【药动学评价】

注射用重组人成纤维细胞生长因子-21食蟹猴药动学研究

胡晓丞[1, 2#]，吴雅丽[1, 2#]，张春云[1]，申文晋[1, 2*]，蔡永明[1]，司端运[1]

1. 天津药物研究院新药评价有限公司，天津 300301

2. 天津市新药非临床评价技术工程中心，天津 300301

摘 要：目的 研究注射用重组人成纤维细胞生长因子-21（FGF-21）在食蟹猴体内单次和多次皮下给药后的药代动力学特征。**方法** 采用随机、平行和剂量递增设计，18只食蟹猴分别单次sc150、300和600 μg/kg的FGF-21或多次sc 300 μg/kg的FGF-21，按设计采集动态血清样本。采用双抗体夹心ELISA法检测血清中药物浓度的动态变化，采用DAS 3.2.4药动程序拟合并计算药动参数。**结果** 食蟹猴单次sc FGF-21后，各剂量组峰浓度C_{max}和药时曲线下面积AUC$_{(0\text{-}24h)}$、AUC$_{(0\text{-}\infty)}$均随给药剂量的增加而增大，C_{max}、AUC$_{(0\text{-}24h)}$和AUC$_{(0\text{-}\infty)}$三者均与剂量呈线性相关，各剂量组$t_{1/2Z}$、T_{max}、CL_z和V_z均较为一致。与单次给药相比，食蟹猴多次sc给药后的$t_{1/2z}$有所延长但其他主要PK参数（T_{max}、V_z和CL_z等）均较为一致，多次给药后，体内药物无蓄积倾向。**结论** 食蟹猴单次sc FGF-21后，在150～600 μg/kg剂量范围内呈现线性动力学特征。单次与多次sc给予FGF-21后，两者的PK行为特征基本一致，无明显药物蓄积。

关键词： 药代动力学；FGF-21；ELISA；食蟹猴；方法学

中图分类号： R962.2 **文献标志码：** A **文章编号：** 1674-6376（2019）09-1774-06

DOI： 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.09.011

Pharmacokinetics of recombinant human fibroblast growth factor-21 in cynomolgus monkey for injection

HU Xiaocheng[1,2], WU Yali[1,2], ZHANG Chunyun[1], SHEN Wenjin[1,2], CAI Yongming[1], SI Duanyun[1]

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research New Drug Evaluation Co. Ltd, Tianjin 300301, China

2. Tianjin Engineering Research Center of Drug Preclinical Assessment Technology, Tianjin 300301, China

Abstract: Objective The pharmacokinetic profile of recombinant human fibroblastgrowth factor-21(FGF-21) for injection after single and multiple subcutaneous administration in cynomolgus monkeys was studied. **Methods** 18 cynomolgus monkeys were administered subcutaneously at single dose of 150, 300, 600 μg/kg FGF-21 or multiple dose of 300 μg/kg in a randomized design, parallel and dose-escalation study. ELISA method was developed to determine the dynamic changes of drug concentration in serum, and pharmacokinetic parameters were calculated by using DAS 3.2.4 pharmacokinetics program. **Results** Pharmacokinetic parameters in cynomolgus monkeys between different single dose groups are as follows: C_{max}, AUC$_{(0\text{-}24\ h)}$ and AUC$_{(0\text{-}\infty)}$ were positively proportional linear related with increasing dose. $t_{1/2Z}$, T_{max}, CL_z, and V_z were all consistent in each dose groups. Compared with single administration, the $t_{1/2z}$ of cynomolgus monkeys was prolonged after multiple administrations, but other major PK parameters (T_{max}, V_z, CL_z) were consistent. After repeated administration, there was no accumulation tendency of drugs in body. **Conclusion** FGF-21 administered subcutaneously at single dose of 150 — 600 μg/kg in cynomolgus monkeys exhibits linear pharmacokinetics. The characteristics of pharmacokinetics are basically consistent with single and multiple dose of 300 μg/kg FGF-21, indicating that no significant drug accumulation was ovserved.

Key words: FGF-21; pharmacokinetics; ELISA; cynomolgus monkey; methodology

重组人成纤维细胞生长因子-21（fibroblast growth factor 21，FGF-21）是最新发现的和糖脂代谢

收稿日期： 2018-12-15

基金项目： 新药临床前药物代谢动力学技术平台建设（2011zx09102-004-03）

#第一作者： 胡晓丞（1985—），硕士，主要从事药物临床、临床前评价研究。E-mail：huxh@tjipr.com

吴雅丽（1987—），硕士，主要从事药物临床、临床前评价研究。E-mail：wuyl@tjipr.com

***通信作者：** 申文晋（1984—），硕士，主要从事药物临床、临床前药代动力学评价研究。Tel：022-84845058 E-mail：shenwenjin1202@163.com

有关的因子[1]。FGF-21可特异性调节鼠3T3-L1脂肪细胞和人脂肪细胞对葡萄糖的摄取，减少脂肪堆积[2]；FGF-21可在过氧化物酶体增生物激活受体α（peroxisome proliferator activated receptor α，PPAR-α）的调节下，作为肝脏中稳定的脂类调节剂，避免脂肪肝的发生[3]；此外，FGF-21还可改善肥胖患者的胰岛素抵抗（insulin resistance，IR），进而保护胰岛β细胞[2-3]。除以上作用外，FGF-21是FGFs家族中目前发现的唯一没有促有丝分裂的基因，从而大幅降低了临床用药的风险[4]。因此，FGF-21拟用于临床适应症为初发二型糖尿病伴超重和肥胖。本研究采用ELISA法，探讨其在食蟹猴体内的药代动力学特征，并对单、多次给药进行比较，为此药物后期的临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

注射用重组人成纤维细胞生长因子-21（FGF-21），白色疏松体，规格4.0 mg/支，批号20140701，2～8 ℃避光保存；注射用重组人成纤维细胞生长因子-21溶媒，无色澄明液体，规格10 mL/支，批号20140801，2～8 ℃保存，均由温州医科大学生物与天然药物开发中心有限公司生产并提供。

检测血清中FGF-21浓度的ELISA试剂盒：香港大学研发Human FGF-21 Immunoassay Kit（产品编号：31180），批号HE32069。

1.2 仪器

Varioskan Flash酶标仪（美国Thermo公司产品）；Thermo Scientific Sorvall ST 16低温离心机（美国Thermo公司产品）；MB100-4A微孔板恒温振荡器（杭州奥盛仪器有限公司产品）。统计软件：DAS 3.2.4（北京博之音科技有限公司）。

1.3 实验动物

18只健康食蟹猴，普通级，雌雄各半，体质量3.00～5.70 kg，约4～5岁龄，由海南金港生物技术股份有限公司提供，实验动物生产许可证号：SCXK（琼）2010-0001。

2 方法与结果

2.1 分组

本试验采用体质量随机区组分组的方法，将18只食蟹猴随机分成3组，每组6只，雌雄各半。食蟹猴分别于颈背部sc FGF-21 150、300、600 μg/kg，给药体积为0.15 mL/kg。

2.2 给药及采血

食蟹猴于药前（0 h）和药后0.25、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、6.00、8.00、10.00、12.00、14.00、24.00和48.00 h采血。中剂量组6只食蟹猴于单次给药后48 h，每天给药1次，连续给药6次。第4、5、6次给药（单次给药为第1次），分别于给药前（波谷）和给药后3 h（波峰）采血；第7次给药后采血时间点同单次给药。血样采集后静置0.5～1.0 h，3 000 r/min低温（4 ℃）离心10 min，取上层血清，置－20 ℃保存待测。

2.3 药动学参数计算

所有血药浓度-时间数据用非房室模型拟合计算药代动力学参数，t_{max}和C_{max}采用实测值，AUC采用梯形法计算。采用多剂量线性分析模块中的相关分析法检验AUC_{0-t}、$AUC_{0-\infty}$和C_{max}是否与剂量呈正相关。药物蓄积评价以蓄积指数（R），即经多次给药（7天）的AUC^{ss}_{0-t}、$AUC^{ss}_{0-\infty}$和C^{ss}_{max}分别与第1次给药的AUC^{1}_{0-t}、$AUC^{1}_{0-\infty}$和C^{1}_{max}的比值，$R_{Cmax}=C^{ss}_{max}/C_{max}{}^{1}$，$R_{AUC}=AUC^{ss}/AUC^{1}$，同时采用多次用药蓄积分析模块中个体比值法进行多次用药蓄积分析，以评价连续给药是否引起体内蓄积。

2.4 ELISA方法学确证

2.4.1 ELISA法测定食蟹猴血清中FGF-21浓度的检测原理和方法[5] 该试剂盒基于双抗体夹心ELISA法定量检测食蟹猴血清中FGF-21的浓度。在预包被兔抗人FGF-21多抗的96微孔板上，加入含有FGF-21的标准溶液或样品，使其与固相抗体结合。洗去未结合物质后，加入检测抗体（生物素化人FGF-21多抗）。洗去未结合的抗体后，加入辣根过氧化物酶标记链霉亲和素（STP-HRP）。洗涤后加入HRP底物四甲基联苯胺（TMB）显色，终止酶反应后，测定450 nm处的吸光度（*A*值）。吸光强度与样品中所含FGF-21的浓度呈正比。

2.4.2 最低需求稀释度（MRD）试验 分别采用Assay buffer（Kit提供的样品稀释液）、50%食蟹猴空白血清和10%食蟹猴空白血清配制FGF-21 3条标准曲线，使其标准曲线终质量浓度为4 000、2 000、1 000、500.00、250.00、125.00、62.50、31.25 pg/mL。试验结果表明，本试验最终选择10%食蟹猴空白血清（*A*值低于0.15），即血清样品稀释10倍作为最低需求稀释度。

2.4.3 标准曲线和定量范围 药物浓度（*C*）与吸光度（*A*）经四参数（4-PL）模型拟合成Sigmoidal型曲线，平均标准曲线方程为：$A=5.800-5.786/[1+(C/3\,681.309)^{1.129}]$，$r^2=0.999\,8$（$n=9$）；准确度（RE）在−2.0%～2.0%，相对标准偏差（RSD）范围为

1.1%～6.0%；标准曲线的定量范围为31.25～4 000.00 pg/mL。

2.4.4 特异性试验 选择胰岛素样生长因子1（IGF-1）、表皮细胞生长因子（EGF）、重组人白介素-11（rhIL-11）、重组人粒细胞集落刺激因子（rhG-CSF）、注射用重组人干扰素γ（rhIFN-γ）、注射用重组人粒细胞巨噬细胞刺激因子（rhGM-CSF）、重组人II型肿瘤坏死因子受体-抗体融合蛋白（rhTNFR II∶Fc）等7种内源性细胞因子或相关蛋白中，考察本方法的特异性。在食蟹猴空白血清中分别加入较高浓度（100 ng/mL）的上述蛋白，采用本试验中ELISA法进行测定。结果表明，除EGF外，上述被检物质均与目标蛋白（FGF-21）无交叉反应。当外加的EGF浓度较高，对测定可产生一定干扰；但考虑到10%食蟹猴空白血清的本底较低（A值＜0.150），说明健康食蟹猴空白血清含有的EGF浓度较低，因此对试验测定的准确性影响不大，结果见表1。

表1 ELISA法测定FGF-21的特异性（n=2）

Table 1 Determination of specificity of FGF-21 by ELISA（n=2）

受试药	浓度/（ng·mL^{-1}）	$A_{(450nm)}$	$A_{(450nm)}$-0	测定值/（pg·mL^{-1}）
IGF-1	100	0.119	−0.031	nd
EGF	100	0.414	0.265	221.5
rhIL-11	100	0.123	−0.027	nd
rhG-CSF	100	0.128	−0.022	nd
rhIFN-γ	100	0.138	−0.011	nd
rhGM-CSF	100	0.150	0.000	nd
rhTNFR II∶Fc	100	0.130	−0.017	nd

nd：未检测到，检测浓度低于LLOQ

nd：not detected，the detected concentration is lower than LLOQ

2.4.5 选择性试验 随机选取11只食蟹猴个体空白血清，分别配制浓度为80 pg/mL的FGF-21质控样品（LQC），采用本试验中ELISA法进行测定。结果显示，LQC样品的准确度（RE）在−11.7%～12.5%，表明本法不受血清基质中其它非相关物质的干扰，对目标蛋白（FGF-21）的测定具有良好的选择性。

2.4.6 精密度和准确度 在标准曲线范围内，先以食蟹猴空白血清配制系列高浓度（10倍浓度）的FGF-21标准溶液，再以Assay buffer分别稀释10倍，配制在标准曲线范围内的5个质控（QC）样品，分别为最低定量限（LLOQ）、低（LQC）、中（MQC）、高（HQC）和最高定量限（ULOQ），即31.25、80、800、3 200、4 000 pg/mL。结果表明，FGF-21 QC样品的精密度（RSD）在20%以内，准确度（RE）在±20%以内，方法总误差均在30%以内，结果见表2。

表2 ELISA法测定FGF-21的精密度和准确度（$\bar{x}\pm s$）

Table 2 Precision and accuracy for analysis of FGF-21 by using ELISA kit（$\bar{x}\pm s$）

浓度/（pg·mL^{-1}）	批内变异（n=5）				批间变异（n=6）			
	测定值/（pg·mL^{-1}）	RSD/%	RE/%	TE/%	测定值/（pg·mL^{-1}）	RSD/%	RE/%	TE/%
4 000	3 665.2±154.6	4.2	−8.4	12.6	3 849.2±251.6	6.5	−3.8	10.3
3 200	3 104.4±179.2	5.8	−3.0	8.8	3 019.3±150.6	5.0	−5.6	10.6
800	755.3±25.8	3.4	−5.6	9.0	760.7±42.3	5.6	−4.9	10.5
80	79.4±10.0	12.6	−0.7	13.3	79.5±5.7	7.1	−0.7	7.8
31.25	27.5±4.7	17.1	−11.9	29.0	29.1±1.2	4.2	−7.0	11.2

2.4.7 稀释线性试验 采用食蟹猴空白血清配制含高浓度FGF-21（128 ng/mL）的样品。以食蟹猴空白血清依次倍比稀释，各稀释度再以Assay Buffer稀释10倍，使得FGF-21的最终稀释度分别为1∶40、1∶80、1∶160、1∶320、1∶640、1∶1 280。每个稀释度重复测定5次，计算回算浓度（实测浓度×稀释倍数）的精密度和准确度。结果表明，当稀释度不大于1∶1 280时（1∶40～1∶1 280），对试验结果的准确度影响不

大，其RSD均小于5.4%，平均RE均在±3.8%内。

2.4.8 平行性试验 选择受试动物高浓度血清样品（C_{max}）经食蟹猴空白血清系列稀释后，再以Assay buffer稀释10倍，将所测得浓度均值对数（Log C）与吸光度均值对数（Log A）进行线性拟合，采用“标准曲线平行性测定法”检验系列稀释的血清样品曲线与FGF-21标准曲线的平行性[6]。结果表明，FGF-21标准曲线方程为Log A= −3.087+1.014×Log C，R=0.996 3（n=8）；系列稀释的血清样品标准曲线方程为Log A = −3.249 + 1.089×Log C，R=0.999 3（n=4）。FGF-21标准曲线和系列稀释的受试动物血清样品的曲线互相平行，基质效应等因素对样品测定影响不大，结果见图1。

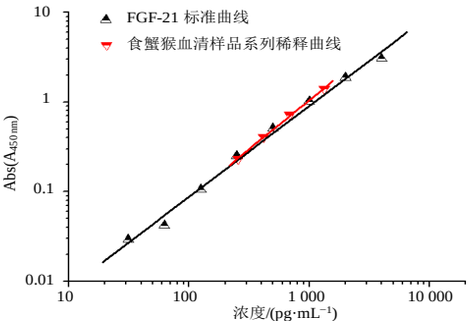

图1 FGF-21标准曲线与受试动物血清样品系列稀释制备曲线的平行性比较

Fig. 1 Comparison of parallelism between standard curve and serial dilution preparation curve of serum samples

2.4.9 稳定性试验 采用食蟹猴空白血清分别配制FGF-21低、高浓度样品，即0.8、32 ng/mL。考察FGF-21在−20 ℃储存1 d、4 ℃储存1 d、室温（22～26 ℃）储存3 h、经历3次冷冻-解冻循环和−20 ℃储存60 d 5种条件下的稳定性。测定即日，以Assay buffer稀释10倍后测定。本研究结果表明，QC样品测定的准确度（RE）在−10.3%～8.1%（表3）。提示FGF-21在上述保存条件下稳定。

表3 ELISA法测定不同保存条件下FGF-21稳定性（$\bar{x}$±s，n=5）

Table 3 Determination of FGF-21stability under different storage conditions by ELISA（$\bar{x}$±s，n=5）

样品保存条件	HQC（3200 pg/mL）		LQC（80 pg/mL）	
	测定值/(pg·mL^{-1})	RE/%	测定值/(pg·mL^{-1})	RE/%
室温，3 h	3 083.9±219.2	−3.6	83.2±2.7	4.0
4 ℃，1 d	2 900.0±113.3	−9.4	83.3±3.0	4.2
−20 ℃，1 d	2 977.1±171.4	−7.0	80.9±6.1	1.1
−20 ℃，60 d	3 114.3±218.8	−2.7	78.2±4.1	−2.2
3次冻融循环	2 871.8±51.8	−10.3	86.5±3.1	8.1

以上方法学确证结果表明，其最低需求稀释度（MRD）、标准曲线和定量范围、特异性、选择性、精密度和准确度、稀释线性、平行性、稳定性等试验，经方法学验证均符合生物样品定量分析方法验证指导原则中有关配体结合分析的技术要求[7]。

2.5 食蟹猴血清中FGF-21浓度的测定

药物浓度A值＝A测定值－A测定值（0 h）

单次给药：食蟹猴单次sc低、中和高3个剂量FGF-21后，药物吸收较快，并在1～4 h内维持一较高的浓度范围，随时间延长血药浓度逐渐下降，12 h的平均血药浓度约降至最高浓度（约3 h）的1/25～1/10，24 h已降至最高浓度的1/294～1/95，48 h各剂量组已有部分动物的血药浓度低于LLOQ或给药前水平，均值降至最高浓度的1/2 140～1/275。各时间点的血药浓度与剂量呈正相关（图2）。

多次给药：食蟹猴多次sc FGF-21中剂量（300 μg/kg）后，与单次给药相比，在相同时间点所测定的

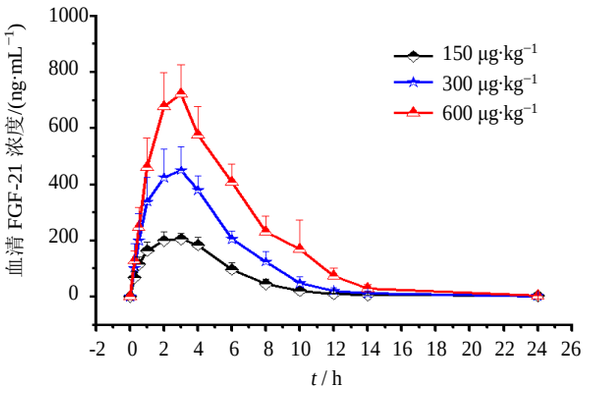

图2 食蟹猴单次sc FGF-21 150、300和600 μg/kg后的平均血药浓度-时间曲线（$\bar{x}$±s，n=6）

Fig. 2 Mean serum concentration-time curves of FGF-21 in cynomolgus monkey after administration of the single subcutaneous dose of 150, 300 and 600 μg/kg FGF-21（$\bar{x}$±s，n=6）

血药浓度值基本相同，且血药浓度变化趋势与单次给药相近，未见药物明显蓄积（图3）。在末次给药（第7次）的前3次（R4、R5和R6）检测每次给药前（0 h）和给药后（3 h）的血药浓度，发现波峰-波谷3次浓度检测数值较为接近，说明基本达到稳态。

2.6 药动学（PK）参数计算结果分析和药物蓄积评价

单次给药：各剂量组间的达峰时间 t_{max} 较为一致，峰浓度 C_{max} 和药时曲线下面积 $AUC_{(0\text{-}24h)}$、$AUC_{(0\text{-}\infty)}$ 均随给药剂量的增加而增大，C_{max}、$AUC_{(0\text{-}24h)}$ 和 $AUC_{(0\text{-}\infty)}$ 均与剂量呈线性相关。各剂量组的消除半衰期 $t_{1/2z}$、清除率CLz和表观分布容积 V_z 均较为一致，无明显的剂量相关性，结果见表4。

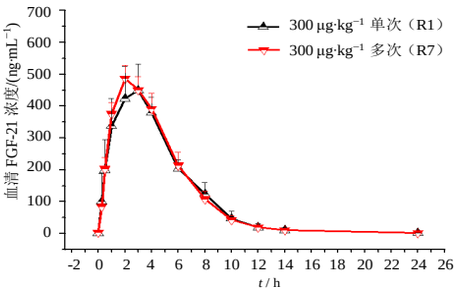

图3 食蟹猴单次/多次sc FGF-21中剂量（300 μg/kg）后的平均血药浓度-时间曲线（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Fig. 3 Mean serum concentration-time curves of FGF-21 in cynomolgus monkey after the single administration and multiple administrations (300 μg/kg) ($\bar{x}\pm s$, n=6)

表4 食蟹猴单次sc不同剂量FGF-21后的主要药动学参数（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Table 4 Pharmacokinetic parameters of FGF-21 in cynomolgus monkey in each dose groups ($\bar{x}\pm s$, n=6)

药动学参数	单位	FGF-21剂量/(μg·kg⁻¹)		
		150	300	600
$AUC_{(0\text{-}24h)}$	μg·h·L⁻¹	1 234.9±159.6	2 656.7±142.2	4 678.5±595.5
$AUC_{(0\text{-}\infty)}$	μg·h·L⁻¹	1 235.3±159.4	2 661.6±138.4	4 685.2±593.5
$R_AUC_{(t/\infty)}$	%	100.0±0.0	99.8±0.3	99.8±0.2
$t_{1/2}$	h	1.9±0.3	2.2±1.0	2.2±0.4
T_{max}	h	2.8±0.8	2.7±0.5	2.7±0.5
V_z/F	L·kg⁻¹	0.341±0.103	0.359±0.174	0.417±0.126
CL_z/F	L·h·kg⁻¹	0.123±0.016	0.113±0.006	0.130±0.018
C_{max}	μg·L⁻¹	209.0±25.4	460.6±94.9	741.5±97.1

单次与多次PK比较：与同剂量单次给药（300 μg/kg）相比，C_{max} 和AUC基本相近，$t_{1/2z}$ 有所延长，但其他主要PK参数（t_{max}、V_z 和 CL_z 等）均较为一致。结果表明，单次与多次给予FGF-21（300 μg/kg）的PK行为特征基本一致结果见表5。

多次给药动物体内药物蓄积评价：蓄积指数95%置信区间的下限（95%*CI*L）均小于1.25（95%*CI*L＜1.25，即无蓄积倾向），R_{AUCt}、R_{AUCi} 和 R_{Cmax} 95% *CI*L分别为0.969、0.970、0.922（结果见表6），表明食蟹猴多次sc FGF-21后，体内药物无蓄积倾向。

表5 食蟹猴单次/多次s.c.FGF-21中剂量（300 μg/kg）后的主要药动学参数（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Table 5 The main pharmacokinetic parameters of FGF-21 in cynomolgus monkey after the single administration and multiple administrations (300 μg/kg) ($\bar{x}\pm s$, n=6)

药动学参数	单位	单次给药	多次给药
$AUC_{(0\text{-}24h)}$	μg·h·L⁻¹	2656.7±142.2	2 746.9±279.1
$AUC_{(0\text{-}\infty)}$	μg·h·L⁻¹	2661.6±138.4	2 753.0±280.7
$t_{1/2z}$	h	2.2±1.0	2.8±1.2*
T_{max}	h	2.7±0.5	2.3±0.5
V_z/F	L·kg⁻¹	0.359±0.174	0.442±0.180
CL_z/F	L·h·kg⁻¹	0.113±0.006	0.110±0.011
C_{max}	μg·L⁻¹	460.6±94.9	498.8±22.8

与单次给药比较：*P＜0.05

*P < 0.05 *vs single administration*

表6 食蟹猴单次/多次sc FGF-21（300 μg/kg）后药物的蓄积指数R（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Table 6 Accumulation index R of FGF-21 in cynomolgus monkeys after the single and multiple administrations（300 μg/kg）（$\bar{x}\pm s$，n=6）

分析指标	药物蓄积指数（R）	95% CI L[a]	95% CI H[b]	RSD/%	结论
$AUC_{(0\text{-}24h)}$	1.033	0.969	1.098	7.8	无蓄积倾向
$AUC_{(0\text{-}\infty)}$	1.034	0.970	1.098	7.7	无蓄积倾向
C_{max}	1.124	0.922	1.327	22.6	无蓄积倾向

[a]：95%置信区间的下限；[b]：95%置信区间的上限

[a]：lower limit of 95% confidence interval；b：upper limit of 95% confidence interval

3 讨论

近来研究发现，有些FGF可能在调节一些内分泌相关组织和器官的功能及多种代谢途径方面起着重要作用[2,8-9]。2000年Nishimura等[10]在小鼠胚胎中发现了FGF家族的一个新成员，即FGF-21。目前已有动物试验表明，FGF-21能促进小鼠3T3-L1细胞和人前体脂肪细胞摄取葡萄糖，降低血糖和三酰甘油水平[2]，改善脂代谢和一些心血管危险因子的水平，而且任何剂量的FGF-21均不会促进有丝分裂、导致低血糖的发生或体质量的增加，同时可提高胰岛素的敏感性[1-2]。总之，FGF-21具有明显的降血糖作用，且起效慢、作用强、持续时间长，并且可以独立调节血糖的细胞因子，有望成为治疗2型糖尿病的备选药物。因此，FGF-21的临床前药代动力学研究与ELISA方法学的建立为药物的临床应用提供了理论依据。

本实验中，最低需求稀释度（MRD）试验结果显示，FGF-21的3条标准曲线r^2均大于0.998 0，样品的准确度（RE%）在−7.4%～5.9%。但相同浓度下食蟹猴空白血清配制的FGF-21标准样品A值明显高于样品稀释液配制的FGF-21样品，表明食蟹猴空白血清对样品测定具有一定影响。但对3种生物基质配制的FGF-21浓度对数（Log C）与吸光度对数（LogAbs）进行线性拟合，三者均成直线相关，采用“标准曲线平行性测定法”检验该3条标准曲线相互平行[6]，提示含50%或10%食蟹猴空白血清配制的FGF-21样品OD值与样品稀释液配制的样品A值相比成比例降低，可用于样品测定。由于50%食蟹猴空白血清配制样品A值本底较高，另考虑检测的灵敏度，因此，选择血清样品稀释10倍作为最低需求稀释度。性别差异分析结果表明，仅低剂量组动物部分PK参数存在性别差异，即$AUC_{0\text{-}t}$、$AUC_{0\text{-}\infty}$、CL_z，其他剂量组在单次或多次给药后均无明显的性别差异，但由于本试验样本量较少（n=3），无法排除个体差异的因素。

参考文献

[1] Kharitonenkov A, Wroblewski V J, Koester A, et al. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21 [J]. Endocrinology, 2007, 148 (2): 774-781.

[2] Kharitonenkov A, Shiyanova T L, Koester A, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator [J]. J Clin Invest, 2005, 115(6): 1627-1635.

[3] Inagaki T, Dutchak P, Zhao G X, et al. Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21 [J]. Cell Metab, 2007, 5(6): 415-425.

[4] Ogawa Y, Kurosu H, Yamamoto M, et al. BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(18): 7432-7437.

[5] Human FGF-21 Immunoassay Kit (Cat. # 31180) Version: 2.0. 香港大学研发.

[6] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 217-218.

[7] Guideline on bioanalytical method validation [J]. 药物评价研究, 2012, 35(5): 396-398.

[8] 张 健, 李婷婷, 唐 禄, 等. 重组人成纤维细胞生长因子21降糖作用研究 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(5): 632-636.

[9] Itoh N, Ornitz D M. Evolution of the fgf and fgfr gene families [J]. Trends Genet, 2004, 20(11): 563-569.

[10] Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, et al. Identification of a novel FGF, FGF -21, preferentially expressed in the liver [J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1492(1): 203-206.