

安托可金($0325k_{1-1}$)在大鼠体内的药代动力学

陈西敬 柳晓泉 张广钦¹ 顾 萱² 孟 华³ 祝文兵³ 辛芙萌³ 李 娜⁴ 王广基 朱家璧⁵

(中国药科大学药物代谢研究中心,¹ 药理学研究室,² 分析测试中心,³ 中昆药剂研究所,南京 210009)

摘要 以原子吸收法测定了大鼠血浆、组织与胆汁、尿、粪便中安托可金的浓度。大鼠静注安托可金后符合二房室模型处置特征,分布半衰期平均为 0.25 ± 0.02 h,消除半衰期平均为 11.4 ± 0.57 h,中央室分布容积为 0.16 ± 0.05 L/kg。静注安托可金后该药可很快向机体的各组织分布,大多数组织在 6 min 即达到较高浓度,其中以肾脏浓度最高,肝、肺、子宫、皮肤、瘤体等组织也有较高的浓度。静注给药后 24 h 的累积尿排泄率平均为 $(77.6 \pm 10.3)\%$,120 h 的累积排泄率平均为 $(90.7 \pm 3.80)\%$,说明肾脏是该药的主要排泄途径。安托可金在粪中的排泄较少,120 h 的累积排泄率平均为 $(2.87 \pm 0.46)\%$,24 h 的胆汁累积排泄率平均为 $(1.01 \pm 0.29)\%$,说明粪和胆汁不是该药的主要排泄途径。安托可金与大鼠的血浆蛋白结合率平均为 $(40.7 \pm 3.49)\%$ 。

关键词 安托可金; $0325k_{1-1}$; 铂; 原子吸收; 组织分布; 药代动力学

安托可金(又名:双环铂,代号: $0325k_{1-1}$)为一种铂络合物,为国内首创的新药。体外和动物体内试验表明本品有较强的抗肿瘤活性,20 mg/kg 剂量对肺癌的抑瘤率达 90% 以上,且毒性相对较低。本实验采用石墨炉原子吸收法测定大鼠血浆、组织、胆汁、尿和粪便中安托可金浓度。对本品在动物体内的药代动力学进行研究,为其进一步的临床研究提供参考依据。

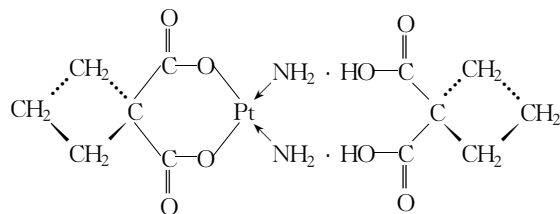


Fig 1. The chemical structure of $0325k_{1-1}$

1 试验仪器与药品

岛津 AA-670 原子吸收分光光度计,岛津 GFA-4B 石墨炉原子化器,岛津 PR-4A 图示打印机,岛津 ASC-60G 自动进样器。安托可金为北京市兴大科学系统公司研制,含量为 99.7%。动物实验用药品溶液由安托可金加新鲜重蒸馏水制成 2% 溶液,置冰箱中冷藏备用(24 h 内用完),给药时以 10% 葡萄糖注射液等倍稀释。所用试剂中 Triton X-100 为 Sigma 公司产品,使用时配制成

1% 溶液,硝酸(AR)为上海试剂四厂生产,双氧水(AR)为上海桃浦化工厂生产,氢氧化氨(AR)为南京化学试剂厂生产,10% 葡萄糖注射液为南京小营制药厂生产。

清洁级 SD 大鼠,中外合资上海西普尔-必克试验动物中心提供,体重 180~220 g,动物合格证号:沪动合证字 152 号,在本实验室饲养 2 d 后使用。

2 试验方法

2.1 生物样品的处理与测定

血浆样品处理方法为取血浆 1.0 ml,加入 1% Triton 溶液 1.0 ml,摇匀后直接测定。组织样品处理方法为取样品约 0.4 g,精密称量,加入 75% 硝酸 0.4 ml 和 30% 过氧化氢溶液,摇匀,置 80℃ 水浴加热 1 h,放冷后加 30% 氨水 0.4 ml,加水至 2 ml,摇匀,静置,取上清液测定。取尿与胆汁样品 10 μ l 直接测定或以水稀释后测定;大鼠粪便样品的处理方法为将某一时段的样品加一定体积的水制成匀浆,测量体积后精密吸取 1 ml,加入 75% 硝酸 0.4 ml 和 30% 过氧化氢溶液 0.8 ml,摇匀,置 80℃ 水浴加热 1 h,放冷后加水至 2 ml,摇匀,静置,取上清液测定。

仪器条件:工作电流 8 mA,狭缝 0.5 nm,

载气为氦气,流量 1.5 L/min,间断流量为 0 L/min,测定波长 266 nm。积分时间 5 s,升温程序为(1)50℃ 45 s;(2)100℃ 10 s;(3)120℃ 10 s;(4)1000℃ 25 s;(5)2700℃ 3 s;(6)2800℃ 2 s;(7)0℃ 60 s。以峰面积为测定信号,自动进样,进样量 10 μ l,对两次重复测定值的相对偏差要求为小于 5%。

2.2 大鼠血药浓度测定和药代动力学研究方法

取大鼠 252 只,雌雄各半,分为 3 组,每组 84 只,分别按 10、20 和 40 mg/kg 三种剂量股静脉注射药物,给药前取空白血,给药后分别于 2、6、10、20、30、40 min 及 1、1.5、2、4、8、12、24、36 h 取血(每时间点 6 只动物,雌雄各半),置肝素试管中,离心,分取血浆, -25℃ 保存供测试。

剂量依据:是根据本品的急性毒性结果(小鼠 ip LD₅₀ = 210.5 mg/kg)、慢性毒性剂量(大鼠为:20、15、10 mg/kg·d⁻¹)和药效学剂量(小鼠:20、15、10 mg/kg·d⁻¹,连续 7 d)及本试验仪器灵敏度等综合考虑的。

药动学参数计算方法为将血药浓度-时间数据以 3p87 程序经计算机拟合, AIC 法判断房室模型并计算出药动学参数。

2.3 药物在大鼠体内的组织分布研究

2.3.1 正常组织的试验方法 大鼠 30 只,随机分为 5 组,每组 6 只,按 20 mg/kg 体重股静脉注射药物,给药后分别于 6 min、30 min 及 3 h、6 h、12 h 放血处死(每时间点 6 只动物,雌雄各半),迅速取出心、肝、肾、肺、胰、脾、胃、肠、脑、骨骼肌、脂肪、皮肤、子宫、睾丸,用生理盐水冲洗表面污血,吸干水分,于 -25℃ 冷冻保存供测试。

2.3.2 肿瘤组织的试验方法 将 1:3 稀释的瘤细胞混悬液于大鼠右腋皮下按 0.25 ml/只接种瓦克癌-256(Walker's carcinoma-265, W265),待瘤体重 >1 g 时(种瘤后约第 9 天),随机分组,每组 6 只,其中 3 组按 20 mg/kg 腹腔注射安托可金,一组注射生理盐水供对照,分别于给药后 6 min、30 min、12 h 剖取瘤块,立即以液氮冷冻, -

20 保存。

2.4 大鼠的排泄试验

2.4.1 尿液与粪便排泄的试验方法 大鼠 6 只,按 20 mg/kg 体重从股静脉迅速注射药物。将每只动物分别置于代谢笼内,收集 0~4、4~8、8~12、12~24、24~36、36~48、48~72、72~96、96~120 h 内的粪便和尿液,将每只动物各时间段的样品混匀,测量体积,于 -25℃ 保存供测试。

2.4.2 胆汁排泄的试验方法 大鼠 6 只,做胆管插管,按 20 mg/kg 体重股静脉注射药物后,分别收集 0~1、1~2、2~4、4~8、8~12、12~24 h 内的胆汁,收集的胆汁在测量体积后迅速置 -25℃ 保存供测试。每一时间段的胆汁中铂排泄量为胆汁的铂浓度与胆汁体积之积。

2.5 药物的血浆蛋白结合率试验方法

将大鼠空白血浆 2.5 ml 装入聚酰胺透析袋中,扎紧,放入装有 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)10 ml 的广口瓶内,将安托可金标准溶液定量加至袋外缓冲液中,使缓冲液浓度分别为 4.0、8.0、16.0、32.0 μ g/ml,同时用缓冲液 2.5 ml 代替血浆置透析袋中作对照,加安托可金标准溶液定量至袋外缓冲液中,使总缓冲液浓度为 4.0 μ g/ml,置冰箱中于 4℃ 平衡 72 h,测定对照品袋内和袋外浓度,证明达到平衡后,分别测定各袋内和袋外的药物浓度,按下述公式算出药物的血浆蛋白结合率。

$$\text{蛋白结合率} = \frac{(\text{袋内浓度} - \text{袋外浓度})}{\text{袋内浓度}} \times 100\%$$

3 结 果

3.1 安托可金在大鼠体内的血药浓度和药代动力学参数

大鼠分别按 10、20 和 40 mg/kg 三种剂量股静脉注射药物后,经时过程的血药浓度见图 2 所示。大鼠静注安托可金后血药浓度曲线呈明显的双相处置特征,经 3p87 药动学程序拟合进一步证明安托可金在大鼠体内的药动学过程符合二房室模型。其主要药动学参数见表 1 所示。

Tab 1. The pharmacokinetic parameters of 0325k₁₋₁ in rats after iv injection

Dose (mg/kg)	α (h ⁻¹)	β (h ⁻¹)	$t_{1/2\alpha}$ (h)	$t_{1/2\beta}$ (h)	k_{21} (h ⁻¹)	k_{10} (h ⁻¹)	k_{12} (h ⁻¹)	V_c (l/kg)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	Cl (l/h)
10	3.19	0.0582	0.27	11.9	0.12	1.52	1.10	0.17	38.4	0.69
20	2.90	0.0640	0.24	10.8	0.12	1.54	1.30	0.16	78.7	0.67
40	2.74	0.0765	0.25	11.6	0.10	1.43	0.97	0.16	178.9	0.60
Mean	2.94	0.0729	0.25	11.4	0.11	1.50	1.12	0.16	—	0.65
SD	0.23	0.0206	0.02	0.57	0.01	0.06	0.17	0.01	0.05	

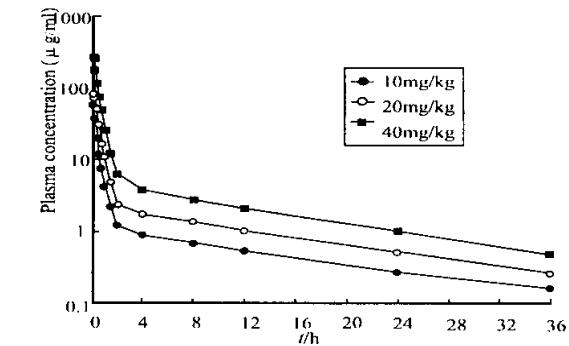


Fig 2. Plasma concentration-time profiles of 0325k₁₋₁ in the rats after iv injection

3.2 药物在大鼠体内的组织分布

大鼠按 20 mg/kg 体重注射安托可金后 ,经 6 min、30 min、3 h、6 h 和 12 h 测定的心、肝、肾、肺、胰、脾、胃、肠、脑、骨骼肌、脂肪、皮肤、子宫、睾丸、瘤体中安托可金的浓度见图 3 所示。

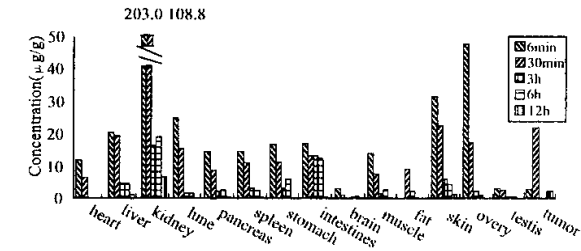


Fig 3. Tissue concentration of 0325k₁₋₁ in the rats at different time after iv injection

从试验结果可见 ,静注安托可金后该药可很快向机体的各组织分布 ,大多数组织在 6 min 即达到较高浓度 ;其中以肾脏浓度最高 ,可能与该药主要经过肾脏排泄有关 ;肝、肺、子宫、皮肤等组织中有较高浓度 ,与文献报道的其它铂类抗肿瘤药的组织分布情况相似^[3] ;瘤体中有较高的含量 ,从而为该药在体内的抗肿瘤活性提供了依据 ;脑组织中也测定到有一定量的药物存在 ,说明该药可穿过血脑屏障进入脑组织。

该药在组织中的清除过程与在血中是同步

的 ,在所研究的组织中尚未发现有明显的特殊积蓄现象。

3.3 安托可金在大鼠体内的排泄试验

3.3.1 尿排泄 图 4 显示了大鼠静注安托可金 20 mg/kg 后在尿中 120 h 的累积排泄率 ,从此图可以看出 ,在用药初期尿中排泄速率较快。12 h 的累积排泄百分率平均为(63.6 ± 17.9)% ,24 h 的累积排泄百分率平均高达 (77.6 ± 10.3)%。24 h 后排泄速率逐渐变缓 ,120 h 的累积排泄百分率平均为(90.7 ± 3.80)%。这些结果说明肾脏是该药的主要排泄途径。

试验过程中发现 ,用药初期安托可金在大鼠尿中的浓度与尿量有关 ,尿量少时浓度较高 ,有时可高达 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上。过高的尿药浓度可能是导致这类药物肾脏损害的主要原因。

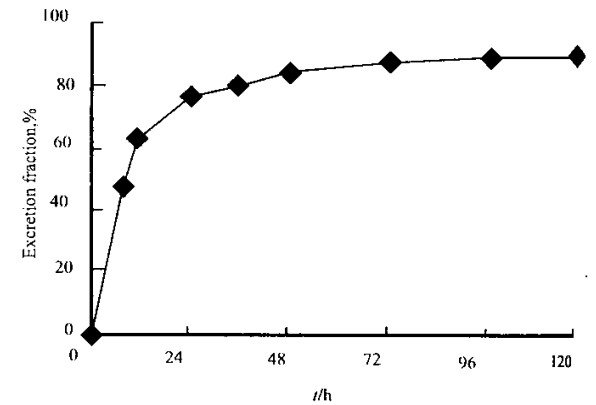


Fig 4. The cumulated excretion of 0325k₁₋₁ in rat urine after iv injection

3.3.2 粪便排泄 图 5 显示了大鼠静注安托可金后在粪便中的累积排泄率 ,静注给药后 ,安托可金在粪便中的排泄较少 ,120 h 的累积排泄率平均为(2.87 ± 0.46)% ,说明粪便不是该药的主要排泄途径。24 h 的粪便累积排泄率平均为(0.90 ± 0.20)%。与胆汁同时间的平均排泄率(1.01 ± 0.29)% 接近 ,说明该药不存在明显的肝肠循环。

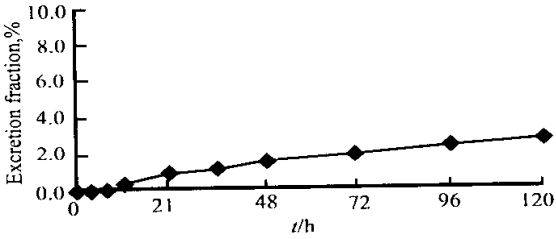


Fig 5. The cumulated excretion of 0325k₁₋₁ in rat faeces after iv injection

3.3.3 胆汁排泄 图 6 显示了大鼠静注安托可金后在胆汁中 24 h 的累积排泄率，可以看出，在用药初期胆汁排泄速率较快，12 h 后排泄速率逐渐变缓，24 h 的胆汁累积排泄率平均为(1.01 ± 0.29)%。说明胆汁不是安托可金的主要排泄途径。

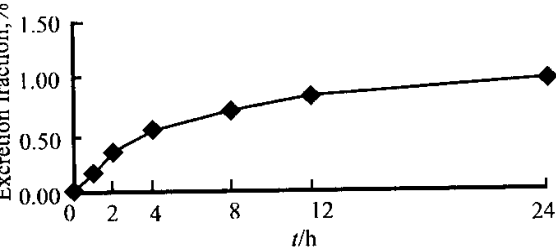


Fig 6. The cumulated excretion of 0325k₁₋₁ in rat bile after iv injection

3.4 安托可金与大鼠血浆蛋白的结合试验

以平衡透析法测定大鼠血浆蛋白结合率结果表明，在 72 h 对照品袋内、外缓冲液的浓度值已较为接近，说明透析已达到平衡。4.0、8.0、16.0、32.0 μg/ml 浓度下安托可金与血浆的蛋白结合率分别为 40.2%、41.6%、36.2%、44.6%，平均为(40.7 ± 3.49)%。

4 结 论

1) 大鼠和犬静注安托可金后符合二房室模型处置特征，大鼠的分布半衰期平均为 0.25 ± 0.02 h，消除半衰期平均为 11.4 ± 0.57 h，中央室分布容积为 0.16 ± 0.05 l/kg；随剂量不同，犬的分布半衰期为 0.56~0.72 h，消除半衰期为 18.1~22.8 h，中央室分布容积为 0.123~0.154 l/kg。

2) 静注安托可金后该药可很快向机体的各组织分布，大多数组织在 6 min 即达到较高浓度；其中肾脏浓度最高，可能与该药主要经过肾脏排

泄有关，肝、肺、子宫、皮肤等组织中有较高浓度，瘤体中也有较高的浓度，脑组织中测定到有一定量的药物存在。该药在各组织中的清除过程与在血浆中是同步的，在所研究的组织中尚未发现有明显的特殊积蓄现象。

3) 在用药初期尿中排泄速率较快，12 h 的累积排泄率平均为(63.6 ± 17.9)%，24 h 的累积排泄率平均高达(77.6 ± 10.3)%。24 h 后排泄速率逐渐变缓，120 h 的累积排泄率平均为(90.7 ± 3.80)%。这些结果说明肾脏是该药的主要排泄途径。

静注给药后，安托可金在粪便中的排泄较少，120 h 的累积排泄率平均为(2.87 ± 0.46)%，说明粪便不是该药的主要排泄途径。24 h 的粪便累积排泄率平均为(0.90 ± 0.20)%。与胆汁同时间的平均排泄率(1.01 ± 0.29)%接近，说明该药不存在明显的肝肠循环。

在用药初期胆汁排泄速率相对较快，12 h 后排泄速率逐渐变缓，24 h 的胆汁累积排泄率平均为(1.01 ± 0.29)%。说明胆汁不是该药的主要排泄途径。

4) 以平衡透析法测定大鼠血浆蛋白结合率平均为(40.7 ± 3.49)%，不同浓度下安托可金与血浆的蛋白结合率结果比较接近。

5) 由于本品有较高的抗肿瘤活性和相对较低的毒性，在水中溶解性和稳定性较好，是很有发展前景的一种抗肿瘤药。从试验结果看，本品在大鼠和犬体内半衰期较长、在肾和子宫中有较高浓度、组织分布广泛。在确定临床用量和适应症、禁忌症时应予考虑。

致 谢 北京医科大学临床肿瘤学院王耐勤教授等协助完成肿瘤在大鼠的接种、给药和取样等工作，北京市兴大科学系统公司崔维川老师给予了热情的支持。

参 考 文 献

1 李文钧, 郑永兴, 李延福等. 石墨炉原子吸收法测定体内顺铂. 药物分析杂志, 1988 9: 82
2 Adman EY, Iman AS. Rapid determination of platinum by flameless atomic absorption spectrophotometry following the administration of cisplatin to cancer patients. Therapeutic Drug Monitoring, 1986 8: 318
3 李文钧, 郑永兴, 李延福等. 卡铂和顺铂在大鼠体内的药动学.

- 中国医药工业杂志,1991,220
- 4 张相林,任家佩,张道平等. 国产卡铂和顺铂在兔体内的药物动力学. 中国医院药学杂志,1992,12:387
- 5 倪俊,王元和,王强等. 白蛋白对大鼠腹腔内卡铂分布的影响. 中国医院药学杂志,1996,16:246
- 6 蒋学华,廖工铁. 炭铂的临床药代动力学. 华西药学期刊,1993,8:42
- 7 刘云英,孙燕,孙玉海等. 国产卡铂在肿瘤患者的临床药理研究. 中国新药杂志,1993,2:47
- 8 王娟,马淑清,云佩茹等. 炭铂腹腔给药 HPLC 测定法及犬的药代动力学研究. 实用肿瘤学杂志,1997,11:4

The Pharmacokinetics of 0325k₁₋₁ in Rats

CHEN Xi-Jing, LIU Xiao-Quan, ZHANG Guang-Qin¹, GU Xuan, MENG Hua, XIN Fu-Meng, LI Na, WANG Guang-Ji, ZHU Jia-Bi³

*Department of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*¹, *Department of Pharmacology*², *Analytical Center*³, *Zhongkun Pharmaceutical Institute, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009*

Abstract The concentration of 0325k₁₋₁ in the plasma, tissues, bile, urine and faeces of rats has been determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. The plasma concentration-time profiles fitted to two compartments after i. v., and the distribution half life $t_{1/2\alpha}$ was 0.25 ± 0.02 h and the elimination half life $t_{1/2\beta}$ was 11.4 ± 0.57 h and the distribution volume of central compartment V_c was 0.16 ± 0.05 l/kg. The distribution process of 0325k₁₋₁ to tissues was much quicker, and the levels at 6 min was the highest for most tissues after iv use. For all tissues studied, the kidney, liver, lung, skin and tumor tissues had higher levels than those of other tissues. More than 90% of the drug was excreted in urine after i. v. but less than 3% was found in bile or faeces. The combination rate of the drug to plasma protein was $(40.7 \pm 3.49)\%$.

Key words 0325K₁₋₁; Platinum; Atom absorption spectrophotometry; Tissue distribution; Pharmacokinetics
万方数据