盐酸美法仑在比格犬体内的药代动力学及在 SD 大鼠组织中的分布研究

臧宗武[1,2,3]，白 鑫[1,4]，崔慧昕[1,2,3]，边 静[1,2,3]，徐智儒[1,2,3]*

（1. 中国医药工业研究总院，上海 201203；2. 中国医药工业研究总院，上海医药工业研究院，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 200437；3. 上海市生物物质成药性评价专业技术服务中心，上海 200437；4. 同济大学附属杨浦医院，上海 200090）

摘要：建立了 LC-MS/MS 法检测犬血浆、大鼠组织中美法仑（**1**）的含量，定量下限分别为 1 ng/mL 和 1 ng/g。采用平行试验，对 **1** 的受试制剂与市售参比制剂在犬和大鼠体内的药动学和组织分布特征进行比较。结果显示，犬单次静脉推注给予 **1** 盐酸盐注射液，受试与参比制剂的主要药代学参数分别为：c_{max} 为（1 671.19±295.19）和（1 654.22±159.20）ng/mL；$AUC_{0\to t}$ 分别为（56 602±6 864）和（55 289±8 174）min·ng^{-1}·mL^{-1}；$t_{1/2}$ 均为（45±3）min。大鼠尾静脉给予 **1** 盐酸盐注射液后，**1** 在胰腺、肾、肝脏、心脏、肺分布较多，在肌肉、骨髓、脂肪、脑等组织分布较少。在各采样点，骨髓中的药物浓度均低于血浆中的药物浓度。受试与参比制剂在各组织中的药物浓度经非配对 *t* 检验显示无显著性差异。该研究结果表明，2 种制剂在犬体内药代行为一致，在大鼠组织中分布一致，为后续的临床应用提供了参考。

关键词：盐酸美法仑注射液；多发性骨髓瘤；抗肿瘤药；LC-MS/MS；药代动力学；组织分布

中图分类号：R917；R969.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-8255(2025)08-1027-09

引用：臧宗武，白 鑫，崔慧昕，等. 盐酸美法仑在比格犬体内的药代动力学及在 SD 大鼠组织中的分布研究［J］. 中国医药工业杂志，2025, **56**(8)：1027-1035. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.08.008

Pharmacokinetics of Melphalan Hydrochloride in Beagle Dogs and Its Tissue Distribution in SD Rats

ZANG Zongwu[1,2,3], BAI Xin[1,4], CUI Huixin[1,2,3], BIAN Jing[1,2,3], XU Zhiru[1,2,3]*

(*1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. National Key Lab. of Lead Druggability, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437; 3. Shanghai Professional and Technical Service Center for Biological Material Druggability Evaluation, Shanghai 200437; 4. Yangpu Hospital, Tongji University, Shanghai 200090*)

ABSTRACT: A LC-MS/MS method was established to detect the content of melphalan (**1**) in dog plasma and rat tissue, with lower quantification limits of 1 ng/mL and 1 ng/g, respectively. Using parallel experiments, the pharmacokinetics and tissue distribution characteristics of the test formulation of **1** with a commercially available reference formulation in dogs and rats were compared. After a single intravenous injection of **1** hydrochloride injection in dogs, the main pharmacokinetic parameters of the test and reference formulations were as follows: c_{max} (1 671.19±295.19) and (1 654.22±159.20) ng/mL, respectivelys; $AUC_{0\to t}$ was (56 602±6 864) and (55 289±8 174) min·ng^{-1}·mL^{-1}, respectively, and $t_{1/2}$ was (45±3) min for both. Rats were also given **1** hydrochloride for injection, and the results showed that **1** was more distributed in the pancreas, kidney, liver, heart, and lung, but less distributed in tissues such as muscle, bone marrow, fat, and brain. The drug concentration in the bone marrow was lower than that in the blood at all sampling points. An unpaired *t*-test showed no significant difference in concentration between the test and reference formulations in various tissues, indicating that the two formulations had consistent pharmacokinetic behavior in dogs and consistent tissue distribution in rats, providing a reference for subsequent clinical applications.

Key Words: melphalan hydrochloride for injection; multiple myeloma; antineoplastics; LC-MS/MS; pharmacokinetics; organizational distribution

多发性骨髓瘤（multiple myeloma，MM）是起源于骨髓浆细胞的恶性肿瘤，是一种产生过量单克隆免疫球蛋白的克隆性浆细胞疾病[1]，在血液系统疾病中的发病率仅次于急性白血病。自体造血干细胞移植（autologous hematopoietic stem cell transplantation，auto-HSCT）作为一种重要的治疗方法，已被证实可有效提高 MM 完全缓解率，延长患者生存期，在 MM 患者中得到广泛应用[2—4]。近年来，大剂量美法仑（melphalan，**1**）预处理方案作为 auto-HSCT 的一种常见治疗方案，备受关注[5]。

1 为氮芥的苯丙氨酸衍生物，是一种具有 2 个双 -2- 氯乙基基团的双功能烷化剂，可与 DNA 鸟嘌呤第 7 位的氮共价结合而形成链间交联，从而阻止细胞复制。**1** 可用于 MM 和晚期卵巢腺癌的治疗[6]。迈维宁®（注射用 **1** 盐酸盐）是我国首个批准上市的注射液，不使用会导致肾功能衰竭和心律失常的丙二醇作为助溶剂，在维持 **1** 溶解性和稳定性的同时减轻了不良反应[7]。

组织分布特征与药物的作用机制和毒理学特性密切相关。了解药物在各组织的分布情况，以及药物浓度随时间的变化规律对确定药物的靶器官、可能存在的毒性蓄积部位的毒理学研究，以及开发新的作用途径或靶向机制等都有重要意义[8]。然而，**1** 的组织分布研究鲜有报道[5—7]。

本研究建立了 LC-MS/MS 法测定犬血浆及大鼠组织样品中的 **1**，并采用该方法进行了犬体内药代动力学及大鼠组织分布研究，尤其是考察了骨髓中 **1** 的分布，以期为该药在临床上的应用提供参考。

1　仪器与试药

SCIEX 5500 型三重四极杆串联质谱仪和 SCIEX Exion LC 型超高效液相色谱仪均购于美国 AB 公司；CP225D 型分析天平（德国 Sartorius 公司）；MS105DU 型分析天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）。

1 盐酸对照品（European pharmacopoeia reference standard，批号 Y0001158）；[^{2}H8]-rac-melphalan［内标（internal standard，IS），上海甄准生物科技有限公司，HPLC 级，批号 23Z365-T1］；**1** 盐酸注射液［受试制剂：凯信远达医药（无锡）有限公司，规格为每瓶 50 mg，批号 01220901T；参比制剂：比利时 Cenexi-Laboratoires Thissen SA 公司，商品名为迈维宁®，规格为每瓶 50 mg，批号 21E26］；甲醇、乙腈为色谱级，甲酸为质谱级。

SD 大鼠［48 只，雌雄各半，体质量（220±20）g］，SPF 级，购自上海斯莱克实验动物有限公司，合格证编号为 20220004033702；普通级比格犬（12 只，雌雄各半，体质量 6.4 ～ 7.8 kg），购自江苏灵赋兆生源生物科技有限公司，合格证编号为 B202309070145。所有动物均饲养于上海医药工业研究院有限公司药理评价研究中心实验动物中心，实验动物使用许可证号：SYXK（沪）2019-0027。本试验由上海医药工业研究院动物伦理委员会批准，伦理审批号为 A-2023-09-02。

2　方法与结果

2.1　试验条件

色谱条件：色谱柱 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱（2.1 mm×100 mm，1.7 μm）；流动相 A 为 0.1％甲酸水溶液，B 为 0.1％甲酸乙腈溶液，梯度洗脱（0—0.6 min，B 15％；0.6—2 min，B 15％—98％；2—2.9 min，B 98％；2.9—3.0 min，B 98％—15％；3.0—4.5 min，B 15％）；流速 0.3 mL/min；柱温 45 ℃；进样器温度 10 ℃；进样量 4 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾离子化（electrospray ionization，ESI）源，正离子检测模式，多反应监测（multiple reaction monitoring，MRM）分析；辅助气体 1（GS1，N_2）344 kPa；辅助气体 2（GS2，N_2）414 kPa；气帘气（CUR，N_2）207 kPa；碰撞气（CAD，N_2）62 kPa；分别对待测物定量离子和定性离子通道（表示为 **1**-1 及 **1**-2）及 IS 通道进行离子对优化，优化后的参数如表 1 所示。

表 1　待测物及 IS 的质谱检测参数

Tab.1　Mass Spectrometry Detection Parameters of the Analyte and IS

离子通道	母离子	子离子	驻留时间 /ms	去簇电压 /V	裂解电压 /V
1-1	305.10	167.90	150.0	68	32
1-2	305.10	246.00	150.0	105	40
IS	313.20	172.10	150.0	70	38

收稿日期：2025-04-06
基金项目：上海市自然基金项目（22ZR1478800）
作者简介：臧宗武，硕士研究生，专业方向：药物代谢动力学。
通信作者：徐智儒，博士，研究员，从事药物代谢动力学研究与开发。

2.2 溶液配制

工作液：精密称取**1**盐酸对照品适量，用80%甲醇溶解并稀释至**1**质量浓度为1 mg/mL，并继续稀释至系列标准曲线工作液质量浓度（0.01、0.05、0.1、0.5、1、2.5、5、10 μg/mL）和低、中、高质量浓度（0.02、0.8、4 μg/mL）质控工作液浓度；IS采用甲醇溶解并用80%甲醇稀释至质量浓度为1 μg/mL。

给药制剂：分别取受试制剂及参比制剂各1瓶，加入0.9%氯化钠注射液8.6 mL使其溶解，混匀，使1质量浓度为5.0 mg/mL。受试制剂及参比制剂溶解后在冷藏温度下（5 ℃）可稳定保存24 h，在室温下（25 ℃）可稳定保存1 h。使用前，取该溶液6.824 mL，加入0.9%氯化钠注射液33.176 mL稀释，混匀，使**1**质量浓度为0.853 mg/mL。配制好的药物溶液在给药前应冰浴、避光保存。

2.3 标曲和质控样品配制

血浆标准曲线和质控样品：取犬/大鼠空白血浆（未接触**1**相关制剂的犬/大鼠血浆，于 -20 ℃保存，犬采用前肢静脉采血，大鼠采用腹主动脉采血）50 μL，加入不同质量浓度的标准曲线或质控工作液5 μL，混匀即得质量浓度为1、5、10、50、100、250、500 ng/mL的标准曲线溶液，以及低、中、高质量浓度（2、80、400 ng/mL）的质控样品。其中，最低定量限（lower limit of quantitation，LLOQ）为1 ng/mL，最高定量限（upper limit of quantitation，ULOQ）为500 ng/mL。

溶血血浆质控样品：取犬/大鼠溶血血浆（空白犬/大鼠血浆加入2%空白全血）50 μL，加入不同质量浓度的质控工作液5 μL，混匀即得质量浓度为2、80、400 ng/mL的质控样品。

组织标准曲线和质控样品：取空白肝脏组织匀浆（未接触**1**相关制剂的大鼠肝组织匀浆，于 -20 ℃保存）50 mg，加入不同质量浓度的标准曲线或质控工作液5 μL，即得质量浓度为1、5、10、50、100、250、500 ng/g的标准曲线溶液，以及低、中、高质量浓度（2、80、400 ng/g）的质控样品。其中，LLOQ为1 ng/g，ULOQ为500 ng/g。

2.4 生物样本的处理

血浆样本的处理：取血浆50 μL，依次加入80%甲醇5 μL和含IS（25.8 ng/mL）的甲醇溶液150 μL，涡旋1 min后再低温离心（16 249×*g*）5 min，取上清过滤后按“**2.1**”项下方法检测。

组织样本的处理：取组织50 mg置2 mL研磨管，加入钢珠2粒（直径3 mm），依次加入80%甲醇5 μL和含IS（25.8 ng/mL）的甲醇溶液150 μL后，用组织研磨仪匀浆，低温离心（16 249×*g*）5 min，取上清过滤后按“**2.1**”项下方法检测。

2.5 方法学验证

该方法的选择性、线性、精密度和准确度、提取回收率、基质效应、稳定性和残留效应均按照ICH M10《生物分析方法验证及样品分析》2022年版[9]进行。

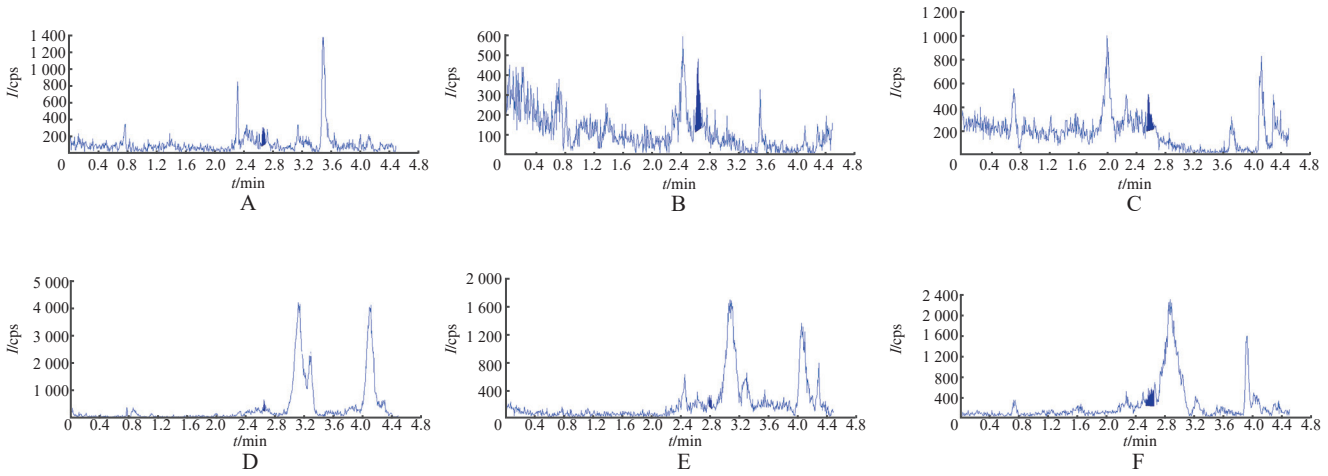
2.5.1 选择性试验

取6份不同来源的犬/大鼠空白血浆50 μL，除使用不含IS的甲醇150 μL外，其余步骤同“**2.4**”。取“**2.3**”项下犬/大鼠血浆的LLOQ样品，按“**2.4**”项下血浆样本处理方法进行处理。取静脉给予**1**盐酸盐注射液后，40 min时的犬血浆样本和15 min时的大鼠血浆样本，按“**2.4**”项下血浆样方法进行处理。按“**2.1**”项下方法检测。结果显示如图1～3所示，**1**和IS的保留时间约为2.65 min，内源性物质对待测物和IS无干扰，。

2.5.2 基质效应和提取回收率

取6份不同个体来源的犬或大鼠空白血浆，按“**2.3**”项下方法分别配制低、高质量浓度的质控样品进行基质效应试验，每个质量浓度平行处理6份进行验证，另取“**2.3**”项下溶血血浆配制的2和400 ng/mL的质控样品进行溶血基质效应试验，结果如表2所示。精密度（RSD）和准确度（REC）均在可接受范围内，溶血血浆和正常血浆的基质效应基本一致。

另取“**2.3**”项下的血浆质控样品，平行3份，按“**2.4**”项下方法处理血浆样本并检测，记录峰面积为*A*；另取空白血浆，按“**2.4**”项下方法处理血浆样本，向获得的提取后基质中加入相应的低、中、

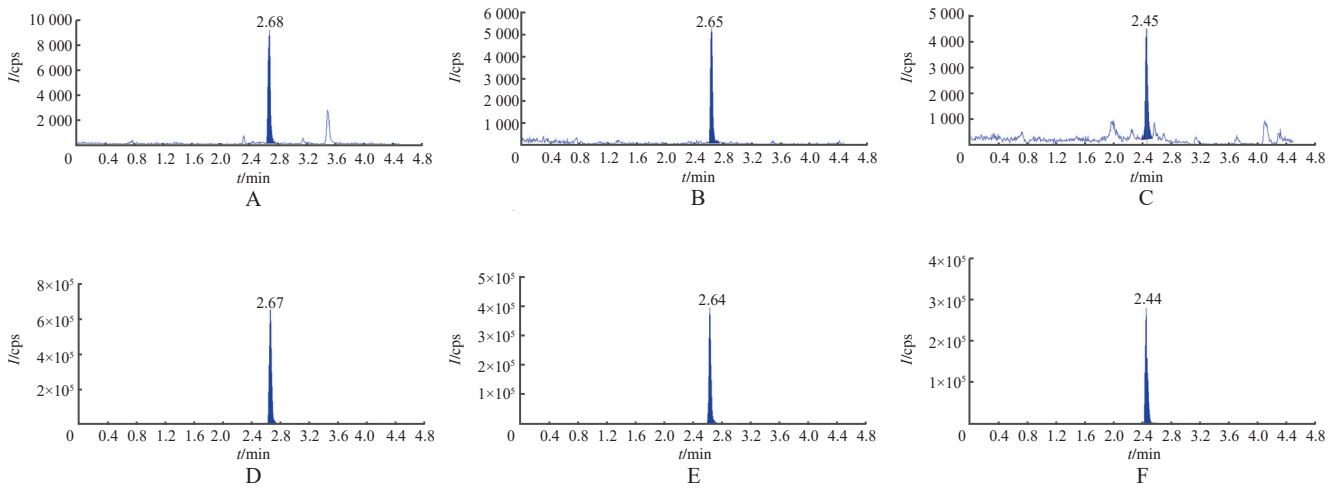


1-1 通道：A—犬空白血浆；B—大鼠空白血浆；C—大鼠空白肝组织。

IS 通道：D—犬空白血浆；E—大鼠空白血浆；F—大鼠空白肝组织。

图 1　空白血浆和组织样品的色谱图

Fig.1　Chromatograms of the Blank Plasma and Tissue Samples



1-1 通道：A—犬血浆；B—大鼠血浆；C—大鼠肝组织。

IS 通道：D—犬血浆；E—大鼠血浆；F—大鼠肝组织。

图 2　LLOQ 样品色谱图

Fig.2　Chromatograms of the LLOQ Samples

表 2　血浆中 1 的基质效应评价（n=6）

Tab.2　Evaluation of Matrix Effects of **1** in Plasma (n=6)

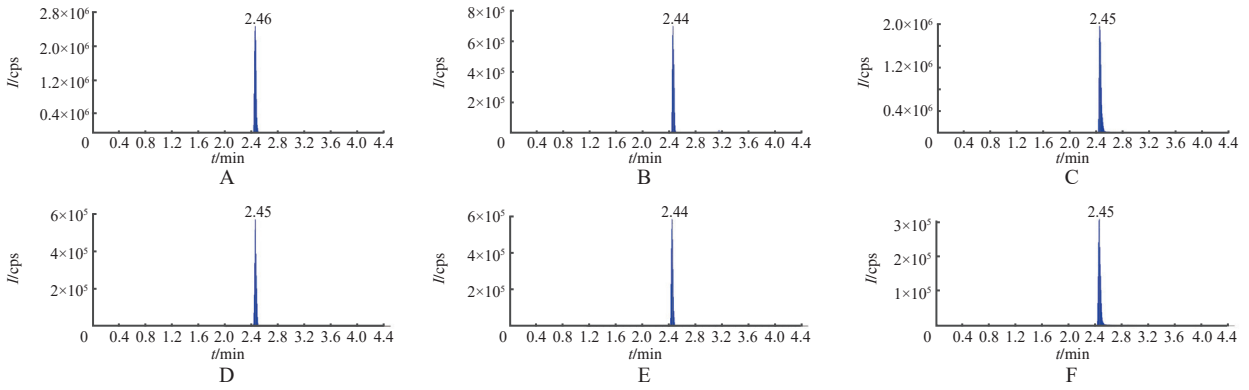
种属	基质类型	RSD/%	REC/%
犬血浆	正常基质	≤ 2.7	99.3 ～ 103.3
	溶血基质	≤ 3.7	99.5 ～ 102.3
大鼠血浆	正常基质	≤ 2.6	103.2 ～ 107.3
	溶血基质	≤ 5.2	107.0 ～ 112.0

高质量浓度质控工作液，每个质量浓度平行 3 份，进样并记录峰面积 B；计算 A 与 B 的比值，即得提取回收率，结果如表 3 所示。**1** 的质控样品提取回收率为 97.0%～ 120.4%，RSD 均≤ 11.7%。

2.5.3　线性试验

分别以生物样品中待测物的质量浓度（c）为横坐标，以待测物与 IS 的峰面积比为纵坐标，用加权最小二乘法（W=1/x^2）进行回归计算。

结果显示，犬 / 大鼠血浆中 **1** 质量浓度在 1 ～ 500 ng/mL 时，线性关系良好，标准曲线回归方



1-1 通道：A—犬给药 40 min 后的血浆；B—大鼠给药 15 min 后的血浆；C—大鼠给药 15 min 后的肝脏。
IS 通道：A—犬给药 40 min 后的血浆；B—大鼠给药 15 min 后的血浆；C—大鼠给药 15 min 后的肝脏。

图 3 给药后样本色谱图

Fig.3 Chromatograms of the Postdose Samples

表 3 血浆中 1 的提取回收率（*n*=3）

Tab.3 Extraction Recovery Rate of **1** in Plasma (*n*=3)

基质	质量浓度 /(ng·mL^{-1})	提取回收率 /%	RSD/%
犬血浆	2	109.7	4.1
	80	120.4	2.2
	400	113.4	4.8
大鼠血浆	2	97.0	11.7
	80	103.4	9.4
	400	110.6	3.6

程分别为 R=0.013 9c+0.000 398（R^2=0.999 5）和 R=0.013 2c+0.000 119 6（R^2=0.999 4）。

2.5.4 残留效应

在血浆样品分析过程中，采用在标准曲线 ULOQ 样本进样后立即进样 1 个空白基质样品，即在每个分析批中的 ULOQ 样本后进样对应的空白血浆样品，从而进行残留效应评估。结果表明，空白血浆样品中待测物峰面积均低于 LLOQ 的 20%。

2.5.5 准确度和精密度

取“**2.3**”项下血浆（LLOQ 样品）、质控样品各 6 份，按“**2.4**”项下血浆样本方法处理，按“**2.1**”项下方法检测。结果表明，**1** 的犬血浆样品的批内及批间 RSD（n=6）均 ≤ 10.9 %，REC 在 98.9 % ～ 113.0%；大鼠血浆样品的批内及批间 RSD（n=6）均≤ 5.9%，REC 在 99.2%～ 108.3%。

2.5.6 稳定性试验

考察 **1** 血浆样品在不同条件（表 4）下的稳定性。结果显示，**1** 血浆样品处理前在 4 ℃放置 8 h、血浆样品处理后室温放置 8 h、反复冻融 4 次，稳定性均良好；在 －80 ～ －60 ℃的低温条件下，犬血浆样本长期冻存 19 d、大鼠血浆样本长期冻存 21 d，稳定性也较好。

表 4 血浆样品中 1 的稳定性（*n*=6）

Tab.4 Stability of **1** in Plasma Samples (*n*=6)

稳定性内容	基质	实测值 /(ng·mL^{-1})		REC/%		RSD/%	
		LQC	HQC	LQC	HQC	LQC	HQC
血浆处理前 4 ℃放置 8 h	犬血浆	1.83±0.04	395.04±16	91.7	98.8	2.3	4.1
	大鼠血浆	2.00±0.06	408.57±4.98	99.8	102.1	3.0	1.2
血浆处理前低温 －80 ～ －60 ℃放置 19 d（大鼠 21 d）	犬血浆	1.80±0.05	362.57±2.84	89.9	90.6	3.0	0.8
	大鼠血浆	1.98±0.07	398.31±7.60	98.8	99.6	3.7	1.9
血浆处理后室温放置 8 h	犬血浆	1.98±0.04	412.14±6.49	98.8	103.0	2.2	1.6
	大鼠血浆	2.07±0.03	424.96±7.16	103.4	106.2	1.4	1.7
冻融循环 4 次	犬血浆	1.84±0.07	368.42±15.31	92.1	92.1	3.8	4.2
	大鼠血浆	2.08±0.09	407.34±8.48	103.8	101.8	4.5	2.1

2.5.7 稀释效应

为考察高于 ULOQ 的血浆样本用空白血浆稀释相应倍数的可靠性，需用测定值乘以稀释倍数后的质量浓度与配制质量浓度作对比。结果表明，**1** 的犬及大鼠血浆样品进行 200 倍稀释，REC 分别为 88.7%和 106.6%，RSD（n=6）分别为 2.6%和 2.7%。

2.6 大鼠组织样品的方法学评价结果

2.6.1 选择性试验

分别取 6 份不同的未给药大鼠心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、大肠、小肠、肌肉、脂肪、睾丸或卵巢、骨骼、胸腺、胰腺等空白组织 50 mg，除使用不含 IS 的甲醇 150 μL 外，其余步骤同“**2.4**”项。取“**2.3**”项下的组织 LLOQ 样本，按“**2.4**”项下方法处理组织；取尾静脉给予 **1** 盐酸盐注射液 15 min 后的大鼠肝脏样本，按“**2.4**”项下方法处理，按“**2.1**”项下方法检测。结果如图 1 ～ 3 所示，可见空白组织匀浆基质对 IS 和待测物无干扰，满足定量分析的要求。

2.6.2 基质一致性考察

取 6 份不同个体来源的空白心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、大肠、小肠、肌肉、脂肪、睾丸或卵巢、骨骼、胸腺、胰腺等组织，进行不同组织基质的一致性考察，按“**2.3**”项下方法分别配制 LLOQ 以及低、中和高质量浓度的质控样品进行不同组织的基质一致性考察，每个质量浓度平行处理 3 份进行考察。结果显示，上述 4 个质量浓度样品的 RSD（n=3）≤ 8.5%，REC 为 93.7%～ 112.2%，表明上述组织基质对于待测物的响应影响基本一致，可在后续试验中进行组织替代。

2.6.3 线性试验

分别以生物样品中待测物的质量分数（c）为横坐标，以待测物与 IS 的峰面积比（R）为纵坐标，用加权最小二乘法（W=1/x^2）进行回归计算。

结果显示，大鼠各组织中 **1** 质量浓度在 1 ～ 500 ng/g 内线性关系良好，标准曲线回归方程为 R=0.014c+0.000 589（R^2=0.999 9）。

2.6.4 残留效应

在组织匀浆样品分析过程中，采用在标准曲线 ULOQ 样本进样后立即进样 1 个空白肝脏组织匀浆样品，即在每个分析批中的 ULOQ 样本后进样对应的空白肝脏组织匀浆样品，从而进行残留效应评估。结果表明，空白肝脏组织匀浆样品中待测物峰面积均低于 LLOQ 的 20%。

2.6.5 准确度和精密度

取“**2.3**”项下的组织 LLOQ 质控样品，各 6 份，按“**2.4**”项下方法处理组织样本，按“**2.1**”项下方法检测。结果表明，**1** 的组织匀浆样品的批内及批间 RSD（n=6）≤ 6.5%，REC 在 100.7%～ 109.5%。

2.6.6 稳定性试验

考察 **1** 组织匀浆样品在不同条件下稳定性。结果表明，**1** 的组织匀浆样品处理前在室温 / 冰浴条件放置 5 h、处理后室温放置 5 h 内稳定，RSD（n=6）≤ 4.0%，REC 在 102.2%～ 106.8%。

2.6.7 稀释效应

高于 ULOQ 的组织匀浆样本用空白肝脏组织匀浆进行稀释可靠性考察。为考察高于 ULOQ 的组织匀浆样本用空白肝脏组织匀浆稀释相应倍数的可靠性，需用测定值乘以稀释倍数后的质量浓度与配制质量浓度做对比。结果表明 **1** 组织匀浆样品进行 20 倍稀释，REC 在 85.3 %～ 99.3 %，RSD（n=6）≤ 2.8%。

2.7 药代动力学和组织分布研究

2.7.1 药代动力学研究

取 12 只犬，根据体质量随机分为受试制剂组和参比制剂组，每组 6 只。禁食、不禁水至少 12 h 后，根据临床剂量折算后从左前肢静脉推注给予 **1** 盐酸盐生理盐水稀释液，剂量为 0.853 mg/kg，给药体积为 1 mL/kg，推注时间为 10 min。给药前及给药后不同时间点［给药前，5 min（给药中），10 min（给药结束），给药后 15、25、40、55、70、100、130、190、250、370、490 min，共 14 个采样点］，以 K_2-EDTA 为抗凝剂，于右前肢静脉取血约 0.6 mL。全血样品冰浴保存，在 1 h 内于 4 ℃离心（3 461×g）10 min，分离血浆，按“**2.4**”项下方法处理血浆样品，按“**2.1**”项下方法检测。采用 MaS 1.5.2.14 软件的非房室分析（noncompartmental analysis，NCA）计

算 **1** 在各剂量组的药代动力学参数，采用 GraphPad Prism 8.4.2 软件进行参数的统计学比较。

结果显示，取参比制剂及受试制剂对犬进行单次静脉推注给药后，犬血浆中 **1** 平均最大血药浓度（c_{max}）分别为（1 671.19±295.19）和（1 654.22±159.20）ng/mL，受试与参比制剂的均值比为 101.0%，平均时间曲线下面积（$AUC_{0\to t}$）分别为（56 602±6 864）和（55 289±8 174）$min\cdot ng^{-1}\cdot mL^{-1}$，受试及参比制剂的均值比为 102.4%，平均半衰期（$t_{1/2}$）均为（45±3）min。经非配对 *t* 检验，受试制剂组与参比制剂组各主要药动学参数的差异均无统计学意义（$P>0.05$），结果表明 2 种制剂在犬体内的药代动力学行为基本一致，平均药时曲线如图 4 所示。

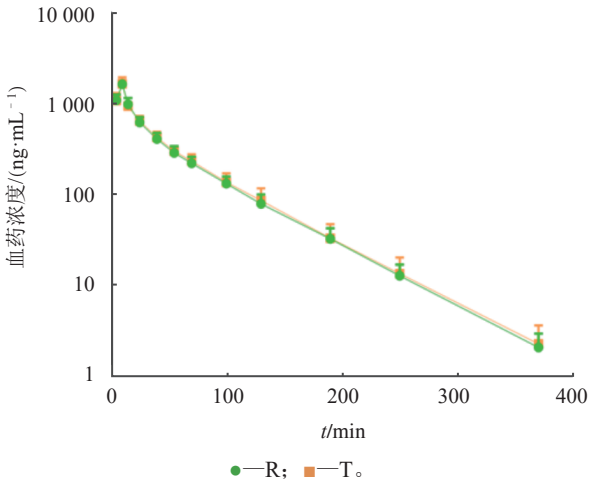


图 4 犬单次静脉推注给予注射用盐酸 1 后平均药 - 时曲线比较图（*n*=6）

Fig.4 Comparison of Mean Plasma Concentration-time Profiles of Dogs after a Single Intravenous Injection of **1** Hydrochloride for Injection (*n*=6)

2.7.2 组织分布研究

取 48 只大鼠，根据体质量随机分为受试制剂组和参比制剂组，每组 24 只，雌雄各半。禁食、不禁水至少 12 h，2.5 mg/kg 尾静脉注射 **1** 盐酸盐生理盐水稀释液，分别于给药后 15、55、130、370 min 处死动物（4 个时间点，每个时间点每组处死 6 只，雌雄各半），采集血液、心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、骨骼肌、脂肪、大肠、小肠、卵巢或睾丸、双侧股骨、胸腺、胰腺等组织。按“**2.4**”项下方法处理组织样品，按“**2.1**”项下方法检测。

结果显示，**1** 在体内分布广泛，而且在各组织中的分布程度差异较大。**1** 主要分布在胰腺、肾、肝、血浆、心、肺，其次分布于肌肉、骨骼、胸腺、胃，在脂肪、脑、卵巢或睾丸中的分布较少。**1** 在肾脏中分布较高，可能与其主要通过肾脏代谢消除有关，这与文献[10—11]报道一致。

2 种制剂 2.5 mg/kg 静脉注射大鼠后，血浆及各组织浓度经非配对 T 检验，*P* 值均大于 0.05，无显著性差异，以上研究结果表明 2 种制剂在大鼠组织中的分布特点一致，组织分布结果见图 5、6。

3 讨论

1 属于细胞毒性药物，对静止期和快速分裂期的肿瘤细胞具有抑制活性[10]，临床上多用于治疗 MM 患者。其原理是通过高剂量化疗和（或）放疗杀灭骨髓中的异常增生细胞，然后重新输注患者自身的造血干细胞以恢复造血功能。**1** 在使用中会出现不同程度的不良反应，包括胃肠道类（恶心、呕吐[11]、腹泻）、皮肤类（脱发、皮疹、瘙痒、口腔溃疡、过敏[12]、黏膜炎[13]）、感染类（菌血症、肺炎、艰难梭菌感染、真菌感染、败血症、脓毒性休克）、血管及血栓栓塞类（肺栓塞、缺血性心脏病、缺血性中风）等[14]。药物的代谢与其药效和不良反应紧密相关。本研究结果表明，**1** 的平均 $t_{1/2}$ 均为 45 min，在体内代谢较快。在大鼠各组织中均有检测到，证明其分布广泛，而且分布程度差异大。在 15、55 min 的 2 个采样点，**1** 在肾、胰腺组织分布明显高于其他组织，其次分布于血流丰富的组织，如肺、肝脏等，这都提示 **1** 的组织分布广泛。

骨髓是 **1** 重要的靶部位，因此在组织分布研究中考察了骨髓中的药物浓度，该研究为 **1** 在骨髓中发挥作用提供数据支持；大鼠骨髓中药物浓度虽低于血浆，但明确了其分布，为 **1** 在骨髓发挥作用提供了依据。但大鼠骨髓量少、取出困难，经过反复试验，选择了剔净肌肉组织后的股骨样品，两头剪开，放在已称重的离心管中离心（16 249×*g*）15 min，取出股骨，再次称重，根据质量按照一定比例（50 mg 骨髓添加沉淀剂 200 μL）添加

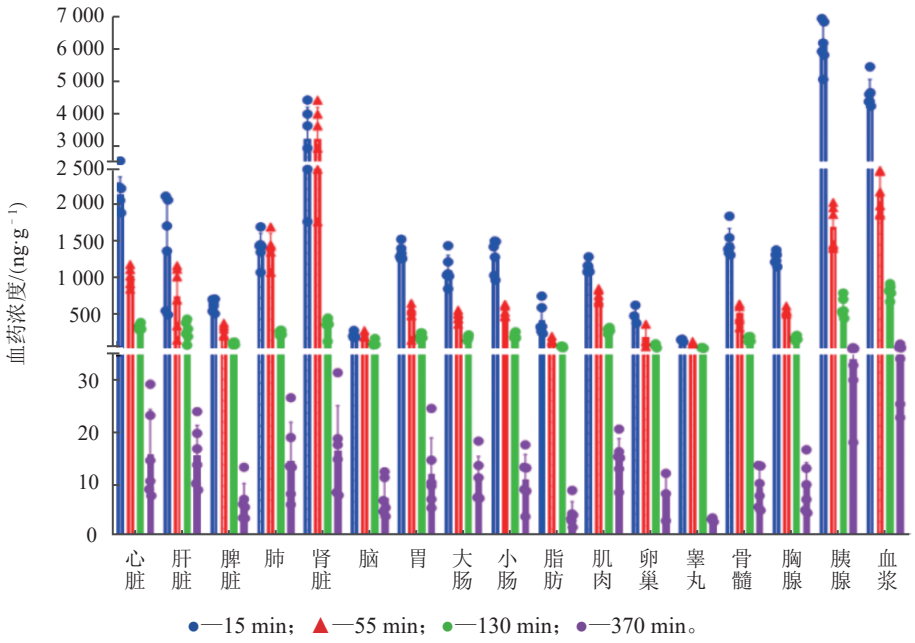


图 5　SD 大鼠 2.5 mg/kg 静脉注射 1 盐酸盐受试制剂后不同时间点血浆及不同组织中 1 的平均含量（*n*=6）

Fig.5　The Average Content of **1** in Plasma and Different Tissues of SD Rats at Different Sampling Points after Intravenous Injection of 2.5 mg/kg of the Test Formulation of **1** Hydrochloride (*n*=6)

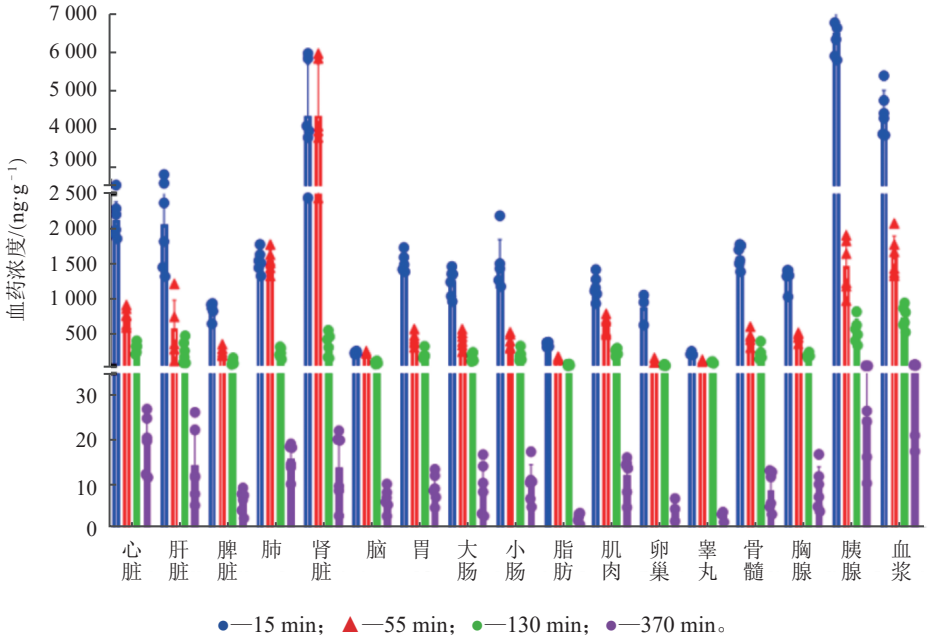


图 6　SD 大鼠 2.5 mg/kg 静脉注射 1 盐酸盐参比制剂后不同时间点血浆及不同组织中 1 的平均含量（*n*=6）

Fig.6　The Average Content of **1** in Plasma and Different Tissues of Rats at Different Sampling Points after Intravenous Injection of 2.5 mg/kg of the Reference Formulation of **1** Hydrochloride (*n*=6)

沉淀剂。减去了手刮、冲洗等烦琐步骤，在保证获取最大样本量的同时减少不必要的污染。

参考文献：

[1]　BEEKER N. Epidemiology of multiple myeloma [J]. *Mult*

Myeloma, 2011, **1**: 25-35.

[2] ATTAL M, LAUWERS-CANCES V, HULIN C, *et al*. Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone with transplantation for myeloma [J]. *N Engl Med*, 2017, **376**(14): 1311-1320.

[3] LOTETA B, PAVIGLIANITI A, NASO V, *et al*. Netupitant/palonosetron without dexamethasone for preventing nausea and vomiting in patients with multiple myeloma receiving high-dose melphalan for autologous stem cell transplantation: a single-center experience [J]. *Support Care Cancer*, 2022, **30**: 585-591.

[4] DESTEFANO C B, GIBSON S, SPERLING A S, *et al*. The emerging importance and evolving understanding of clonal hematopoiesis in multiple myeloma [J]. *Semin Oncol*, 2022,**49**(1): 19-26.

[5] Al HAMED R, BAZARBACHI A H, MALARD F, *et al*. Current status of autologous stem cell transplantation for multiple myeloma [J]. *Blood Cancer J*, 2019, **9**(4): 44.

[6] MAURA F, WEINHOLD N, DIAMOND B, *et al*. The mutagenic impact of melphalan in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2021, **35**(8): 2145-2150.

[7] CASHEN A F, FLETCHER T, CERIOTTI C, *et al*. Phase I study of propylene glycol-free melphalan combined with carmustine, etoposide, and cyt-arabine for myeloablative conditioning in lymphoma patients undergoing autologous stem cell transplantation [J]. *Bio Blood Marrow Transplant*, 2016, **22**(12): 2155-2158.

[8] 乔亚荣. 柴胡中皂苷类成分的药代动力学及组织分布研究[D]. 太原: 山西大学硕士学位论文, 2016

[9] 国际人用药品注册技术协调理事会. ICH 协调指导原则: 生物分析方法验证和研究样品分析 (M10)[S]. 2022-05-24.

[10] ANTTILA J V, SHUBIN M, CAIRNS J, *et al*. Contrasting the impact of cytotoxic and cytostatic drug therapies on tumour progression [J]. *PLoS Comput Biol*, 2019, **15**(11): e1007493.

[11] ISODA A, SAITO R, KOMATSU F, *et al*. Palonosetron, aprepitant, and dexamethasone for prevention of nausea and vomiting after high-dose melphalan in autologous transplantation for multiple myeloma: a phase Ⅱ study[J]. *Int J Hematol*, 2017, **105**(4): 478-484.

[12] NIDDK(US). LiverTox: clinical and research information on drug-induced liver injury [M]. Melphalan: NIDDK, 2012-2020.

[13] SPENCER A, HORVATH N, GIBSON J, *et al*. Prospective randomised trial of amifostine cytoprotection in myeloma patients undergoing high-dose melphalan conditioned autologous stem cell transplantation [J]. *Bone Marrow Transpl*, 2005, **35**(10): 971-977.

[14] ATTAL M, LAUWERS-CANCES V, HULIN C, *et al*. Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone with transplantation for myeloma [J]. *NEJM*, 2017, **376**(14): 1311-1320.