

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEUHYGIENE  
BILTHOVEN

Rapport nr. 658603002

Farmacokinetiek en biologische beschikbaarheid van  
benzo(a)pyreen (BaP) in de RIV:tox rat.

K.J. Lusthof, M. Olling, E.D. Kroese, J. Beenen,  
M.J. Poelen, H.A.M.G. Vaessen en C.G. v.d. Kamp.

mei 1993

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van de Hoofd Inspectie Gezondheidsbescherming (HIGB), Postbus 5406, 2280 HK te Rijswijk en is beschreven onder projectnummers 658603/BFT-03 en 658603/BFT-04.

## VERZENDLIJST

01-05	Hoofdinspecteur Gezondheidsbescherming
06-10	Hoofdinspecteur Voeding en Veiligheid van Producten
11	Directeur-Generaal van de Volksgezondheid
12	Piv. Directeur-Generaal van de Volksgezondheid, tevens Hoofddirecteur Financiering en Planning
13	Hoofddirecteur van de Gezondheidsbescherming
14	Directeur Voedings- en Veterinaire aangelegenheden en Productveiligheid
15	H. Roelfzema, Directie Voeding en Veiligheid van Producten
16	Ir. M.A.M. de Schutter, Directie Voeding en Veiligheid van Producten
17	Dr.Ir. P.C. Bragt, Hoofdinspectie Gezondheidsbescherming
18	T. Staarink, Hoofdinspectie Gezondheidsbescherming
19	Dr.Ir. G. Kleter, Hoofdinspectie Gezondheidsbescherming
20	Ir. W.J. de Koe, HIGB
21	Dr. J.H.M. Nieuwenhuijs, VHI
22	Depot Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie
23	Directie RIVM
24	Dr.Ir. G. de Mik, Directeur Sector 6, Stoffen en Risico's
25	Hoofd Bureau Voorlichting en Public Relations
26	Dr. W.H. Könemann, Hoofd Laboratorium voor Toxicologie
27	Drs. J. Meulenbelt, Hoofd Nationaal Vergiftigingen Informatie Centrum
28	Dr.Ir. H.J.G.M. Derks, Hoofd Unit Biotransformatie, Farmaco- en Toxicokinetiek
29	Dr. W. Slob, Centrum voor Wiskundige Methoden
30	Dr. F.X.R. van Leeuwen, Adviescentrum Toxicologie
31	Prof.dr. G.R. Mohn, Laboratorium voor Carcinogenese 2en Mutagenese
32	Dr. C.F. van Kreyl, Laboratorium voor Carcinogenese en Mutagenese
33	Dr.Ir. M.J. Zeilmaker, Laboratorium voor Toxicologie
34	Dr. H.B. Bueno de Mesquita, Centrum voor Chronische Ziekten en Milieu-epidemiologie
35	Dr. P.W. Wester, Laboratorium voor Pathologie
36-42	Auteurs
43	Bibliotheek RIVM
44	Project- en Rapportregistratie
45-55	Reserve exemplaren

INHOUDSOPGAVE	<u>Pag.</u>
Verzendlijst	ii
Inhoudsopgave	iii
Summary	iv
Samenvatting	1
1. Inleiding	2
2. Doel van het experiment	3
3. Materiaal	3
4. Methoden	3
5. Resultaten en discussie	6
Literatuur	14
Tabellen en figuren	16

## SUMMARY

Eight groups of six male RIV:tox rats received oral and intravenous doses of benzo(a)pyrene (BaP) in a parallel study plan. Intravenously and orally four dose levels were administered. BaP was dissolved in soybean oil for oral administration, and in glycofurol for intravenous administration. The doses were such, that the absolute oral bioavailability could be calculated for two dose levels.

The plasma pharmacokinetics of BaP after intravenous administration were described by a two-compartment model. The corresponding kinetic parameters were calculated.

The elimination half-life of BaP was approx. 30-60 min in the period 0-12 h after administration. Therefore, unchanged BaP will not accumulate after repeated administration, when it is administered once daily.

The AUC values (area under the plasma concentration-time curve) increased more than proportionally with the oral or intravenous dose. The deviation from linearity was small for the doses used in this study.

After oral administration multiple plasma concentration maxima were observed, which may be explained by an interaction of the oil solution with the bile. The absolute oral bioavailability of unchanged BaP was approx. 13% for a dose of 1 mg/kg and approx. 4% for a dose of 5 mg/kg. This does not mean, that the absorption of BaP decreased with increasing doses, because the nonlinear increase of the AUC values with the dose may be explained by saturation of the metabolism.

The kinetic parameters and the oral bioavailability were in the same range as found in the literature for other rat species.

## SAMENVATTING

Aan in totaal acht groepen van zes mannelijke RIV:tox ratten werden in een parallelle proefopzet orale en intraveneuze doses van benzo(a)pyreen (BaP) toegediend. Zowel oraal als intraveneus werden vier dosis niveaus toegediend. Voor orale toediening werd BaP opgelost in soja-olie, voor intraveneuze toediening in glycofurol. De doseringen waren zodanig, dat op twee dosisniveaus de absolute orale biobeschikbaarheid kon worden berekend.

De plasma toxicokinetiek van BaP na intraveneuze toediening kon worden beschreven met een twee-compartimenten model, en de bijbehorende kinetische parameters werden berekend. In het tijdsinterval tot 12 uur na toediening was de eliminatiehalfwaardetijd ca 30-60 minuten.

Hieruit volgt, dat onveranderd BaP niet zal accumuleren in plasma na herhaalde toediening, wanneer er een maal daags wordt gedoseerd.

De waarden van de AUC (oppervlak onder de plasmaconcentratie-tijd curve) namen meer dan proportioneel toe met de (orale of intraveneuze) dosis. De doses waarbij het metabolisme is verzadigd, werd berekend op ca 10 mg/kg intraveneus en ca 52 mg/kg oraal.

Na orale toediening werden meerdere plasma maxima waargenomen, hetgeen verklaard kan worden door de interactie tussen de olie-oplossing en gal. De absolute orale biologische beschikbaarheid van onveranderd BaP was ca 13% voor een dosis van 1 mg/kg en ca 4% voor een dosis van 5 mg/kg. Dit betekent niet, dat de absorptie van BaP afneemt bij hogere doseringen, omdat de nonlineaire relatie tussen de AUC en de dosis verklaard kan worden door een verzadiging van het metabolisme.

De kinetische parameters en de orale biobeschikbaarheid waren van de zelfde orde van grootte als in de literatuur beschreven voor andere rattestammen.

## 1. INLEIDING

Benzo(a)pyreen (BaP) is de bekendste vertegenwoordiger van de groep van polycyclische aromaten (PAK's). De stof komt voor in o.a. teer en verbrandingsgassen, maar ook in gerookt of geroosterd voedsel en kan als verontreiniging in water aanwezig zijn. Door de IARC<sup>1</sup> wordt benzo(a)pyreen als "probably carcinogenic to humans" (groep 2A) aangemerkt; uit dierproeven is voldoende bewijs voor carcinogeniteit verkregen. Een kwantitatieve correlatie tussen de systemische belasting met benzo(a)pyreen na orale toediening en de carcinogeniteit is echter bij mens noch dier voldoende onderzocht.

Binnen het RIVM wordt de carcinogeniteit van benzo(a)pyreen en de vorming van DNA adducten bij de rat onderzocht na chronische orale toediening (project "carcinogeniteitsstudie met benzo(a)pyreen in de rat bij orale toediening", projectnummer 658603). Van belang zijn vooral de relaties tussen de farmacokinetiek van benzo(a)pyreen, de vorming van DNA adducten en de tumorvorming. Uit de literatuur blijkt, dat ook na niet-enterale toediening (oraal, inhalatie) BaP in diverse weefsels terecht komt en daar DNA-adducten vormt, wat kan leiden tot tumorvorming (Brauze et al.1991, Weyand and Bevan 1987, Mitchell 1982, Vainio et al.1985). Waarschijnlijk is bij de tumorvorming zowel de concentratie van benzo(a)pyreen ter plaatse als de metabole activering in het desbetreffende weefsel van belang.

Het onderzoek binnen het RIVM is gericht op een verantwoorde extrapolatie van de carcinogeniteit van oraal toegediend benzo(a)pyreen naar lage doses bij het proefdier en uiteindelijk te komen tot een risicoschatting en normstelling bij de mens. Het bestuderen van de toxicokinetiek van benzo(a)pyreen bij het proefdier dat wordt gebruikt in project 658603 is noodzakelijk om de blootstelling van het proefdier aan BaP te kwantificeren.

De toxicokinetische resultaten zullen tevens gebruikt worden bij het opstellen van een "fysiologisch gebaseerd farmacokinetisch model" (PBPK model) waarin de lotgevallen van benzo(a)pyreen op een beter extrapoleerbare manier kunnen worden beschreven dan met de klassieke farmacokinetische modellen.

---

<sup>1</sup>International Agency for Research on Cancer (1983), IARC monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol.32, Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Lyon.

## 2. DOEL VAN HET EXPERIMENT

De doelstellingen van de in dit rapport beschreven experimenten waren:

1. Het vaststellen van de kinetiek van benzo(a)pyreen bij de RIV:tox rat na intraveneuze en orale toediening.
2. Het bepalen van de absolute biologische beschikbaarheid van benzo(a)pyreen bij de RIV:tox rat.
3. Het bepalen van de mate van lineariteit van de plasmakinetiek van benzo(a)pyreen in de RIV:tox rat.

## 3. MATERIAAL

Benzo(a)pyreen was van Sigma, en is zonder verdere opzuivering gebruikt.

Glycofurool (=tetrahydrofurfurylalcohol-polyethyleenglycolether) was van Merck.

De overige chemicaliën waren van analytische kwaliteit.

Soya olie voldeed aan de specificaties van de USP.

Ratten: in totaal zijn er acht groepen van 6 mannelijke Wistar ratten (RIV:tox stam, spf) gebruikt. Het gewicht van de ratten was ca 250-300 g.

## 4. METHODEN

### 4.1. Dierexperimenteel

De dieren waren per twee gehuisvest in macrolon bakken met een bodem van middelgrof zaagsel, in geklimatiseerde ruimtes (bouwdeel V). De dieren kregen voer (SSP-tox voer) en water ad libitum. De dieren werden gewogen op de dagen van canulering en toediening van benzo(a)pyreen. Enkele dagen voor de toediening werd bij de dieren een verblijfscanule aangebracht in de V. femoralis, t.b.v. intraveneuze injectie.

Iedere rat ontving een eenmalige dosis van benzo(a)pyreen, per groep verschillend. Er werden oplossingen van diverse sterktes toegediend. Het toegediende volume was steeds 2 ml/kg lichaamsgewicht. De doses in mg per kg lichaamsgewicht waren: oraal: 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg en 25 mg/kg; intraveneus 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 1 mg/kg en 5 mg/kg. De orale doses werden per maagsonde toegediend in de vorm van een oplossing in soja-olie; de intraveneuze doses werden toegediend via een canule in de V.femoralis in de vorm van een oplossing van benzo(a)pyreen in glycofurool. Het toedieningsschema staat vermeld in tabel 1.

De bloedmonsters werden verkregen door incisie van de staart; het bloed werd opgevangen in gehepariniseerde Eppendorf cupjes, op de tijdstippen 5, 10, 20, 40 en 60 en 90 minuten, 2, 3, 6, 8 en 12 uur na intraveneuze toediening, en 15, 30, 45, 60, 75 en 90 minuten, 2, 3, 6, 8, 12 en 24 uur na orale toediening.

Na centrifugatie werden de plasma monsters gewogen en bewaard bij -20°C tot het tijdstip van analyse op BaP-gehalte.

De dierexperimenten zijn beschreven in de proefopzetten BES-BFT-91-48 (intraveneuze toediening) en BES-BFT-91-117 (orale toediening). De intraveneuze toedieningen vonden plaats in de periode van 15-4-1991 t/m 18-4-1991 en de orale toedieningen op 21-5, 23-5, 24-5 en 27-5-1991 (zie toedieningsschema).

**Tabel 1- Toedieningsschema**

Intraveneus: Toediening van 2 ml/kg van oplossingen van benzo(a)pyreen in glycofurool in diverse sterktes via de Vena femoralis.

Opl.1 : 0,05 mg/ml

Opl.2 : 0,10 mg/ml

Opl.3 : 0,50 mg/ml

Opl.4 : 2,50 mg/ml

Oraal: Toediening van 2 ml/kg van oplossingen van benzo(a)pyreen in soya-olie in diverse sterktes per maagsonde.

Opl.1 : 0,5 mg/ml

Opl.2 : 2,5 mg/ml

Opl.3 : 5,0 mg/ml

Opl.4 : 12,5 mg/ml

	Rat volgnr.	Opl.1	Opl.2	Opl.3	Opl.4
15-4-1991	1	x			
15-4-1991	2		x		
15-4-1991	3			x	
15-4-1991	4				x
15-4-1991	5	x			
15-4-1991	6		x		
-----					
16-4-1991	7			x	
16-4-1991	8				x
16-4-1991	9	x			
16-4-1991	10		x		
16-4-1991	11			x	
16-4-1991	12				x
-----					
17-4-1991	13	x			
17-4-1991	14		x		
17-4-1991	15			x	
17-4-1991	16				x
17-4-1991	17	x			
17-4-1991	18		x		
-----					
18-4-1991	19			x	
18-4-1991	20				x
18-4-1991	21	x			
18-4-1991	22		x		
18-4-1991	23			x	
18-4-1991	24				x

	Rat volgnr.	Opl.1	Opl.2	Opl.3	Opl.4
21-5-1991	1	x			
21-5-1991	2		x		
21-5-1991	3			x	
21-5-1991	4				x
21-5-1991	5	x			
21-5-1991	6		x		
-----					
23-5-1991	7			x	
23-5-1991	8				x
23-5-1991	9	x			
23-5-1991	10		x		
23-5-1991	11			x	
23-5-1991	12				x
-----					
24-5-1991	13	x			
24-5-1991	14		x		
24-5-1991	15			x	
24-5-1991	16				x
24-5-1991	17	x			
24-5-1991	18		x		
-----					
27-5-1991	19			x	
27-5-1991	20				x
27-5-1991	21	x			
27-5-1991	22		x		
27-5-1991	23			x	
27-5-1991	24				x

#### 4.2. Analysemethode

De bepaling van benzo(a)pyreen in ratteplasma werd uitgevoerd door het laboratorium voor Analytisch Residu Onderzoek (ARO) op de wijze beschreven in SOP nr. ARO/089.

Beknopt samengevat wordt hierbij als volgt gewerkt:

Voorzuivering plasmamonster: onteiwitting met behulp van acetonitril (precipitatie), na verdunning met water gevolgd door vaste stof extractie (SPE).



Scheiding: RP-HPLC met fluorescentiedetectie. Excitatiegolflengte 290 nm, emissiegolflengte 430 nm. Als interne standaard wordt benzo(b)fluorantheen gebruikt.

Detectielimiet: ca 0.2 ng per ml plasma bij een hoeveelheid plasma van 150  $\mu$ l.

Er wordt een vaste hoeveelheid interne standaard aan de monsters toegevoegd. Hierdoor is de verhouding tussen de piekhoogten van BaP en benzo(b)fluorantheen niet altijd optimaal.

De nauwkeurigheid van het meetresultaat is daardoor afhankelijk van de concentratie van BaP. Vanwege de beperkte monstergrootte zijn de monsters niet geheranalyseerd.

#### 4.3 Berekening van de halfwaardetijden

De halfwaardetijden voor eliminatie van BaP uit plasma zijn berekend uit de best passende curve volgens de vergelijkingen van een standaard twee-compartimenten model, m.b.v. het programma "TopFit". De terminale eliminatiehalfwaardetijd werd berekend uit het terminale log-lineaire gedeelte van de plasmaconcentratie-tijdcurve (de laatste 3 of 4 punten uit de  $\beta$ -fase, afhankelijk van de lineariteit).

#### 4.4 Oppervlaktes onder de concentratie-tijd curves (AUC)

De AUC<sub>t</sub> waarden zijn berekend met de lineaire trapeziumregel bij toenemende plasmaconcentraties en de logaritmische trapeziumregel bij dalende concentraties. Extrapolatie naar oneindig vond plaats met de formule:  $AUC_{\infty} = AUC_t + C_t/k_e$ , waarbij  $k_e$  de terminale eliminatiesnelheidsconstante is (zie 4.3). De extrapolatie naar t=0 werd uitgevoerd door log-lineaire regressie van (meestal) de eerste drie meetpunten.

Het plasmaconcentratieverloop na orale toediening was zeer onregelmatig. Hierdoor kon er geen terminale halfwaardetijd bepaald worden. De AUC werd in dit geval berekend tot en met het tijdstip waarop de concentratie definitief lager was dan de detectielimiet. Concentraties lager dan de detectielimiet werden gelijk aan nul gesteld.

#### 4.5 Overige parameters

$C_{max}$  en  $t_{max}$  zijn rechtstreeks uit de waarnemingen verkregen.

De AUMC is gedefinieerd als:  $\int_0^{\infty} t \cdot C_t dt$ .

De "mean residence time" (MRT) is berekend als de AUMC/AUC<sub>∞</sub>.

De plasmaklaring (CL) is berekend als dosis/AUC<sub>∞</sub>.

Het "steady state verdelingsvolume" ( $V_{ss}$ ) is berekend als MRTxCL (Benet and Galeazzi 1979).

## 5. RESULTATEN EN DISCUSSIE

### 5.1 Betreffende de dieren:

-Toediening vond plaats via de V. femoralis en niet via de staartvene, omdat een hoge dosis BaP moest worden toegediend. BaP is slecht oplosbaar en kan neerslaan in het bloedvat (dit is gebleken in een pilot experiment). De V.femoralis is beter doorbloed dan de staartvene.

-Na intraveneuze toediening raakten de dieren gedurende enige tijd versuft (narcotiserend effect van glycofurol). Het effect hiervan op de kinetiek van BaP kan niet uit dit experiment worden afgeleid, en zal in een afzonderlijk experiment moeten worden onderzocht (effect i.v. glycofurol op de orale kinetiek van BaP).

-Het afnemen van  $12 \times 0,3 = 3,6$  ml bloed d.m.v. staartincisie, zoals aanvankelijk de bedoeling was, was niet mogelijk: op den duur werd het stuwen van de vaten in de staart pijnlijk voor de dieren. Op enkele tijdstippen is daarom bloed afgenomen d.m.v. orbita punctie na ether anesthesie (tijdstippen aangegeven met \* in tabel 5).

Het afnemen van  $12 \times 0,2 = 2,4$  ml bloed in een periode van 24 uur leidde niet tot pijnreacties bij de dieren.

-Omdat herhaalde bloedafname via de staart binnen een kort tijdsbestek belastend bleek te zijn voor het dier, werd er bij één proefdier tevens bloed afgenomen via de canule in de V. femoralis (rat 26, tabel 5). In verband met het totale bloedmonstervolume werden bij dit dier geen monsters afgenomen na  $t=2$  uur. De intraveneuze dosering bij dit dier was 5 mg benzo(a)pyreen per kg lichaamsgewicht.

### 5.2 Plasmakinetiek na intraveneuze toediening

#### **5.2.1 Intraveneuze toediening-algemeen**

De individuele en gemiddelde plasmaconcentraties na intraveneuze toediening staan vermeld in tabel 5 en figuur 1.

Na intraveneuze toediening namen de plasmaspiegels in het algemeen continu af. Zes uur na toediening van een intraveneuze dosis van 0,1 mg/kg en 24 uur na toediening van 5 mg/kg i.v. kon geen BaP meer in plasma worden aangetoond.

Bij de curves van 1 mg/kg zijn in enkele gevallen de concentraties op  $t=12$  min. hoger dan die op  $t=6$  min. Hiervoor is geen verklaring gevonden; bij de andere doseringen is dit niet waargenomen.

De plasma concentratie-tijd curves bleken te voldoen aan de vergelijkingen voor een twee-compartimenten model. Toevoegen van een derde compartiment was niet toegestaan volgens "Aikake's information criterion (AIC)" or "Imbimbo's criterion" (zie voor een vergelijkende discussie: Imbimbo et al. 1991).

Een derde, z.g. "diep compartiment" met een lage eliminatiesnelheid is op basis van literatuurgegevens (Uziel and Haglund 1988) echter wel te verwachten, b.v. door nalevering uit slecht doorbloede compartimenten, door afbraak van covalent aan macromoleculen gebonden BaP, of door het optreden van een enterohepatische kringloop (Bowes and Renwick 1986). Uit de hier gevonden resultaten blijkt, dat een eventueel aanwezig derde compartiment geen belangrijke bijdrage kan leveren aan de AUC, en daarom kwantitatief niet belangrijk is.

Na intraveneuze toediening van 0,1 en 0,2 mg/kg was het aantal data punten boven de

analytische detectielimiet te gering om twee eliminatiefasen te kunnen onderscheiden. Deze gegevens zijn gefit in een één-compartiment model. Dit wil niet zeggen dat de fysiologische verdeling bij lagere dosering anders is dan bij hogere doseringen.

### 5.2.2 Intraveneuze toediening- kinetische parameters

De uit de plasmaconcentratie-tijdcurves berekende individuele model-afhankelijke en model-onafhankelijke kinetische parameters staan vermeld in tabel 5. De gemiddelde resultaten van de parameters staan in tabel 2.

**Tabel 2.** Gemiddelde resultaten van de model-afhankelijke en -onafhankelijke kinetische parameters (resultaten  $\pm$  standaarddeviatie).

I.V.	0.1 mg/kg	0.2 mg/kg	1.0 mg/kg	5.0 mg/kg
$t_{1/2}(\alpha)$ (min)	-	-	$6 \pm 6$	$8 \pm 5$
$t_{1/2}(\beta)$ (min)	-	-	$33 \pm 6$	$59 \pm 8$
AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/l}$ )	$24 \pm 15$	$43 \pm 13$	$229 \pm 68$	$1967 \pm 183$
MRT (h)	$0,8 \pm 0,4$	$0,7 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,2$
$V_{ss}$ (l/kg)	$2,2 \pm 0,5$	$2,2 \pm 0,4$	$3,3 \pm 1,7$	$1,8 \pm 0,3$
CL (l/h.kg)	$5,3 \pm 1,9$	$5,0 \pm 1,0$	$4,8 \pm 1,3$	$2,6 \pm 0,2$

De spreiding in de parameters is groot, vooral bij de lage doses. Bij de hogere doses is de spreiding geringer, wat kan worden verklaard doordat bij hoge doseringen het terminale deel van de plasmaconcentratie-tijdcurve nauwkeuriger kan worden bepaald, waardoor de variatie in AUC<sub>∞</sub> en de daaruit berekende parameters afneemt.

Volgens het twee-compartimenten model wordt ca 16% van de AUC beschreven door de  $\alpha$ -fase, en ca 84% door de  $\beta$ -fase. De halfwaardetijd in de  $\beta$ -fase is ca 0,5-1,0 uur. Dit betekent dat 3 uur na i.v. toediening de grootste blootstelling van het dier aan BaP al heeft plaatsgevonden, en dat BaP voor het grootste gedeelte is geëlimineerd. Eliminatie van BaP kan plaatsvinden door o.a. biotransformatie (al dan niet na verdeling over de weefsels) en excretie.

Het verdelingsvolume van BaP (ca 2 l/kg) is groter dan het totale lichaamswater. Dit betekent dat (onveranderd) benzo(a)pyreen in weefsels wordt opgenomen.

De plasma klaring van BaP (ca 5 l/h.kg) is hoger dan de leverflow in de rat (ca 2-4 l/h.kg). Dit geeft aan dat er extrahepatische biotransformatie plaats vindt, zoals ook beschreven door o.a. Wiersma en Roth (1983), Mollière et al. (1987), en Harris et al. (1978), met name in de long.

### 5.2.3 Intraveneuze toediening: vergelijking monstername uit canule en uit staart

De resultaten van dier nr. 26 staan vermeld in tabel 3 en in figuur 3.

De concentraties van benzo(a)pyreen in de monsters uit de staart en uit de canule in de V. femoralis waren vrijwel gelijk, met uitzondering van het eerste monster (op t=6 minuten), waar het bloed uit de staart ca 22% minder benzo(a)pyreen bevatte dan het bloed uit de V.femoralis. Dit laat zien dat (ook om praktische redenen) monstername uit de staart niet geschikt is om een snelle initiële verdelingsfase te bestuderen, maar dat vanaf 10 minuten na toediening geen problemen zijn te verwachten.

Tabel 3. Vergelijking monstername via staart en via canule na i.v. toediening van 5 mg/kg BaP:

t(min)	monster via staart $C_{pi}$ (ng/ml)	monster via canule $C_{pi}$ (ng/ml)
0 *	3122	4026
6	2653,55	3348,17
11	2247,40	2307,00
21	1719,17	1734,28
41	967,59	984,30
61	779,81	668,02
91	293,74	286,33
121	256,29	252,19
AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/l}$ )	2097	2169
$Cl_p$ (l/h.kg)	2,4	2,3
$V_{ss}$ (l/kg)	1,60	1,24
MRT (min)	0,7	0,6

\* geëxtrapoleerde concentraties

### 5.3 Plasma kinetiek na orale toediening

#### **5.3.1 Orale toediening-algemeen**

De individuele en gemiddelde plasmaconcentraties na intraveneuze toediening staan vermeld in tabel 6 en figuur 2. Het concentratieverloop na orale toediening vertoont grote interindividuele verschillen. In het algemeen verschijnt er na ca 1 uur een plasmaconcentratie maximum, gevolgd door een tweede maximum; dit laatste tijdstip vertoont een grote variatie. Bij de hoogste dosis (25 mg/kg) is de interindividuele spreiding kleiner dan bij de lagere doses. De spreiding in de resultaten is groter dan na i.v. toediening. Dit kan dus worden toegeschreven aan variatie in het absorptieproces.

Als verklaring voor het optreden van meerdere maxima na orale toediening kan aan het volgende worden gedacht:

- 1- Enterohepatische kringloop (heropname na uitscheiding via gal).
- 2- Invloed van gal op de absorptie. Gal bevordert de absorptie van benzo(a)pyreen (Rahman et al. 1986, Charman and Stella 1991). Door neutralisatie van de gal door olie zou het lage eerste maximum verklaard kunnen worden.
- 3- Fysiologische factoren. De verblijftijd in de maag neemt toe in geval van vetrijk (i.h.a. calorierijk) voedsel. Verder vindt lediging van de maag in "golven" plaats.
- 4- Correlatie met het tijdstip waarop de dieren na toediening weer gingen eten.
- 5- Coprofagie: na orale toediening verlaat een aanzienlijk gedeelte van de dosis onveranderd het maagdarmkanaal (Foth et al. 1988, Boroujerdi et al. 1981). Door coprofagie (huisvesting in macrolon bakken) kan dit weer worden opgenomen.

De enterohepatische kringloop (1) en coprofagie (5) bieden geen verklaring voor het feit dat het tweede maximum veel groter was dan het eerste. Bovendien zou enterohepatische kringloop ook na i.v. toediening moeten worden waargenomen. Verder was het moment van eten (4) in de meeste gevallen later dan het tijdstip van verschijnen van het tweede plasmaspiegelmaksimum.

Een combinatie van (2) en (3) biedt voorlopig de beste verklaring voor het optreden van een tweede plasmamaximum.

#### **5.3.2 Orale toediening- kinetische parameters**

Alleen de AUC waarden en de daaruit volgende biologische beschikbaarheid zijn berekend. Kinetische parameters zoals eliminatiehalfwaardetijd, verdelingsvolume e.d. kunnen uit de resultaten na orale toediening niet worden berekend. De AUC waarden staan vermeld in tabel 4; de biobeschikbaarheid wordt besproken bij par.5.5.

Een schatting van de absorptiesnelheid kan worden gemaakt op grond van de eerste  $t_{max}$  waarde (tijd waarop het eerste concentratiemaximum verschijnt). Deze waarde was ca 0,75-1,5 uur na toediening. Uitgaande van een "over-all" eliminatie-halfwaardetijd van ca 0,5 uur

gedurende de eerste twee uur na i.v. toediening volgt hieruit dat de absorptiehalfwaardetijd tussen de 0,5 en 2,7 uur ligt; berekend met de formule (1-comp. model; Gibaldi and Perrier 1982):

$$t_{\max} = \frac{1}{(k_e - k_a)} * \ln \frac{k_e}{k_a} \quad (\text{formule 1})$$

#### 5.4 Lineariteit

Voor de extrapolatie van b.v. de tumorincidentie bij hoge doses naar lage doses is lineariteit van de kinetiek van belang, d.w.z. het al dan niet aanwezig zijn van een lineaire relatie tussen de toegediende dosis en de systemische blootstelling in het proefdier (AUC-waarde).

Uit de huidige studie blijkt, dat de AUC waarden zowel na intraveneuze als orale toediening meer dan proportioneel toenemen met de dosis (tabel 4, fig.4). Dit betekent dat het metabolisme van BaP verzadigbaar is. In overeenstemming hiermee is de klaring na de i.v. dosis van 5 mg/kg geringer dan bij de lagere i.v. doses.

Er is helaas geen algemeen gebruikte parameter om de mate van nonlineariteit in uit te drukken. Een redelijke indruk van de mate van nonlineariteit wordt verkregen door  $\log(\text{AUC})$  uit te zetten tegen  $\log(D)$ . In het geval van lineariteit wordt een rechte lijn verkregen met een helling van 1. In het geval van verzadiging leidend tot nulde orde eliminatie wordt een rechte lijn verkregen met een helling 2 (zie Gibaldi and Perrier 1982).

Met het statistisch programma "GenStat" werd voor de AUC waarden na intraveneuze toediening een rechte lijn gevonden met helling 1,15 (standaard error 0,05).

Hoewel de helling significant van 1 afwijkt ( $t=2,82$ ), is de afwijking van lineaire kinetiek toch gering te noemen.

Een verdere aanwijzing dat de afwijking van lineariteit gering is, is de goede log-lineariteit van het terminale deel van de concentratie-tijd curve. In geval van verzadiging van de eliminatie zou het concentratie-tijd verloop worden beschreven met de onderstaande Michaelis-Menten formule. De waargenomen log-lineariteit toont aan, dat de plasmaconcentraties ("C") in het terminale deel van de curve klein zijn ten opzichte van de Michaelis-Menten konstante  $K_M$ .

$$-\frac{dC}{dt} = \frac{V_{\max} * C}{K_M + C} \quad (\text{formule 2})$$

In de onderzochte dosisgebieden is de farmacokinetiek dus als lineair aan te merken.

### 5.5 Orale toediening- berekening van de biologische beschikbaarheid

De biologische beschikbaarheid (=F) van BaP wordt per definitie berekend als de ratio van de AUC-waarden na orale en intraveneuze toediening van dezelfde dosis.

De AUC waarden na intraveneuze en orale toediening ( $\pm$  s.d.) en de daaruit berekende waarden van de biologische beschikbaarheid staan in tabel 4.

De berekende biologische beschikbaarheid na orale toediening is ca 13% voor de dosis van 1 mg/kg en ca 4% voor de dosis van 5 mg/kg.

Tabel 4. AUC waarden na intraveneuze en orale toediening/ Biologische beschikbaarheid

Dosis	AUC, oraal ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/l}$ )	AUC, i.v. ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/l}$ )	Biol. beschikbaarheid (=F)
0,1 mg/kg		24 $\pm$ 15	
0,2 mg/kg		43 $\pm$ 13	
1 mg/kg	31 $\pm$ 29	229 $\pm$ 68	ca 13 %
5 mg/kg	85 $\pm$ 64	1967 $\pm$ 183	ca 4 %
10 mg/kg	132 $\pm$ 59		
25 mg/kg	604 $\pm$ 155		

De nauwkeurigheid van de waarden van de biobeschikbaarheid is klein, omdat er een grote variatie bestaat in de AUC waarden, met name na orale toediening. De variatiecoëfficiënt voor de AUC waarden varieert van 9% tot 63% na intraveneuze toediening, en van 26% tot 94% na orale toediening.

Een lage orale biobeschikbaarheid van onveranderd BaP, zoals in dit experiment gevonden, is ook in de literatuur beschreven (Foth et al. 1988, Laher et al. 1984). De oorzaak van de lage biobeschikbaarheid is de combinatie van een onvolledige absorptie en de aanwezigheid van een "first pass" effect, d.w.z. omzetting van de stof, voordat die de systemische circulatie bereikt (b.v. in darm en/of lever).

De schijnbare dosisafhankelijkheid van de biobeschikbaarheid van benzo(a)pyreen kan grotendeels worden verklaard door de variatie in de AUC waarden.

Op theoretische gronden is bij de rat een afname van de biobeschikbaarheid bij hoge doses, zoals hier waargenomen, wel te verwachten. In de rat vindt namelijk zowel in de long als in de lever omzetting van BaP plaats (Wiersma and Roth 1983). Daarom zal zowel na orale als na

intraveneuze toediening een first pass effect optreden: na orale toediening voornamelijk in de lever, en na intraveneuze toediening voornamelijk in de long. Wanneer het metabolisme in de long eerder verzadigd is dan in de lever, zal de biobeschikbaarheid afnemen bij hogere doses. Ten aanzien van de verzadiging van het metabolisme werd echter eerder in dit rapport geconcludeerd, dat dit nauwelijks een rol speelt bij de gebruikte doseringen. De schijnbare dosisafhankelijkheid van de biobeschikbaarheid valt dus binnen de foutenmarge.

De mate van absorptie kan als zodanig niet uit de gepresenteerde gegevens worden afgeleid. Zij is waarschijnlijk groter dan de biobeschikbaarheid van onveranderd benzo(a)pyreen.

Om een nauwkeuriger indruk over de orale biologische beschikbaarheid te krijgen, is aanvullend onderzoek nodig. Onderzoek naar de biologische beschikbaarheid bij hogere doses dan 5 mg/kg is echter niet mogelijk, omdat de oplosbaarheid van benzo(a)pyreen dit niet toelaat, anderzijds neemt bij doses lager dan 1 mg/kg de onnauwkeurigheid in de AUC waarden na orale toediening sterk toe.

#### 5.6 Vergelijking van de gevonden resultaten met de literatuur

Vergelijking van de gevonden resultaten voor de farmacokinetische parameters van benzo(a)pyreen bij de RIV:tox rat met de resultaten zoals beschreven in de literatuur laat het volgende zien.

Bij ♂ Sprague-Dawley ratten werden waarden gevonden voor  $t_{1/2}(\alpha)$  van ca 20 min; voor  $t_{1/2}(\beta)$  110 min (Wiersma and Roth 1983) en 176 min (Weyand and Bevan 1986). Foth et al. (1988) vonden een zeer lange terminale  $t_{1/2}$  van ca 17 uur voor benzo(a)pyreen, gemeten tot 32 uur na toediening.

Voor de klaring werden waarden gevonden van 3,6 l/h.kg (Wiersma and Roth 1983) en 4,2 l/h.kg (Weyand and Bevan 1986).

Voor de biologische beschikbaarheid bij ♂ Sprague-Dawley ratten na orale toediening vonden Foth et al. (1988) een waarde van ca 10% na orale toediening van benzo(a)pyreen in een BSA-bevattende bicarbonaat-buffer; de absorptie werd door hen geschat op ca 40% en de hepatische first-pass extractie eveneens op ca 40%.

Kawamura et al. (1988) vond bij ♂ Wistar ratten een halfwaardetijd voor de absorptie van totaal  $^{14}\text{C}$  uit soja-olie van ca 1 uur en een  $t_{\text{max}}$  voor totaal  $^{14}\text{C}$  van 2-4 h; Foth et al. (1988) vonden een  $t_{\text{max}}$  waarde voor benzo(a)pyreen van ca 1 uur.



#### 5.6 Vragen, op te helderen in vervolgonderzoek:

- Het narcotische effect van glycofurol heeft mogelijk invloed op de klaring van BaP. Deze invloed is niet onderzocht. Een vergelijking van de halfwaardetijden na orale en intraveneuze toediening zou hierover aanwijzingen kunnen geven, ware het niet, dat het onregelmatige verloop van de plasmaspiegels na orale toediening een dergelijke vergelijking onmogelijk maakt. Er is dus een controle experiment nodig.
- De biologische beschikbaarheid is niet bepaald volgens een gekruiste proefopzet. Wanneer de intra-individuele variatie veel kleiner is dan de inter-individuele variatie kunnen betrouwbaardere resultaten voor de biologische beschikbaarheid gevonden worden in een gekruiste proefopzet.
- De invloed van gal en voedsel op de opname en/of biologische beschikbaarheid van oraal toegediend BaP moet verder worden onderzocht.
- De kinetiek van de biotransformatieproducten van BaP moet worden onderzocht.
- De achtergrond van het tweede plasmaconcentratie maximum na orale toediening moet worden onderzocht.

#### 5.7 Conclusies en gevolgen voor de chronische studie:

- De waarden van de farmacokinetische parameters en de biologische beschikbaarheid van benzo(a)pyreen die in dit onderzoek bij de RIV:tox rat gevonden zijn, komen overeen met de resultaten uit de literatuur die verkregen zijn bij andere rattestammen. De orale biobeschikbaarheid is ca 13% voor een dosis van 1 mg/kg en ca 4% voor een dosis van 5 mg/kg.
- De kinetiek in de onderzochte doseringsgebieden ( 0,1-5 mg/kg i.v. en 1-25 mg/kg oraal) is te beschouwen als lineair.
- Na herhaalde toediening van BaP één maal daags of minder zal geen accumulatie van onveranderd benzo[a]pyreen in plasma optreden. Onderzocht zal moeten worden, of dit ook geldt voor de biotransformatieproducten van BaP. Dit kan worden nagegaan door de kinetiek van <sup>14</sup>C-gelabeld BaP of de producten te onderzoeken.

**LITERATUUR**

Benet LZ and Galeazzi RL (1979)

Noncompartmental determination of the steady-state volume of distribution  
J. Ph. Sci. 68:1071-1074

Bouroujerdi M, Kung H, Wilson AGE and Anderson MW (1981)

Metabolism and DNA binding of Benzo(a)pyrene in vivo in the rat  
Cancer Res.41:951-957

Bowes SG and Renwick AG (1986)

The intestinal metabolism and DNA binding of benzo[a]pyrene in guinea-pigs fed normal, high-fat and high-cholesterol diets  
Xenobiotica 16:543-553

Brauze D, Mikstacka R and Baer-Dubowska W (1991)

Formation and persistence of benzo[a]pyrene-DNA adducts in different tissues of C57BL/10 and DBA/2 mice  
Carcinogenesis 12:1607-1611

Charman WN and Stella VJ (1991)

Transport of lipophilic molecules by the intestinal lymphatic system  
Advanced Drug Delivery Reviews 7:1-14

Foth H, Kahl R and Kahl GF (1988)

Pharmacokinetics of low doses of benzo(a)pyrene in the rat  
Fd.Chem.Toxic. 26:45-51

Gibaldi M and Perrier D (1982)

Pharmacokinetics, 2nd Ed.  
Marcel Dekker, New York

Harris CC, Autrup H and Stoner G (1978)

Metabolism of benzo(a)pyrene in cultured human tissues and cells  
In: Hydrocarbons and Cancer, vol.2, Gelboin HV and T'so POP (Eds), p.331-342, Academic Press, New York

Imbimbo BP, Martinelli P, et al. (1991)

Efficiency of different criteria for selecting pharmacokinetic multiexponential equations  
Biopharm. Drug Disp. 12:139-147

Kawamura Y, Umemura T et al. (1988)

Distribution, excretion and lymphatic absorption of benzo(a)pyrene administered orally in oil solution and aqueous suspension forms  
J.Food Hyg.Soc.Japan 29:26-31

Laher JM, Rigler MW et al. (1984)

Similar bioavailability and lymphatic transport of benzo(a)pyrene when administered to rats in different amounts of dietary fat  
J. Lipid Res. 25:1337-1342

Mitchell CE (1982)

Distribution and retention of benzo(a)pyrene in rats after inhalation  
Toxicol. Lett. 11:35-42

Molliere M, Foth H, Kahl R and Kahl GF (1987)

Comparison of benzo(a)pyrene metabolism in isolated perfused rat lung and liver  
Arch. Toxicol 60: 270-277

Mullen and Foster (1979)

Comparative evaluation of six techniques for determining the Michaelis-Menten parameters relating phenytoin dose and steady-state serum concentrations  
J.Pharm.Pharmacol. 31:100-104

Rahman A, Barrowman JA, Rahintula A (1986)

Can. J. Physiol. Pharmacol. 64:1214-1218

Uziel M and Haglund R (1988)

Persistence of benzo[a]pyrene and 7,8-dihydro-7,8-dihydroxybenzo[a]pyrene in Fischer 344 rats: time distribution of total metabolites in blood, urine and feces.  
Carcinogenesis 9:233-238

Vainio H, Hemmink K, and Wilbourn J (1985)

Data on the carcinogenicity of chemicals in the IARC monographs programme  
Carcinogenesis 6:1653-1665

Weyand EH and Bevan DR (1986)

Benzo(a)pyrene disposition and metabolism in rats following intratracheal instillation.  
Cancer Res. 46:5655-5661

Weyand EH and Bevan DR (1987)

Species differences in disposition of benzo[a]pyrene  
Drug Metab. Disp. 15:442-448

Wiersma DA and Roth RA (1983)

Total body clearance of circulating benzo(a)pyrene in conscious rats: effect of pretreatment with 3-methylcholanthrene and the role of liver and lung  
J.Pharmacol.Exp.Ther. 226:661-666

**Tabel 5.** Individuele en gemiddelde plasmaconcentraties na intraveneuze toediening van BaP. Concentraties op tijdstip nul zijn geëxtrapolerde waarden.

Toediening 0,1 mg/kg i.v.

t(h) \C(ng/ml)	rat 1	rat 5	rat 9	rat 15	rat 19	rat 23		gem.	std.dev.
0.0	35	37	67	54	41	58		49	12
0.10	28	30	39	32	33	41		34	5
0.18	21	14	38	18	19	22		22	8
0.33	15	10	15	14	13	13		13	2
0.67	5.2	5.9	6.5	7.4	6.3	5.2		6.1	0.8
1.0	3.3	2.8	4.0	13.4	10.7	1.9		6.0	4.4
1.5	0.6	0.4	1.4	1.0	0.9	0.7		0.8	0.3
2.0	0.4	0.0	0.5	9.3	1.0	0.0		1.9	3.3
3.0	0.8	0.0	0.0	13.4	0.8	0.0		2.5	4.9
6.0	0.2	0.2	0.0	0.8	0.0	0.0		0.2	0.3
8.0	0.1	0.0	* 0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0
12.0	0.0	0.0	* 0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0
24.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0

Toediening 0,2 mg/kg i.v.

t(h) \C(ng/ml)	rat 2	rat 6	rat 10	rat 16	rat 20	rat 24		gem.	std.dev.
0.0	93	67	95	86	112	116		95	16
0.10	72	53	71	75	57	83		69	10
0.18	56	37	58	53	29	64		49	12
0.33	37	26	35	42	10	37		31	11
0.67	24	19	18	23	32	13		21	6
1.0	13	8	6	15	6	7		9	4
1.5	2.6	3.3	2.8	9.9	2.8	0.3		3.6	3.0
2.0	0.7	1.1	1.2	9.5	1.8	0.2		2.4	3.2
3.0	0.2	0.5	0.0	8.2	0.1	0.0		1.5	3.0
6.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0		0.1	0.2
8.0	0.0	0.5	* 0.0	0.0	0.0	0.0		0.1	0.2
12.0	0.0	0.1	* 0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0
24.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0

Toediening 1,0 mg/kg i.v.

t(h) \C(ng/ml)	rat 3	rat 7	rat 11	rat 17	rat 21	rat 25		gem.	std.dev.
0.0	163	528	336	652	120	239		340	193
0.10	116	312	257	420	92	182		230	114
0.18	205	359	284	312	102	211		246	84
0.33	107	141	176	149	63	128		127	36
0.67	72	116	110	79	69	78		87	19
1.0	56	93	76	41	41	57		61	19
1.5	25	40	45	17	21	31		30	10
2.0	11	19	17	13	8	13		14	4
3.0	4.2	4.1	47.2	2.5	2.4	2.5		10.5	16.4
6.0	2.6	1.7	0.0	0.9	0.7	0.4		1.0	0.9
8.0	0.0	0.9	* 8.0	0.0	0.0	0.0		0.1	0.3
12.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0		0.1	0.1
24.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0

Toediening 5,0 mg/kg i.v.

t(h) \C(ng/ml)	rat 4	rat 8	rat 12	rat 18	rat 22	rat 26	26 canule	gem.	std.dev.
0.0	2347	2225	2851	3675	2587	3122	4026	2801	492
0.10	2116	2024	2382	2480	2044	2654	3348	2283	237
0.18	1686	1303	2074	1751	1575	2247	2307	1773	312
0.33	1439	1154	1536	911	1071	1719	1734	1305	282
0.67	686	685	752	698	627	968	984	736	110
1.0	492	548	692	621	501	780	668	605	104
1.5	371	366	458	430	379	294	286	383	52
2.0	243	232	265	330	260	256	252	264	31
3.0	61	75	68	84	40	-	-	66	15
6.0	12	20	21	28	8	-	-	18	7
8.0	12	17	15	11	4	-	-	12	4
12.0	2.1	5.2	12.2	* 0.0	1.3	-	-	4.2	4.4
24.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	0.0	0.0

Individuele en gemiddelde parameters na intraveneuze toediening van BaP, 0,1 mg/kg.

t(h) \C(ng/ml)	rat 1	rat 5	rat 9	rat 15	rat 19	rat 23		gem.	std.dev.
AUC (ng.h/ml)	17	13	20	56	20	16		24	15
CL (l/h.kg)	6.0	7.9	4.9	1.8	5.0	6.4		5.3	1.9
Vss (l/kg)	2.9	2.7	1.5	1.9	2.4	1.7		2.2	0.5
MRT (h)	1.0	0.6	0.4	1.6	0.8	0.3		0.8	0.4

Individuele en gemiddelde parameters na intraveneuze toediening van BaP, 0,2 mg/kg.

t(h) \C(ng/ml)	rat 2	rat 6	rat 10	rat 16	rat 20	rat 24		gem.	std.dev.
AUC (ng.h/ml)	43	35	38	71	33	38		43	13
CL (l/h.kg)	4.6	5.7	5.2	2.8	6.1	5.3		5.0	1.0
Vss (l/kg)	2.2	3.0	2.1	2.3	1.8	1.7		2.2	0.4
MRT (h)	0.5	1.1	0.4	1.2	0.5	0.3		0.7	0.3

Individuele en gemiddelde parameters na intraveneuze toediening van BaP, 1,0 mg/kg.

t(h) \C(ng/ml)	rat 3	rat 7	rat 11	rat 17	rat 21	rat 25		gem.	std.dev.
AUC (ng.h/ml)	154	263	341	216	106	168		229	68
CL (l/h.kg)	6.5	3.8	2.9	4.6	9.4	6.0		4.8	1.3
Vss (l/kg)	6.1	1.9	3.0	1.5	8.3	4.2		3.3	1.7
MRT (h)	1.0	0.9	1.8	0.5	0.9	0.7		1.0	0.4

Individuele en gemiddelde parameters na intraveneuze toediening van BaP, 5,0 mg/kg.

t(h) \C(ng/ml)	rat 4	rat 8	rat 12	rat 18	rat 22	rat 26	26 canule	gem.	std.dev.
AUC (ng.h/ml)	1876	1821	2228	2082	1698	2097	2169	1967	183
CL (l/h.kg)	2.7	2.7	2.2	2.4	2.9	2.4	2.3	2.6	0.2
Vss (l/kg)	2.1	2.3	1.8	1.4	1.9	1.6	1.2	1.8	0.3
MRT (h)	1.1	1.3	1.3	1.2	1.0	0.7	0.6	1.1	0.2

**Tabel 6.** Individuele en gemiddelde plasmaconcentraties na orale toediening van BaP. Concentraties op tijdstip nul zijn geëxtrapoleerde waarden.

Toediening 1 mg/kg oraal

t(h)\C(ng/ml)	rat1	rat 9	rat 13	rat 17	rat 19	gem.	std.dev.
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.25	0.3	0.0	11.0	1.4	7.4	4.0	4.4
0.50	0.6	0.0	6.8	0.0	0.0	1.5	2.7
0.75	1.8	0.0	4.0	3.7	0.0	1.9	1.7
1.0	0.0	0.0	2.9	0.0	0.0	0.6	1.2
1.3	0.0	1.8	5.8	1.6	5.7	3.0	2.3
1.5	0.1	2.0	8.3	8.9	4.1	4.7	3.4
2.0	0.0	1.7	7.1	0.0	12.0	4.2	4.7
3.0	0.0	0.0	15.0	0.0	9.4	4.9	6.2
6.0	0.0	0.0	9.2	0.0	8.6	3.6	4.4
8.0	0.0	0.6	0.7	0.4	1.2	0.6	0.4
12.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.1	0.1
24.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0

Toediening 5 mg/kg oraal

t(h)\C(ng/ml)	rat 2	rat 6	rat 10	rat 14	rat 18	rat 22	gem.	std.dev.
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.25	6.0	0.0	3.5	14.0	0.5	7.5	5.3	4.8
0.50	5.2	3.4	2.1	17.0	0.8	12.0	6.7	5.8
0.75	15	5	4	22	59	6	19	19
1.0	28	5	2	33	10	25	17	12
1.3	25	4	19	22	5	26	17	9
1.5	24	4	16	38	10	35	21	13
2.0	20	4	15	28	10	15	15	8
3.0	32	5	0	17	7	35	16	13
6.0	0.0	2.1	1.3	26.0	9.2	3.8	7.1	9.0
8.0	0.0	0.0	0.0	14.0	4.3	3.4	3.6	5.0
12.0	0.0	0.0	0.0	0.9	0.0	5.8	1.1	2.1
24.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Toediening 10 mg/kg oraal

t(h)\C(ng/ml)	rat 3	rat 7	rat 11	rat 15	rat 21	rat 23	gem.	std.dev.
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.25	4.2	0.0	3.6	0.0	9.0	5.3	3.7	3.1
0.50	8	25	18	16	29	15	18	7
0.75	12	43	32	25	30	28	28	9
1.0	31	23	38	34	37	41	34	6
1.3	20	23	49	40	32	37	34	10
1.5	35	34	31	43	35	16	32	8
2.0	26	13	36	33	30	16	26	8
3.0	37	4	9	28	15	22	19	11
6.0	0	0	37	18	26	26	18	14
8.0	0.0	0.0	4.1	5.6	10.0	0.0	3.3	3.7
12.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.9	0.0	0.3	0.7
24.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Toediening 25 mg/kg oraal

t(h)\C(ng/ml)	rat 4	rat 8	rat 12	rat 16	rat 20	rat 24	gem.	std.dev.
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.25	0	0	18	7	14	10	8	7
0.50	25	38	35	34	35	22	32	6
0.75	39	51	49	161	76	48	71	42
1.0	71	50	51	75	76	56	63	11
1.3	161	52	53	90	99	82	90	37
1.5	84	81	47	101	89	87	82	17
2.0	81	58	29	75	55	86	64	19
3.0	59	33	36	50	70	100	58	23
6.0	87	119	108	127	186	77	117	35
8.0	35	3	58	4	55	9	27	23
12.0	0.0	0.0	16.0	0.0	4.0	1.6	3.6	5.7
24.0	0.0	0.0	3.2	0.0	0.0	0.0	0.5	1.2

Individuele en gemiddelde parameters na orale toediening van BaP, 1 mg/kg

Cmax(ng/ml)	2	2	15	9	12	8	6
AUC(ng.h/ml)	1	8	66	24	56	31	29
CL/F(l/h.kg)	1176	125	15	41	18	275	452
Vss/F(l/kg)	647	488	56	191	75	292	236
MRT(h)	0.6	3.9	3.7	4.6	4.2	3.4	1.6

Individuele en gemiddelde parameters na orale toediening van BaP, 5 mg/kg

Cmax(ng/ml)	32	5	19	38	59	35	31	18
AUC(ng.h/ml)	60	20	40	193	68	128	85	64
CL/F(l/h.kg)	84	246	125	26	74	39	99	73
Vss/F(l/kg)	154	722	306	117	267	160	287	205
MRT(h)	1.8	2.9	2.4	4.5	3.6	4.1	3.2	1.0

Individuele en gemiddelde parameters na orale toediening van BaP, 10 mg/kg

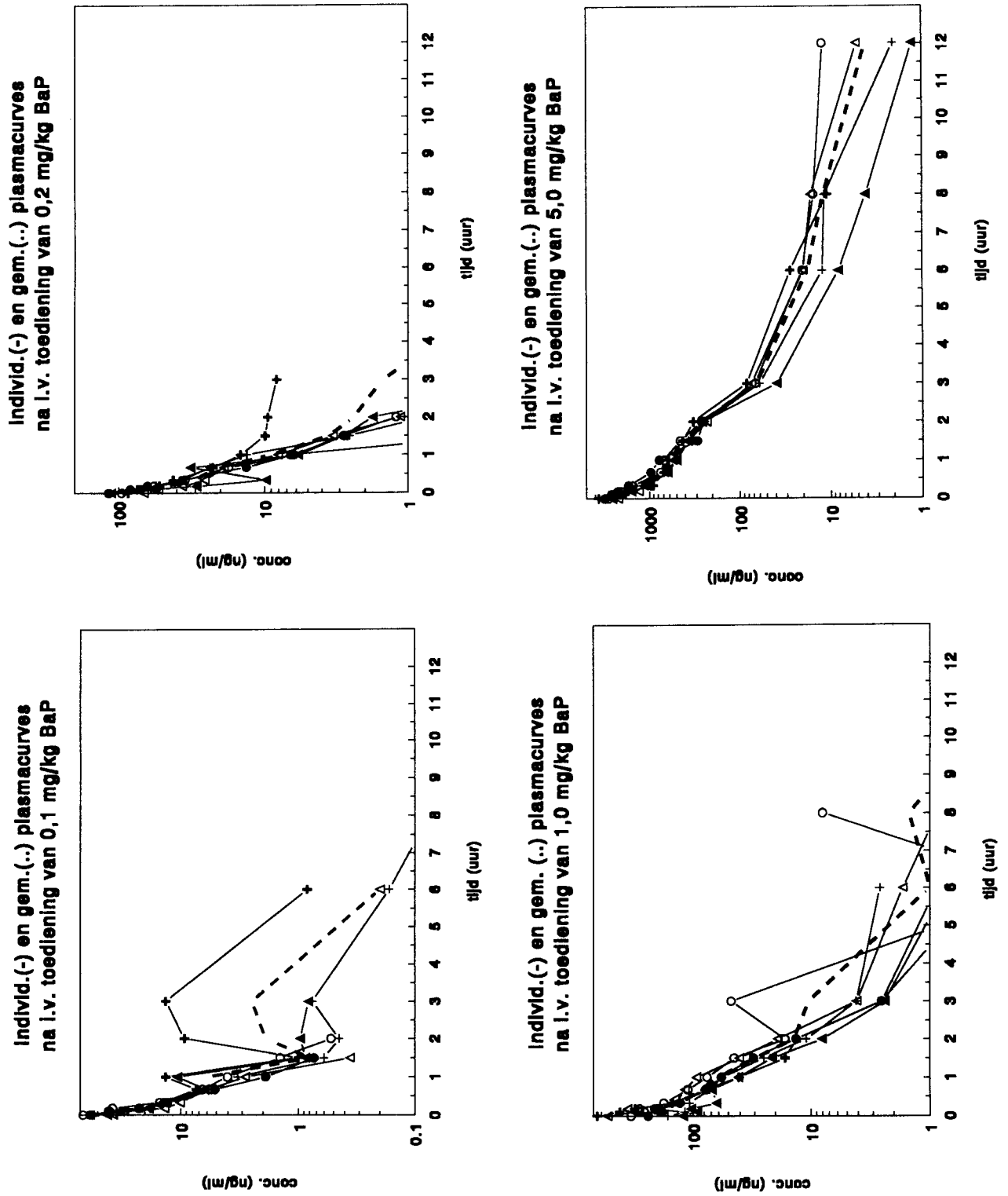
Cmax(ng/ml)	37	43	49	43	37	41	42	5
AUC(ng.h/ml)	70	51	175	173	191	132	132	59
CL/F(l/h.kg)	143	99	29	29	26	38	61	45
Vss/F(l/kg)	271	129	113	98	114	123	141	59
MRT(h)	1.9	1.3	4.0	3.4	4.4	3.2	3.0	1.2

Individuele en gemiddelde parameters na orale toediening van BaP, 25 mg/kg

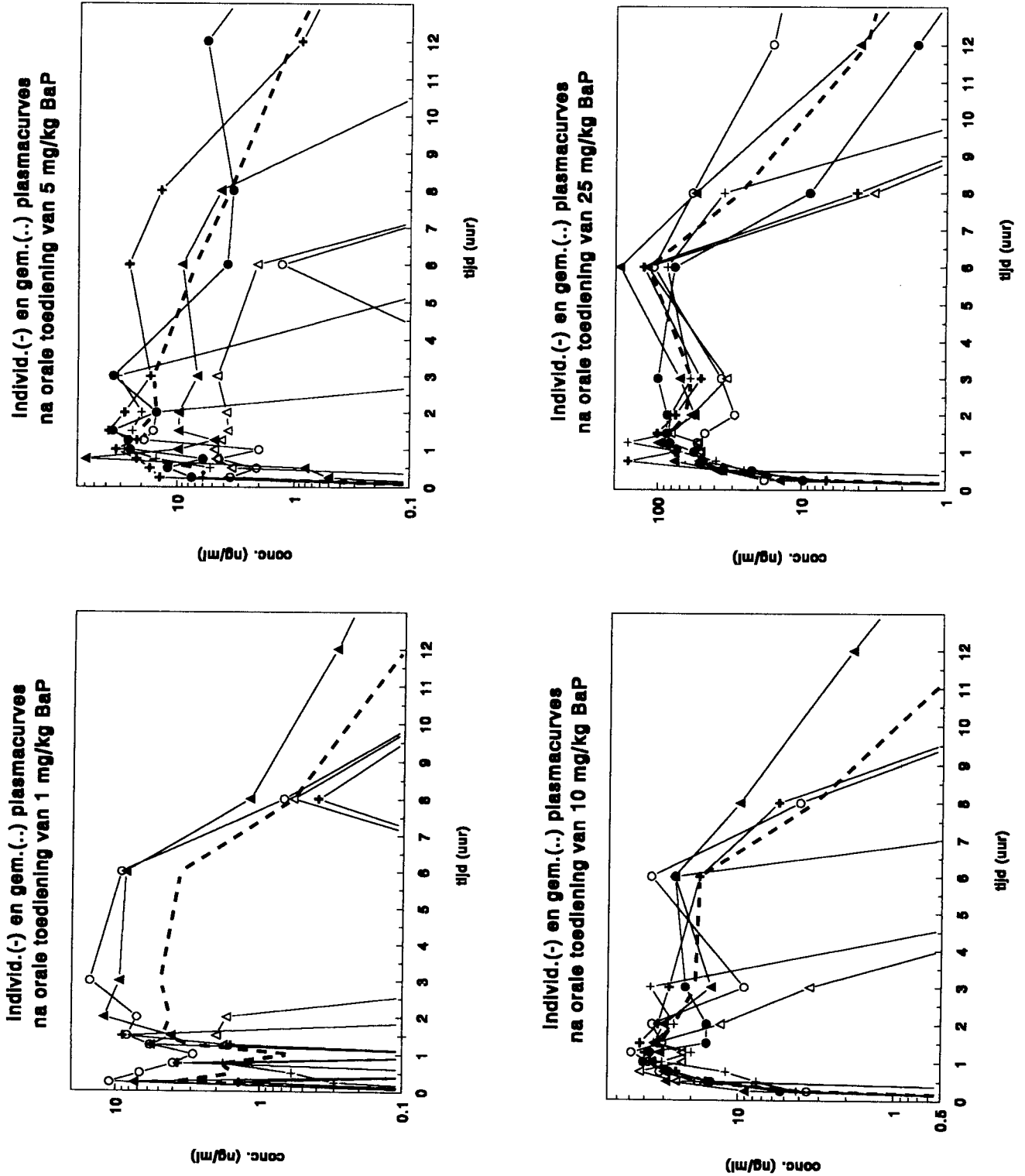
Cmax(ng/ml)	161	119	108	161	186	100	139	35
AUC(ng.h/ml)	527	430	712	546	862	546	604	155
CL/F(l/h.kg)	19	11	7	9	6	9	10	4
Vss/F(l/kg)	78	50	52	36	30	36	47	16
MRT(h)	4.1	4.3	7.4	4.0	5.2	3.9	4.8	1.3

Figuur 1 a-d:

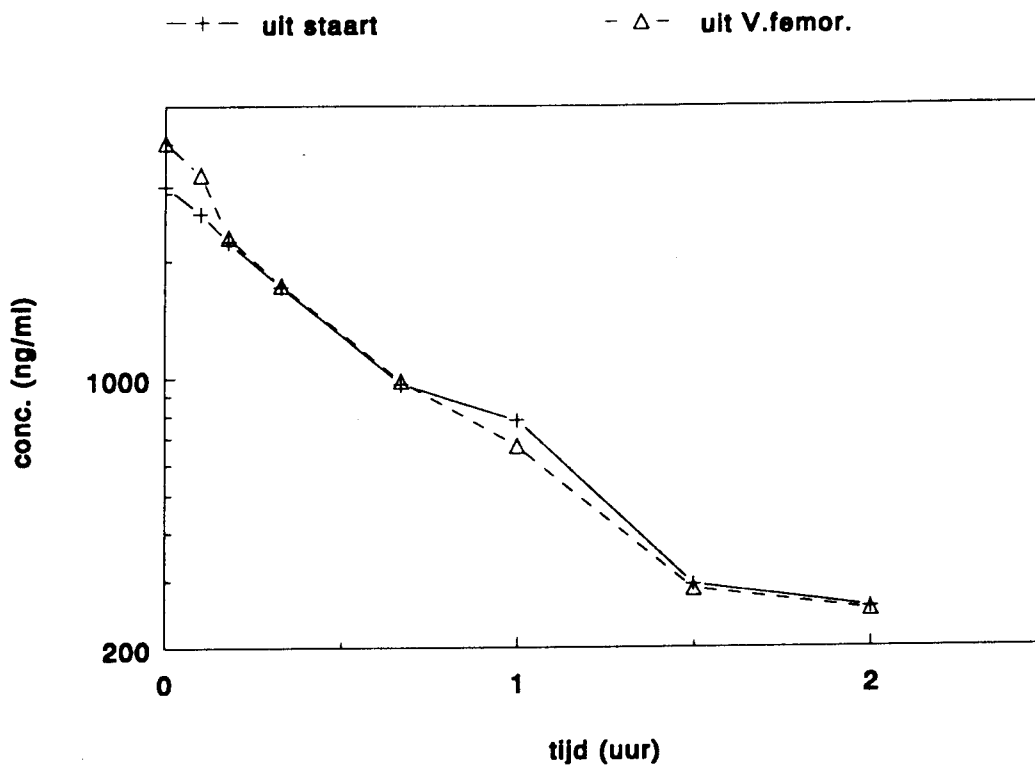
Individuele en gemiddelde plasmaconcentratie-tijdcurves na intraveneuze toediening van BaP.



Figuur 2 a-d:  
Individuele en gemiddelde plasmaconcentratie-tijdcurves na orale toediening van BaP.



**Fig3. Vergelijking monstername uit staart en uit V.femoralis na 5 mg/kg BaP i.v.**



**Fig.4 Lineariteit (AUC vs dosis) van BaP na i.v. en orale toediening aan M. rat**

● i.v. +/- S.D      ○ p.o. +/- SEM

