

两种紫杉醇注射剂在荷瘤小鼠体内药动学与组织分布的比较研究

张琦¹, 邹晓丽^{1,2}, 孙文华¹, 许卉^{1*} (1.烟台大学药学院, 山东 烟台 264005; 2.山东靶点药物研究有限公司, 山东 烟台 264006)

摘要: 目的 比较以聚氧乙烯蓖麻油为增溶剂的紫杉醇注射液(Taxol)与以白蛋白为载体的紫杉醇纳米注射剂(ABI)在荷瘤小鼠体内药动学及组织分布的差异。方法 BALB/c 小鼠经前肢腋下皮下接种鼠源乳腺癌 EMT6 细胞, 待瘤体长到约 1 g, 按既定分组经尾静脉分别给予 Taxol 和 ABI, 给药剂量以紫杉醇计均为 20 mg·kg⁻¹。HPLC-UV 测定血浆、瘤组织及心、肝、脾、肺、肾等主要组织器官中紫杉醇含量, 并计算相应药动学参数。结果 ABI 组动物瘤组织中的紫杉醇 AUC 高于 Taxol 组 23.3%, 而血浆中紫杉醇的 AUC 则显著低于 Taxol 组, 并具有更大的 Vd 和 CL($P < 0.05$)。两种不同制剂给药, 紫杉醇在心、肝、脾、肾中的分布趋势基本一致, 但 ABI 组动物肺中的紫杉醇分布显著低于 Taxol 组($P < 0.05$)。结论 和传统紫杉醇注射液相比, 白蛋白紫杉醇纳米粒制剂的瘤组织分布靶向性和药动学特性显著改善, 应用前景广阔。

关键词: 紫杉醇; 白蛋白纳米粒; 荷瘤小鼠; 药动学; 组织分布

中图分类号: R945.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2011)11-0981-04

Comparative Study on Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Two Paclitaxel Injection Formulations in Tumor-bearing Mice

ZHANG Qi¹, ZOU Xiaoli^{1,2}, SUN Wenhua¹, XU Hui^{1*} (1.School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China; 2. Shandong Target Drug Research Co. Ltd., Yantai 264006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To compare the pharmacokinetic characteristics of paclitaxel formulated in Cremophor ethanol (Taxol) with that formulated as an albumin-bound nanoparticle (ABI) in tumor-bearing mice. **METHODS** ABI and Taxol were intravenously administrated with the same dosage of paclitaxel to tumor-bearing BALB/c mice, and then pharmacokinetic profiles of paclitaxel were investigated by determining drug concentration in plasma and tumor, and major tissues including heart, liver, spleen, lung, and kidney with HPLC. **RESULTS** The group administrated with ABI showed a significantly lower AUC of paclitaxel in plasma and greater Vd and CL. However, the AUC of paclitaxel in tumor was 23.3% higher for ABI than that for Taxol ($P < 0.05$). The two groups had similar distribution profiles in tissues except that paclitaxel concentration in lung was much higher in the group of Taxol. **CONCLUSION** Compared with the conventional paclitaxel injection formulated in Cremophor ethanol, albumin-bound nanoparticle of paclitaxel showed better pharmacokinetic and tumor-targeting properties.

KEY WORDS: paclitaxel; albumin-bound nanoparticles; tumor-bearing mice; pharmacokinetics; tissue distribution

紫杉醇是从红豆杉树皮或针叶中提取的一种四环二萜类化合物, 具有稳定微管并促进其聚合和组装的独特抗肿瘤作用, 被誉为20世纪抗肿瘤药物研究的最大发现^[1]。由于水溶性低, 口服生物利用度差, 传统的紫杉醇注射液采用聚氧乙烯蓖麻油-无水乙醇混合溶媒进行溶解, 所得制剂商品名为泰素(Taxol), 是目前肺癌、乳腺癌、头颈癌等的一线化疗药物, 但临床应用存在过敏、中性粒细胞减少和神经毒性等严重的不良反应, 使其安全性和有效性受到影响^[2]。因此, 以改善水溶性、增加靶向性、减少不良反应为目标的紫杉醇制剂研究备受关注^[3]。比如, 王俊平等^[4]报道了紫杉醇长循环脂质体的研究。其中, 由美国生物科学公司(American BioScience Inc.)研发的紫杉醇-人血

白蛋白纳米微粒冻干粉针(Abraxane)现已在欧美上市。III期临床研究结果显示, 其过敏反应发生率不到1%, 较Taxol显著降低, 响应率也明显提高^[5]。笔者参考专利文献^[6], 以牛血清白蛋白为蛋白源, 制备了紫杉醇的纳米微粒冻干粉针剂, 并以市售紫杉醇注射液为参比, 采用荷瘤模型小鼠进行体内药动学特征的对比研究, 分析两种制剂在药物到达靶器官——瘤组织的选择性、血浆中药物累积情况以及主要药动学参数的差异, 为新型紫杉醇注射剂研发提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(包括自动进样器、二元高压泵和 VWD 检测器)(美国 Agilent 公

基金项目: 烟台大学大学生科技创新项目(101408)

作者简介: 张琦, 男 Tel: (0535)6706033 E-mail: zhangqiyanda@163.com
E-mail: xuhui33@sina.com

*通信作者: 许卉, 女, 博士, 副教授 Tel: (0535)6706030

司); XHF-D 高速分散器(宁波新型生物科技股份
有限公司); HSC-24A 型氮吹仪(南京科捷分析仪
器研究所); TGL-16G 台式离心机(上海安亭科学
仪器厂); XW-80A 涡旋混合器(上海精科实业有
限公司)。

1.2 试药

紫杉醇注射液[Taxol, 海南中化联合制药工业
有限公司, 每支 5 mL(含紫杉醇 30 mg), 批号:
20080328]; 紫杉醇-牛血清白蛋白纳米微粒冻干粉
针(ABI, 由山东靶点药物研究有限公司研制提供,
每瓶含紫杉醇 50 mg, 牛血清白蛋白 450 mg, 批
号: ZSC090604); 紫杉醇对照品(中国药品生物制
品检定所, 批号: 1534-200202, 纯度: 98.6%);
地西洋对照品(中国药品生物制品检定所, 批号:
115-9302, 纯度 \geq 97.0%); 甲醇为色谱纯; 水为
灭菌注射用水; 其余试剂均为市售分析纯或色谱
纯。

1.3 动物

清洁级 BALB/c 小鼠, ♀, 5~7 周龄, 体重(18
 \pm 2)g[上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 实
验动物许可证号: SCXK(沪)2007-0005], 经前肢
腋下皮下接种鼠源乳腺癌 EMT6 细胞(购自中国科
学院上海分院细胞库), 待瘤长至约 1 000 mm³,
从中筛选出体重及瘤体积均匀的荷瘤鼠 96 只, 备
用。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱: Phenomenex luna C₁₈(250 mm \times 4.6
mm, 5 μ m); 流动相: 0.2%磷酸水溶液(A)-甲醇(B),
梯度洗脱程序: 0~15 min B 70%, 15~16 min B
70% \rightarrow 95%, 16~21 min B 95%, 22~27 min B:
95% \rightarrow 70%; 检测波长: 217 nm; 流速: 1 mL \cdot min⁻¹;
柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 40 μ L。

2.2 血浆和组织样品采集

将荷瘤鼠 96 只随机均匀分为两组, ABI 组和
Taxol 组, 每组 48 只, 每个时间点动物数 $n=6$ 。分
别经尾静脉给予 ABI 和 Taxol, 给药剂量以紫杉醇
计均为 20 mg \cdot kg⁻¹, 给药后 0, 5, 15, 30 min 及 1,
3, 8, 24 h 分别处死一个小组的动物。断头取血,
离心分离血浆, 同时剥取瘤组织, 并取出心、肝、
脾、肺、肾等主要组织, 于-20 $^{\circ}$ C冻存, 待分析。

2.3 血浆和组织样品预处理

取冻融组织称重, 剪碎, 加入 0.9%氯化钠注

射液(1:3), 匀浆。精密量取组织匀浆液 1 mL,
加入内标地西洋溶液(20 μ g \cdot mL⁻¹)20 μ L, 涡旋 30
s, 加入甲基叔丁基醚 3 mL, 涡旋 60 s, 超声 5 min,
8 000 r \cdot min⁻¹离心 10 min。取出上清, 40 $^{\circ}$ C水浴下
氮气吹干, 残渣加甲醇 200 μ L, 涡旋 60 s, 超声 5
min, 12 000 r \cdot min⁻¹离心 10 min, 取上清进行 HPLC
测定。精密量取冻融的血浆样品 100 μ L, 加入内
标地西洋溶液 10 μ L, 涡旋 30 s, 加入甲基叔丁基
醚 1 mL。后续处理同组织匀浆样品。

2.4 数据处理

药动力学参数计算采用 DAS 2.0 药代动力学分
析软件, 药动力学参数的组间比较采用 t 检验法
(SPSS13.0), $P<0.05$ 表示具有统计学差异。

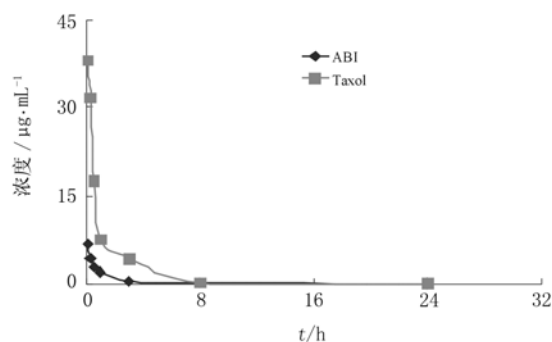


图1 两种静脉注射剂给药(20 mg \cdot kg⁻¹)荷瘤小鼠血浆中紫
杉醇药物浓度的经时变化曲线

Fig. 1 Plasma concentration-time curve of paclitaxel in
tumor-bearing mice after i.v. ABI or Taxol

3 结果

3.1 血浆药动力学

荷瘤小鼠分别静脉注射给予相同剂量(20
mg \cdot kg⁻¹)两种不同制剂紫杉醇在血浆中的平均药-
时曲线见图 1。药动力学的统计矩参数见表 1。结
果表明, 荷瘤小鼠静脉给予两种制剂的紫杉醇体
内动力学过程均符合开放的二室模型, 白蛋白纳
米粒相对于紫杉醇注射液的平均 AUC 之比为
0.151。 t 检验结果显示, 主要动力学参数中的
AUC, Cl_z, V_z和C_{max}在两制剂间存在统计学差异
($P<0.05$), 其余参数制剂组间均无统计学差异
($P>0.05$)。

3.2 瘤组织药物累积量

荷瘤小鼠分别静脉注射给予相同剂量(20
mg \cdot kg⁻¹)两种不同制剂紫杉醇在瘤组织中的平均
药-时曲线见图2。结果表明, 相对于 Taxol 给药

表 1 两种静脉注射剂给药(20 mg·kg⁻¹)紫杉醇在荷瘤小鼠血浆中的主要动力学参数(n=6)

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of paclitaxel in tumor-bearing mice plasma after i.v. ABI or Taxol(n=6)

组别	AUC _{0-t} /mg·L ⁻¹ ·h	AUC _{0-∞} /mg·L ⁻¹ ·h	MRT/h	t _{1/2} /h	V _z /L·kg ⁻¹	Cl _z /L·kg ⁻¹ ·h ⁻¹	C _{max} /mg·L ⁻¹
ABI	5.491	5.496	1.252	0.703	2.924	2.881	5.91
Taxol	36.319	36.457	1.459	0.976	0.672	0.477	33.07
P 值	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

组, ABI 给药组药物分布到瘤组织更快, 且瘤内紫杉醇的积累量明显增大。在给药后 24 h, ABI 和 Taxol 组的瘤内紫杉醇平均 AUC 分别为 56.11 mg·L⁻¹·h 和 45.53 mg·L⁻¹·h, 两者相差高达 23.3%。*t*检验统计分析结果显示, 给药后24 h内, 瘤组织中紫杉醇的平均AUC在两制剂间存在统计学差异(*P*<0.05)。

3.3 组织分布

荷瘤小鼠分别静脉注射给予等剂量(20 mg·kg⁻¹)ABI和Taxol后, 紫杉醇在主要组织器官中的药物浓度经时变化见图 3。结果表明, 紫杉醇在荷瘤小鼠主要脏器中的AUC排序为ABI组: 肝>肾>肺>瘤>脾>心, Taxol组: 肝>肺>肾>瘤>脾>心; 在 ABI 组动物肺中的分布显著低于 Taxol 组

(*P*<0.05), 但在心、肝、脾及肾中分布的组间差异均无统计学差异(*P*>0.05)。

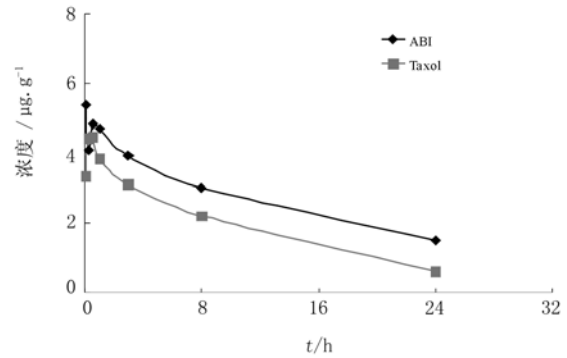


图 2 两种静脉注射剂给药(20 mg·kg⁻¹)荷瘤小鼠瘤组织中紫杉醇药物浓度的经时变化曲线

Fig 2 Tumor concentration-time curve of paclitaxel in tumor-bearing mice after i.v. ABI or Taxol

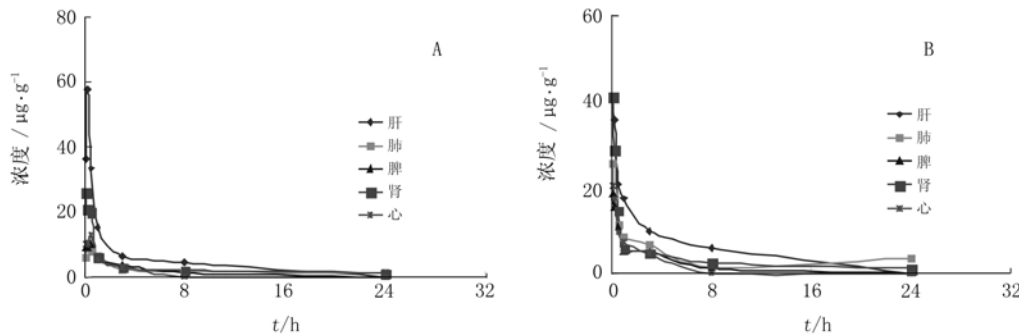


图 3 两种静脉注射剂给药(20 mg·kg⁻¹)紫杉醇在荷瘤小鼠体内的组织分布

A-ABI 制剂; B-Taxol 制剂

Fig 3 Tissue distribution of paclitaxel in tumor-bearing mice after i.v. ABI or Taxol

A-ABI injection; B-Taxol injection

4 讨论

FDA 批准在欧美上市的紫杉醇-人血白蛋白纳米微粒冻干粉 Abraxane 的制剂规格为每瓶含紫杉醇 100 mg 和人血白蛋白 900 mg, 粒径范围 120~150 nm。本试验以牛血清白蛋白为蛋白源, 参考 Abraxane 专利制备工艺^[6]制得紫杉醇纳米微粒冻干粉针剂 ABI, 其制剂规格及粒径均与 Abraxane 一致, 可直接加注射用水复溶。以市售紫杉醇注射液 Taxol 为对照的药动学研究结果显

示, 两种制剂等剂量静脉注射给药在荷瘤小鼠血浆中的药动学参数 AUC、Cl_z、V_z 和 C_{max} 均具有统计学差异(*P*<0.05)。一方面, ABI 制剂组的 Cl_z 明显大于对照制剂组, 由于清除较快而使紫杉醇的血药浓度下降, 表现出显著低于对照制剂组的 AUC 和 C_{max}。另一方面, ABI 制剂组的 V_z 明显大于对照制剂组, 提示白蛋白纳米粒制剂中的紫杉醇更易分布到外周组织中, 从而可能有利于提高靶组织中紫杉醇的药物浓度。组织分布的研究

结果进一步证实了这一点。两种制剂等剂量给药,紫杉醇在主要组织器官中的分布趋势基本一致,但ABI制剂组动物瘤组织中的紫杉醇AUC显著提高,同时在肺中的分布明显降低($P<0.05$),从而可能在降低毒性的同时提高疗效和耐受性。由于体内清除和分布特性的改善,紫杉醇的白蛋白纳米微粒制剂具有良好的瘤组织分布靶向性,值得深入开发。

REFERENCES

- [1] WANI M C, TATLOR H L, WALL M E, et al. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia* [J]. J Am Chem Soc, 1971, 93(9): 2325-2327.
- [2] KLOOVER J S, BAKKER M A, GELDERBLOM H, et al. Fatal outcome of a hypersensitivity reaction to paclitaxel: a critical review of premedication regimens [J]. Br J Cancer, 2004, 90(2): 304-305.
- [3] LIN B L, CUI S, SHEN X D. Progress in the research on new medicament form of paclitaxel [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2009, 26(3): 203-206.
- [4] WANG J P, ZHAO L N, WANG W. Anticancer effect of paclitaxel carried with stealth liposome used for metronomic chemotherapy [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2010, 27(12): 1069-1072.
- [5] GRADISHAR W J, TJULANDIN S, DAVIDSON N, et al. Phase III trial of nanoparticle albumin - bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil - based paclitaxel in women with breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(31): 7794-7801.
- [6] NEIL P D, PATRICK S S. Composition and methods for administration of pharmacologically active compounds [P]. US6537539B1. 2003, Mar 25.

收稿日期: 2011-01-17