

动脉持续灌注化疗中雷替曲塞的药代动力学特征

朱林忠¹, 张鑫¹, 朱旭¹, 杨仁杰¹, 张晓峰^{2*}

(1. 北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所 介入治疗科 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室, 北京 100142; 2. 首都医科大学附属北京市妇产医院 放射科, 北京 100006)

【摘要】 目的: 通过检测雷替曲塞经猪肝动脉持续灌注化疗期间给药动脉下游及外周血内血药浓度, 分析雷替曲塞在猪体内的局部及全身的药代动力学特征。方法: 24头猪随机分为1 mg组和4 mg组, 采用30、60及120 min持续给药方案, 经肝总动脉近端给药, 于肝动脉下游、外周静脉分别采集血液标本, 采用固相萃取法提取血浆样品中的雷替曲塞, 高效液相色谱仪测定血药浓度。结果: 各剂量组及时间组中, 给药动脉下游内的血药浓度都迅速达到最高值, 并且维持在相对稳定状态, 1 mg剂量下30、60及120 min靶动脉内 C_{\max} 分别为 (405.4 ± 83.8) 、 (212.0 ± 25.4) 和 (128.3 ± 32.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 4 mg剂量下30、60及120 min靶动脉内 C_{\max} 分别为: $(1\ 601.9 \pm 259.6)$ 、 (902.1 ± 104.2) 和 (587.3 ± 160.4) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。外周静脉内, 1 mg剂量组30 min组 C_{\max} 为 (104.8 ± 18.3) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 4 mg剂量组30、60 min组 C_{\max} 分别为 (271.1 ± 52.7) 和 (157.7 ± 34.6) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论: 雷替曲塞动脉持续灌注化疗可以在足够的时间内保持局部组织内较高的药物浓度和较低的外周血药浓度, 延长给药时间可以保证局部血药浓度并降低外周血药浓度, 减少毒性。

【关键词】 雷替曲塞; 肝动脉; 灌注化疗; 药代动力学

【中图分类号】 R969.1

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-3384(2017)12-0023-04

doi:10.3969/j.issn.1672-3384.2017.12.006

Pharmacokinetics of raltitrexed in continuous arterial infusion chemotherapy

ZHU Lin-zhong¹, ZHANG Xin¹, ZHU Xu¹, YANG Ren-jie¹, ZHANG Xiao-feng^{2*}

(1. Department of Interventional Therapy, Key Laboratory of Pathogenesis and Transformation of Malignant Tumor, Peking University Cancer Hospital and Beijing Cancer Research Institute, Beijing 100142, China; 2. Department of Radiology, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Beijing 100006, China)

【Abstract】 **Objective:** By detecting blood concentration of raltitrexed in proximal artery and peripheral vein in swine model to analyze the pharmacokinetic characteristics of raltitrexed during continuous infusion via hepatic artery. **Methods:** Twenty-four swine were randomly divided into 1 mg dosage group and 4 mg dosage group, and raltitrexed was infused within 30, 60 and 120 min respectively. Blood samples were collected in the proximal hepatic artery and the peripheral veins respectively. The samples were extracted by solid phase extraction and tested by DHPLC. **Results:** Plasma concentration in the proximal arteries rapidly reached the highest value in each dosage/time group, and maintained at a relatively stable state until the end of administration, C_{\max} at 30, 60 and 120 min in 1 mg group were (405.4 ± 83.8) , (212.0 ± 25.4) and (128.3 ± 32.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively, and those in 4 mg group were $(1\ 601.9 \pm 259.6)$, (902.1 ± 104.2) and (587.3 ± 160.4) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. As for peripheral vein, C_{\max} at 30, 60 min groups were (104.8 ± 18.3) and (61.4 ± 7.1) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ in 1 mg group and (271.1 ± 52.7) and (157.7 ± 34.6) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ in 4 mg group respectively. **Conclusion:** Transarterial continuous infusion chemotherapy could maintain higher plasma concentration for a sufficient period of time in local organ and peripheral vein, and longer administration time could lead to suitable concentration for intrahepatic lesions and extrahepatic lesions.

【Key words】 raltitrexed; hepatic artery; transarterial continuous infusion; pharmacokinetics

[收稿日期] 2017-09-03

[基金项目] 首都卫生发展科研专项基金(自主创新项目)(2014-2-2154)

[作者简介] 朱林忠, 男, 博士, 副主任医师; 研究方向: 良、恶性肿瘤的介入治疗; Tel:13691330885; E-mail:pkuzlz@163.com

[通讯作者] * 张晓峰, 男, 硕士, 副主任医师; 研究方向: 妇科疾病病的介入治疗; Tel:18811058478; E-mail:marvin120@163.com

肝动脉化疗灌注是肝脏肿瘤治疗的重要组成部分,经动脉灌注化疗期间药物可以迅速被局部肿瘤组织摄取,肿瘤组织可以获得更高的摄取率,而外周静脉内血药浓度更低^[1]。目前仅有雷替曲塞静脉化疗的药代动力学数据,缺乏动脉给药期间局部动脉内及外周静脉内血药浓度的数据,造成了临床上在给药剂量及给药时间上的困惑。有鉴于此,课题组在大型猪模型中开展了相关的药代动力学研究,通过在给药动脉的下游动脉及外周静脉采集血样并分析这两个部位的雷替曲塞药代动力学,观察不同给药剂量及不同给药时间下的血药浓度,以期在临床上更为合理地使用该药提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象

体重45~55 Kg的猪,年龄在12~17个月之间,共计24头。

1.2 方法

1.2.1 分组方法 雷替曲塞目前推荐静脉给药剂量为 $3\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$,根据猪的体表面积计算,每头猪的用量在4~5 mg;因动脉化疗用药量一般远低于静脉化疗方案,本研究采用每头猪给药4 mg作为常规剂量组,并以1 mg作为低剂量组,随机将24头猪分为1 mg剂量组和4 mg剂量组。

1.2.2 给药方法 插管技术:术前猪禁食水12 h,采用力月西和速眠新-II混合液,肌肉注射麻醉,麻醉满意后,将猪固定于数字血管造影机(DSA)手术台上,采用Seldinger技术依次穿刺双侧股动脉及双侧股静脉,置入血管鞘。整个实验过程采用静脉注射3%戊巴比妥维持麻醉。透视下将5 F Cobra或RH导管置于肝总动脉作为给药导管,将雷替曲塞溶解于生理盐水中,按照30、60及120 min方案,以压力泵驱动,动脉导管分别经肝总动脉给予持续灌注化疗;经对侧股动脉送入2.8 Fr微导管至下游的肝左动脉或者肝右动脉作为采血导管,按照实验设计的时间点采血行血药浓度分析。同时经股静脉采集外周血液标本;将收集的血液3 655 G速度离心10 min后分离血浆1 mL,置于EP管内-80℃冻存。

1.2.3 标准品与试剂 雷替曲塞标准品(批号:140912,南京正大天晴制药有限公司,纯度99.6%),雷替曲

塞样品(批号:140912,规格2 mg,南京正大天晴制药有限公司)。猪的空白血浆,甲醇、乙腈为色谱纯,冰醋酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、乙酸胺为分析纯,水为蒸馏水。

1.2.4 仪器及设备 高效液相色谱仪Agilent-1260,钻石DIKMA-C₁₈色谱柱,C₁₈固相萃取柱。色谱条件:采用DIKMA-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱;流动相:甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液(8:12:80,pH 7.2);柱温:30℃;流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:349 nm。

1.2.5 标准曲线的制备 配制5 000、1 000、500、200和100 μg·L⁻¹的标准溶液。取C₁₈固相萃取柱,用甲醇4 mL活化两遍,再用pH为3.5的磷酸盐缓冲液4 mL活化,精密吸取1 mL含药血浆过已活化的C₁₈固相萃取柱,用pH 3.5磷酸盐缓冲液2 mL洗去杂质,用乙腈-乙酸3 mL萃取,萃取液用试管浓缩仪(50℃水浴)浓缩,用甲醇100 μL溶解,离心10 min,取上清液80 μL,分别进样50 μL。

血浆样品处理:取C₁₈固相萃取柱,用甲醇4 mL活化两遍,再用pH为3.5的磷酸盐缓冲液4 mL活化,精密吸取1 mL含药血浆过已活化的C₁₈固相萃取柱,用pH 3.5磷酸盐缓冲液2 mL洗去杂质,用乙腈-乙酸3 mL萃取,萃取液用试管浓缩仪(50℃水浴)浓缩,用甲醇100 μL溶解,离心10 min,取上清液50 μL进样。

2 结果

2.1 色谱分析及标准曲线的测定结果

雷替曲塞的保留时间约为10 min,洗脱液(乙腈-醋酸)和空白血浆中内源性物质不干扰雷替曲塞的测定。标准品浓度范围在100~5 000 μg·L⁻¹线性关系良好,根据标准曲线的线性范围,本法的检测限为0.009 μg·L⁻¹,回归方程:Y=0.0716X-6.7696($r^2=0.998$, $n=3$)。回收率为92.6%~99.3%。

2.2 雷替曲塞经动脉给药下游动脉内血药浓度

无论1 mg组还是4 mg组,除了30 min组给药期间下游动脉内血药浓度上升幅度较大之外,60及120 min给药期间,局部血药浓度迅速达到峰浓度,并基本保持这一水平至给药结束;详见表1。

表 1 不同剂量、不同时间动脉灌注给药期间局部动脉血药浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

取样时间 (min)	1 mg 剂量组			4 mg 剂量组		
	30 min 给药组	60 min 给药组	120 min 给药组	30 min 给药组	60 min 给药组	120 min 给药组
10	307.8 ± 68.0	123.0 ± 32.1	108.9 ± 22.2	1 037.6 ± 271.2	432.9 ± 113.2	320.3 ± 71.7
20	369.8 ± 143.2	143.1 ± 30.7	113.6 ± 24.3	1 138.0 ± 310.6	593.2 ± 127.1	448.6 ± 96.1
30	405.4 ± 83.8	158.4 ± 25.7	117.9 ± 22.4	1 601.8 ± 259.6	771.8 ± 125.1	507.4 ± 88.6
40	NA	174.3 ± 53.8	119.6 ± 21.8	168.99 ± 52.2	772.7 ± 238.5	539.6 ± 114.3
60	NA	220.0 ± 25.4	123.4 ± 21.6	102.34 ± 52.2	902.1 ± 104.2	549.7 ± 100.6
70	NA	NA	120.6 ± 28.1	NA	175.8 ± 37.7	550.0 ± 127.1
80	NA	NA	125.3 ± 34.3	NA	NA	564.2 ± 160.4
90	NA	NA	128.3 ± 32.2	NA	NA	562.2 ± 160.1
120	NA	NA	NA	NA	NA	587.3 ± 119.4
180	NA	NA	NA	NA	NA	NA

注: NA: 在检测限以下

2.3 用 DAS2.0 软件计算雷替曲塞在血浆中的药代动力学参数

不同给药时间 C_{\max} 大致与给药时间成反比; 但是相对而言, 平均血药浓度及 AUC 变化幅度较小, 主要取决于给药量。详见表 2。

2.4 动脉给药期间外周静脉血内的血药浓度

外周静脉内, 1 mg 剂量组 30 min 组 C_{\max} 为 (104.8 ± 18.3) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 4 mg 剂量组 30、60 min 组

C_{\max} 分别为分别为 (271.1 ± 52.7) 和 (157.7 ± 34.6) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 均远远低于同一方案下的局部动脉内的血药浓度; 详见表 3。

3 讨论

众所周知, 动脉给药局部药物浓度要远高于同一剂量下静脉化疗的血药浓度, 所以目前我们通常采用比静脉化疗更长的时间给药^[2]。雷替曲塞为新

表 2 不同剂量、不同时间动脉灌注给药期间局部动脉药代动力学参数

观察指标	1 mg 剂量组			4 mg 剂量组		
	30 min 给药组	60 min 给药组	120 min 给药组	30 min 给药组	60 min 给药组	120 min 给药组
C_{\max} ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	405.4 ± 83.8	212.0 ± 25.4	128.3 ± 32.2	1 601.8 ± 259.6	902.1 ± 104.2	564.2 ± 160.4
给药期间平均血药浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	357.7 ± 98.3	163.8 ± 33.5	119.7 ± 25.9	1 259.2 ± 280.5	694.5 ± 141.6	514.3 ± 115.4
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$)	207.2 ± 57.8	175.6 ± 52.9	207.6 ± 59.5	648.0 ± 151.9	741.0 ± 149.9	978.4 ± 221.6

表 3 不同剂量、不同时间动脉灌注给药期间外周静脉血内的静脉血药浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

取样时间 (min)	1 mg 剂量组			4 mg 剂量组		
	30 min 给药组	60 min 给药组	120 min 给药组	30 min 给药组	60 min 给药组	120 min 给药组
10	NA	NA	NA	226.4 ± 71.0	NA	NA
20	NA	NA	NA	247.3 ± 63.6	NA	NA
30	104.8 ± 18.3	NA	NA	271.1 ± 52.7	103.6 ± 21.7	NA
40	110.8 ± 23.5	NA	NA	187.0 ± 69.2	107.8 ± 27.4	NA
60	NA	NA	NA	104.3 ± 14.5	157.7 ± 34.6	NA
70	NA	NA	NA	NA	146.2 ± 40.5	NA
80	NA	NA	NA	NA	NA	NA
80	NA	NA	NA	NA	NA	NA
120	NA	NA	NA	NA	NA	NA
180	NA	NA	NA	NA	NA	NA

注: NA: 在检测限以下

型水溶性胸苷合成酶(TS)抑制剂^[3-4],为治疗结肠癌和直肠癌的一线药物^[5-6],其全身化疗的药代动力学研究较多^[7-8],动脉给药则缺乏研究;目前动脉灌注雷替曲塞多采用15 min或者60 min方案,剂量参照静脉化疗,但是如何确定给药的剂量和给药的时间仍缺乏统一的意见及依据。

本实验采用体重及循环模式接近人体的猪作为实验对象,参照临床上 $3\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$ 的给药方案,采用4 mg为常规剂量组,1/4剂量设定为1 mg低剂量组;经肝总动脉以不同时间灌注雷替曲塞并于下游动脉及外周静脉内采集样本,以高效液相色谱检测血浆中血药浓度^[9-10];

从实验结果可以看出,给药动脉内的下游动脉的血药浓度在给药期间大致保持稳定,并缓慢升高,给药结束后迅速降低,而外周静脉内血药浓度呈缓慢升高。

雷替曲塞的 IC_{50} 长期给药为 $1.3\sim 3.9\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0.6\sim 1.79$) $\mu\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,短期给药为 $80\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($36.64\mu\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)^[11],本实验结果为:无论是采用1 mg剂量还是4 mg剂量,局部动脉内的血药浓度都远大于这个数值,即使给药时间延长至120 min也能达到这个数值。

除了局部靶动脉内的血药浓度,我们也同时检测了外周静脉血内的血药浓度,与全身化疗短时间给药的峰浓度 $36.64\mu\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 比较,4 mg组30及60 min给药方案均可达到接近(高)于全身化疗的血药浓度;1 mg组外周静脉内血药浓度难以检测,考虑是由于剂量较低,肝脏能够摄取并将更多的雷替曲塞转化为谷氨酸盐,使得进入外周血的雷替曲塞明显减少所致。

综合研究结果来看,无论是常规剂量还是低剂量的动脉灌注化疗,均能够保证足够的局部血药浓度;对于4 mg剂量而言,30或60 min给药可以在保证足够的局部血药浓度情况下,外周静脉内也能达到一个较高的水平,仍有一定的细胞毒性;1 mg剂量下外周静脉内的剂量较低,细胞毒性作用较弱;在临床上,对于一般情况好,血像正常的患者,我们推荐30~60 min给药方案,可以同时兼顾肝内及全身的病灶,对于一般情况差的患者,建议延长给药时间,同时采用相对低

的给药剂量,使药物更多的被局部组织摄取,从而减少全身毒性。

在剂量和给药时间的选择上,建议取患者的组织标本开展药敏试验,根据试验结果建议的药物浓度以及需要维持的时间,确定适宜的血药浓度及给药时间,并集合患者的临床状况,确定给药方案。

本研究主要的缺陷在于没有在人体内开展相关药代动力学研究,此外,未能在肿瘤模型中开展进一步的药敏实验,评价高浓度、长时间的给药模式下雷替曲塞与癌细胞之间相互作用特点。

【参考文献】

- [1] Eiichiro S, Tetsuhiro C, Yoshihiko O, et al. Transcatheter arterial infusion for advanced hepatocellular carcinoma: who are candidates [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(29):8888-8893.
- [2] Guo J H, Zhang H Y, Gao S, et al. Hepatic artery infusion with raltitrexed or 5-fluorouracil for colorectal cancer liver metastasis[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(8):1406-1411.
- [3] Grem J L, Sorensen J M, Cullen E, et al. A Phase I study of raltitrexed, an antifolate thymidylate synthase inhibitor, in adult patients with advanced solid tumors [J]. Clin Cancer Res, 1999, 5(9):2381-2391.
- [4] Beale P, Judson I, Hanwell J, et al. Metabolism, excretion and pharmacokinetics of a single dose of [^{14}C]-raltitrexed in cancer patients. [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 1998(42):71-76.
- [5] Cocconi G, Cunningham D, Van Cutsem E, et al. Open, randomized, multicenter trial of raltitrexed versus fluorouracil plus high-dose leucovorin in patients with advanced colorectal cancer [J]. J Clin Oncol, 1998(16):2943-2952.
- [6] 覃金莲, 陆永奎, 刘莎, 等. 雷替曲塞对比5-氟尿嘧啶一线治疗晚期结肠直肠癌疗效和不良反应的meta分析[J]. 中国现代医学杂志, 2013(14):84-90.
- [7] 阎昭, 薛津怀, 朱仲玲. 注射用雷替曲塞在结、直肠肿瘤患者体内的药动学[J]. 中国医院药学杂志, 2010(9):749-752.
- [8] 李如标, 张为民, 高英. 注射用雷替曲塞在晚期实体瘤患者体内的药动学[J]. 中国新药与临床杂志, 2011(9):709-712.
- [9] 陈平. 雷替曲塞在大鼠血浆和脑组织中的分布研究[J]. 安徽医学, 2013(2):174-176.
- [10] 陈妍, 赵翠云, 张大同. 注射用雷替曲塞的HPLC法测定[J]. 齐鲁药事, 2004(1):32-33.
- [11] 江滨, 陈书长. 抗肿瘤药物临床应用指南[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2005:88-89.