

【 安全性评价 】

右旋布洛芬注射液安全药理学研究

郑智勇, 英 永, 陈 凯*

山东省药学院 山东省化学药物重点实验室, 山东 济南 250101

摘要: 目的 评价右旋布洛芬注射液对动物中枢神经系统、心血管系统及呼吸系统的影响。方法 通过小鼠自主活动试验、运动协调试验和戊巴比妥钠催眠/睡眠试验, 考察右旋布洛芬注射液对中枢神经系统的影响; 通过对清醒 Beagle 犬遥测心电图、血压和呼吸指标的检测, 考察右旋布洛芬注射液对心血管系统和呼吸系统的影响。结果 右旋布洛芬注射液 20、40、80 mg/kg 剂量时对小鼠自主活动、爬杆行为均无显著影响, 剂量为 80 mg/kg 时与戊巴比妥钠诱导的小鼠催眠/睡眠具有协同作用; 剂量为 10、20、40 mg/kg 时对 Beagle 犬中枢神经系统、心血管系统和呼吸系统均没有显著影响。相同剂量条件下, 右旋布洛芬注射液与布洛芬注射液比较, 不良反应未见增加。结论 右旋布洛芬注射液对自主活动、运动协调能力、心血管系统和呼吸系统没有显著影响, 大剂量时与戊巴比妥钠诱导小鼠催眠/睡眠有协同作用。

关键词: 右旋布洛芬注射液; 安全药理学; 中枢神经系统; 心血管系统; 呼吸系统

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)09-1265-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.09.013

Safety pharmacology research on Dexibuprofen injection

ZHENG Zhi-yong, YING Yong, CHEN Kai

Shandong Academy of Pharmaceutical Sciences, Shandong Provincial Key Laboratory of Chemical Drugs, Jinan 250101, China

Abstract: Objective To study the effects of Dexibuprofen injection on the central nervous, cardiovascular and respiratory systems in animals. **Methods** The effect of Dexibuprofen injection on central nervous system was observed by autonomic activities experiment, mice concordant ability experiment and hypnotize experiment induced by pentobarbital. The effects of Dexibuprofen injection on circulatory system and respiratory system were observed by measuring the implanted telemetry system, blood pressure, ECG, respiratory rate and tidal volume of Beagle's dogs. **Results** Dexibuprofen injection (80 mg/kg) showed synergistic action with pentobarbital, and no significant effects on autonomic activities and concordant ability at doses of 20, 40 and 80 mg/kg in mice. Dexibuprofen injection at doses of 10, 20 and 40 mg/kg had no effect on the central nervous, cardiovascular and respiratory systems. In the same dose, the adverse reaction of Dexibuprofen injection was not increased compared with Ibuprofen injection. **Conclusion** Dexibuprofen injection (mice 40 mg/kg, dog 40 mg/kg) has none toxicity on cardiovascular, respiratory and central nervous systems, but at the dose of 80 mg/kg in mice has obvious effect on central nervous system.

Key words: Dexibuprofen injection; safety pharmacology; central nervous system; cardiovascular system; respiratory system

布洛芬是由等量的右旋和左旋布洛芬组成, 作为抗炎和镇痛药临床应用已有 30 年, 被认为是最安全的非甾体类抗炎药 (NSAID), 而且是一种非处方药。因其代谢特点不同, 右旋布洛芬更具有优势^[1-3], 比布洛芬得到了更广泛的应用, 布洛芬注射液在国

外上市, 引起人们对右旋布洛芬注射液研发的关注。本课题组使用右旋布洛芬注射液开展了安全药理学核心组合试验, 本品为山东省药学院自行研制产品, 研究其对小鼠中枢神经系统及清醒 Beagle 犬心血管系统和呼吸系统的影响, 为临床应用提供数据参考。

收稿日期: 2017-04-01

基金项目: 山东省自主创新及成果转化专项基金资助项目 (2014ZZCX02104)

作者简介: 郑智勇, 男, 硕士, 主管药师, 研究方向药物非临床安全性评价。Email: zzhiyong007@163.com

*通信作者 陈 凯, Email: chenkaiz728@126.com

1 材料

1.1 药物及主要试剂

右旋布洛芬注射液(批号 140303-DE, 纯度 99.8%, 规格 2 mL : 0.2 g)、布洛芬注射液(批号 140302-CP, 纯度 99.2%, 规格 4 mL : 0.4 g)、溶媒(批号 140301-KB), 均为山东省药学院研制; 戊巴比妥钠(德国默克公司生产, 由济南亿欧生物科技有限公司分装提供, 分装批号 140418)。

1.2 实验动物

250 只 SPF 级 ICR 小鼠, 购于济南朋悦实验动物繁育有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(鲁) 2014-0007, 用于试验时体质量 18.0~23.1 g, 雌雄各半。

4 只普通级 Beagle 犬, 购于北京玛斯生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(京) 2016-0001。经外观、心电、血液生化检测, 各项指标无明显异常, 用于本次试验时体质量 8.8~9.8 kg, 雌雄各半。

1.3 主要仪器

植入式遥测系统, 美国 DSI 公司生产; YLS-IA 多功能小鼠自由活动记录仪, 山东医学科学院生产; SE202F 型电子天平, 奥豪斯仪器常州有限公司提供; 金属棒(直径 1.3 cm, 高 76.2 cm), 自制。

2 方法

2.1 对小鼠中枢神经系统的影响

小鼠实验共分 5 个组: 溶媒对照组, 右旋布洛芬注射液低、中、高剂量(20、40 和 80 mg/kg)组, 布洛芬注射液(80 mg/kg)组。给药方式为尾 iv 缓慢推注给药, 给药体积分别为 20、5、10、20 和 20 mL/kg。各组动物给药后分别通过自主活动试验、爬杆试验、戊巴比妥钠阈下协同催眠试验和戊巴比妥钠阈上协同睡眠试验 4 个独立的试验考察右旋布洛芬注射液对小鼠中枢神经系统的影响。

2.1.1 小鼠自主活动实验 经筛选的 ICR 小鼠 50 只采用随机分组分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。给药 5、30、60、120 和 180 min 后先将待测定小鼠放入自主活动测定箱内适应 1 min, 然后测定 2~5 min 内自主活动次数, 计算出每分钟活动平均值进行统计。

2.1.2 小鼠爬杆实验 经筛选的 ICR 小鼠 50 只采用随机分组分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。给药 5、30、60、120 和 180 min 后将小鼠放置在金属杆顶部头朝下自然爬行, 评分并记录。评分标准为: 0 分: 一步一步爬下; 1 分: 向下滑行; 2 分: 不能抓棒; 3 分: 翻正反射消失。

2.1.3 小鼠戊巴比妥钠阈下协同催眠试验 经筛选的 ICR 小鼠 50 只按随机分组分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。给药后 15 min, ip 阈下催眠剂量(30 mg/kg)的戊巴比妥钠, 30 min 内动物翻正反射消失 1 min 以上者为睡眠出现时间, 计算各组动物睡眠发生的百分率, 即睡眠率。

2.1.4 小鼠戊巴比妥钠阈上协同睡眠试验 经筛选的 ICR 小鼠 50 只按随机分组分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。药后 15 min, 小鼠 ip 阈上睡眠剂量(37 mg/kg)的戊巴比妥钠, 30 min 内动物翻正反射消失 1 min 以上者为睡眠出现时间, 记录睡眠潜伏期及睡眠持续时间。

2.2 对清醒 Beagle 犬心血管和呼吸系统的影响

选用已建立生理信号遥测模型^[5]的 Beagle 犬进行本试验。试验前对选用动物进行外观、心电、血液生化学检查, 确定合格后用于试验。本试验共设计 4 个组别: 右旋布洛芬注射液高、中、低剂量(40、20、10 mg/kg)组, 溶媒对照(生理盐水)组。给药都采用双 4×4 拉丁方给药方案, 首次给药定义为 D1, 接下来分别于第 4、7、10、13、16、19、22 天给药, 分别定义为 D1~D22, 每次给药都在上午 11:00 时左右完成, 见表 1, 给药体积为 5 mL/kg,

表 1 给药方案设计
Table 1 Dosing schedule

动物编号	性别	D1	D4	D7	D10	D13	D16	D19	D22
1	雄性	H	C	L	M	H	C	L	M
2	雌性	M	H	C	L	M	H	C	L
3	雄性	L	M	H	C	L	M	H	C
4	雌性	C	L	M	H	C	L	M	H

C-溶媒对照组; L-右旋布洛芬注射液低剂量组; M-右旋布洛芬注射液中剂量组; H-右旋布洛芬注射液高剂量组

C- solvent control group; L- Dexibuprofen injection low dose group; M- Dexibuprofen injection middle dose group; H- Dexibuprofen injection high dose group

采用静脉缓慢推注方式给药。每次给药前, 打开植入子采集动物稳定状态生理信号作为药前基础值, 给药后连续记录 24 h 内生理信号。

试验结束后, 使用 Ponemah 软件对收缩压、舒张压、平均压、心率、R 波幅度、ST 段幅度、PR 间期、QRS 间期、QT 间期、呼吸频率、潮气量、体温等生理指标进行数据分析。已有研究发现, 按照约 20 mg/kg 剂量经口给予 Beagle 犬布洛芬片, 血浆中右旋布洛芬的半衰期 ($t_{1/2}$) 约为 5.4 h^[6]。为研究受试物的时间-效应关系, 对给药前和给药后 0.5、1.0、1.5、3.0、6.0、24.0 h 时间点的数据进行整理分析。

2.3 统计学处理

采用软件 SPSS 19.0 对各项指标进行统计分析, 具体统计方法如下:

自主活动次数、睡眠潜伏期、睡眠持续时间、心电图指标、血压及呼吸系统相关指标, 用 Levene's 检验数据的方差齐性: 如果方差齐 ($P \geq 0.05$), 则进行单因素方差分析 (ANOVA) 结合 Dunnett 检验; 如果方差不齐 ($P < 0.05$), 采用 Kruskal-Wallis H 秩和检验 (K-W 法) 进行统计学检验; 差异有统计学意义时 ($P < 0.05$), 采用 Mann-Whitney U 秩和检验 (M-W 法) 比较组间差异。睡眠发生百分率, 采用卡方检验。除特殊说明, 所有终点值采用双尾检测法检测。

3 结果

3.1 对小鼠中枢神经系统的影响

3.1.1 对小鼠自主活动的影响 在给药后各时间点上, 右旋布洛芬注射液 20、40、80 mg/kg 3 个剂量组及布洛芬注射液 80 mg/kg 剂量组小鼠的自主活动次数与溶媒对照组比较均无统计学意义。见表 2。

表 2 右旋布洛芬注射液对小鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Dexibuprofen injection on autonomic activities in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	给药前	活动次数/次				
			给药后 5 min	给药后 30 min	给药后 1 h	给药后 2 h	给药后 3 h
溶媒对照	—	27.3±3.1	15.1±7.2	20.3±5.7	20.8±6.7	21.0±8.0	19.4±8.8
布洛芬注射液	80	28.0±2.6	18.5±10.1	22.6±7.8	18.8±10.4	22.2±9.2	17.4±9.3
右旋布洛芬注射液	80	27.4±3.0	16.2±6.7	18.6±7.0	23.7±6.6	20.6±7.4	22.8±5.0
	40	27.7±2.8	12.9±3.8	22.3±7.7	20.9±8.1	21.0±4.0	23.0±5.4
	20	27.5±2.4	15.2±7.2	15.1±9.5	15.0±9.4	17.7±8.0	13.6±8.5

3.1.2 小鼠爬杆试验 与溶媒对照组比较, 右旋布洛芬注射液 20、40、80 mg/kg 3 个剂量组以及布洛芬注射液 80 mg/kg 组小鼠在给药后 5、30 min, 1、2、3 h 的爬杆行为正常, 评分均为 0 分。

3.1.3 小鼠戊巴比妥钠阈下协同催眠试验 右旋布洛芬注射液低、中剂量组 (20、40 mg/kg) 小鼠睡眠率与溶媒对照组比较, 差异不显著。右旋布洛芬注射液高剂量组 (80 mg/kg)、布洛芬注射液组小鼠睡眠率与溶媒对照组比较, 显著升高 ($P < 0.05$), 两组小鼠的睡眠率比较, 差异不显著。见表 3。

3.1.4 小鼠戊巴比妥钠阈上协同睡眠试验 小鼠睡眠潜伏期方面, 右旋布洛芬注射液 20、40、80 mg/kg 剂量组以及布洛芬注射液组 (80 mg/kg) 小鼠的睡眠潜伏期与溶媒对照组小鼠比较, 差异均不显著。

小鼠睡眠时间方面, 右旋布洛芬注射液低、中剂量组小鼠的睡眠时间与溶媒对照组比较, 差异不显著; 右旋布洛芬注射液高剂量组 (80 mg/kg) 和布洛芬注射液 (80 mg/kg) 组小鼠睡眠时间延长,

与溶媒对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05$); 两组睡眠时间比较, 差异不显著。结果见表 4。

3.2 对清醒 Beagle 犬循环和呼吸系统的影响

右旋布洛芬注射液按照 10、20、40 mg/kg 剂量 iv 给予清醒 Beagle 犬, 给药过程中和给药后未见心电图出现明显异常。与溶媒对照组比较, 右旋布洛芬注射液 10、20、40 mg/kg 剂量组心电图指标及血压指标在各采样时间点差异均无统计学意义; 右旋布洛芬注射液 10、20、40 mg/kg 剂量组呼吸频率和潮气量指标在各采样时间点差异均无统计学意义。右旋布洛芬注射液对清醒 Beagle 犬心率、QRS 时程、收缩压、平均压、呼吸频率、潮气量等心血管系统的影响, 见图 1。

4 讨论

安全药理学主要是研究药物在治疗范围内或治疗范围以上的剂量时, 潜在的不期望出现的对生理功能的不良影响, 包括核心组合试验和追加/补充的安全药理学试验, 是新药开发研究中的重要组成部

表3 右旋布洛芬注射液对阈下剂量戊巴比妥钠诱导小鼠催眠作用影响

Table 3 Effect of Dexibuprofen injection on mice hypnosis of pentobarbital sodium of subthreshold dose

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	n/ 只	入睡小鼠 数量/只	睡眠率/%
溶媒对照	—	10	1	10
布洛芬注射液	80	10	7	70*
右旋布洛芬注射液	80	10	8	80*
	40	10	3	30
	20	10	2	20

与溶媒对照组比较: * $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs solvent control group表4 右旋布洛芬注射液对阈上剂量戊巴比妥钠诱导小鼠催眠作用影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Effect of Dexibuprofen Injection on mice hypnosis of pentobarbital sodium at up threshold dose ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	睡眠潜伏期/s	睡眠时间/s
溶媒对照	—	432±145	328±247
布洛芬注射液	80	352±120	854±516*
右旋布洛芬注射液	80	286±55	815±237*
	40	351±125	348±165
	20	342±120	347±164

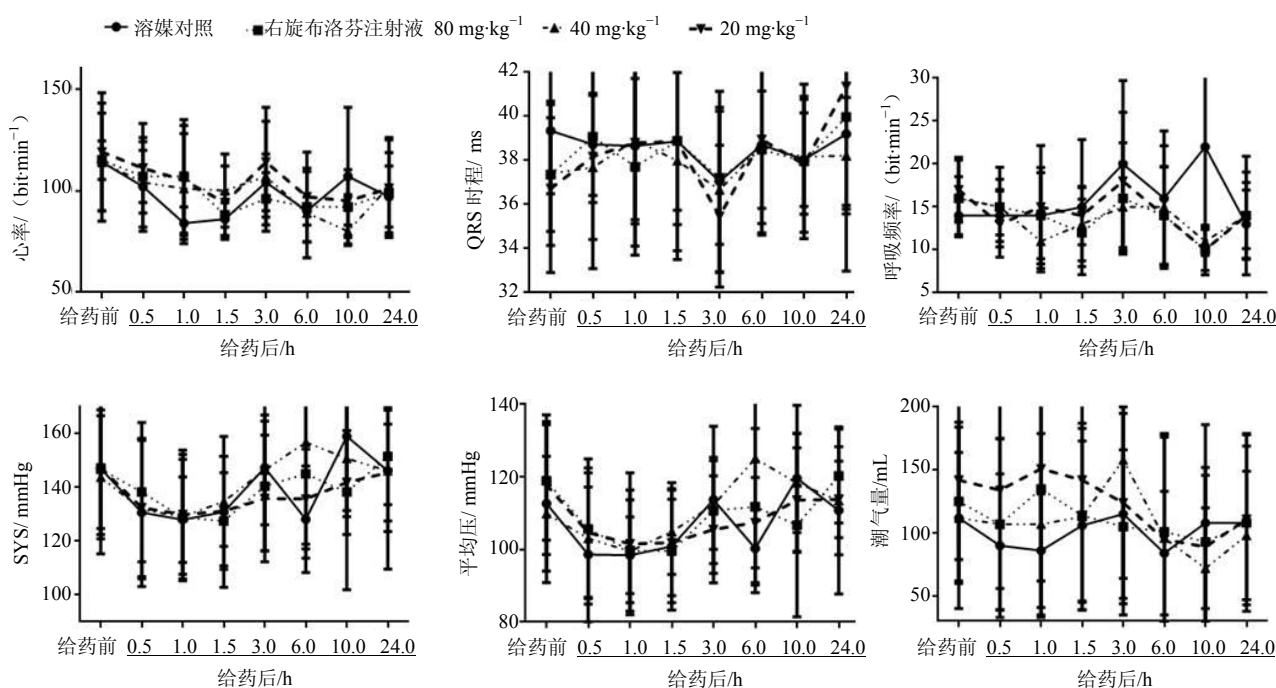
与溶媒对照组比较: * $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs solvent control group

图1 右旋布洛芬注射液对清醒 Beagle 犬循环系统和呼吸系统指标的影响

Fig. 1 Effect of Dexibuprofen Injection on cardiovascular and respiratory systems of conscious Beagle's dogs

分^[7]。参考已上市布洛芬注射液使用说明书中的临床用法,每人每次400 mg至少间隔4 h使用1次;右旋布洛芬注射液的临床拟用方法拟定为每人每次200 mg,按照体质量折算小鼠和犬的临床等效剂量分别约为30、5 mg/kg。布洛芬注射液小鼠的药效剂量约为25 mg/kg^[8],因此推测右旋布洛芬注射液的小鼠的药效剂量约为12.5 mg/kg。本试验中小鼠所选剂量分别是药效剂量的1.6、3.2、6.4倍;根据临床拟用剂量折算犬的药效剂量约为5 mg/kg,本试验中犬所选剂量分别是药效剂量的2、4、8倍。

犬的安全药理试验采用已经过验证的遥测动物

模型进行研究。试验中采用4只动物循环给药,因此给药间隔的设计一般要考虑每次给药前动物体内的药物是否完全清除,药物作用的遗留效应是否消除。本机构已经完成的右旋布洛芬注射液犬的药理学实验结果显示,5、10、20 mg/kg剂量组药物平均驻留时间均在3 h左右;并且在本试验中,给药后24 h未观察到与受试物相关的毒性反应。为了完全消除上次给药的遗留效应,本试验中设计的给药间隔为96 h。

结果表明,右旋布洛芬注射液iv低于40 mg/kg给予Beagle犬,对其心血管及呼吸系统无显著影

响; 低于 80 mg/kg iv 给予 ICR 小鼠对其自主活动次数和爬杆能力没有明显影响, 80 mg/kg 时与戊巴比妥钠有明显的协同作用。右旋布洛芬注射液对心血管系统和呼吸系统没有显著影响, 大剂量使用时与戊巴比妥钠有协同作用, 与同是非甾体类抗炎镇痛药物的苯胺洛芬注射液安全药理研究结果类似^[8]。

参考文献

- [1] Bonabello A, Galmozzi M R, Canaparo R, et al. Dexibuprofen (S(+)-Isomer Ibuprofen) reduces gastric damage and improves analgesic and anti-inflammatory effects in rodents [J]. *Anesth Analg*, 2003, 97(2): 402-408.
- [2] Zuutmond W W. Pain treatment with NSAIDs, primary focus on ibuprofen [J]. *Clin Rheumatol*, 2001, 20(Suppl 1): 6-8.
- [3] Bon A, Jongejan R C. Treatment of non-malignant pain in the Dutch GP population: an analysis of treatment standards, prescription habits and basic attitudes [J]. *Clin Rheumatol*, 2001, 20(Suppl 1): 2-5
- [4] Evans A M. Comparative pharmacology of S (+)-ibuprofen and (RS)-ibuprofen [J]. *Clin Rheumatol*, 2001, 20(Suppl 1): 9-14.
- [5] 王三龙, 张颖丽, 齐卫红, 等. 清醒 Beagle 犬安全药理心血管遥测系统验证研究 [J]. *中国药学研究*, 2011, 11: 828-831.
- [6] 赵秀红, 夏媛媛, 黄玉蓉, 等. LC-MS/MS 法测定 Beagle 犬血浆中布洛芬对映体的浓度 [J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(4): 570-575.
- [7] 国家食品药品监督管理总局. 药物安全药理学研究技术指导原则 [S]. 2014.
- [8] 徐 隽, 宋红萍, 刘 忠, 等. 布洛芬注射液的镇痛、消炎、解热作用 [J]. *中国医院药学杂志*, 2010, 17: 1500-1501.
- [9] 肖百全, 雷夏凌, 杨 威, 等. 一类创新药苯胺洛芬注射安全性药理研究 [J]. *中国新药杂志*, 2011(15): 1386-1391.