

安托可金在家兔体内的药代动力学

韩丽萍, 谭亚利, 李俭宏, 王晓怀(广州军区广州总医院药学部, 广州 510010)

摘要:目的 研究双环铂在家兔体内的药代动力学, 为临床用药提供理论依据。方法 HPLC 法测定家兔给药后不同时间点的血浆药物浓度, 利用药代动力学分析软件计算各项参数。结果 DCP 在 $0.5 \sim 40 \mu\text{g/mL}$ 铂浓度范围线性关系良好, 相关系数 >0.999 , 最低检测限 $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$, 日内 RSD 低于 6%, 日间 RSD 低于 10%, 回收率 89.0% ~ 98.8%, 双环铂在家兔体内处置符合二房室模型特征, 平均分布半衰期为 0.50h, 平均消除半衰期为 11.34h, 平均中央分布容积为 0.406L/Kg。

关键词: 高效液相色谱法; 双环铂; 0325K1-1; 药代动力学

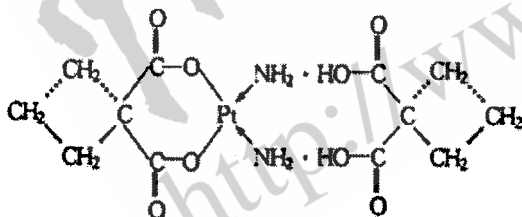
The Pharmacokinetics of DCP in Rabbits

HAN Li-ping, TAN Ya-li, LI Jian-hong, WANG Xiao-huai(*Department of pharmacy, Guangzhou General Hospital, Guangzhou Military Area, Guangzhou 510010, China*)

ABSTRACT: The concentration of DCP in the plasma of rabbit has been determined by HPLC. A good linear correlation was found in the concentration range of $0.5 \sim 40 \mu\text{g/mL}$ of DCP, the correlation coefficient was more than 0.999, the limit of determination was $0.5 \mu\text{g/mL}$. The recovery of DCP was 89.0% ~ 98.8%. The level of precision within-day RSD was lower than 6%, and between-day RSD was lower than 10% in this method. The plasma concentration-time profiles fitted to two compartments after i. v. injection, and the average distribution half life $t_{1/2\alpha}$ was 0.50h and the average elimination half life was 11.34h, and the average distribution volume of central compartment (V_c) was 0.406L/Kg.

KEY WORDS: HPLC; Platinum; DCP; 0325K1-1; Pharmacokinetics

双环铂(DCP)又名安托可金, 代号: 0325K1-1, 是国内首创的抗肿瘤新药。是继顺铂(Cisplatin)和卡铂(Carboplatin)之后的一种新型铂络合物, 分子式为



双环铂体内试验表现具有较强的抗肿瘤活性, 20mg/kg 剂量对肺癌的抑瘤率达 95% 以上, 且毒性相对较低。铂类药物中铂的测定通常有两种方法: HPLC 和 EAAS, 已报导的双环铂的测定一般使用电热原子吸收光谱法(EAAS)^[1]。本试验建立了 HPLC 测定血浆中的双环铂浓度方法, 并对家兔体内药代动力学进行了研究, 为临床研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(安捷伦 1100), 自动进样器(G1313A), 安托可金(北京市兴大科学系统公司提供, 含量 99.7%), 双环铂注射液(批号: 020903, 含量 50mg/支, 由北京大学临床肿瘤学院临床药理研究室提供); 普通级新西兰大耳白, 广东省医学实验动物中心提供, 体重 1.5 ~ 1.7kg, 动物合格证号: 26-2003A004, 饲养 5 周后使用。液相用重蒸水, 乙醚、氯仿均为分析纯。

1.2 给药方法及样品收集

随机选取健康雄性家兔, 空腹, 静脉推注双环铂注射液, 单次给药剂量 18.5mg/kg, 给药 2h 后自由饮水进食。分别在给药前和给药后 5、15、30、45、60、120、240、480、720、1440min 抽取耳缘静脉血 1.5mL, 待测。

1.3 样品处理

将采取的血样离心 3min, 转速 10000r/min, 离心后取上层血浆, 用 4mL 无水乙醚萃取, 振摇均匀, 离心 5min, 转速

3000r/min,弃去乙醚层;水相中加入 50% 硫酸锌 3 滴,再加入氯仿 3mL,振荡均匀,离心 10min,转速 3000r/min,取上层清液滤过,即可。

1.4 色谱条件

采用 HYPERSIL C₁₈ (4.6 × 200mm, 5μm) 色谱柱,柱温 30℃;流动相为重蒸水,流速 1.0mL/min;紫外检测波长 229nm;进样量 10μL^[2]。

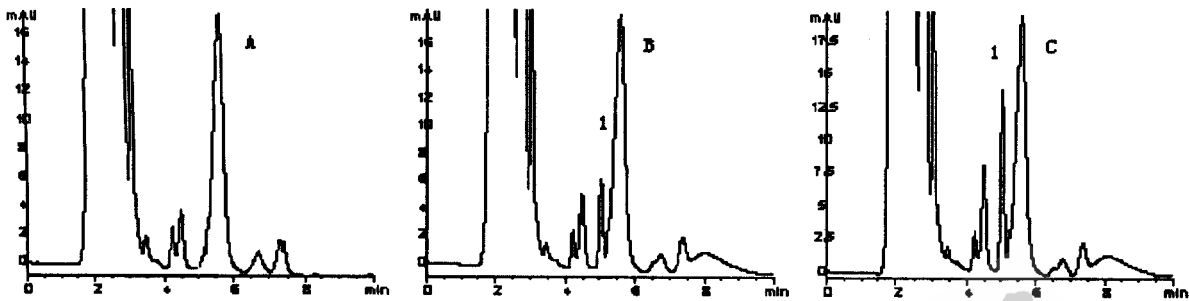


图 1 血浆中双环铂的 HPLC 色谱图

Fig 1 chromatogram chart with HPLC of DCP after serum disposed

A: 空白血浆;B: 血浆样品;C: 双环铂对照品;1. 号峰为 DCP

A: blank serum; B: serum sample; C: Calibration of DCP, the peak; 1. is DCP

1.4.1 标准曲线 精密称取安托可金适量,加重蒸水溶解制成每毫升含双环铂 0.5mg 及 5mg 的标准储备液。精密吸取此液适量,加水稀释配成浓度分别为 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 100μg/mL 的标准系列溶液,照上述条件测定,双环铂水溶液的标准曲线见图 2。线性回归方程: $A = 2.4676C + 0.6197$ ($r = 0.9999$)。另分别取兔子的空白血浆 0.48mL,置于六支试管中,加入标准液,配成 10、20、40、60、80、100μg/mL 的血浆标准溶液。按 1.3 项下方法处理,色谱图见图 3,双环铂在血浆中的线性回归方程为 $A = 2.6063C + 0.7938$ ($r = 0.9996$)。在 0.5 ~ 40μg/mL 范围内线性关系良好,在兔血浆中最低检测限为 0.5μg/mL。

1.4.2 方法精密度 分别配取 5μg/mL 和 100μg/mL 两种浓度的标准双环铂水溶液和血浆溶液,分别在日内测定 3 次,并连续测定 3 天,分别计算双环铂在日内和日间的 RSD。双环铂在水液中两个浓度的日内误差 RSD 分别为 1.6% 和 1.5%,日间误差 RSD 分别为 4.4% 和 3.2%;在血浆中日内误差 RSD 分别为 5.1% 和 5.2%,日间误差 RSD 分别为 8.4% 和 5.6%。

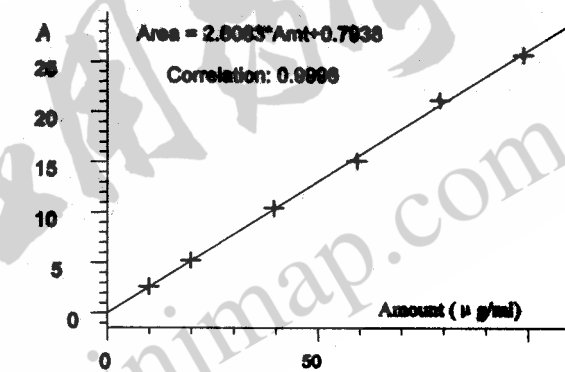


Fig 3 cal. curve of DCP in rabbits' serum

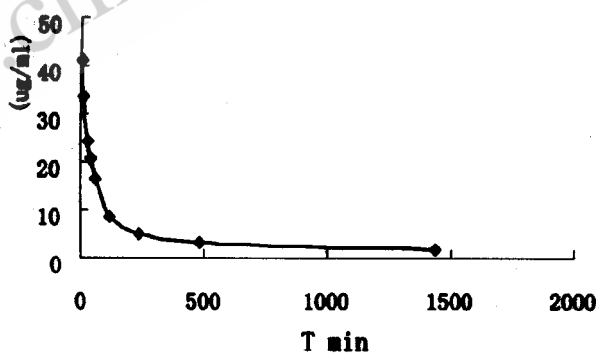


Fig 4 plasma concentration time profiles of DCP in the rabbits after iv rejection

Tab 1 The results of recovery test for DCP

Sample concentration (μg/mL)	Integral area A	Mass concentration (μg/mL)	Recovery (%)	Mean recovery (%)
5	11.6	4.45	89.0	RSD = 4.0%
10	25.0	9.88	98.8	
20	46.0	18.39	91.9	
40	92.2	37.11	92.8	

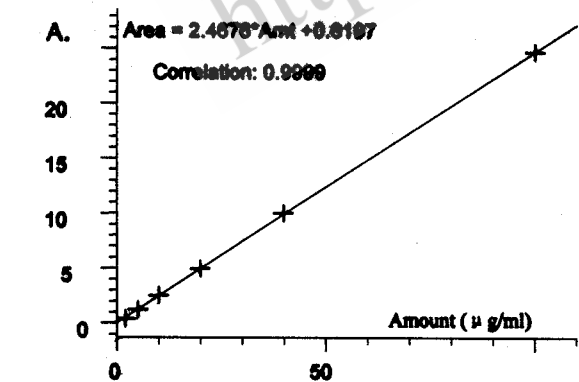


Fig 2 calibration curve of DCP in water

Sample concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Integral area A	Mass concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (%)	Mean recovery (%)
100	225.2	91.00	91.0	

1.4.3 回收率的测定 分别取兔血浆 0.48mL,置于 5 支试管中,分别加入 0.5mg/mL 及 5mg/mL 的双环铂标准液,配成浓度为 5、10、20、40、100 $\mu\text{g/mL}$ 的兔血清,处理后进行测定,照双环铂在水中标准曲线,分别得出结果,与已知浓度进行

Tab 2 The pharmeters of DCP in rabbits after iv injection

dose	α	β	$t_{1/2}\alpha$	$t_{1/2}\beta$	K21	K10	K12	VC	AUC	Cl
mg/kg	h-1	h-1	h	h	h-1	h-1	h-1	L/kg	$\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$	L/h
18.5	1.3784	0.0611	0.50	11.34	0.244	0.345	0.851	0.406	132.17	0.140

3 讨论

3.1 方法的准确度和精密度

目前,铂类抗癌药物的药代动力学研究主要基于总铂的测定。测定生物样品中微量铂的方法有许多种,应用最广泛,最成熟的方法为石墨炉原子吸收分光光度法(EAAS)^[1],少数采用高效液相色谱法(HPLC)。但是用 EAAS 其测定结果受生物样品基质干扰很大,且仪器推广不够普遍。本实验采用较普遍的高效液相色谱法,对血浆样品进行处理后,得到了较好的测定结果,其准确度和精密度良好。最低检测限为 0.5 $\mu\text{g/mL}$,回收率为 89.0% ~ 98.8%,相对标准偏差 RSD 小于 10%,能满足生物样本测定分析的要求。

3.2 样品的处理

铂类抗癌药物的分子极性较大,易受血浆成分干扰。国内多用 5mL 氯仿 1 次分离内源性杂质而直接进样^[3],其缺点是分离很不完全,且血浆中蛋白成份极易损害色谱柱,所以,除去样品中蛋白是必要的。处理样品中蛋白的方法有很多,本实验采用最简单方便的金属盐沉淀法,加入 50% 硫酸锌沉淀蛋白,并同时使用乙醚和氯仿分次去除内源性杂质,从而既避免了内源杂质的干扰,又可延长色谱柱的使用寿命^[4]。

3.3 药动学应用

由血药浓度-时间数据经 3P87(新版)药动学程序处理后证明,家兔静注双环铂后,该药在家兔体内的药动学过程

比较,得出本方法双环铂的回收率。见表 1

2 药代动力学结果

双环铂在家兔体内经时血药浓度曲线见图 4 所示;家兔静注双环铂后血药浓度曲线成明显的双相处置特征,经 3p87(新版)药动学程序拟合进一步证明双环铂在家兔体内的药动学和药代动力学参数,过程符合二房室模型。其主要药动学参数见表 2 所示。

符合二房室模型,与文献报道相同^[1,5],各项参数与大鼠 20mg/kg 剂量参数相比,家兔静注双环铂后分布半衰期 $t_{1/2}\alpha$ 为 0.5h(大鼠 0.24h);消除半衰期 $t_{1/2}\beta$ 平均为 11.34h,(大鼠 10.8h),中央室分布容积为 0.406L/Kg(大鼠 0.16);曲线下面积 AUC 132.17(大鼠 78.7 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$),CL 0.140(大鼠 0.67L/kg·h)。说明双环铂在家兔体内可能有较大蓄积性。双环铂在体内的排泄途径主要是肾脏,按照 6.64 个周期体内药物消除完全^[5],双环铂在体内完全消除需 3d 左右的时间。

参考文献

[1] 顾萱,陈西敬,杨洁,等. 铂类抗癌药物体内浓度的电热原子吸收光谱分析[J]. 中国药科大学学报,2000,31(3):213.
[2] 黄卫平,刘放. RP-HPLC 测定卡铂及其制剂的含量[J]. 华西药学杂志,1997,12(2):112.
[3] 曾经泽. 生物药物分析[J]. 中国医药科技出版社,1990,39.
[4] 谢瑞祥,吴国森,林川,等. HPLC 法测定人血清卡铂浓度[J]. 海峡药学,1999 年.
[5] 陈西敬,柳晓泉,张广钦,等. 安托可金(0325K1-1)在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国药科大学学报,2000,31(1):56.