

【 安全性评价 】

重组人干扰素 β -1a 注射液的安全药理学研究

钟 飞^{1,3}, 胡 雷^{1,3*}, 刘艳菊¹, 张彩霞², 徐德璐¹, 葛 鹏¹, 兰天龙¹, 周博宇¹

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301
2. 天津药物研究院, 天津 300193
3. 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300301

摘要: 目的 研究重组人干扰素 β -1a 注射液对实验动物中枢神经系统、呼吸系统、心血管系统以及消化系统的影响, 观察药物潜在的对生理功能的不良影响, 为临床实验提供依据及参考。方法 小鼠单次 sc 重组人干扰素 β -1a 注射液 5.5、22.0、88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 观察小鼠自主活动, 进行平衡协调能力和协同睡眠实验, 研究药物对动物中枢神经系统的影响; 食蟹猴单次 sc 重组人干扰素 β -1a 注射液 1、4、16 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 观察食蟹猴的心电、血压、呼吸频率、呼吸幅度, 研究药物对动物呼吸系统和心血管系统的影响; 小鼠单次 sc 重组人干扰素 β -1a 注射液 5.5、22.0、88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 进行胃肠推进实验, 研究药物对胃肠消化系统的影响。结果 小鼠单次 sc 重组人干扰素 β -1a 注射液, 5.5、22.0、88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量组动物自主活动、平衡运动能力未见明显变化、未见与阈下剂量戊巴比妥钠协同睡眠作用, 且未见胃肠推进的明显变化; 食蟹猴单次 sc 重组人干扰素 β -1a 注射液, 1、4、16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量组动物未见明显剂量或时效相关性的心血管、呼吸系统影响。结论 重组人干扰素 β -1a 注射液对实验动物的中枢神经系统、呼吸系统、心血管系统及消化系统均未见明显药物影响。

关键词: 重组人干扰素 β -1a 注射液; 中枢神经系统; 心血管系统; 呼吸系统; 消化系统; 安全药理学

中图分类号: R994 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2018)02- 0223 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.02.009

Safety pharmacology study of recombinant human interferon β -1a injection

ZHONG Fei^{1,3}, HU Lei^{1,3}, LIU Yanju¹, ZHANG Caixia², XU Delu¹, GE Peng¹, LAN Tianlong¹, ZHOU Boyu¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co. Ltd, Tianjin 300301, China
2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Co. Ltd, Tianjin 300193, China
3. Tianjin Engineering Research Center of Drug Preclinical Assessment Technology, Tianjin 300301, China

Abstract: Objective To research the drug effects on laboratory animals' central nervous system, respiratory system, cardiovascular system and digestive system of recombinant human interferon β -1a injection under the certain dosages thereby observing the potential adverse effects on physiological functions and providing basis and reference for clinical experiment. **Methods** The mice received a single dose of 5.5, 22.0, and 88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of recombinant human interferon β -1a injection by sc injection and the effects on central nervous system were studied by observing the autonomic activity of mice, carrying out balance and coordination ability test and coordinating sleep experiments. The cynomolgus monkeys received a single dose of 1, 4 and 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of recombinant human interferon β -1a injection by sc injection and the effects on respiratory system and cardiovascular system were observed. The mice received a single dose of 5.5, 22.0, and 88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of recombinant human interferon β -1a injection by sc injection and the effects on digestive system were observed through gastrointestinal propulsion experiment. **Results** No significant changes in spontaneous activities of mice after a single dose of 5.5, 22.0 and 88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of recombinant human interferon β -1a injection administration were found. The balance and exercise abilities of mice showed no impacts. No function together with subthreshold dose of sodium pentobarbital to cause mice sleep were found. No significant changes in respiratory and cardiovascular system of cynomolgus

收稿日期: 2017-10-16

基金项目: 国家科技重大新药创制项目 (2015ZX09501004); 天津市科技计划项目 (16PTGCCX00090)

第一作者: 钟 飞, 研究实习生, 硕士, 研究方向为临床前药物安全性评价。

*通信作者: 胡 雷, 副研究员, 硕士, 研究方向为临床前药物安全性评价。Email: hul@tjipr.com

monkeys after a single dose of 1, 4 and 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of recombinant human interferon β -1a injection by hypodermic injection were found. No significant changes in gastrointestinal propulsive effect of mice after a single dose of 5.5, 22, 88 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of recombinant human interferon β -1a injection by hypodermic injection were found. **Conclusions** Recombinant human interferon β -1a injection showed no significant influences on laboratory animals' central nervous system, respiratory system, cardiovascular system and digestive system.

Key words: recombinant human interferon β -1a injection; central nervous system; cardiovascular system; respiratory system; digestive system

多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 是一种青壮年起病的中枢神经系统的炎性脱髓鞘疾病, 多累及脑室周围白质、脊髓、脑干及小脑等, 易反复发作^[1]。临床上可出现多种症状和体征, 有空间及时间多发的临床特点, 并有多种亚型^[2]。MS 的临床治疗多选用与免疫调节有关的药物, 如干扰素 β -1b、干扰素 β -1a、醋酸格列默等, 其中干扰素 β 所占份额超过了 70%^[3-5]。干扰素- β 不仅可以降低 MS 患者的急性发作次数, 还能有效延迟 MS 患者的病程进展^[6]。现市售的干扰素- β 主要是基因重组表达的产品。浙江海正药业股份有限公司研发的重组人干扰素 β -1a 注射液临床拟用于治疗患 MS 且在过去两年内至少有 2 次复发的患者, 已完成多项临床前药理学毒理研究, 结果表明, 具有很好的开发前景^[7]。在本研究中, 通过给小鼠与食蟹猴单次 sc 重组人干扰素 β -1a, 进行安全药理学研究, 观察供试品对小鼠神经、消化系统和食蟹猴心血管、呼吸系统的影响, 探讨供试品有无可能的非期望药理作用。

1 材料

1.1 供试品

重组人干扰素 β -1a 注射液 (批号 20110604、20110605)、重组人干扰素 β -1a 安慰剂 (空白溶剂, 批号 20110501、20110502), 为无色澄明液体, 由浙江海正药业股份有限公司提供, 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2 实验动物

4~6 周龄 SPF 级 KM 小鼠, 购自天津市山川红实验动物科技有限公司, 实验动物许可证号 SCXK (津) 2009-0001。采用聚丙烯鼠盒饲养, 每盒 5 只。饲养房间温度为 20~26 $^{\circ}\text{C}$, 湿度为 40%~70%, 换气次数不少于 15 次全新风/h, 12 h/12 h 明暗交替, 自由摄食饮水。

4~5 岁普通级食蟹猴, 购自苏州西山中科实验动物有限公司, 实验动物许可证号 SCXK (苏) 2007-0005。采用全封闭观察室单笼饲养。饲养房间温度为 16~26 $^{\circ}\text{C}$, 湿度为 40%~70%, 换气次数 8~10 次全新风/h, 12 h/12 h 明暗交替, 自由摄食

饮水。

1.3 主要仪器

YLS-4C 转棒式疲劳仪 (安徽淮北正华生物仪器设备有限公司); JZZ98-CM 自主活动仪 (中国医学科学院药物研究所); EMKA 动物生理信号遥测系统 (Emka Technologies)。

2 方法

2.1 研究设计

2.1.1 中枢神经系统 通过对小鼠单次 sc 供试品, 观察供试品对小鼠自主活动、平衡协调能力和协同睡眠的影响。实验设 5 个组, 每组 10 只动物, 雌雄各半, 分别为溶剂对照组、地西洋 (阳性对照, 3 mg/kg) 组、重组人干扰素 β -1a 注射液 5.5、22、88 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组 (相当于小鼠等效临床拟用剂量 1.76 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 3.1、12.5、50.0 倍), 给药体积为 10 mL/kg。溶剂对照组给予重组人干扰素 β -1a 安慰剂。地西洋组检测时间在给药后 30~60 min (起效时间), 供试品组检测时间在给药后 180 min (达峰时间)。

2.1.2 心血管系统与呼吸系统 通过对食蟹猴单次 sc 供试品, 观察供试品对食蟹猴心电、血压、呼吸的影响。实验设 4 个组, 分别为溶剂对照组和重组人干扰素 β -1a 注射液 1、4、16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组 (分别相当于猴等效临床拟用剂量 0.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 2.5、10.0、40.0 倍), 共使用 8 只动物, 雌雄各半, 采用重复交叉设计的方法使用 3 次, 给药体积为 0.2 mL/kg。溶剂对照组给予重组人干扰素 β -1a 安慰剂。

2.1.3 消化系统 通过对小鼠单次 sc 供试品, 观察供试品对小鼠胃肠推进的影响。实验设 5 个组, 每组 10 只动物, 雌雄各半, 分别为溶剂对照组、硫酸阿托品 (阳性对照, 15 mg/kg) 组、重组人干扰素 β -1a 注射液 5.5、22、88 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组 (相当于小鼠等效临床拟用剂量 1.76 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 3.1、12.5、50.0 倍), 给药体积为 10 mL/kg。溶剂对照组给予重组人干扰素 β -1a 安慰剂 (空白溶剂)。硫酸阿托品组检测时间在给药后 30 min (起效时间), 供试品组检测时间在给药后 180 min (达峰时间)。

2.2 自主活动实验

地西洋组动物给药后 25 min 放入自主活动测定仪中, 适应 5 min, 30 min 开始计数; 测定 5 min 内的动物自主活动数。溶剂对照组、供试品组动物给药后 175 min 放入自主活动测定仪中, 适应 5 min, 180 min 开始计数; 测定 5 min 内的动物自主活动数。

2.3 协调平衡实验

设定转棒仪转速为 30 r/min, 给药前训练动物 1~2 次, 每次约 3 min, 使其适应转棒仪。地西洋组动物给药后 37 min, 放入转棒式疲劳仪上适应 3 min, 40 min 开始测定; 测定 3 min 内动物从转棒上落下的次数 (不包括主动跳下的次数), 落下 3 次以上 (包括 3 次) 记录为阳性 (失去平衡)。溶剂对照组、供试品组动物给药后 187 min, 放入转棒式疲劳仪上适应 3 min, 190 min 开始测定; 测定 3 min 内动物从转棒上落下的次数 (不包括主动跳下的次数), 落下 3 次以上 (包括 3 次) 记录为阳性 (失去平衡)。

2.4 协同睡眠实验

通过正式试验前的预试验, 确定戊巴比妥钠阈下催眠剂量约为 24 mg/kg, 即 80%~90% 小鼠翻正反射不消失的戊巴比妥钠最大阈下剂量。地西洋组动物给药后 45 min ip 给予戊巴比妥钠, 记录 15 min 内入睡动物数 (即翻正反射消失达 1 min 以上者)。溶剂对照组、供试品组动物给药后 195 min ip 给予戊巴比妥钠, 记录 15 min 内入睡动物数。试验期间保持环境安静。通过比较给药组与溶剂对照组入睡动物数, 判断供试品对阈下剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠的影响。

2.5 心血管系统与呼吸系统实验

称取动物空腹质量, 用 3% 戊巴比妥钠溶液麻醉, 静脉推注给药, 首先快速推注 0.6 mL/kg, 完毕后, 缓慢推注并密切观察动物的反应, 首先肌肉松弛, 意识模糊, 此时继续给药, 至动物对外界没有反应, 仅存在眨眼反射为止。

自一侧下肢动脉插入动脉插管, 尽量选择末端小动脉, 动脉插管连接压力换能器, 用于测定动脉血压。压力换能器充满肝素, 插管完成后再向动物体内注入适量的肝素。将呼吸换能器用缚带系于动物胸腔呼吸最强处, 一般在胸腔剑突处。缚带系好后一般不要再移动, 以保证前后测量呼吸幅度一致。将电极正极接在左下肢, 负极接在右上肢, 地线接在右下肢。将呼吸换能器与呼吸放大器连接; 压力

换能器与压力放大器连接; 心电电极与心电放大器连接。分别在给药前、给药后 30、60、120、180、240、360 min 各记录 1 次呼吸、血压、心电等情况。

2.6 胃肠推进实验

硫酸阿托品组动物给药后 30 min 开始胃肠推进实验; 溶剂对照组、供试品组动物给药后 180 min 开始胃肠推进实验。动物 ig 给予 2% 印度墨汁, 20 min 后脱颈椎处死, 测量肠全长 (贲门-回盲部) 和墨汁推进长度, 计算墨汁推进率。

$$\text{墨汁推进率} = \frac{\text{墨汁推进长度}}{\text{肠全长}}$$

2.7 统计学分析

计量资料先进行正态性和方差齐性检验 (levene 检验法), 若资料满足正态性和方差齐性条件, 选择单因素方差分析法 (one-way ANOVA) 进行统计, 若方差分析的 $P \leq 0.05$, 则进行组间的多重比较 (LSD 法), 比较各组与溶剂对照组的差异; 若计量资料不满足正态性和方差齐性的条件, 则采用 Kruskal-Wallis 秩和检验法, 若统计量的 $P \leq 0.05$, 则进行组间的多重比较 (LSD 法), 比较各组与溶剂对照组的差异。二分类或多分类的资料选择 χ^2 检验, 若 χ^2 检验的 $P \leq 0.05$, 则进行组间的多重比较, 比较各组与溶剂对照组的差异。

3 结果

3.1 对中枢神经系统的影响

3.1.1 自主活动 单次给药后, 重组人干扰素 β -1a 注射液各给药组小鼠在 5 min 内的自主活动次数与溶剂对照组比较, 差异均不显著。地西洋组给药后一般观察可见动物活动明显减少, 与溶剂对照组比较差异显著 ($P < 0.01$)。结果见表 1。

表 1 重组人干扰素 β -1a 注射液对小鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of recombinant human interferon β -1a injection on spontaneous activities of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	自主活动次数
溶剂对照	—	412.2±152.5
地西洋	3 000	241.3±65.0**
重组人干扰素	5.5	397.9±149.3
β -1a 注射液	22.0	477.8±143.2
	88.0	460.9±130.3

与溶剂对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs solvent control group

3.1.2 平衡协调能力 重组人干扰素 β -1a 注射液 5.5、22.0、88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组分别有 3、2、3 只动物从

转棒上落下次数超过 3 次, 但与溶剂对照组比较无统计学差异。地西洋组给药后与溶剂对照组比较, 阳性反应动物数显著增多 ($P < 0.01$), 表明动物平衡运动能力明显下降。结果见表 2。

3.1.3 与阈下剂量戊巴比妥钠的协同睡眠作用观察 ip 戊巴比妥钠后 15 min 内各组入睡动物数, 结果显示, 重组人干扰素 β -1a 注射液 22、88 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组中各有 1 只动物进入睡眠, 但与溶剂对照组比较无统计学差异。地西洋组给药后与溶剂对照组比较, 睡眠动物数明显增加, 表明小鼠口服地西洋后与阈下剂量戊巴比妥钠有协同睡眠作用。结果见表 3。

3.2 对心血管系统与呼吸系统的影响

3.2.1 血压指标 与溶剂对照组比较, 各个剂量组动物血压 (收缩压、舒张压、平均动脉压、脉压差) 在给药后各时间点 (30、60、120、180、240、360 min) 均未见明显变化。结果见表 4。

3.2.2 心电指标 如表 5 所示, 与溶剂对照组比较, 重组人干扰素 β -1a 注射液 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组动物给药前、给药后 30、60、120 min 时心率增快, Q-T 间期缩短; 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组动物给药后 120 min 时 Q-T 间期缩短; 1、4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组动物给药后 360 min 时心率增快, 差异显

表 2 重组人干扰素 β -1a 注射液对小鼠平衡协调能力的影响

Table 2 Effect of recombinant human interferon β -1a injection on balance and exercise abilities activities of mice

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	阴性动物 数	阳性动物 数	阳性率/%
溶剂对照	—	9	1	10
地西洋	3 000	3	7	70*
重组人干扰素 β -1a 注射液	5.5	7	3	30
	22.0	8	2	20
	88.0	7	3	30

与溶剂对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.01$ vs solvent control group

表 3 重组人干扰素 β -1a 注射液对小鼠协同睡眠时间的影响

Table 3 Effect of recombinant human interferon β -1a injection on cooperative sleep time of mice

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	阴性动物 数	阳性动物 数	阳性率 /%
溶剂对照	—	9	1	10
地西洋	3 000	1	9	90**
重组人干扰素 β -1a 注射液	5.5	10	0	0
	22.0	9	1	10
	88.0	9	1	10

与溶剂对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs solvent control group

表 4 重组人干扰素 β -1a 注射液对食蟹猴收缩压、舒张压、平均动脉压、脉压差的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of recombinant human interferon β -1a injection on systolic blood press, diastolic blood press, MAP and pulse pressure of cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	收缩压/mmHg						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	128.9 \pm 23.8	131.4 \pm 25.5	134.0 \pm 26.9	135.3 \pm 23.2	139.6 \pm 20.1	136.1 \pm 16.5	136.8 \pm 22.3
重组人干扰素 β -1a 注射液	1	124.9 \pm 12.9	118.8 \pm 16.3	126.2 \pm 13.0	129.3 \pm 19.0	127.6 \pm 17.6	127.4 \pm 17.4	127.7 \pm 15.5
	4	122.2 \pm 12.6	126.3 \pm 10.6	132.8 \pm 12.0	132.9 \pm 15.4	133.7 \pm 16.0	131.0 \pm 14.4	126.0 \pm 15.2
	16	131.2 \pm 25.5	141.4 \pm 28.5	140.0 \pm 17.0	137.8 \pm 14.1	137.7 \pm 11.8	136.9 \pm 13.7	133.8 \pm 17.0

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	舒张压/mmHg						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	92.3 \pm 15.6	95.4 \pm 14.3	98.8 \pm 14.3	99.4 \pm 11.3	103.2 \pm 8.7	101.0 \pm 10.2	100.2 \pm 14.1
重组人干扰素 β -1a 注射液	1	90.2 \pm 7.8	87.0 \pm 14.9	91.1 \pm 7.1	93.4 \pm 10.6	92.2 \pm 10.0	91.8 \pm 10.8	93.3 \pm 8.8
	4	84.9 \pm 6.5	89.7 \pm 6.9	94.2 \pm 7.8	95.9 \pm 10.9	97.2 \pm 11.5	97.3 \pm 12.2	92.9 \pm 10.9
	16	89.9 \pm 18.1	95.9 \pm 21.4	97.7 \pm 16.2	95.6 \pm 11.4	96.0 \pm 11.8	96.2 \pm 13.0	95.0 \pm 17.2

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	平均动脉压/mmHg						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	110.3 \pm 19.4	113.7 \pm 19.5	117.0 \pm 19.9	117.8 \pm 16.5	121.6 \pm 13.7	118.7 \pm 12.6	118.5 \pm 17.6
重组人干扰素 β -1a 注射液	1	106.9 \pm 9.2	102.4 \pm 15.0	108.1 \pm 9.2	110.7 \pm 14.4	109.1 \pm 13.4	108.6 \pm 14.2	109.8 \pm 12.0
	4	102.9 \pm 8.0	107.8 \pm 7.4	113.6 \pm 8.9	114.4 \pm 12.2	114.6 \pm 12.0	113.8 \pm 12.7	108.4 \pm 11.3
	16	109.7 \pm 22.4	117.6 \pm 25.3	118.1 \pm 17.2	115.9 \pm 13.0	115.7 \pm 11.9	115.5 \pm 13.6	113.0 \pm 17.8

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	脉压差/mmHg						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	36.6 \pm 11.6	36.0 \pm 14.0	35.2 \pm 16.0	35.9 \pm 15.1	36.5 \pm 12.6	35.2 \pm 11.2	36.6 \pm 12.0
重组人干扰素 β -1a 注射液	1	34.8 \pm 9.3	31.8 \pm 8.7	35.0 \pm 8.9	35.9 \pm 10.8	35.5 \pm 10.8	35.5 \pm 10.5	34.4 \pm 11.0
	4	37.4 \pm 9.2	36.6 \pm 8.9	38.6 \pm 8.5	37.0 \pm 9.7	36.5 \pm 11.0	33.8 \pm 8.3	33.1 \pm 10.2
	16	41.4 \pm 10.7	45.6 \pm 9.5	42.3 \pm 5.7	42.2 \pm 8.5	41.7 \pm 7.8	40.7 \pm 6.8	38.9 \pm 4.1

1 mmHg = 0.133kPa

表5 重组人干扰素β-1a注射液对食蟹猴心率、P-R间期、QRS波群、R波、P波、S-T段、Q-T间期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
 Table 5 Effect of recombinant human interferon β-1a injection on HR, PR interval, QRS complex, R wave, P wave, S-T segment and Q-T interval of cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	心率/(次·min ⁻¹)						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	143.80±16.11	137.83±16.01	136.78±15.27	137.33±20.88	148.95±22.21	155.47±19.46	152.80±17.03
重组人干扰素β-1a注射液	1	167.85±17.01*	165.98±16.03*	168.27±16.12**	173.65±20.87*	174.48±19.47	177.95±20.23	180.87±24.98*
	4	141.73±21.62	140.83±15.31	139.57±15.12	151.23±22.42	167.28±22.75	173.22±23.07	182.13±19.42*
	16	138.15±16.82	139.07±16.04	150.10±13.35	158.37±16.40	162.17±19.04	168.65±29.44	182.82±39.05
组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	P-R 间期/ms						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	77.12±4.26	75.73±7.95	75.53±7.42	76.33±8.21	76.37±7.54	76.15±7.85	73.77±6.16
重组人干扰素β-1a注射液	1	71.40±9.35	72.47±11.15	72.17±11.34	73.20±11.26	71.82±9.77	70.82±10.79	68.58±9.45
	4	76.12±14.41	75.48±13.47	76.17±13.58	74.70±9.44	68.72±9.44	67.65±8.49	67.67±7.32
	16	78.43±5.26	78.82±4.91	76.58±6.32	75.50±6.94	75.70±7.25	71.02±11.41	68.72±12.49
组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	QRS 波群/ms						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	51.32±3.95	52.50±8.83	52.73±8.32	51.83±9.30	52.05±3.14	52.48±2.79	54.27±4.03
重组人干扰素β-1a注射液	1	53.90±5.03	57.23±7.43	54.68±4.75	52.05±7.07	52.58±6.15	51.53±7.47	51.20±7.26
	4	61.37±11.98	60.35±13.97	61.22±14.04	58.95±8.75	59.45±7.11*	56.78±8.06	60.37±13.05
	16	49.85±4.42	49.22±5.07	49.95±5.97	49.98±7.13	50.83±5.74	51.75±3.99	51.72±3.25
组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R 波/mV						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	1.152±0.306	1.198±0.347	1.198±0.358	1.212±0.358	1.210±0.342	1.143±0.365	1.142±0.398
重组人干扰素β-1a注射液	1	0.777±0.566	0.802±0.621	0.767±0.593	0.763±0.583	0.780±0.586	0.797±0.607	0.805±0.608
	4	1.005±0.863	1.050±0.867	1.037±0.876	0.993±0.781	0.847±0.780	0.842±0.712	0.773±0.736
	16	1.410±0.691	1.433±0.767	1.453±0.811	1.433±0.823	1.383±0.801	1.380±0.770	1.338±0.791
组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	P 波/mV						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	0.280±0.069	0.285±0.082	0.282±0.080	0.292±0.099	0.288±0.066	0.257±0.099	0.258±0.080
重组人干扰素β-1a注射液	1	0.298±0.069	0.292±0.050	0.293±0.067	0.288±0.052	0.288±0.056	0.293±0.042	0.295±0.043
	4	0.268±0.048	0.268±0.042	0.268±0.036	0.242±0.050	0.227±0.067	0.237±0.088	0.233±0.071
	16	0.270±0.088	0.298±0.076	0.288±0.110	0.290±0.125	0.268±0.107	0.267±0.121	0.277±0.112
组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	S-T 段/mV						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	0.079±0.098	0.084±0.091	0.093±0.096	0.113±0.104	0.094±0.105	0.056±0.102	0.057±0.099
重组人干扰素β-1a注射液	1	0.027±0.039	0.034±0.041	0.036±0.043	0.026±0.043	0.019±0.029	0.018±0.043	0.012±0.040
	4	0.094±0.126	0.096±0.117	0.099±0.120	0.032±0.056	-0.006±0.046	-0.006±0.029	0.002±0.042
	16	0.099±0.071	0.119±0.067	0.083±0.082	0.058±0.101	0.030±0.074	0.012±0.081	0.015±0.090
组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Q-T 间期/ms						
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min
溶剂对照	—	262.05±26.51	265.93±30.58	265.42±33.47	268.13±41.20	252.27±38.24	241.00±37.13	242.35±35.47
重组人干扰素β-1a注射液	1	217.72±32.16*	221.42±31.96*	215.52±31.88*	211.90±32.63*	209.07±33.43	204.70±30.81	202.40±31.67
	4	267.40±27.95	265.22±18.49	268.43±18.49	251.32±29.56	228.35±41.56	218.10±43.92	205.55±29.96
	16	256.53±33.93	254.20±33.04	240.30±21.92	223.00±20.23*	221.22±21.42	216.13±26.10	204.92±30.27

与溶剂对照组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs solvent control group

著 ($P < 0.05$)。其余各组在给药后各时间点 (30、60、120、180、240、360 min) 的心电指标 (心率、P 波、R 波、S-T 段、QRS 波群、P-R 间期、Q-T 间期) 与溶剂对照组比较无显著性差异。

3.2.3 对呼吸系统的影响 与溶剂对照组比较, 重

组人干扰素 β -1a 注射液 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 组动物给药后 240 min 时呼吸频率增高、给药后 360 min 时呼吸幅度降低, 差异显著 ($P < 0.05$)。其他各个时间点 (30、60、120、180、240、360 min) 各个检查指标 (呼吸频率、呼吸幅度) 未见明显药物影响。结果见表 6。

表 6 泰格列净对食蟹猴呼吸频率、呼吸幅度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Effect of recombinant human interferon β -1a preparation on respiratory rate and respiratory amplitude of cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	呼吸频率/ min^{-1}							
		给药后 0 min	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min	
溶剂对照	—	20.00 \pm 2.29	19.52 \pm 2.16	19.23 \pm 2.65	18.43 \pm 2.87	19.05 \pm 3.11	19.05 \pm 3.03	20.72 \pm 5.63	
重组人干扰素 β -1a 注射液	1	24.28 \pm 5.13	24.20 \pm 5.76	24.15 \pm 5.00	23.60 \pm 5.14	24.23 \pm 5.80	25.22 \pm 5.64*	25.97 \pm 6.63	
	4	18.15 \pm 4.87	17.80 \pm 4.24	17.82 \pm 4.88	18.45 \pm 5.28	19.83 \pm 6.63	20.75 \pm 7.46	22.27 \pm 6.81	
	16	21.73 \pm 1.62	20.85 \pm 1.82	21.87 \pm 4.28	21.90 \pm 2.78	21.98 \pm 4.03	21.97 \pm 3.72	22.77 \pm 4.55	

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	呼吸幅度/%							
		给药后 0 min	给药后 30 min	给药后 60 min	给药后 120 min	给药后 180 min	给药后 240 min	给药后 360 min	
溶剂对照	—	19.56 \pm 13.39	26.78 \pm 16.82	22.45 \pm 12.50	23.77 \pm 10.87	27.14 \pm 10.26	28.10 \pm 15.53	29.36 \pm 6.76	
重组人干扰素 β -1a 注射液	1	21.24 \pm 11.72	20.98 \pm 11.87	20.10 \pm 10.51	21.76 \pm 10.29	21.51 \pm 11.61	16.27 \pm 6.08	18.47 \pm 8.86*	
	4	16.22 \pm 10.83	14.64 \pm 10.43	15.21 \pm 11.48	15.27 \pm 9.49	24.85 \pm 21.39	21.42 \pm 11.9,9	30.51 \pm 12.11	
	16	23.98 \pm 19.46	26.36 \pm 23.61	17.91 \pm 9.19	21.62 \pm 7.78	25.82 \pm 13.16	31.03 \pm 20.73	23.18 \pm 11.10	

与溶剂对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs solvent control group

3.3 对消化系统的影响

单次给药后, 重组人干扰素 β -1a 注射液各个剂量组与溶剂对照组比较墨汁推进率未见明显变化。硫酸阿托品组给药后墨汁推进率与溶剂对照组比较明显减少, 差异显著 ($P < 0.05$), 表明小鼠胃肠推进速度明显下降。结果见表 7。

表 7 重组人干扰素 β -1a 注射液对小鼠胃肠推进的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 7 Effect of recombinant human interferon β -1a injection on gastrointestinal propulsive effect of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	墨汁推进率/%
溶剂对照	—	69.98 \pm 7.81
硫酸阿托品	3 000	56.56 \pm 8.51**
重组人干扰素 β -1a 注射液	5.5	65.95 \pm 6.08
	22.0	67.99 \pm 7.84
	88.0	69.37 \pm 6.99

与溶剂对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs solvent control group

4 讨论

本供试品的临床剂量为 $0.134 \mu\text{g}/\text{kg}$, 经体表面

积折算, 小鼠临床等效拟用剂量为 $1.76 \mu\text{g}/\text{kg}$, 食蟹猴临床等效拟用剂量为 $0.39 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。根据上述信息, 本实验设计小鼠给药组的 3 个剂量 5.5、22.0、88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 分别为临床等效剂量的 3.13、12.50、50.00 倍; 食蟹猴给药组的 3 个剂量 1、4、16 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 分别为临床等效剂量的 2.5、10.0、40.0 倍。

食蟹猴心血管系统的心电指标测定结果中, 重组人干扰素 β -1a 注射液 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 组动物给药前、给药后 30、60、120、180 min 的心率增快, Q-T 间期缩短, 但与自身给药前数据比较未见明显差异, 故该变化为动物个体差异所致, 非药物作用; 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组动物给药后 120 min Q-T 间期缩短, 1、4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组给药后 360 min 心率增快, 这些变化均无明显剂量相关性或时效相关性, 均认为是由动物个体差异所致, 非药物作用。

食蟹猴呼吸系统的测定结果中, 重组人干扰素 β -1a 注射液 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 组动物给药后 240 min 呼吸频率增高、给药后 360 min 呼吸幅度降低, 但是与给药前自身数据比较未出现明显的变化, 并且该变化无明显剂量相关性, 分析该影响是由于动物自身个体差异造成的, 非药物影响。

综上所述,小鼠单次 sc 给予重组人干扰素 β -1a 注射液 5.5、22.0、88.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 3 个剂量组动物与溶剂对照组比较,自主活动未见明显变化,动物平衡运动能力未见明显影响,与阈下剂量戊巴比妥钠未见协同睡眠作用,胃肠推进未见明显影响。食蟹猴单次 sc 给予重组人干扰素 β -1a 注射液, 1、4、16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量组与溶剂对照组比较,均未见药物对动物心血管、呼吸系统的明显影响。

参考文献

- [1] 潘祥奋. 干扰素 β -1b 治疗多发性硬化 60 例疗效分析 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2014 (7): 73-75.
- [2] Lublin F D, Reingold S C. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis [J]. Neurology, 1996, 46(4): 907-911.
- [3] 侯玉立, 周培斌, 刘桂芬. 干扰素 β 治疗复发缓解型多发性硬化疗效分析及安全性评价 [J]. 中国药物与临床, 2009, 9(1): 21-25.
- [4] Zhang J, Hutton G, Zang Y A. comparison of the mechanisms of action of interferon beta and glatiramer acetate in the treatment of multiple sclerosis [J]. Clin Ther, 2002, 24(12): 1998-2021.
- [5] Javed A, Reder A T. Therapeutic role of beta-interferons in multiple sclerosis [J]. Pharmacol Ther, 2006, 110(1): 35-56.
- [6] 张丽君, 张 英, 陈献雄, 等. 重组人干扰素- β -1a 对 BALB/C 小鼠硬化症的疗效评价 [J]. 中国新药与临床杂志, 2014(9): 677-682.
- [7] 高绪聪, 张金晓, 肖宇萌, 等. 重组人干扰素 β -1a 注射液制剂安全性研究 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(4): 380-383.