

注射用酒石酸长春瑞滨胶束及注射用长春瑞滨在比格犬体内的毒动学比较

贾长虹, 胡 雷, 肖宇萌, 谷 元, 黄 莹*

天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

摘要: 目的 测定连续给予注射用酒石酸长春瑞滨胶束的毒动学参数, 并与注射用酒石酸长春瑞滨进行比较。方法 选取16只比格犬随机分为4组, 雌雄各半, 分别连续iv给予注射用酒石酸长春瑞滨胶束低、中、高剂量(0.29、0.58、1.174 mg/kg)与注射用酒石酸长春瑞滨1.174 mg/kg, 建立测定比格犬血浆中酒石酸长春瑞滨浓度的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法, 测定血药浓度, 采用DAS3.1.4药动学软件计算动力学参数。结果 比格犬iv给予注射用酒石酸长春瑞滨胶束低、中、高3个剂量, 血药浓度、 $AUC_{(0-t)}$ 、 C_{max} 随给药剂量的增加而增大; 连续iv给药, 低、中、高剂量组动物血药浓度、 $AUC_{(0-t)}$ 、 C_{max} 在给药第1、29、71天时均变化不大, 无明显蓄积倾向。而注射用长春瑞滨胶连续iv给药后随给药时间延长, 动物血药浓度、 $AUC_{(0-t)}$ 、 C_{max} 有上升趋势, $AUC_{(0-t)}$ 蓄积因子分别为2.08、1.80, C_{max} 蓄积因子分别为2.58、2.32, 均有蓄积倾向。结论 注射用酒石酸长春瑞滨胶束与普通注射用酒石酸长春瑞滨毒动学参数比较, 无明显的蓄积倾向, 可降低长期服药的毒性风险。

关键词: 注射用酒石酸长春瑞滨胶束; 比格犬; 血浆; 液相色谱-串联质谱法; 毒动学; 蓄积

中图分类号: R969.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2020)05-0866-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.05.012

Toxicokinetics comparison between vinorelbine tartrate micelle for injection and vinorelbine tartrate for injection in beagle dogs

JIA Changhong, HU Lei, XIAO Yumeng, GU Yuan, HUANG Ying

TIPR Drug Assessment Co.Ltd, Tianjin 300301, China

Abstract: Objective To establish a quick method to analyze vinorelbine tartrate in plasma of beagle dogs and compare the toxicokinetics of vinorelbine tartrate micelle for injection and vinorelbine tartrate for injection. **Methods** Sixteen beagle dogs were selected and divided into four groups, who received multiple dose of 0.29, 0.58 and 1.174 mg/kg vinorelbine tartrate micelle for injection and 1.174 mg/kg vinorelbine tartrate for injection respectively. The plasma concentrations of vinorelbine tartrate micelle were determined by LC-MS/MS. Using DAS3.1.4 pharmacokinetic software to calculate the kinetic parameters. **Results** The blood concentration, $AUC_{(0-t)}$ and C_{max} of beagle dogs increased with the increase of iv dose. The blood concentration, $AUC_{(0-t)}$ and C_{max} of beagle dogs in the low, middle and high dose groups did not change significantly at the 1st, 29th and 71st day of administration. After iv continuous administration of vinorelbine for injection, the concentration of blood drug, $AUC_{(0-t)}$, C_{max} increased with the increase of administration time. The accumulation factors of $AUC_{(0-t)}$ were 2.08, 1.80, and C_{max} were 2.58 and 2.32, respectively. **Conclusion** Compared with the pharmacokinetic parameters of vinorelbine tartrate for injection, vinorelbine tartrate for injection has no obvious accumulation tendency, which can reduce the risk of long-term toxicity.

Key words: vinorelbine tartrate micelle for injection; vinorelbine tartrate for injection; plasma of beagle dogs; LC-MS/MS; toxicokinetics; accumulation

酒石酸长春瑞滨是一种可干扰微管聚集的半合成长春碱类化合物^[1], 主要通过抑制微管蛋白的

聚合, 使细胞分裂终止于有丝分裂中期^[2]。临床上多与其他抗癌药物联合应用于治疗非小细胞肺

收稿日期: 2019-02-21

基金项目: 科技部“重大新药创制”科技重大专项(2015ZX09501004-002-003)

第一作者: 贾长虹(1985—), 女, 硕士研究生, 助理研究员。研究方向为药物非临床前毒理学评价及药物分析工作。

E-mail: jiachanghong@163.com

*通信作者: 黄 莹, 女, 副研究员, 研究方向为临床前药理学毒理学评价工作。E-mail: huangy@tjipr.com

癌^[3],也广泛应用于乳腺癌、转移性乳腺癌、晚期卵巢癌、恶性淋巴瘤管癌等^[4-5]。

酒石酸长春瑞滨是细胞毒类抗肿瘤药物,会引起脱发、腹泻、呕吐、便秘、手脚麻痹、头痛等不良反应,毒副作用还包括骨髓抑制、局部静脉炎、神经毒性、血液毒性、局部皮肤坏死^[6]。因此,将酒石酸长春瑞滨制备为注射用酒石酸长春瑞滨胶束,利用双亲性分子在水中达到一定浓度时可自发聚集形成胶束的性质,将长春瑞滨包载于胶束的疏水性内核,得到一种动力学稳定体系,并在体内具有一定肿瘤靶向作用,增加药物在肿瘤组织的分布、延长半衰期,从而提高疗效、降低剂量相关性毒性及局部刺激^[7-9]。本研究通过检测静脉连续给药后的比格犬血药浓度变化规律和毒动力学参数,考察注射用酒石酸长春瑞滨胶束的动力学特征并与注射用酒石酸长春瑞滨比较,评价其临床应用前景。

1 材料

1.1 主要试剂

酒石酸长春瑞滨标准品(北京德科瑞医药科技有限公司,批号100709-201103);兰索拉唑(IS)(中国食品药品检定研究院,批号20121220);注射用酒石酸长春瑞滨胶束(北京德科瑞医药科技有限公司,批号20130101-2);注射用酒石酸长春瑞滨(北京德科瑞医药科技有限公司);乙酸铵(分析纯,天津市化学试剂一厂);甲酸(分析纯,天津广福精细化工研究所);甲醇(色谱纯,Fisher公司);自制去离子水。

1.2 仪器

API4000 三重四级杆串联质谱(AB Sciex 公司);ML104 型电子天平(METTLER TOLEDO 公司);超低温冰箱(三洋,MDF-382E);高速冷冻离心机(Micro 17R Thermo 公司);GM-0.33A 型真空隔膜泵(天津市津腾实验设备有限公司);BM-70 型纯水机(北京中盛茂源科技发展有限公司)。

1.3 试验动物

比格犬(普通级)16只,雌雄各半,体质量8.0~10.5 kg,上海新冈实验动物场,实验动物生产许可证号SCXK(沪)2017-0006。

2 方法

2.1 检测方法

色谱柱为inertsil ODS-3(50 mm×4.6 mm,5 μm)^[5];流动相A为5 mmol/L 乙酸铵(含0.02%甲酸),流动相B为甲醇,梯度洗脱0.01~2.50 min,70%~0%A;6.0~8.0 min,0%~70%A;8.0~15.0 min,70%A;体

积流量0.3 mL/min;进样量10 μL;柱温35 °C。

离子源为ESI,正离子检测;气帘气体积流量20 L/min;离子源气体1压力为275.79 kPa,离子源气体2压力为310.26 kPa;离子源温度500 °C;喷射电压5 KV;CAD为4;去簇电压100 eV;碰撞能为70 eV。MRM扫描方式: m/z 779.3→ m/z 122.4(酒石酸长春瑞滨); m/z 392.0→ m/z 188.1(兰索拉唑,IS)。

方法学验证见本课题组发表的前期文章^[10]。

2.2 标准溶液制备

精密称取酒石酸长春瑞滨标准品10.0 mg,用甲醇定容至10 mL量瓶中。精密吸取上述溶液用甲醇稀释配制为1、2、5、25、100、500、800、1 000 ng/mL酒石酸长春瑞滨标准液,2~8 °C避光保存。同法配制质量浓度为25 ng/mL的兰索拉唑标准溶液用作内标。

2.3 样品处理

取血浆(空白、给药后)100 μL,加内标(25 ng/mL兰索拉唑)100 μL,加200 μL 甲醇(处理标准样品时以100 μL 标准溶液及100 μL 甲醇替代),涡旋5 min,13 300 r/min离心10 min,取上清液60 μL,13 300 r/min离心10 min,10 μL进样。

2.4 比格犬体内实验

16只比格犬随机分为注射用酒石酸长春瑞滨胶束低、中、高剂量(0.29、0.58、1.174 mg/kg)组及注射用酒石酸长春瑞滨(1.174 mg/kg)组,每组4只动物,雌雄各半。

给药周期为3个月,以21 d为1个周期,在每周期的第1、8天各iv给药1次。分别在给药第1、29、71天采动物血样,采血点依次为给药前、给药后0.03、0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、12.00、24.00、48.00、72.00 h,以测定完整的血药浓度变化曲线,用肝素抗凝,10 000 r/min离心10 min,分离血浆,-20 °C冻存。

3 结果

3.1 酒石酸长春瑞滨胶束在比格犬体内的毒动力学

3.1.1 血药浓度 雌、雄性动物之间酒石酸长春瑞滨血浆浓度不存在明显差异。动物体内的酒石酸长春瑞滨浓度随给药剂量的增加而增大;给药后48~72 h内动物体内药物基本完全消除,血药浓度低于检测下限。具体数据见本课题组已发表文献^[10]。连续iv给药,注射用酒石酸长春瑞滨胶束低、中、高剂量组动物血药浓度在给药第1、29、71天时均变化不大,未见明显药物蓄积现象。

3.1.2 参数计算 比格犬iv给予注射用酒石酸长春瑞滨胶束3个月,测定血药浓度,得到血药浓度-时间曲线,数据用Das 3.1.4软件处理,药动力学参数见表1。

$AUC_{(0-t)}$ 、 C_{max} 随给药剂量的增加而增大;连续 iv 给药,注射用酒石酸长春瑞滨胶束低、中、高剂量组 $AUC_{(0-t)}$ 以及 C_{max} 在给药第 1、29、71 天时均未见明显药物蓄积现象。

3.2 比较研究

3.2.1 血浆浓度 比格犬 iv 给予 1.174 mg/kg 注射用酒石酸长春瑞滨胶束以及注射用酒石酸长春瑞滨 3 个月,血药浓度见表 2,得到血药浓度-时间曲线

见图 1。

经 iv 给予相同剂量的药物 1 d,注射用酒石酸长春瑞滨胶束在初始阶段(分布相)的血药浓度高于注射用酒石酸长春瑞滨;给药 29、71 d,二者代谢速率基本一致。注射用酒石酸长春瑞滨胶束给药第 1、29 及 71 天药物代谢基本一致,而注射用酒石酸长春瑞滨则随给药时间的延长血药浓度有上升趋势。

表 1 注射用酒石酸长春瑞滨胶束在比格犬体内的毒动力学参数统计表($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 1 Statistical table of toxicokinetic parameters of vinorelbine tartrate micelles in beagle dogs ($\bar{x} \pm s, n=4$)

酒石酸长春瑞滨胶束/ (mg·kg ⁻¹)	参数	单位	给药第 1 天	给药第 29 天	给药第 71 天
0.290	$AUC_{(0-t)}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	163.6±153.6	80.6±15.8	61.4±16.0
	C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	142.9±127.0	75.2±12.8	120.8±50.9
0.580	$AUC_{(0-t)}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	200.4±50.7	189.7±44.1	248.9±97.2
	C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	198.4±107.8	154.8±31.5	325.8±203.0
1.174	$AUC_{(0-t)}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	388.4±266.6	525.5±32.3	460.2±174.1
	C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	442.5±259.9	443.0±88.7	382.0±141.9

表 2 注射用酒石酸长春瑞滨胶束在比格犬体内的血药浓度统计表($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 2 Statistical table of blood concentration of vinorelbine tartrate micelles in beagle dogs ($\bar{x} \pm s, n=4$)

取血时间/h	注射用长春瑞滨胶束血药浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)			注射用长春瑞滨血药浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)		
	给药第 1 天	给药第 29 天	给药第 71 天	给药第 1 天	给药第 29 天	给药第 71 天
0	—	—	—	—	—	—
0.03	442.5±259.9	443.0±88.7	430.5±103.3	174.2±117.4	410.0±177.5	442.3±44.8
0.25	71.6±22.4	103.8±13.4	79.2±16.7	55.0±49.8	90.1±39.6	80.0±11.4
0.5	57.1±25.1	74.3±10.0	57.2±13.9	30.5±26.5	66.7±29.6	60.1±14.1
1	37.8±15.6	54.8±10.9	40.9±10.3	24.9±19.6	51.4±19.6	45.4±9.3
2	27.0±10.5	39.5±3.7	26.5±5.4	19.5±17.1	51.3±18.6	37.4±5.5
4	13.4±3.5	23.9±2.6	17.0±3.7	10.2±9.3	27.2±6.2	22.9±4.7
8	9.8±3.7	12.1±1.2	19.3±20.6	8.4±10.4	14.2±4.2	14.6±4.8
12	4.3±1.6	10.5±1.2	8.3±41.9	7.8±7.9	12.6±5.2	10.3±5.1
24	2.07±3.4	4.8±0.2	3.0±0.9	2.1±1.5	5.8±1.5	3.9±1.3
48	—	1.6±0.2	—	—	—	1.3±0.0
72	—	—	—	—	—	—

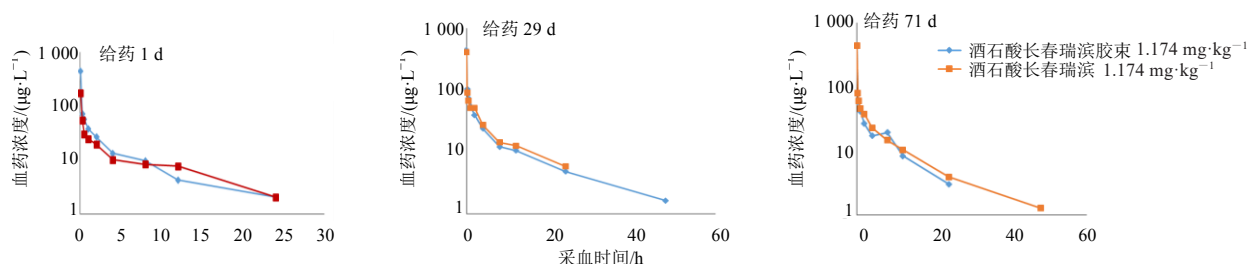


图 1 比格犬 iv 给予注射用酒石酸长春瑞滨胶束及注射用酒石酸长春瑞滨血药浓度-时间曲线比较

Fig. 1 Comparison of blood concentration time curve of vinorelbine tartrate micelles for injection and vinorelbine tartrate for injection in beagle dog

3.2.2 参数计算 注射用长春瑞滨胶束连续 iv 给药, 动物 $AUC_{(0-t)}$ 以及 C_{max} 在给药第 1、29、71 天时均变化不大, $AUC_{(0-t)}$ 蓄积因子分别为 1.43、1.23, C_{max} 蓄积因子分别为 1.05、1.26, 均无明显蓄积倾向, 而注

射用长春瑞滨连续 iv 给药后随给药时间延长, 动物 $AUC_{(0-t)}$ 以及 C_{max} 有上升趋势, $AUC_{(0-t)}$ 蓄积因子分别为 2.08、1.80, C_{max} 蓄积因子分别为 2.58、2.32, 均有蓄积倾向, 结果见表 3。

表 3 药动学参数结果 ($\bar{x} \pm s, n=4$)Table 3 Results of pharmacokinetic parameters ($\bar{x} \pm s, n=4$)

参数	单位	注射用长春瑞滨胶束			注射用长春瑞滨		
		1 d	29 d	71 d	1 d	29 d	71 d
$AUC_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	388.5±266.6	525.5±32.3	460.2±174.120	265.8±303.6	553.7±193.7	479.0±133.1
$AUC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	596.2±627.1	558.1±36.7	485.6±188.8	278.6±312.2	607.5±172.2	496.0±133.2
$t_{1/2z}$	h	7.8±0.4	13.8±1.1	12.7±2.3	8.9±5.9	12.4±2.5	9.3±1.9
V_z	$\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$	44.4±31.4	41.7±2.1	49.4±17.8	77.4±24.7	36.7±13.2	32.4±4.8
CL_z	$\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	4.0±3.1	2.1±0.1	2.9±1.8	9.7±8.1	2.1±0.6	2.5±0.7
C_{max}	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	442.5±259.9	443.0±88.7	382.0±141.7	174.2±117.4	410.0±177.5	442.3±44.8

4 讨论

注射用酒石酸长春瑞滨胶束与注射用酒石酸长春瑞滨在比格犬体内的毒动学比较研究未见报道, 连续 iv 给药后, 注射用酒石酸长春瑞滨胶束与普通注射用酒石酸长春瑞滨毒动学参数比较, 无明显的蓄积倾向, 从而可降低长期服药的毒性风险。另外, 利用双亲性分子在体内具有一定肿瘤靶向作用, 增加药物在肿瘤组织的分布, 从而提高疗效、降低剂量相关性毒性。在给药过程中, 与注射用酒石酸长春瑞滨相比, 注射用酒石酸长春瑞滨胶束组动物无明显的抗拒及不适, 给药部位无明显红肿, 出血等, 说明该剂型药物明显降低了血管刺激毒性。本研究动物分为 4 组, 每组 4 只动物, 雌雄各半, 进行毒动学实验。但第 1 次药后 2 d, 市售对照药组 1 只雌性动物死亡, 第 1 次药后 3 d 高剂量组 1 只雌性动物死亡。鉴于该情况, 选取长期毒性试验中相同给药周期、相同组别、相同性别、体质量相近的两只动物补充进行毒动学试验。

参考文献

- [1] Domenech G H, Vogel C L. A review of vinorelbine in the treatment of breast cancer [J]. Clin Breast Cancer, 2001, 2(2): 113-128.
- [2] 郑召磊, 李亚平, 陈伶俐. 硫酸铵梯度法制备重酒石酸长春瑞滨脂质体及其在大鼠体内的药动学参数 [J]. 江苏大学学报, 2015, 25(3): 256-259

- [3] Crawford J. Vinorelbine (navelbine) in non-small cell lung cancer: future directions [J]. Semin Oncol, 1994, 21 (5): 85-88.
- [4] Poletti P, Bettini A C, Caremoli E R, et al. Liposomal-eneapsulated doxorubicin (MyocetTM, D-99) and vinorelbine in previously treated metastatic breast cancer patients: a feasibility study [J]. Tumori, 2008, 94(5): 686-690.
- [5] 张伟明, 邓英杰, 顾吉晋, 等. 酒石酸长春瑞滨及其脂质体中药物的降解动力学研究 [J]. 中国医药导报, 2009, 6 (23): 23-25
- [6] Huebner G, bnk H, Kohne C H, et al. Paclitaxel and carboplatin vs gemcitabine and vinorelbine in patients with adeno- or undifferentiated carcinoma of unknown primary: a randomised prospective phase II trial [J]. Br J Cancer, 2009, 100(1): 44-49.
- [7] 刘楠, 龚伟, 张慧, 等. 酒石酸长春瑞滨长循环(热敏)脂质体在比格犬体内的药代动力学研究 [J]. 军事医学杂志, 2015, 39(9): 698-701.
- [8] 庄翌, 陈建伟, 徐鑫鑫, 等. 长春瑞滨脂质体与长春瑞滨注射液在荷瘤小鼠体内的药代动力学及组织分布 [J]. 中国药科大学学报, 2013, 44(3): 253-256.
- [9] 杨雯姝, 邱利焱, 金一, 等. RP-HPLC 法测定脂质体中重酒石酸长春瑞滨的含量 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26 (5): 646-648.
- [10] 贾长虹, 胡雷, 肖宇萌, 等. 注射用酒石酸长春瑞滨胶束在比格犬体内的毒代动力学研究 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(10): 1981-1985.