

喜树碱混悬剂及喜树碱钠在小鼠的分布和排出

陈瑞婷 花 泽 陆志祥 胥 彬 (中国科学院上海药物研究所, 上海)

提要 肝癌腹水瘤小鼠静脉注射 [^3H] 喜混后 1, 3 和 24 h, 胆、肝、肾和胃中的放射性, 都较注射 [^3H] 喜钠为高。注射药物后 24 h, 尿和粪中的放射性排出率, 喜混组分别为 21.3 和 22.6%, 喜钠组分别为 22.8 和 17.2%。正常小鼠静脉注射 [^3H] 喜混后, 血液中的放射性强度%明显地高于注射 [^3H] 喜钠组; 随着给药后时间的延长, 两者的差别逐渐减少。用荧光法测定两种制剂在小鼠肝脏中的喜树碱含量, 结果与用同位素法测得的相符。

关键词 [^3H]喜树碱混悬剂; [^3H]喜树碱钠, 肝癌腹水瘤小鼠, 分布, 排泄

喜树碱是从喜树 (*Camptotheca acuminata* Decne.) 中分得的一种具有抗肿瘤作用的生物碱⁽¹⁻⁴⁾。临床常用其钠盐(下称喜钠), 即喜树碱内酯环裂环后的水溶液, 呈黄色, 并带有荧光。喜树碱原型很难溶于水, 将药物分散成直径为 $2\ \mu\text{m}$ 以下的颗粒, 制成混悬剂(下称喜混)作静脉注射, 则可利用肝脏中 Kupffer 细胞吞噬异物的特点, 使药物较多地集中于肝脏, 以提高药物在该脏器内的浓度, 对治疗肝癌可能有较强的作用。为此, 本文观察了 ^3H -标记的

两种喜树碱制剂在小鼠体内的分布和排出情况; 并用荧光法检测药物在肝脏中含量。

实 验

一、药物 实验时将 [^3H]喜树碱制成两种剂型: 1. [^3H]喜钠水溶液: [^3H]喜树碱溶于 10% NaOH, 以生理盐水稀释至所需浓度, 药液 pH 约为 9, 放射性比度为 1.06 mCi/mg。2. [^3H]喜混: [^3H]喜树碱按前法⁽⁵⁾ 制成混悬剂, 使用时以 5% 葡萄糖稀释至所需浓度, 放射性比度为 0.24 mCi/mg。非标记的喜钠和喜混均为市售品, 本实验所用的两种药液分别为各自的同一批号。

二、同位素法测定

1. 在肝癌腹水瘤小鼠体内的分布和排出 采用接种后 6—7 天的肝癌腹水瘤小鼠 18 只, 体重相同, 自尾静脉注入药物。两种制剂的剂

量均为 0.7 mg/kg, 分别于给药后 1, 3 和 24h 处死小鼠, 取肝、肾、脾、肺、心、胸腺、肠、胃、脑、骨、瘤细胞、胆囊和肠胃内容物, 并收集不同时间的尿和粪, 测定放射性。组织称样 20 mg 左右, 尿液取样不超过 0.1 ml。将样品置于试管中, 加入 0.1 ml 29% 过氧化氢, 0.1 ml 甲酸和 1 滴辛醇, 然后在 70—80°C 水浴中加热 30 min。消化毕, 加入 10 ml 含有 0.4% PPO 和 0.03% POPOP 的二甲苯闪烁液, 用 NE8312 液体闪烁计数器测定, 以道比法作淬灭校正。由于两种制剂的放射性比度不同, 故最后结果中, 以每 g 组织中的放射性量占静脉注入量的 % 表示。

静脉注射两种 [³H]喜树碱制剂后 1, 3 和 24 h, 组织中的放射性分布资料列于表 1。从

表 1 肝癌腹水瘤小鼠 iv [³H]喜钠或 [³H]喜混后不同时间, 组织中的放射性 %

	1 h		3 h		24 h	
	喜钠	喜混	喜钠	喜混	喜钠	喜混
肝	0.67	0.95	0.67	0.94	0.56	0.77
肾	0.53	0.71	0.65	0.87	1.02	1.19
脾	0.21	0.16	0.12	0.23	0.19	0.25
肺	0.93	0.31	3.12	0.27	0.48	0.13
胃	0.98	1.18	0.08	0.17	0.11	0.56
肠	0.18	0.89	0.26	0.66	2.41	1.31
心	0.07	0.18	0.07		0.09	0.09
胸腺	0.08	0.15	0.05	0.10	0.05	0.13
骨	0.08	0.11	0.06	0.11	0.06	0.09
瘤	0.24	0.18	0.22	0.11	0.18	0.09
胆	11.51	20.80	6.40	20.39	0.52	1.61
胃内容	0.75	0.95	0.94	0.53	3.76	4.62
肠内容	5.19	0.42	5.22	6.24	4.81	1.11

表 2 小鼠 iv [³H]喜混或 [³H]喜钠后不同时间, 血液中的放射性 (%/ml 血), 每组 3 鼠

注射后	5 min	10 min	30 min	1 h	3 h	6 h	24 h
[³ H]喜混	0.70	0.52	0.39	0.26	0.17	0.13	0.07
[³ H]喜钠	0.39	0.29	0.17	0.16	0.10	0.09	0.06

表 1 可见在 3 个不同时间内, 肝、胆、肾和胃组织中的放射性, [³H]喜混组都较 [³H]喜钠组为高。

注射 [³H]喜混后, 1, 3 和 24 h, 肝脏中的放射性分别较注射 [³H]喜钠高 41.8, 40.3 和 37.5%, 以给药后 1 和 3 h 相差最显; 脾脏中的放射性, 在给药后 3 和 24 h, 喜混组高于喜钠组。相反, 肺中的放射性强度 %, 在给药后上述 3 个不同时间内, 注射 [³H]喜混组都较 [³H]喜钠组低。

在上述实验中, 同时测定了给药后 1, 3 和 24 h 的尿和粪中放射性排出量。结果喜钠组放射性排出, 尿中分别为 18.4, 19.5 和 22.8%, 粪中分别为 0.8, 15.1 和 17.2%; 喜混组尿中分别为 19.4, 20.3 和 21.3%, 粪中分别为 2.2, 8.4 和 22.6%。因此, 注射药后 24 h, 两种制剂自尿和粪中排出的累计放射性 %, [³H]喜钠组为 40.0%, [³H]喜混组为 43.9%。

2. 正常小鼠血液中放射性测定 血中放射性强度测定用体重为 25 g 的雌性小鼠, 剂量同分布实验。自尾静脉注射 [³H]喜混或 [³H]喜钠后 5, 10, 30, 60 min 和 3, 6, 24 h, 自眼眶脉络丛取血, 每次不超过 0.1 ml, 用上述方法消化和测定放射性。按测到的放射性与注入放射性的 % 计算, 在注入后 5, 10, 30, 60 min 和 3, 6, 24 h, 喜混组分别为 0.70, 0.52, 0.39, 0.26, 0.17, 0.13 和 0.07%, 喜钠组分别为 0.39, 0.29, 0.17, 0.16, 0.10, 0.09 和 0.06%。可见, 血液中的放射性 % 前组高于后组, 其中给药后 5, 10 和 30 min 时差异显著 (<0.05)。

[³H]喜混和 [³H]喜钠在血液中的生物半

衰期分别为 37 和 44 min。

三、荧光法测定 参照 Hart 等⁽⁶⁾报道的方法,测定了正常小鼠注射喜钠或喜混后肝脏中喜树碱的含量。实验采用体重 20 g 的雌性小鼠,自尾静脉注射给药,剂量为 12.5 mg/kg。在注射后 5, 15, 30 和 60 min,分别用颈动脉放血处死,取摘除胆囊的肝脏(全肝),称重,然后加一定量水制成匀浆,最后体积为 10 ml,取出 0.2—0.5 ml,置有塞离心管中,加 1—2 滴 5% HCl,使匀浆 pH 值约为 3,然后加 4 ml 乙酸乙酯,将离心管置恒速振荡器中振荡 3 min,离心,取乙酸乙酯层,沉淀再用乙酸乙酯提取 1 次。合并两次乙酸乙酯提取液,将其置于 70°C 以下水浴中,在通 N₂ 情况下蒸去乙酸乙酯,残存物加 4 ml 无水乙醇溶解,用 Bearn 型荧光分光光度计测定。激发波长为 370 nm,荧光波长为 445 nm。结果见表 3。

表 3 小鼠静注喜钠或喜混后,肝脏中药物含量(荧光法)

注射后 (min)	实验次数	喜 钠	喜 混
5	5	6.5%	28.8%
15	6	1.6%	8.8%
30	6	1.1%	2.9%
60	6	0.8%	1.2%

由表 3 可以看到给喜混后 5 min,肝脏中药物的含量即很高,占注入量的 28.8%,以后迅即下降。注射后 15、30 和 60 min 时,分别占注入量的 8.8, 2.9 和 1.2%。喜钠组,各不同时间内肝脏中药物的浓度也以注射后 5 min 为最高,占注入量的 6.5%,在 15, 30 和 60 min 时分别占 1.6, 1.1 和 0.8%。由此可见,喜混和喜钠在肝脏中的含量差别,以给药后 5 和 15 min 时最显著。

讨 论

国内临床在应用喜钠治疗肿瘤时,曾观察

到它能使肝脏肿瘤缩小;因此,利用喜树碱难溶于水的特性,制成混悬剂,使药物能较集中于肝脏,可能对治疗肝癌有利。关于喜钠的分布和排泄已有报道^(6,7)。本文同时观察了 2 种不同剂型的喜树碱制剂分布和排泄情况。结果表明,小鼠在分别注射 2 种不同剂型的喜树碱后,同一组织中药物的分布有差异。静脉注射 [³H]喜混后 1, 3 和 24 h,肝脏中的放射性较注射 [³H]喜钠确有明显增高。用荧光法测定,也得到相同的结果。上述资料为临床使用喜混治疗肝癌提供了依据。但是,在胃和肾脏中的放射性,也是喜混组较高。所以,喜混在肝脏中的选择性分布仍不高;此选择性是否与混悬剂的颗粒大小有关,是需要研究的问题。

临床应用中,发现喜混对造血系统的毒性较喜钠大。从本实验中,小鼠静脉注射 [³H]喜混后不同时间,血液中放射性都较注射 [³H]喜钠组为高,尤其在注射后 5, 10 和 30 min。此外,在分布试验中,骨中的放射性在注射 [³H]喜混后,亦较注射 [³H]喜钠组为高。因此,可以推测喜混对造血系统的毒性较大,可能与其在该组织的含量较喜钠高有关。

致谢 [³H]喜树碱由中国科学院原子核研究所供给, [³H]喜混由本所梅放同志制备。

参 考 文 献

- 1 Muggia FM, Creaven PJ, Hansen HH, Cohen MH, Selaury OS. *Cancer Chemother Rep* 1972 Aug; 56 (4) : 515
- 2 Moertel CG, Schutt AJ, Reitemeier RJ, Hahn RG. *ibid* 1972 Feb; 56 (1) : 95
- 3 Gottlieb JA, Luce JK. *ibid* : 103
- 4 上海药物研究所药理研究室肿瘤组. *中华医学杂志* 1975 年 4 月; 55 (4) : 274
- 5 上海药物研究所、上海医药工业研究院、上海第十制药厂、广西医学院附属医院. *科学通报* 1977 年 10 月; 22 (12) : 552
- 6 Hart LG, Call JB, Oliverio VT. *Cancer Chemother Rep* 1969 Sep; 53 (4) : 211
- 7 Hunt DE, Pittills RF. *Appl Microbiol* 1968 Jun; 16 (6) : 867

DISTRIBUTION AND EXCRETION OF CAMPTOTHECIN SUSPENSION AND SODIUM CAMPTOTHECIN IN MICE

CHEN Rui-ting, HUA Ze, LU Zhi-xiang, XU Bin (B Hsu)

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai)

ABSTRACT It is assumed that the suspension preparation of camptothecin used by iv might be more concentrated in the liver and more beneficial to the therapeutic use than sodium camptothecin. The differences of concentrations between the suspension and sodium salt of camptothecin were studied in this paper.

1. In mice bearing ascites hepatoma, the radioactivities of [^3H]camptothecin suspension in liver, kidney and stomach were higher than those of sodium [^3H]camptothecin 1, 3 and 24 h after a single iv. After 24 h, the excreted radioactivities from urine and feces were 21.3% and 22.6%, respectively, in the [^3H]camptothecin suspension

group and 22.8% and 17.2%, respectively, in the sodium [^3H]camptothecin group.

2. In normal mice, 5 min to 3 h after a single iv the radioactivity in the blood was higher in the [^3H]camptothecin suspension group than that in the sodium [^3H]camptothecin group. The difference was less prominent when the measurements were taken 6 h later.

3. The contents of 2 preparations in the liver were also measured by fluorometric method. The results coincided with those determined by isotopic method.

KEY WORDS [^3H]camptothecin suspension; [^3H]camptothecin sodium; ascites hepatoma mice; distribution; excretion