

# 肿瘤趋向性 *N*-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺聚合物-米托蒽醌接合物研究

黄 园, 张志荣\*

(四川大学 华西药学院, 四川 成都 610041)

**摘要:** **目的** 制备 *N*-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺(HPMA)聚合物-米托蒽醌(DHAQ)接合物以提高 DHAQ 在实体瘤中的分布。**方法** 采用 DHAQ 与四肽间隔基连接, 再与 HPMA 进行自由基沉淀聚合反应的方法, 合成目标接合物; 考察了接合物在不同介质中的稳定性及荷瘤小鼠体内的分布情况。**结果** 合成的接合物经 UV, HPLC 和 FPLC 鉴定为目标化合物。其总 DHAQ 含量为  $132.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  接合物, 游离 DHAQ 含量为  $3.5 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$  接合物。摩尔质量  $19\,000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 分子量分布 1.4。在不同 pH 磷酸盐缓冲液及血浆中较稳定, 在肿瘤中的释药明显加快。与原药相比, 接合物在荷瘤小鼠体内的分布明显不同。肿瘤中 AUC 为游离药物 3 倍; 血液循环时间延长; 在心脏中的分布明显减少。表明接合物具有一定的肿瘤趋向性, 并能降低原药对心脏的毒性。**结论** 将具有仲氨基的 DHAQ 连接于 HPMA 聚合物, 能提高 DHAQ 在肿瘤中的分布, 为实体瘤靶向高分子给药系统的研究提供新的思路。

**关键词:** *N*-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺聚合物; 米托蒽醌; 抗肿瘤药物; 肿瘤趋向

中图分类号: R943.42 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2004)05-0374-06

## Selective tumor-accumulation of HPMA copolymer-mitoxantrone conjugates

HUANG Yuan, ZHANG Zhi-rong\*

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** **Aim** To increase the accumulation of mitoxantrone in solid tumor by synthesis and characterization of *N*-(2-hydroxypropyl) methacrylamide (HPMA) copolymer-mitoxantrone conjugate (p-DHAQ). **Methods** HPMA copolymer-mitoxantrone conjugate was prepared by free radical precipitation copolymerization method. The *in vitro* stability of conjugate was investigated under different conditions. Biodistribution was examined in mice bearing Ehrlich solid tumor. **Results** The p-DHAQ conjugate was characterized by UV, HPLC and size exclusion chromatography. The conjugate was stable in buffers of different pH and in mice plasma while the rate of drug liberation was faster in tumor. It appeared that the circulation lifetime of HPMA copolymer-bound mitoxantrone were three times more than that of the drug in free form. The AUC of p-DHAQ was three times more than the AUC of free drug. The p-DHAQ level in heart was five times lower than free drug. This reduces the possibility of toxicity to the heart. **Conclusion** HPMA copolymer-mitoxantrone conjugate was successfully synthesized and characterized. The biodistribution results showed the possibility of targeting anticancer drug-mitoxantrone with secondary amino residue to the tumor tissue by HPMA copolymer as carrier.

**Key words:** HPMA copolymers; mitoxantrone; anti-cancer drug; selective tumor-accumulation

近几年有关抗癌药物靶向给药系统(TDDS)研究的重点之一, 是探讨如何使更多的药物到达肿瘤

部位, 进入癌细胞, 减少对肿瘤所在器官的毒性, 真正达到肿瘤靶向给药的目的。20世纪90年代初, Maeda等<sup>[1]</sup>研究表明, 实体瘤丰富的具不连续性的血管及其产生的因子, 如肿瘤血管渗透因子、舒缓激肽、肿瘤坏死因子等使水溶性高分子聚合物易于通过血液循环进入实体瘤组织, 由于肿瘤部位的淋巴循环较正常组织的渗透率低, 聚合物一旦进入, 很难

收稿日期: 2003-05-19.

基金项目: 国家留学基金委资助项目(0002558); 国家杰出青年科学基金资助项目(39925039).

\* 通讯作者 Tel: 86-28-85501566, Fax: 86-28-85456898.

E-mail: zrzl@vip.sina.com

由淋巴循环离开,而是倾向于进入靶肿瘤细胞,称为“增强透过及滞留效应”(enhanced permeability and retention effect, EPR effect),目前已为药学界所接受。水溶性 *N*-(2-羟丙基)甲基丙烯酸酰胺(HPMA)聚合物作为抗癌药物的载体已有近 30 年的历史<sup>[2,3]</sup>,作为合成高分子材料,其具有生物相容性、非免疫原性,以及可根据使用目的对结构进行修饰的特点。以 HPMA 聚合物为骨架,特有的多肽间隔基作为药物连接和释放的部位,聚合物通过 EPR 效应进入实体瘤组织,通过内吞作用选择性进入肿瘤细胞,并由细胞内的溶酶体酶分解多肽间隔基以使药物释放,从而减小副作用,提高药物在肿瘤中的浓度。HPMA 聚合物-阿霉素接合物等几种抗癌药物接合物正在进行临床 I, II 期研究<sup>[4,5]</sup>,但目前研究只局限于具有伯氨基的药物,如何将更多的小分子药物连接于 HPMA 聚合物并考察其体内靶向性及不同肿瘤模型中的活性,是 HPMA 聚合物今后的发展方向<sup>[6]</sup>。目前我国尚无有关 HPMA 聚合物的研究报道。

本课题以 HPMA 聚合物为载体,以具仲氨基的抗癌药物米托蒽醌(mitoxantrone, DHAQ)为模型药物,系统研究 HPMA 聚合物-DHAQ 接合物的合成条件和理化特性、体外稳定性、动物体内分布及肿瘤趋向性。通过大分子聚合物的特性及其对肿瘤部位的趋向性,以提高药物的抗癌疗效,减小副作用,扩大抗癌药物及 HPMA 聚合物的应用范围,为实体瘤靶向高分子给药系统的研究提供理论基础。

## 材料与方法

**仪器** Fisher-Johns 熔点仪;UV-2201 紫外分光光度计;NICOLET 200SXV 红外光谱仪(KBr 压片);Bruker-Ac-200 型核磁共振仪(TMS 作为内标,DMSO-*d*<sub>6</sub> 为溶剂);Shimadzu LC-10A vp 高效液相色谱仪;SPD-10A vp 紫外可见检测器;Pharmacia 快速蛋白液相色谱仪(fast protein liquid chromatography, FPLC)。

**试剂与药品** 米托蒽醌(DHAQ)由本校药化教研室提供;阿美蒽醌由美国 NIH 肿瘤研究所赠送;1-氨基-2-丙醇、甲基丙烯酸酐、对-硝基苯酚(ONp)、甘氨酸苯丙氨酸(GF)、亮氨酸甘氨酸(LG)、2,2'-偶氮二异丁腈(AIBN)均为分析纯,购自 Sigma-Aldrich;其他试剂均为分析纯。

**动物及瘤株** 昆明种小鼠及艾氏腹水癌瘤株均购自四川省抗菌素研究所。

**HPMA 的合成** 将甲基丙烯酸酐 100 mL(1.01 mol)加到含 1-氨基-2-丙醇 160 mL(2.02 mol)的乙腈

溶液中,室温搅拌 30 min,滤去沉淀。滤液保持在 -50 °C 0.5 h,直至沉淀完全析出。过滤,沉淀以丙酮重结晶。

**MA-GFLG-DHAQ 的合成** 参照文献[7],合成甲基丙烯酸酐甘氨酸苯丙氨酸亮氨酸甘氨酸对硝基苯酯(MA-GFLG-ONp)。以适量 DMF 溶解 MA-GFLG-ONp,4 °C 搅拌下缓缓滴加至 DHAQ 的 DMF 溶液中,缓慢加入三乙胺,反应液通入 N<sub>2</sub>,室温反应 4 h,于 4 °C 放置过夜,减压除去 DMF,甲醇溶解残渣,硅胶 H 柱色谱分离纯化,氯仿-甲醇(5:2,5:1)为洗脱剂,得蓝色粉末状固体,真空干燥备用。

**HPMA 聚合物-DHAQ 接合物的合成** 以 2,2'-偶氮二异丁腈(AIBN)为引发剂,HPMA 与 10% (mol/mol) MA-GFLG-DHAQ 通过自由基沉淀聚合反应(单体-AIBN-溶剂 12.5:1.5:86 wt%)制得聚合物(图 1)。将 AIBN 与 HPMA 溶于丙酮,再与 MA-GFLG-DHAQ 的 DMSO 溶液混合,置于安瓿中,通氮气后密封,于 50 °C 反应 24 h。沉淀物溶于甲醇,并于乙醚再沉淀得到纯品,真空干燥,得兰色固体粉末。

**FPLC 法测定接合物分子量** 以快速蛋白液相色谱仪测定分子量及分子量分布。其色谱条件如下:色谱柱:Superose 12 prepacked column;流动相:磷酸盐缓冲液(pH 7.4)-乙腈(70:30);流速:1 mL·min<sup>-1</sup>;检测器:折射率测定仪;柱温:30 °C;进样量:2 mL。

**HPLC 法测定接合物中 DHAQ 含量** 参照文献[8,9],精密吸取样品适量,加 5% Vit C 柠檬酸缓冲液 0.1 mL,6 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸 0.25 mL,通 N<sub>2</sub>,85 °C 水解,冷至室温,加入 6 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 0.4 mL,氯仿-异丙醇(4:1) 1 mL,混合 2 min,超声振荡 10 min,分出有机相,萃取,除去溶剂,以 0.1 mL 流动相溶解,离心后进样,测定接合物中总 DHAQ 含量;样液不经水解,测得游离 DHAQ 含量。色谱条件:岛津 LC-10AVP;分析柱:Shimpack CLC-ODS(5 μm,150 mm × 4.6 mm ID);保护柱:ODS C<sub>18</sub> 柱;流动相:甲醇-0.2 mol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵缓冲液(硫酸调 pH 2.0)(48:52);检测波长:599 nm;流速:1 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:30 °C,进样量:20 μL。

**HPMA 聚合物-DHAQ 接合物的体外水解动力学研究** 精密吸取米托蒽醌接合物贮备液(0.83 g·L<sup>-1</sup>) 0.5 mL,加至(37 ± 0.5) °C 水浴预热的不同 pH 缓冲液 10 mL,混匀,pH 2~6 以 1% Vit C 为稳定剂,pH 6 以上则以 0.2% 亚硫酸钠为稳定剂,于不同

时间取样,按照上述 HPLC 方法考察其浓度变化情况。

**HPMA 聚合物-DHAQ 接合物的血浆及肿瘤稳定性研究** 艾氏实体瘤荷瘤小鼠股动脉取血后处死,全血离心(10 000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min)。分取肿瘤,匀浆,用 0.05 mol·L<sup>-1</sup>(pH 7.4)磷酸盐缓冲液将上述样品稀释成 30% 的血浆或肿瘤液(含 0.2% 亚硫酸钠),加适量米托蒽醌接合物,置入 37 °C 水浴,于不同时间取样 0.5 mL,加 5% Vit C 柠檬酸缓冲液(pH 3) 0.1 mL, 6 mol·L<sup>-1</sup> HCl 0.25 mL 及甲醇 2 mL,旋涡

混合 2 min, 超声 10 min, 离心(15 000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min),取上清液 1 mL,用 HPLC 柱切换法考察其浓度变化情况。色谱条件:岛津 LC-10AVP;预处理柱:YWG-CN 柱(10 μm, 50 mm × 4.6 mm ID)匀浆法自制;分析柱:Shimpack CLC-ODS(5 μm, 150 mm × 4.6 mm ID);保护柱:ODS C<sub>18</sub>柱;预处理流动相:重蒸馏水;分析流动相:甲醇-0.2 mol·L<sup>-1</sup>乙酸铵缓冲液(硫酸调 pH 2.0)(48:52);流速:1 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长:599 nm;柱温:30 °C;切换时间:3 min。

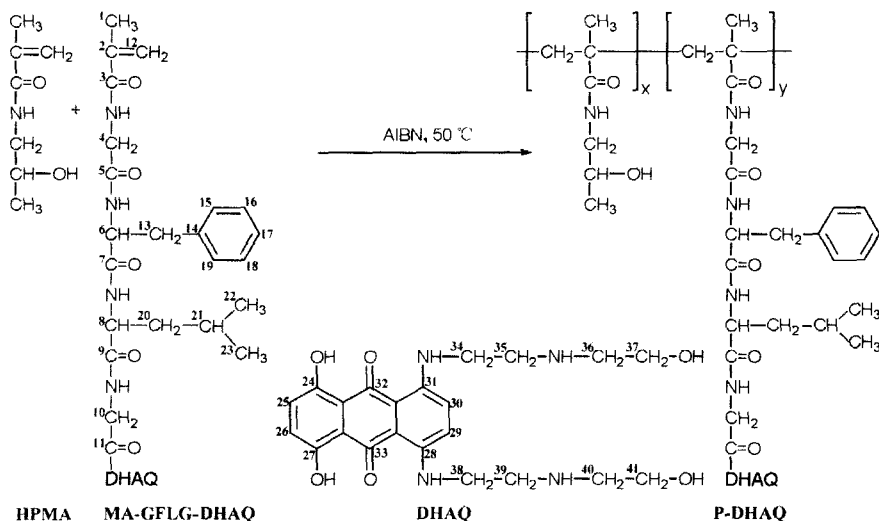


Figure 1 Synthesis of HPMA polymer-DHAQ conjugates (p-DHAQ)

**HPMA 聚合物-DHAQ 接合物及 DHAQ 荷瘤小鼠体内分布及靶向性研究** 取昆明种小鼠,每鼠右腋皮下接种艾氏腹水癌悬液 0.2 mL(约含癌细胞 2 × 10<sup>6</sup> 个)。接种后的 d 9,肿瘤生长稳定后,随机分为 14 组,每组 5 只,其中 7 组按 15.1 mg·kg<sup>-1</sup>(接合物/体重)尾静脉注射接合物水溶液,剂量相当于 2 mg·kg<sup>-1</sup>(DHAQ/体重),作为实验组;另外 7 组按 2 mg·kg<sup>-1</sup>(DHAQ/体重)尾静脉注射 DHAQ 水液,作为对照组。实验组和对照组于给药后 2, 6, 12, 18, 24, 48 和 96 h 分别眼眶取血,取血后立即处死一组动物,迅速解剖取出心、肝、脾、肺、肾和肿瘤等组织器官。各器官分别称重,加 2 倍量水及 0.3 倍 5% Vit C 柠檬酸缓冲液(pH 3)匀浆,全血置肝素化离心管内离心(10 000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min),取上清液,每毫升加入上述 Vit C 柠檬酸缓冲液 0.1 mL。取血浆(或器官匀浆) 0.5 mL,精密加入适量阿美蒽醌水溶液作为内标,85 °C 酸水解 15 min,其余操作同上述 HPLC 柱切换法。含 DHAQ 的血浆或脏器匀浆不进行水解处理。

## 结果

### 1 HPMA 的合成

产物收率 72.14%, mp 65 ~ 67 °C, MS *m/z*: C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> 142.7(M<sup>+</sup>)。

### 2 MA-GFLG-DHAQ 的合成

产物收率 30.54%, mp 107 ~ 109 °C; MS *m/z*: C<sub>45</sub>H<sub>58</sub>N<sub>8</sub>O<sub>11</sub> 887.5(M<sup>+</sup>); IR (KBr) cm<sup>-1</sup>: 3 294(OH, -CONH-), 2 925(-CH-), 1 645(仲胺 I), 1 560(仲胺 II), 1 666, 1 518(苯环); <sup>1</sup>HNMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.84(3H, d, *J* = 6.0 Hz, 22-CH<sub>3</sub>), 0.88(3H, d, *J* = 6.8 Hz, 23-CH<sub>3</sub>), 1.84(3H, s, 1-CH<sub>3</sub>), 2.68(4H, t, *J* = 5.6 Hz, 35-CH<sub>2</sub>, 39-CH<sub>2</sub>), 2.89(4H, t, *J* = 5.8 Hz, 36-CH<sub>2</sub>, 40-CH<sub>2</sub>), 5.35, 5.69(各 1H, s, 12-CH<sub>2</sub>), 7.13 ~ 7.23(5H, m, 15-CH ~ 19-CH)(图 1)。

### 3 HPMA 聚合物-DHAQ 接合物的合成

产物收率 61.71%。紫外光谱显示,米托蒽醌水溶液在 608 和 659 nm 有特征吸收峰,HPMA 在可见光区无吸收。MA-GFLG-DHAQ 与接合物的最大

吸收峰均发生一定的位移,移至 613 和 669 nm,且二者的紫外光谱基本相似。HPLC 测定表明,DHAQ 的  $t_R$  为 10.04 min,MA-GFLG-DHAQ 的  $t_R$  为 17.47 min,未水解的米托蒽醌接合物在此时间内无明显的目标峰出现,而水解后则在 10.07 min 出现游离 DHAQ 目标峰。由此可进一步说明接合物的形成。FPLC 测得接合物摩尔质量为  $19\ 000\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  ( $M_r$ ),分子量分布为 1.4。

#### 4 HPLC 法测定接合物中 DHAQ 含量

按样品处理方法制备标准曲线,在  $0.29 \sim 2.93\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,DHAQ 峰高 ( $H$ ) 与其浓度 ( $C$ ) 之间线性关系良好,标准曲线方程为  $H = 361\ 908C + 243.32$ ,  $r = 0.999\ 7$ ,高、中、低 3 个浓度的回收率分别为 97.50%,98.86% 和 99.20%,RSD 分别为 0.96%,0.53% 和 0.55%。接合物总 DHAQ 含量为  $132.4\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  接合物,游离 DHAQ 含量为  $3.5\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  接合物,占总米托蒽醌含量的 2.62%。

#### 5 HPMA 聚合物-DHAQ 接合物的体外稳定性研究

由图 2 可知,接合物在  $37\ ^\circ\text{C}$  不同 pH 磷酸盐缓冲液中放置 120 h 均较稳定,药物释放量不超过 5%。同时发现,接合物在血浆中稳定, $37\ ^\circ\text{C}$  放置 48 h 药物释放 7.81%;而在肿瘤中的释放则明显加快,48 h 释放 18.63% (图 3)。

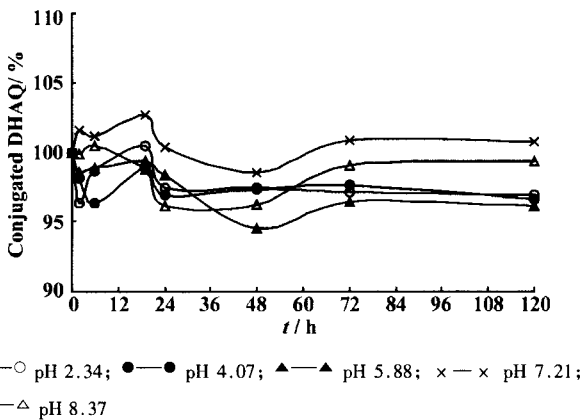


Figure 2 Time course of water hydrolysis of HPMA polymer-DHAQ conjugates at different pH

#### 6 HPMA 聚合物-DHAQ 接合物及 DHAQ 荷瘤小鼠体内分布及肿瘤趋向性研究

按上述生物样品处理方法分别制备加药血浆及组织的标准曲线。血浆、肿瘤、心脏样品中 DHAQ 浓度在  $0.293 \sim 5.274\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,脾样品中 DHAQ 浓度  $1.758 \sim 8.790\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,肺样品中 DHAQ 浓度  $0.293 \sim 8.790\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,肾  $0.293 \sim 11.720\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,肝  $0.586 \sim 23.440\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,浓度与峰面积比有良好的线性关

系。心、肝、脾、肺、肾、血、瘤各脏器中 DHAQ 高、中、低 3 种浓度平均回收率及 RSD 分别为 105.71%, 3.26%; 100.53%, 2.19%; 103.49%, 3.62%; 102.81%, 1.93%; 102.06%, 4.90%; 102.99%, 2.45%; 101.98%, 0.44%。日内及日间精密度的均小于 10%。

以不同时间各器官中 DHAQ 的浓度 ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 评价不同时间 DHAQ 原药和接合物在小鼠体内的分布,结果见图 4 和图 5。

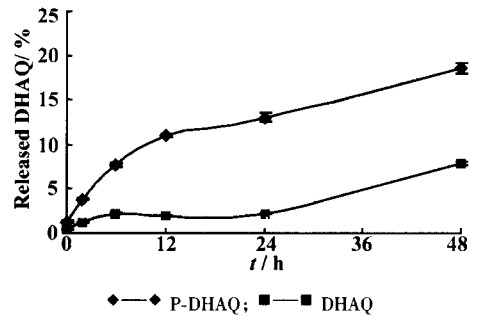


Figure 3 Time course of plasma and tumor hydrolysis of HPMA copolymer-DHAQ conjugates

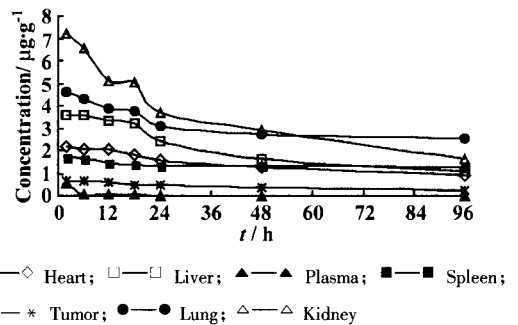


Figure 4 Concentration of free DHAQ in plasma and tissues

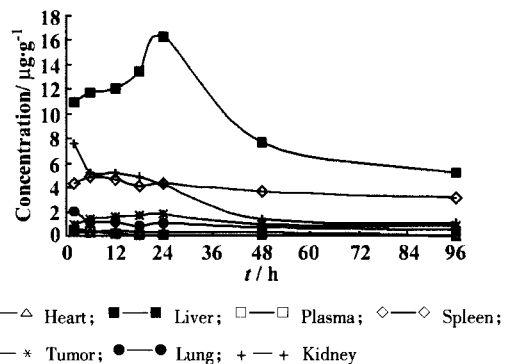


Figure 5 Concentration of P-DHAQ in plasma and tissues

应用 3P87 药动学程序对小鼠肿瘤药时数据 (图 4,5) 进行处理,表 1 表示接合物及原药在小鼠肿瘤中的药动学参数。

**Table 1 Major pharmacokinetic parameters for free DHAQ and HPMA copolymer-DHAQ (P-DHAQ) conjugates in mice**

Tissue	AUC/ $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{g}^{-1}$	$T_{1/2}/\text{h}$	CL/ $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$
DHAQ	38.89	85.06	29.97
P-DHAQ	113.17	158.67	7.08

\*  $T_{1/2}$  is the elimination half life and AUC is calculated by statistic moment program

从表 1 及图 4,5 可以看出,HPMA 聚合物-米托蒽醌接合物较之游离药物在荷瘤小鼠体内的分布明显不同。表现为(1)血液循环时间延长,小鼠静脉注射米托蒽醌原药水液后,血中游离米托蒽醌 2 h 浓度为  $0.55 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,24 h 则无法检出;而接合物的浓度 2 h 为  $0.53 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,24 h 为  $0.13 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,直至 96 h 仍有  $0.08 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。(2)接合物于静脉给药后 24 h 在肿瘤中分布达最大值,浓度为游离药物的 3.8 倍,96 h 仍有  $0.84 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ;而游离药物仅剩  $0.24 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。接合物 AUC 为游离药物 3 倍。表明接合物具有一定的肿瘤趋向性。(3)米托蒽醌的主要毒性在于骨髓抑制及心脏毒性。接合物在心脏中的分布明显减少,2 h 含量为  $0.42 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,游离药物为  $2.21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ;96 h 接合物在心脏中已无法检测,而游离药物仍有  $0.92 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,降低了原药的毒副作用。

## 讨论与结论

仲氨基药物与 HPMA 聚合物的连接,迄今国内外均未见报道。米托蒽醌分子结构中具有 6 个易反应的活性基团,保持药物活性不受影响,避免多种基团同时发生反应,生成不同理化性质的产物,影响接合物体内行为,避免聚合过程中发生接合物交联,使载药量降低,是本研究的重点和难点。采用 DHAQ 与间隔基反应,再进行自由基聚合沉淀反应。以极稀的溶液和过量的药物投料量([ONp]:[NH]为 1:10 [mol/mol])合成<sup>[10]</sup>,UV,mp,IR,MS,<sup>1</sup>HNMR 测定结果表明,DHAQ 确已连接于间隔基,且可能以单侧链的仲氨基与间隔基形成酰胺键。UV,HPLC 及 FPLC 均证明接合物的形成。

静脉给药后,HPMA 聚合物-DHAQ 接合物在循环系统中保持稳定,即到达靶组织进入靶细胞之前无活性,对于其在体内的分布极其重要。本研究结果表明,接合物于不同 pH 缓冲液及血浆中稳定性较好,在肿瘤组织中的释放明显增加,达到实验设计目的。有关接合物体外稳定性研究,常以组织蛋白

酶(Cathepsin B)为模型。本研究将肿瘤匀浆为释放介质,考察接合物在肿瘤中的体外稳定性。此法的影响因素如匀浆过程对肿瘤细胞活性的破坏程度、肿瘤离体后的保存方法、接合物在靶细胞及其它组织、器官中的稳定性尚待深入研究。

大分子接合物具有被动实体瘤选择性沉积的特性。本研究中,米托蒽醌接合物在肿瘤中 24 h 分布达到最高值(图 4,5),浓度和 AUC 分别为  $1.83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 113.17,明显高于游离药物( $0.48 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 38.89),这与以 HPMA 聚合物为载体的有关文献<sup>[11]</sup>报道相似。其原因在于,一些可溶性的物质,包括蛋白及高分子物质,易从血管中溢出而到达实体瘤间质,而肿瘤部位的淋巴循环较正常组织差,因此,药物的沉积取决于血液循环中药物的输入及淋巴循环中药物的输出。同时,肿瘤分泌的血管渗透因子等增加了肿瘤血管对大分子物质的通透性,由于接合物较游离药物的分子量和分子尺寸增大,亦促进接合物在实体瘤部位的沉积。尽管存在由于组织间对流而产生的外渗现象<sup>[12]</sup>,但上述各因素的总体影响导致了 HPMA 聚合物-药物接合物在实体瘤中的沉积。本实验结果再一次证明 EPR 效应的存在。

由图 5 可知,给药后 24 h,约有占给药量 40% 的接合物分布于肝脏,这与文献报道阿霉素接合物的体内分布相似<sup>[11,13]</sup>。推测有以下两种原因:(1)对于米托蒽醌原药,约有占给药量 10% 的药物分布于肝脏,占所测脏器含药总和的 55%,在一定程度上说明,米托蒽醌原药本身具有一定的趋肝性,这也导致了接合物在肝脏中较高的分布。(2)肝脏特有的不连续的血管壁使处于血液循环中的物质自由地与肝实质及非实质细胞接触,白细胞、单核细胞以及巨噬细胞等的吞噬作用,加之接合物血浆半衰期的延长,都可能导致其在肝脏中的沉积。这也是本实验欲将米托蒽醌制成肿瘤趋向性的接合物需克服的难点。由于脾与肝脏具有较相似的生理结构,脾脏中接合物的浓度可达  $4.87 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,但脾脏较肝脏小,器官中接合物的量占给药量的百分数(total administration dose,TAD)亦较小(1.5%)。

本研究将具有仲氨基的米托蒽醌连接于 HPMA 聚合物,较原药而言,对肿瘤组织确有一定的趋向性,降低对心脏的毒性,达到设计目的。

## References:

- [1] Maeda H. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review [J]. *J Controlled*

- Release*, 2000, **65**(1-2):271-284.
- [2] Kopecek J, Baziliva H. Poly [ *N*-(2-hydroxypropyl) methacrylamide ]. I. Radical polymerization and copolymerization [J]. *Eur Pol J*, 1973, **9**(1):7-14.
- [3] Bohdanecky M, Bazilova H, Kopecek J. Poly [ *N*-(2-hydroxypropyl) methacrylamide ]. II. Hydrodynamic properties of diluted polymer solutions [J]. *Eur Pol J*, 1974, **10**(4):405-410.
- [4] Duncan R, Seymour LW, O'Hare KB, *et al.* Preclinical evaluation of polymer-bound doxorubicin [J]. *J Controlled Release*, 1992, **19**(3):331-342.
- [5] Julyan PJ, Seymour LW, Ferry DR, *et al.* Preliminary clinical study of the distribution of HPMA copolymers bearing doxorubicin and galactosamine [J]. *J Controlled Release*, 1999, **57**(3):281-290.
- [6] Putnam D, Kopecek J. Polymer conjugates with anticancer activity [J]. *Adv Polym Sci*, 1995, **122**(1):55-123.
- [7] Ulbrich K, Subr V, Strohalm J, *et al.* Polymeric drugs based on conjugates of synthetic and natural macromolecules I. Synthesis and physico-chemical characterization [J]. *J Controlled Release*, 2000, **64**(1-3):63-79.
- [8] Shiah JG, Dvorak M, Kopeckova P, *et al.* Biodistribution and antitumor efficacy of long-circulation *N*-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymer-doxorubicin conjugates in nude mice [J]. *Eur J Cancer*, 2001, **37**:(2) 131-139.
- [9] Zhang ZR, Zhang QZ. Comparison of liver targeting effect of mitoxantrone-bovine serum albumin microspheres with galactosyl-mitoxantrone-bovine serum albumin microspheres [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1999, **19**(3):140-143.
- [10] Ghandehari H, Kopeckova P, Yeh PY, *et al.* Biodegradable and pH sensitive hydrogels: synthesis by a polymer-polymer reaction [J]. *Macromol Chem Phys*, 1996, **197**(8):965-973.
- [11] Shiah JG, Sun Y, Peterson CM, *et al.* Biodistribution of free and *N*-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymer-bound mesochlorin e6 and adriamycin in nude mice bearing human ovarian carcinoma OVCAR-3 xenografts [J]. *J Controlled Release*, 1999, **61**(1-2):145-157.
- [12] Baish JW, Netti PA, Jain RK, *et al.* Transmural coupling of fluid flow in microcirculatory network and interstitium in tumors [J]. *Microvasc Research*, 1997, **53**(2):128-140.
- [13] Pimm MV, Perkins AC, Strohalm J, *et al.* Gamma scintigraphy of a <sup>123</sup>I-labelled *N*-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymer-doxorubicin conjugates containing galactosamine following intravenous administration to nude mice bearing hepatic human colon carcinoma [J]. *J Drug Target*, 1996, **3**(4):357-373.