

注射用酒石酸长春瑞滨胶束对中枢神经、消化、心血管和呼吸系统的安全药理学研究

刘艳菊^{1,2}, 胡雷^{1,2*}, 钟飞¹, 葛鹏¹, 兰天龙¹, 徐德璐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 研究注射用酒石酸长春瑞滨胶束(NVB-m)对实验动物中枢神经系统、消化系统、心血管和呼吸系统的影响,从而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 ①ICR小鼠随机分为对照组、空白胶束组、地西洋(阳性对照, 3 mg/kg)组及NVB-m 4、8、16 mg/m²组和注射用酒石酸长春瑞滨(NVB) 16 mg/m²组,单次静脉推注给药,通过小鼠自主活动次数试验、转棒试验、协同睡眠试验分别对动物的运动功能、协调功能、翻正反射进行定量评价,观察药物对动物中枢神经系统的影响;②ICR小鼠随机分为对照组、空白胶束组、硫酸阿托品(阳性对照, 20 mg/kg)组及NVB-m 4、8、16 mg/m²组和NVB 16 mg/m²组,单次静脉推注给药,通过观察墨汁推进率的变化研究药物对胃肠消化系统的影响;③比格犬随机分为对照组、空白胶束组及NVB-m 4、8和16 mg/m²组和NVB 16 mg/m²组,单次静脉推注给药,多导生理信号记录仪分别在给药前、给药后0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、6.00 h各记录1次心电、血压和呼吸波形,观察药物对动物心血管和呼吸系统的影响。结果 与对照组比较,NVB-m和NVB组小鼠自主活动未见明显变化、平衡运动能力未见明显影响、未见与阈下剂量戊巴比妥钠协同睡眠作用;NVB-m组和NVB组小鼠未见墨汁推进率的明显变化;NVB-m组和NVB组比格犬未见药物相关的心电、血压和呼吸指标的明显变化。结论 单次静脉给予16 mg/m²的NVB-m和NVB,未见药物对实验动物中枢神经系统、消化系统、心血管和呼吸系统产生明显影响,NVB-m与NVB在相同剂量条件下比较,未见明显差异。

关键词: 注射用酒石酸长春瑞滨胶束; 中枢神经系统; 消化系统; 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(2019)07-1334-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.07.014

Safety pharmacology study of vinorelbine tartrate micelle for injection

LIU Yanju^{1,2}, HU Lei^{1,2}, ZHONG Fei¹, GE Peng¹, LAN Tianlong¹, XU Delu¹, ZHOU Boyu¹

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 To research the drug effects on laboratory animals' central nervous system, digestive system, cardiovascular system and respiratory system under the certain dosages thereby observing the potential adverse effects of the drug on physiological functions and providing basis and reference for clinical experiment. **Methods** ① ICR mice were randomly divided into control group, blank micelle group, diazepam (positive control, 3 mg/kg) group, NVB-m 4, 8 and 16 mg/m² group and NVB 16 mg/m² group. Single intravenous injection was administered. The motor function, coordination function and righting reflex of animals were quantitatively evaluated by the number of spontaneous activities test, rod rotation test and synergistic sleep test, and the influence of central nervous system was observed. ② ICR mice were randomly divided into control group, blank micelle group, atropine sulfate (positive control, 20 mg/kg), NVB-m 4, 8 and 16 mg/m² groups and NVB 16 mg/m² groups. The effects of drugs on gastrointestinal digestive system were studied by observing the change of ink propulsion rate. ③ Beagle dogs were randomly divided into control group, blank micelle group, NVB-m 4, 8 and 16 mg/m² group and NVB 16 mg/m² group. Single intravenous injection was given. The ECG, blood pressure and respiratory waveforms were recorded by multi-channel physiological signal recorder before and after administration 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 and 6.00 hours respectively. The effects of drugs on

收稿日期: 2018-10-08

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: 刘艳菊(1986—),女,天津,助理研究员,硕士,研究方向为临床前药物安全性评价。Tel: 15102264435 E-mail: liuyj@tjipr.com

*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。E-mail: hul@tjipr.com

cardiovascular and respiratory system were observed. **Results** No significant changes in spontaneous activities of mice after a single dose of NVB-m and NVB by intravenous injection 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 gastrointestinal propulsive effect of mice after a single dose of NVB-m and NVB by intravenous injection were found. No significant changes in cardiovascular and respiratory system of beagle dog after a single dose of NVB-m and NVB by intravenous injection were found. **Conclusions** A single dose of 16 mg/m² of NVB-m and NVB showed no significant influences on laboratory animals' central nervous system, digestive system, cardiovascular system and respiratory system. No significant difference were showed in the same dose of NVB-m and NVB.

Key words: vinorelbine tartrate micelle for injection; central nervous system; digestive system; cardiovascular system; respiratory system

长春瑞滨是一种半合成的长春花属生物碱, 1974年由法国学者Potier合成^[1], 于1989年在法国首先上市, 主要用于治疗乳腺癌^[2-3]、非小细胞肺癌^[4-6]、晚期卵巢癌、恶性淋巴瘤等^[7]。长春瑞滨同其他细胞毒化疗药物一样, 存在选择性不强、毒副作用大等问题, 严重限制了其在临床上的应用; 而纳米胶束载药系统可以通过被动靶向或主动靶向将药物运输至肿瘤细胞, 从而降低细胞毒药物的毒副作用并提高药物疗效。

在本研究中, 通过给实验动物iv长春瑞滨的纳米胶束制剂, 即注射用酒石酸长春瑞滨胶束(NVB-m)进行安全药理学研究, 以观察NVB-m对小鼠神经、消化系统和比格犬心血管、呼吸系统的影响, 从而发现NVB-m可能关系到人安全性的非期望药理作用, 并比较NVB-m与市售药注射用酒石酸长春瑞滨(NVB)的作用差异。

1 材料

1.1 药物与主要试剂

NVB-m(批号20121220)、注射用酒石酸长春瑞滨空白胶束(批号20131110)、NVB(批号20130101-2), 均由北京德科瑞医药科技有限公司提供, 4℃遮光保存; 地西洋注射液(批号1201071)、硫酸阿托品注射液(批号1207071), 由天津金耀氨基酸有限公司生产; 戊巴比妥钠(批号120505), 由德国默克生产; 阿拉伯树胶(分装批号20130507), 由天津市化学试剂批发公司提供; 印度墨汁(批号20090115), 由国药集团化学试剂有限公司生产。

1.2 实验动物

4~6周龄SPF级ICR小鼠, 140只, 雌雄各半。购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号SCXK(京)2012-0001。采用聚丙烯鼠盒饲养, 每盒5只。饲养房间温度为20~26℃, 湿度为40%~70%, 换气次数不少于15次全新风/小时, 12h明12h暗交替, 自由摄食饮水。

14~20月普通级比格犬, 36只, 雌雄各半, 购自

上海新冈实验动物场, 实验动物许可证号SCXK(沪)2012-0009。采用全封闭观察室单笼饲养, 饲养房间温度为16~26℃, 湿度为40%~70%, 换气次数8~10次/h全新风, 12h明12h暗交替, 自由摄食饮水。

1.3 主要仪器

JZZ98-CM自主活动仪(中国医学科学院药物研究所); YLS-4C转棒式疲劳仪(安徽淮北正华生物仪器设备有限公司); 多导生理信号记录仪MP150(BIOPAC)。

2 方法

2.1 中枢神经系统

实验设7个组, 每组10只小鼠, 雌雄各半, 分别为对照组、空白胶束组、地西洋(阳性对照, 3 mg/kg)组及NVB-m 4、8、16 mg/m²组和NVB 16 mg/m²组, NVB-m分别为人临床拟用剂量30 mg/m²的0.13、0.27和0.53倍, 剂量根据前期实验结果及指导原则^[8]设定, 单次静脉推注给药。对照组给予0.9%氯化钠注射液。

同只动物给药后首先进行自主活动实验, 然后进行平衡协调实验, 最后进行协同睡眠实验。各组动物给药后25 min放入自主活动测定仪中, 适应5 min, 给药后30 min开始计数, 测定5 min内的动物自主活动数; 给药后37 min, 放入转棒式疲劳仪上适应3 min, 给药后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次以上记录为阳性; 给药后45 min ip给予阈下催眠剂量24 mg/kg的戊巴比妥钠溶液, 记录15 min内翻正反射消失达1 min以上的入睡动物数。

2.2 消化系统

实验设7个组, 每组10只小鼠, 雌雄各半, 分别为对照组、空白胶束组、硫酸阿托品(阳性对照, 20 mg/kg)组及NVB-m 4、8、16 mg/m²组和NVB 16 mg/m²组, 静脉推注给药。对照组给予0.9%氯化钠注射液。

各组动物给药后30 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。

墨汁推进率=墨汁推进长度/肠全长

2.3 心血管和呼吸系统

实验设6个组,分别为对照组、空白胶束组及NVB-m 4、8、16 mg/m²组和NVB 16 mg/m²组,静脉推注给药。对照组给予0.9%氯化钠注射液。

比格犬麻醉后,自一侧下肢动脉插入动脉插管,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。将心电正极接在左下肢,将负极接在右上肢,地线接在右下肢。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。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,将呼吸换能器与呼吸放大器连接。分别在给药前、给药后0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 h各记录1次心电、血压和呼吸波形。

2.4 统计学分析

应用SPSS 23.0统计软件进行数据统计,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析(one-way ANOVA);二分类或多分类的资料选择 χ^2 检验。

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 与对照组比较,地西洋组小鼠给药后活动减少,自主活动数显著降低($P < 0.01$);空白胶束组、NVB-m 4、8和16 mg/m²剂量组及NVB 16 mg/m²剂量组小鼠活动均未见异常,未出现行动迟缓、活动不协调等反应,自主活动次数与对照组比较均无统计学差异,NVB-m 16 mg/m²剂量组自主活动次数与NVB组比较未见统计学差异。见表1。

3.1.2 小鼠转棒试验 与对照组比较,地西洋组小鼠给药后阳性反应动物数显著增多($P < 0.01$),动物平衡运动能力明显下降;空白胶束组、NVB-m 4、8和16 mg/m²剂量组及NVB 16 mg/m²剂量组小鼠与对照组比较无统计学差异,NVB-m 16 mg/m²剂量组阳性动物数与NVB组比较未见统计学差异。见表2。

3.1.3 小鼠戊巴比妥钠阈下协同睡眠试验 与对照组比较,地西洋组小鼠给药后睡眠动物数明显增加($P < 0.01$),表明小鼠给予阳性药地西洋后与阈下

剂量戊巴比妥钠有协同睡眠作用;空白胶束组、NVB-m 4、8和16 mg/m²剂量组及NVB 16 mg/m²剂量组小鼠与对照组比较无统计学差异,NVB-m 16 mg/m²剂量组睡眠动物数与NVB组比较未见统计学差异。见表3。

表1 NVB-m对小鼠自主活动的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of NVB-m on spontaneous activities of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	自主活动次数
对照	—	516.4±150.8
空白胶束	—	538.4±147.2
地西洋	3 mg·kg ⁻¹	141.1±98.8**
NVB-m	4 mg·m ⁻²	484.1±171.1
	8 mg·m ⁻²	535.3±164.8
	16 mg·m ⁻²	546.7±123.9
NVB	16 mg·m ⁻²	544.5±99.0

与对照组比较:** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

表2 NVB-m对小鼠平衡协调能力的影响

Table 2 Effect of NVB-m on balance and exercise abilities activities of mice

组别	剂量	阴性动物数	阳性动物数	阳性率/%
对照	—	10	0	0
空白胶束	—	10	0	0
地西洋	3 mg·kg ⁻¹	2	8	80**
NVB-m	4 mg·m ⁻²	9	1	10
	8 mg·m ⁻²	9	1	10
	16 mg·m ⁻²	10	0	0
NVB	16 mg·m ⁻²	10	0	0

与对照组比较:** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

表3 NVB-m对小鼠协同睡眠的影响

Table 3 Effect of NVB-m on cooperative sleep of mice

组别	剂量	阴性动物数	阳性动物数	阳性率/%
对照	—	10	0	0
空白胶束	—	9	1	10
地西洋	3 mg·kg ⁻¹	1	9	90**
NVB-m	4 mg·m ⁻²	9	1	10
	8 mg·m ⁻²	9	1	10
	16 mg·m ⁻²	10	0	0
NVB	16 mg·m ⁻²	9	1	10

与对照组比较:** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

3.2 对小鼠消化系统的影响

与对照组比较,硫酸阿托品组小鼠给药后墨汁推进率明显减少($P<0.01$),表明小鼠给予阳性药阿托品后胃肠推进速度明显下降;空白胶束组、NVB-m 4、8、16 mg/m²剂量组及NVB 16 mg/m²剂量组小鼠墨汁推进率与对照组比较无统计学意义,NVB-m 16 mg/m²剂量组墨汁推进率与NVB组比较未见统计学差异。见表4。

3.3 对比格犬心血管和呼吸系统的影响

3.3.1 对心电指标的影响 与对照组比较,NVB-m 16 mg/m²剂量组、NVB组动物药后4.0 h时P波电压显著升高($P<0.05$),由于两组动物与给药前的P波电压值比较均未见统计学差异,且在正常值范围内,故分析认为该影响为动物正常生理波动所致,非药物作用;NVB-m 16 mg/m²剂量组与NVB组比较,给药后0.5、4.0 h时P-R间期显著缩短($P<0.05$),由于两组动物P-R间期从数据上看给药前后自身变化均很小,并且与对照组比较均无显著性差异,故分析认为该影响为动物个体差异所致,非药物作用,其余指标

表4 NVB-m对小鼠胃肠推进的影响($\bar{X} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of NVB-m on gastrointestinal propulsive effect of mice ($\bar{X} \pm s, n=10$)

组别	剂量	墨汁推进率/%
对照	—	66.25±8.87
空白胶束	—	68.69±5.72
硫酸阿托品	20 mg·kg ⁻¹	31.23±9.14**
NVB-m	4 mg·m ⁻²	60.74±15.54
	8 mg·m ⁻²	64.08±10.46
	16 mg·m ⁻²	66.64±7.26
NVB	16 mg·m ⁻²	63.13±12.80

与对照组比较:** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group

两组动物未见明显差异。结果见表5~12。

3.3.2 对血压指标的影响 与对照组比较,仅见NVB-m 4 mg/m²剂量组动物药后4.0 h时收缩压明显升高($P<0.05$),由于无明显量效相关性,故分析认为该影响为动物正常生理波动所致,非药物作用,其余各组未见明显差异,NVB-m 16 mg/m²剂量组血压指标与NVB组比较未见统计学差异。见表13~15。

表5 NVB-m对比格犬心率的影响($\bar{X} \pm s, n=6$)

Table 5 Effect of NVB-m on HR of beagle dog ($\bar{X} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	心率/(次·min ⁻¹)						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	155.911±23.881	152.417±26.180	142.212±21.415	141.807±23.051	141.755±30.272	143.331±21.076	148.281±32.282
空白胶束	—	176.655±31.854	163.016±30.977	160.441±35.465	164.100±32.959	163.972±30.552	164.509±37.782	166.584±34.098
NVB-m	4	152.205±11.481	140.729±21.136	141.876±28.727	142.026±29.158	146.480±24.611	158.334±20.954	159.208±25.451
	8	170.338±19.539	162.202±26.507	160.095±27.794	160.308±29.988	167.511±32.712	160.227±35.022	172.833±35.985
	16	155.559±22.954	149.079±23.237	151.378±22.933	154.446±28.622	160.099±33.601	167.334±30.503	168.460±35.433
NVB	16	157.292±30.763	147.954±15.113	145.785±17.638	145.439±18.450	143.576±23.119	150.487±30.692	148.196±41.520

表6 NVB-m对比格犬P波的影响($\bar{X} \pm s, n=6$)

Table 6 Effect of NVB-m on P wave of beagle dog ($\bar{X} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	P波/s						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	0.172±0.038	0.170±0.029	0.164±0.035	0.166±0.035	0.172±0.042	0.179±0.031	0.179±0.052
空白胶束	—	0.179±0.032	0.178±0.037	0.180±0.041	0.181±0.033	0.177±0.037	0.187±0.043	0.191±0.051
NVB-m	4	0.185±0.050	0.174±0.058	0.181±0.067	0.176±0.061	0.181±0.059	0.187±0.046	0.179±0.052
	8	0.190±0.044	0.187±0.048	0.194±0.051	0.193±0.054	0.202±0.052	0.206±0.047	0.215±0.068
	16	0.201±0.039	0.189±0.041	0.180±0.064	0.192±0.069	0.205±0.070	0.233±0.047*	0.234±0.044
NVB	16	0.199±0.026	0.193±0.027	0.192±0.028	0.193±0.024	0.192±0.025	0.219±0.025*	0.200±0.035

与对照组比较:* $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group

表7 NVB-m对比格犬R波的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 7 Effect of NVB-m on R wave of beagle dog($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	R波/s						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	1.020±0.164	1.022±0.223	1.077±0.235	1.076±0.237	1.083±0.269	1.068±0.264	1.069±0.258
空白胶束	—	0.877±0.243	0.922±0.286	0.945±0.283	0.915±0.294	0.901±0.303	0.959±0.275	0.923±0.299
NVB-m	4	1.136±0.283	1.104±0.269	1.100±0.256	1.094±0.260	1.107±0.239	1.067±0.251	1.107±0.244
	8	0.999±0.426	1.097±0.385	1.103±0.395	1.089±0.401	0.894±0.582	1.052±0.427	1.033±0.409
	16	1.061±0.168	1.112±0.158	1.120±0.180	1.121±0.205	1.134±0.211	1.073±0.216	1.059±0.237
NVB	16	0.903±0.171	0.964±0.210	0.976±0.212	0.961±0.215	0.948±0.208	1.022±0.215	0.959±0.186

表8 NVB-m对比格犬S-T段的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 8 Effect of NVB-m on ST segment of beagle dog($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	S-T段/mV						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	0.046±0.005	0.045±0.004	0.048±0.004	0.047±0.004	0.047±0.004	0.046±0.005	0.047±0.005
空白胶束	—	0.046±0.011	0.044±0.007	0.045±0.006	0.046±0.007	0.045±0.007	0.044±0.007	0.043±0.009
NVB-m	4	0.055±0.015	0.055±0.015	0.053±0.015	0.055±0.015	0.053±0.015	0.053±0.010	0.052±0.011
	8	0.046±0.007	0.046±0.008	0.046±0.006	0.045±0.005	0.047±0.006	0.046±0.006	0.046±0.006
	16	0.049±0.007	0.048±0.006	0.048±0.006	0.049±0.007	0.050±0.006	0.049±0.006	0.049±0.006
NVB	16	0.049±0.011	0.046±0.010	0.048±0.011	0.046±0.009	0.048±0.009	0.046±0.007	0.047±0.008

表9 NVB-m对比格犬P-R间期的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 9 Effect of NVB-m on P-R interval of beagle dog($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	P-R间期/s						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	0.097±0.010	0.098±0.012	0.102±0.011	0.101±0.012	0.104±0.017	0.099±0.010	0.096±0.010
空白胶束	—	0.090±0.011	0.097±0.014	0.098±0.012	0.096±0.011	0.095±0.012	0.093±0.010	0.093±0.009
NVB-m	4	0.099±0.006	0.103±0.010	0.103±0.013	0.100±0.012	0.097±0.007	0.091±0.007	0.095±0.008
	8	0.102±0.009	0.105±0.015	0.104±0.013	0.105±0.013	0.102±0.010	0.105±0.011	0.097±0.009
	16	0.093±0.011	0.095±0.011	0.093±0.011 [△]	0.094±0.010	0.091±0.011	0.090±0.009 [△]	0.090±0.010
NVB	16	0.102±0.013	0.106±0.011	0.107±0.011	0.104±0.012	0.107±0.015	0.107±0.010	0.105±0.016

与NVB组比较: $\triangle P < 0.05$.[△] $P < 0.05$ vs NVB group表10 NVB-m对比格犬QRS波群的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 10 Effect of NVB-m on QRS complex of beagle dog($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	QRS波群/s						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	0.078±0.005	0.080±0.004	0.082±0.005	0.080±0.004	0.081±0.006	0.079±0.003	0.081±0.005
空白胶束	—	0.075±0.003	0.077±0.004	0.079±0.004	0.077±0.002	0.078±0.004	0.078±0.006	0.076±0.007
NVB-m	4	0.076±0.007	0.078±0.005	0.079±0.006	0.078±0.006	0.078±0.004	0.077±0.006	0.076±0.004
	8	0.075±0.007	0.078±0.007	0.076±0.006	0.076±0.005	0.076±0.006	0.078±0.006	0.075±0.005
	16	0.076±0.001	0.078±0.002	0.079±0.003	0.078±0.005	0.076±0.003	0.075±0.003	0.076±0.004
NVB	16	0.078±0.006	0.078±0.006	0.077±0.006	0.077±0.005	0.078±0.006	0.077±0.005	0.078±0.005

表11 NVB-m对比格犬Q-T间期的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 11 Effect of NVB-m on QT interval of beagle dog ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	Q-T 间期/s						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	0.237±0.018	0.247±0.019	0.257±0.023	0.258±0.018	0.260±0.028	0.250±0.018	0.251±0.025
空白胶束	—	0.220±0.024	0.236±0.026	0.231±0.032	0.236±0.030	0.236±0.026	0.230±0.038	0.228±0.040
NVB-m	4	0.251±0.017	0.260±0.025	0.257±0.037	0.254±0.032	0.248±0.023	0.237±0.023	0.247±0.037
	8	0.229±0.024	0.247±0.035	0.240±0.031	0.241±0.036	0.236±0.037	0.244±0.044	0.235±0.044
	16	0.237±0.016	0.246±0.023	0.243±0.024	0.242±0.025	0.240±0.028	0.233±0.025	0.230±0.031
NVB	16	0.248±0.032	0.253±0.021	0.258±0.018	0.255±0.021	0.266±0.034	0.253±0.041	0.263±0.058

表12 NVB-m对比格犬QTc间期的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 12 Effect of NVB-m on QTc interval of beagle dog ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	QTc 间期/s						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	0.379±0.014	0.390±0.010	0.394±0.029	0.394±0.019	0.394±0.026	0.385±0.017	0.389±0.014
空白胶束	—	0.374±0.013	0.384±0.016	0.371±0.020	0.385±0.023	0.386±0.013	0.373±0.024	0.373±0.038
NVB-m	4	0.399±0.023	0.396±0.023	0.389±0.030	0.386±0.022	0.384±0.017	0.382±0.022	0.397±0.026
	8	0.383±0.022	0.401±0.025	0.387±0.022	0.388±0.022	0.387±0.019	0.391±0.025	0.390±0.027
	16	0.379±0.016	0.384±0.017	0.383±0.018	0.384±0.014	0.387±0.019	0.385±0.019	0.379±0.022
NVB	16	0.395±0.022	0.396±0.023	0.400±0.018	0.395±0.012	0.406±0.025	0.393±0.028	0.399±0.041

表13 NVB-m对比格犬收缩压的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 13 Effect of NVB-m on systolic blood press of beagle dog ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	收缩压/mmHg						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	152.909±15.153	153.217±23.441	153.566±22.526	167.424±17.432	166.577±19.439	172.840±14.831	174.507±14.287
空白胶束	—	163.431±28.452	166.214±26.219	171.685±32.097	177.668±20.741	179.673±20.285	184.460±18.460	186.667±18.017
NVB-m	4	163.073±8.594	169.190±14.894	170.695±13.587	181.127±13.997	184.246±10.626	191.821±5.707*	179.138±10.800
	8	156.015±12.485	163.896±12.701	167.393±10.195	168.305±8.344	173.132±12.583	178.766±12.232	183.165±11.208
	16	152.774±17.471	157.746±17.223	167.232±16.668	169.404±16.242	176.722±17.280	177.361±10.036	176.059±11.709
NVB	16	170.032±18.104	178.703±19.201	179.287±20.913	180.754±21.406	184.549±22.551	184.325±17.742	185.080±15.578

与对照组比较: * $P < 0.05$ (1 mmHg=0.133 kPa)* $P < 0.05$ vs control group (1 mmHg=0.133 kPa)

3.3.3 对呼吸指标的影响 与对照组比较,空白胶束组、NVB-m 4、8和16 mg/m²剂量组及NVB 16 mg/m²剂量组各时间点的呼吸频率和呼吸幅度均无统计学差异,NVB-m 16 mg/m²剂量组呼吸指标与NVB组比较未见统计学差异。见表16~17。

4 讨论

长春瑞滨属细胞周期特异性药物,主要作用于

肿瘤细胞G₂期(DNA合成后期),作用原理就是通过抑制微管形成和诱导微管的解聚,使肿瘤细胞的分裂增殖停止于有丝分裂中期,从而起到抗肿瘤的作用^[9-10],目前主要用于治疗非小细胞肺癌、乳腺癌等恶性肿瘤。然而长春瑞滨存在着较严重的毒副作用,限制了其在临床上的广泛应用。临床前评价研究提示,长春瑞滨对大鼠具有免疫和造血系统毒

表 14 NVB-m对比格犬舒张压的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 14 Effect of NVB-m on diastolic blood press of beagle dog ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	舒张压/mmHg						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	98.261±10.544	99.084±17.852	99.316±17.217	107.284±13.580	106.226±13.883	109.841±9.305	109.243±8.939
空白胶束	—	100.426±16.973	100.370±13.778	101.754±13.402	108.680±9.611	110.993±9.197	114.481±14.761	117.817±9.937
NVB-m	4	101.903±7.147	106.984±12.848	103.959±10.560	108.439±10.263	108.902±8.604	114.578±4.279	109.254±8.271
	8	95.711±7.347	106.757±5.072	110.224±3.871	112.942±6.325	111.227±9.620	116.424±7.434	116.672±6.759
	16	98.332±8.377	105.782±14.242	113.263±14.765	113.469±14.630	115.879±12.533	116.842±9.401	115.270±9.490
NVB	16	102.545±14.563	115.826±14.570	117.376±13.806	118.020±14.224	119.256±15.902	117.035±11.517	113.421±10.186

表 15 NVB-m对比格犬平均动脉压的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 15 Effect of NVB-m on MAP of beagle dog ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	平均动脉压/mmHg						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	116.477±11.769	117.128±19.578	117.400±18.819	127.331±14.412	126.343±15.323	130.840±9.530	130.997±9.537
空白胶束	—	121.428±20.281	122.318±17.261	125.064±18.873	131.676±12.697	133.886±12.303	137.808±15.542	140.767±11.744
NVB-m	4	122.293±7.576	127.719±13.359	126.204±11.415	132.668±11.373	134.017±9.033	140.326±4.462	132.548±8.818
	8	115.813±9.028	125.803±7.535	129.280±5.747	131.396±6.778	131.862±10.135	137.205±8.335	138.836±7.791
	16	116.479±11.286	123.104±14.939	131.253±15.168	132.114±14.934	136.160±13.554	137.015±9.293	135.533±10.051
NVB	16	125.041±14.713	136.785±15.836	138.013±15.863	138.931±16.343	141.020±17.763	139.465±13.572	137.308±11.412

表 16 NVB-m对比格犬呼吸频率的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 16 The effect of NVB-m on respiratory rate of beagle dog ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	呼吸频率/(次·min ⁻¹)						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	10.245±4.255	12.916±5.500	11.973±5.449	10.191±3.934	11.878±5.531	12.487±6.107	12.910±7.054
空白胶束	—	12.746±7.135	16.441±11.628	19.007±16.796	18.025±12.535	18.308±11.103	18.517±16.176	17.291±12.819
NVB-m	4	10.265±3.865	11.367±5.230	13.868±10.575	12.606±7.299	14.178±9.026	13.495±6.829	14.214±6.878
	8	8.310±1.167	9.431±2.177	9.490±2.971	10.834±3.309	11.015±4.470	10.126±3.933	10.864±3.955
	16	9.427±5.289	10.476±5.743	11.211±6.855	12.590±9.443	15.499±12.047	13.789±10.499	13.326±9.642
NVB	16	15.602±11.366	14.388±7.489	14.226±7.084	13.484±5.909	14.181±5.669	13.916±7.042	13.545±5.206

表 17 NVB-m对比格犬呼吸幅度的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 17 Effect of NVB-m on respiratory amplitude of beagle dog ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg· m ⁻²)	呼吸幅度/%						
		0	0.25 h	0.50 h	1.00 h	2.00 h	4.00 h	6.00 h
对照	—	2.023±1.616	1.702±0.959	1.718±1.021	1.839±1.019	2.103±1.058	2.579±1.556	2.876±1.863
空白胶束	—	3.488±2.438	3.486±2.385	3.496±2.234	4.524±3.312	5.118±3.425	4.757±2.682	5.143±2.783
NVB-m	4	2.975±1.772	3.067±1.680	2.867±1.777	3.140±2.052	3.146±2.189	3.682±2.449	3.201±1.665
	8	3.091±2.192	3.443±2.768	3.735±2.773	3.857±2.728	4.087±2.537	3.901±2.361	4.240±2.805
	16	1.141±1.333	1.032±1.009	1.064±0.788	1.135±0.785	1.490±1.446	1.695±1.117	1.692±1.019
NVB	16	2.088±1.441	2.015±1.494	2.099±1.398	1.851±1.367	1.796±1.248	1.678±0.874	3.456±3.048

性,表现为胸腺萎缩和骨髓造血抑制^[11];临床毒副作用表现为神经毒性、骨髓抑制、胃肠道反应、脱发、急性或亚急性肺部并发症^[12]和注射部位药液外渗所致的静脉炎^[13]等。

近些年来,开发纳米药物载体被视为减少化疗药物毒副作用、增强药物靶向性的重要手段。有学者以聚乙二醇衍生化磷脂(PEG-PE)为辅料将长春瑞滨构建成纳米胶束制剂,研究证实长春瑞滨纳米胶束的消除半衰期和血药浓度-时间曲线下面积均小于普通制剂,并且具有更高的清除率^[14],这些药代动力学特性的改变有利于长春瑞滨疗效的增加和毒性的降低。

在前期研究中发现,NVB-m 20 mg/m²为大鼠最大耐受剂量,出现明显毒性作用,比格犬单次给予24 mg/m²的NVB-m后有动物死亡情况出现,给予12 mg/m²后出现药物毒性作用,这说明NVB-m安全范围较窄。指导原则规定^[8]安全药理试验高剂量为可能产生轻微毒性反应的剂量,因此在本研究中小鼠和犬的最高剂量均设置为16 mg/m²。研究结果显示,单次静脉给予16 mg/m²的NVB-m和NVB,未见药物对小鼠中枢神经系统和消化系统产生明显影响,同时也未见药物对比格犬心血管和呼吸系统产生明显影响,并且NVB-m与NVB比较未见明显差异。

由于本研究开展时间较早,因此在实验设计中还存在一些不足之处。本研究中枢神经系统试验通过小鼠自主活动次数、转棒试验、协同睡眠试验分别对动物的运动功能、协调功能、翻正反射进行定量评价,符合当时安全药理学研究指导原则的要求,然而用目前实验设计理念来看,检测时间点过少,仅对药物达峰时间点附近的动物神经系统指标进行评价,未能对药物起效、消除过程中动物神经系统的影响进行完整观察。而心血管和呼吸系统试验尽管进行了多个时间点的检测,较为全面地观察了药物对比格犬心血管和呼吸系统指标的影响,但是细胞毒类抗肿瘤药物容易蓄积于代谢旺盛的组织,毒性作用的暴露具有延迟性,因此在安全药理试验中单次给药未必能充分暴露药物的不良反应,在后续研究中可以考虑增加给药次数,甚至将指标检测结合到长期毒性试验中进行,这样既可以

满足药物暴露量又可以减少动物使用量,更加符合动物福利“3R”原则,同时也能降低研发成本。

参考文献

- [1] Pofier P, Langlois N, Langolis Y, et al. Partial synthesis of vinblastine-type alkaloids [J]. J Chem Soc, Chem Commun, 1975, (16): 670-671.
- [2] 王亚秋, 王留兴, 樊青霞, 等. 长春瑞滨为主的联合方案治疗晚期乳腺癌临床疗效观察 [J]. 实用肿瘤杂志, 2010, 25(3): 337-341.
- [3] 靳鹏, 屈淑贤, 谢晓冬, 等. 长春瑞滨联合顺铂对晚期乳腺癌的疗效评价 [J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(1): 89-90.
- [4] 李钧, 赵慰冲, 孙玉萍, 等. 长春瑞滨联合顺铂治疗晚期非小细胞肺癌疗效观察 [J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12(16): 1277-1278.
- [5] Jones S F, Burris H A. Vinorelbine: a new antineoplastic drug for the treatment of non-small-cell lung cancer [J]. Ann Pharmacother, 1996, 30(5): 501-506.
- [6] Crawford J. Update: vinorelbine (navelbine) in non-small cell lung cancer [J]. Semin Oncol, 1996, 23(2 Suppl 5): 2-7.
- [7] Zhou X J, Rahmani R. Preclinical and clinical pharmacology of vinca alkaloids [J]. Drugs, 1992, 44 (Suppl 4): 1-16.
- [8] 细胞毒类抗肿瘤药物非临床研究技术指导原则 [S]. 2006.
- [9] Lobert S, Vulevic B, Correia J J. Interaction of vinca alkaloids with tubulin: a comparison of vinblastine, vincristine, and vinorelbine [J]. Biochemistry, 1996, 35 (21): 6806-6814.
- [10] Okouneva T, Hill B T, Wilson L, et al. The effects of vinflunine, vinorelbine, and vinblastine on centromere dynamics [J]. Mol Cancer Ther, 2003, 2(5): 427-436.
- [11] 裴天仙, 王晶晶, 滕晋莹, 等. 酒石酸长春瑞滨对大鼠免疫和造血系统的长期毒性作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(4): 562-567.
- [12] 马金兰, 杨郡, 刘毅, 等. 长春瑞滨临床不良反应分析 [J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(13): 3272-3273.
- [13] 张玲芳, 樊爱东, 陆婷, 等. 对长春瑞滨致外周静脉炎防治的临床观察 [J]. 实用临床医药杂志, 2009, 5(12): 7-8.
- [14] 程铁峰. 长春瑞滨纳米胶束药代动力学研究 [D]. 开封: 河南大学, 2009.