相 高效液相色谱荧光检测法测定血浆或肝组织 中阿霉素含量. 药物分析杂志, 1994, 14: 8~11
- 8 Xia WJ. MCPKP-a microcomputer program Specialized for pharmacokinetic compartment analysis, *Acta pharmacol sin*, 1988, 9: 192~196

The Distribution of Adriamycin and Its Pharmacokinetics *in vivo* after Embolization of the Hepatic Artery with Adriamycin Liposome in Dogs

Wu Dao-cheng et al

(Dept. of Pharmaceutical Chemistry, The Fourth Military Medical University, Xian 710032)

Abstract The Distribution characteristics and pharmacokinetics *in vivo* were studied after embolization of hepatic artery with the mixture of adriamycin liposome (LADM) and lipiodol in dogs. The concentration of adriamycin (ADM) were determined by HPLC method. Compared with the content of ADM in dogs with ADM being infused into hepatic artery and with hepatic arterial embolization using ADM-lipiodol mixture, the results showed that the concentration of ADM in plasma in dogs after the hepatic artery being embolized with the mixture of LADM and lipiodol decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$), while the concentration of ADM in livers and its half-time increased ($P < 0.01$, $P < 0.05$). It is proved that the embolization by LADM-lipiodol mixture can improve ADM's targeting to the liver and increase its half-time.

Key words Adriamycin liposome, Pharmacokinetics, Hepatic arterial embolization, HPLC

(on page 24)