

三尖杉酯碱脂质体在兔体内的药物动力学¹

R969.1

吴淮亮, 翁桐英, 吴朝晖², 吕友才² (南京药物研究所, 南京210009, 中国)

Pharmacokinetics of harringtonine liposomes in rabbits¹

WU Huai-Liang, WENG Guo-Ying, WU Zhao-Hui², LU You-Cai² (Nanjing Institute of Materia Medica, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT After iv free harringtonine (FH) and harringtonine liposomes (HL) with high and low encapsulation percentage (En %) to rabbits, their blood concentrations were determined by reverse-phase HPLC. The blood concentration-time curves were shown to fit a two-compartments open model. FH: $T_{1/2\alpha} = 1.32 \pm 0.24$, $T_{1/2\beta} = 32 \pm 6$ min; Low En % HL: $T_{1/2\alpha} = 4.12 \pm 0.25$, $T_{1/2\beta} = 106 \pm 5$ min; High En % HL: $T_{1/2\alpha} = 9.4 \pm 1.2$, $T_{1/2\beta} = 209 \pm 5$ min.

KEY WORDS harringtonines; liposomes; pharmacokinetics

A 摘要 本文比较了游离三尖杉酯碱 (free harringtonine, FH) 和其高、低包裹率脂质体 (high and low encapsulation percentage harringtonine liposomes, En % HL) 在兔体内的药物动力学行为。iv FH, low En % HL 和 high En % HL 的药时曲线均符合双室开放模型。FH, low En % HL 和 high En % HL 的 α , β 两相的生物半衰期分别为: 1.32 ± 0.24 , 32 ± 6 min; 4.12 ± 0.25 , 106 ± 5 min; 9.4 ± 1.2 , 209 ± 5 min.

关键词 三尖杉酯碱; 脂质体; 药物动力学

抗癌药三尖杉酯碱 (harringtonine, Har) 已进行了多种研究^{1,2}, 但其脂质体 (harringtonine liposome, HL) 的药物动力学研究尚未见文献报道。本文用 HPLC 法测定血药浓度,

Received 1992-02-28

Accepted 1993-04-03

¹ Project supported by the Science Foundation of Jiangsu Province, No H88041.

² Senior students of China Pharmaceutical University, 1989.

获得了兔体内 FH, low En % HL 和 high En % HL 的药动学参数, 以期对正确评价 HL 的内在质量以及拟定临床给药方案提供依据。

MATERIALS

Har 标准品, 中国医学科学院药物研究所精制, ir, uv, ms 图与标准图谱一致, HPLC 纯度检查含量为 99.98 %, FH 注射液, 自制, 符合上海市药品标准 1980年版。Low En % HL 和 high En % HL 均为自制, 其膜材组成为: 卵磷脂、胆固醇、十八胺、葡萄糖, 粒径 $0.47-7.5 \mu\text{m}$, 包裹率分别为 $50 \pm 5 \%$, $80 \pm 5 \%$ 。其余试剂均为 AR。

HPLC, 岛津 LC-5A; 微处理机, 岛津 Chromatopa CR-3A; 荧光检测器, 岛津 RF-530; 进样器, 岛津 SZL-1A。

METHODS AND RESULTS

HPLC

1 色谱条件 色谱柱 Shim-Pack 150 mm \times 6 mm, CLC-ODS, $5 \mu\text{m}$; 流动相, 甲醇: 甲酸铵缓冲液 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 65:35; 流速 $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$; 激发波长 290 nm, 发射波长 325 nm; 衰减 $\times 32$; 保留时间 7.8 min。

2 血清样品制备 取含药血清 (或空白血清加标准品), 加 NaOH $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 数滴, 调 pH 至 9.3。用二氯甲烷提取 2 次, 每次 4 ml, 振摇 2 min, $5000 \times g$ 离心 20 min, 吸出有机相, 在 40 C 水浴上通 N_2 缓缓吹干。残留物用 0.3 ml 流动相溶解。取 2-50 μl 进样。Fig 1 为兔血清中 Har 色谱图。

3 线性关系 将 Har 和空白脂质体制成 $0.05-5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的血清标准液, 按上法提取和 HPLC 测定后, 以峰高对血清浓度进行线性回归处理, 得直线方程:

$$Y = 2.18 X - 2.35$$

$$r = 0.9998 (n = 11)$$

结果表明 Har 血清浓度在 50—5000 ng·ml⁻¹ 范围内线性关系良好。

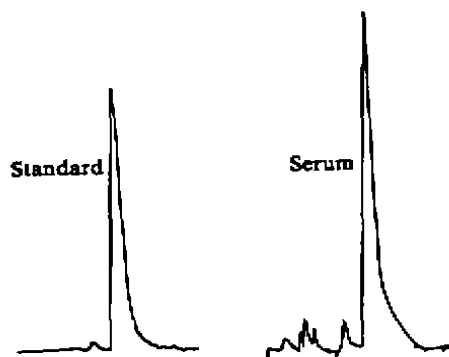


Fig 1. Chromatogram of harringtonine in standard solution and serum sample.

4 回收率和精密度 用上法测得 Har (0.5, 1.5, 2.5 μg·ml⁻¹) 血清标准的回收率为 84.0 ± 1.8 % (n = 15), 变异系数 CV = 3.8 %。

分别测定 3 种浓度 Har 血清标准液, 日内差 CV = 1.64 — 2.80 %, (n = 10), 日间差 CV = 2.22 — 3.21 %, (n = 5)。

5 检出量 按血清样品制备法测得血清中 Har 的最低检出量为 10 ng·ml⁻¹。

兔试验 新西兰兔 15 只, ♀♂ 兼用, 体重为 2.4 ± 0.3 kg, 分 3 组, 分别 iv FH, low En % HL 和 high En % HL 各 4 mg·kg⁻¹。给药后不同时间颈静脉取血, 血凝后 (20 °C), 1500 × g 离心 15 min, 定量吸取血清于试管内, 按样品制备法提取, 用 HPLC 测得 Har 的血药浓度 (Fig 2)。

药物动力学分析 用 FH, low En % HL 和 high En % HL 药-时数据, 在 Apple-II 微机上用药代动力学和生物药剂学程序包 PKBP-N1 (南京军区总医院编) 分别进行双室和三室模型拟合并进行 F 检验。结果见 Tab 1。

根据最小赤池信息判据 (akaike's informa-

tion criterion, AIC)^[3], 最小残差平方和 (residual sum of squares, Re)、估算值与观察值血药浓度之间的最大相关系数 r 以及 F 检验^[4]选择合适的药物动力学模型。结果表明: iv FH, low En % HL 和 high En % HL 均以双室模型描述较适宜。药动学参数见 Tab 2。

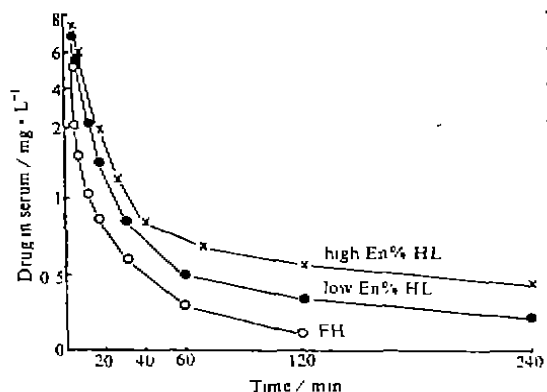


Fig 2. Serum drug concentrations of free harringtonine (FH), harringtonine liposomes with high and low encapsulation % after iv 4 mg·kg⁻¹ in rabbits. n = 5.

Tab 1. Residual sum of squares (Re), Akaike's information criterion (AIC), correlation coefficients between estimated and observed values of blood concentration (r), and F test for bis- and tri-exponential equations to mean C × T data for harringtonine. *P < 0.01.

	FH	low En % HL	high En % HL
Two-compartment			
Re	0.6434	0.5268	0.9441
AIC	3.95	2.87	7.54
r	0.9984	0.9942	0.9924
Tri-compartment			
Re	8.343	5.757	9.849
AIC	17.87	7.59	11.88
r	0.9856	0.9900	0.9887
F	21.61*	18.22*	17.39*

方差分析表明: FH, low En % HL 和 high En % HL 的药物动力学过程有着显著差

Tab 2. Pharmacokinetic parameters of FH, low and high En % HL after iv 4 mg·kg⁻¹ by fitting with 2-compartment model. n=5, $\bar{x} \pm s$. *P<0.01 vs FH.

Parameters	FH	low En % HL	high En % HL
K_{12}/min^{-1}	0.31±0.05	0.090±0.002*	0.061±0.006*
K_{21}/min^{-1}	0.11±0.03	0.024±0.006*	0.012±0.004*
K_{10}/min^{-1}	0.13±0.04	0.047±0.012*	0.020±0.007*
α/min^{-1}	0.52±0.08	0.157±0.009*	0.087±0.005*
β/min^{-1}	0.028±0.004	0.008±0.003*	0.004±0.003*
$T_{1/2\alpha}/\text{min}$	1.32±0.24	4.12±0.25*	9.4±1.2*
$T_{1/2\beta}/\text{min}$	32±6	106±5*	209±5*
$V_1/L \cdot \text{kg}^{-1}$	1.5±0.5	1.6±0.5	1.4±0.3
$V_B/L \cdot \text{kg}^{-1}$	8.1±1.2	8±3	8±4

异。Low En % HL 和 high En % HL 消除相的 $T_{1/2}$ 分别是 FH 的 3.3—6.5 倍。这表明将药物制成脂质体型应用, 可延长其在体循环中的半衰期。

DISCUSSION

FH 与 HL 在兔体内的药代动力学存在着显著差异, 并且随着 En % 的增加其差异增大。这可能是脂质体本身结构特点所致, 与有关文献结果^{15,6} 相符。本文 high En % HL 在兔体内消除相的 $T_{1/2}$ 比 low En % HL 的延长一倍。说明 HL 的 $T_{1/2}$ 与其包裹率高低有密切关系。

本实验采用 HPLC 荧光检测法定量, 比用 uv 检测法¹⁷ 的灵敏度高 3 个数量级。与装有特异电子信号滤波放大器荧光检出法¹⁸ 的灵敏度一致。

REFERENCES

- 1 Yan Y, Ding XJ, Lu S, Liu WL, Li YQ, Lu RZ, *et al.* Comparison of the cytotoxic effect of harringtonine *in vitro* on the proliferation of human hematopoietic and leukemic progenitors. *Chun J Hematol* 1990; **11**: 69—71.
- 2 Tan GT, Pezzuto JM, Kinghorn AD, Hughes SH. Evaluation of natural products as inhibitors of human immunodeficiency virus (HIV-1) reverse transcriptase. *J Nat Prod* 1991; **54**: 143—54.
- 3 Yamaoka K, Nakagawa T, Uno T. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J Pharmacokinet Biopharm* 1978; **6**: 165—75.
- 4 Zeng YL. Two aspects about curve fitting in pharmacokinetics—weighting of experimental data and discrimination between linear compartmental models. *Acta Pharm Sin* 1980; **15**: 571—6.
- 5 Mayhew EG, Lasic D, Babbar S, Martin FJ. Pharmacokinetics and antitumor activity of epirubicin encapsulated in long-circulating liposomes incorporating a polyethylene glycol derivatized phospholipid. *Int J Cancer* 1992; **51**: 302—9.
- 6 Chonn A, Semple SC, Cullis PR. Association of blood proteins with large unilamellar liposomes *in vitro*. Relation to circulation lifetimes. *J Biol Chem* 1992; **267**: 18759—65.
- 7 Wang MZ, Zhang LY, Chen Y. HPLC separation and determination of alkaloids in cephalotaxus plant. *Chun J Pharm Anal* 1991; **11**: 333—6.
- 8 Jui H, Roboz J. Quantitation of harringtonine and homoharringtonine in serum by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1982; **233**: 203—11.