

# 中毒剂量与治疗剂量克仑特罗在兔体内的药动学研究

陈一农,张吟,郑兴中,颜文祝(福建医科大学附属第二医院,福建 泉州 362000)

**摘要:**目的 研究克仑特罗在引起不良反应的大剂量下兔体内的药动学,探讨中毒剂量与治疗剂量的药动学参数存在的差异。方法 新西兰兔单剂量灌胃(ig)中毒剂量( $150\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )与治疗剂量( $5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )的盐酸克仑特罗溶液,采用酶标免疫分析(ELISA)测定不同时间的血浆药物浓度。两组试验数据采用3P97程序拟合处理,求得不同剂量的药动学参数。结果 两组剂量的浓度-时间曲线均符合一室开放模型。中毒剂量与治疗剂量的 $Ke$ 分别为( $0.39\pm0.08$ ) $\text{h}^{-1}$ 和( $0.18\pm0.07$ ) $\text{h}^{-1}$ ;  $t_{1/2(\text{ke})}$ 分别为( $1.82\pm0.34$ )h和( $4.30\pm1.61$ )h;  $t_{1/2(\text{ka})}$ 分别为( $0.67\pm0.28$ )h和( $1.05\pm0.28$ )h;  $t_{(\text{max})}$ 分别为( $1.48\pm0.39$ )h和( $2.70\pm0.22$ )h;  $C_{\text{max}}$ 分别为( $71.37\pm37.76$ ) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和( $1.56\pm0.98$ ) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; AUC分别为( $310.28\pm115.00$ ) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和( $14.28\pm7.22$ ) $\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; MRT分别为( $3.74\pm0.51$ )h和( $8.82\pm2.78$ )h。结论 两组剂量在 $Ke$ ( $P<0.01$ ),  $t_{1/2(\text{ka})}$ ( $P<0.05$ ),  $t_{1/2(\text{ke})}$ ( $P<0.05$ ),  $t_{\text{max}}$ ( $P<0.01$ ), MRT( $P<0.01$ )等存在显著差异;  $C_{\text{max}}$ , AUC随剂量增加而增加,  $C_{\text{max}}/D_0$ 、

AUC/ $D_0$ 无显著性差异 ( $P > 0.05$ ),为临床抢救中毒病人提供参考。

关键词:克仑特罗(瘦肉精);药动学;中毒剂量;治疗剂量;酶标免疫分析;血浆药物浓度

中图分类号:R971;R969.1

文献标识码:A

文章编号:1007-7693(2005)04-0272-04

## A study on the pharmacokinetics of clenbuterol at toxic and therapeutic dosage in rabbits

CHEN Yi-nong, ZHANG Yin, ZHENG Xing-zhong, YAN Wen-zhu (The Second Affiliated Hospital of Fujian University of Medical Sciences, Quanzhou 362000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the pharmacokinetic parameters of clenbuterol at toxic dosage, to assess its difference of pharmacokinetic parameters between toxic and therapeutic dosages. **METHODS** The new Zealand white rabbits of two groups were given  $150\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  and  $5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  bw of clenbuterol by ig administration respectively. The concentrations of clenbuterol in plasma were determined by ELISA at given times after administration. The data of two groups were processed by 3P97 program to calculate their pharmacokinetic parameters. **RESULTS** The concentration-time profiles of clenbuterol of both dosages were best fitted to one 3-compartment open model. The main pharmacokinetic parameters of toxic ( $150\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and therapeutic ( $5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) dosages were as follows:  $K_e$  was  $0.39 \pm 0.08$ ,  $0.18 \pm 0.07\text{h}^{-1}$ , respectively;  $t_{1/2(ke)}$  was  $1.82 \pm 0.34$ ,  $4.30 \pm 1.61\text{h}$ , respectively;  $t_{1/2(ka)}$  was  $0.67 \pm 0.28$ ,  $1.05 \pm 0.28\text{h}$ , respectively;  $t_{\text{max}}$  was  $(1.48 \pm 0.39)$ ,  $(2.70 \pm 0.22)\text{h}$ , respectively;  $C_{\text{max}}$  was  $71.37 \pm 37.76$ ,  $1.56 \pm 0.98\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectively; AUC was  $310.28 \pm 115.00$ ,  $14.28 \pm 7.22\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectively; MRT was  $3.74 \pm 0.51$ ,  $8.82 \pm 2.78\text{h}$ , respectively. **CONCLUSION** The parameters such as  $K_e$  ( $P < 0.01$ ),  $t_{1/2(ka)}$  ( $P < 0.05$ ),  $t_{1/2(ke)}$  ( $P < 0.05$ ),  $t_{\text{max}}$  ( $P < 0.01$ ), MRT ( $P < 0.01$ ) showed significant difference between two dosages.  $C_{\text{max}}$  and AUC were increased with the dosages.  $C_{\text{max}}/D_0$  and AUC/ $D_0$  didn't show significant difference between two dosages ( $P > 0.05$ ).

**KEY WORDS:** clenbuterol; pharmacokinetics; toxic dosage; therapeutic dosage; ELISA; drug concentration in plasma

克仑特罗(又名瘦肉精、氨哮素, clenbuterol)是一种  $\beta_2$ 受体激动剂,临床上主要用于支气管哮喘。20世纪80年代国内外研究表明,在饲料中添加克仑特罗具有营养再分配作用<sup>[1,2]</sup>,促进动物生长,提高畜禽瘦肉比,但作为饲料添加剂用量大(约为治疗剂量的10倍),它会在动物组织中形成残留,主要残留在肝脏、肺部、眼球中,可通过食物链危害人类健康。近年来国内外发生多起通过食用含克仑特罗的猪肺、猪肝、猪肉的中毒事件。

国外学者在治疗剂量的药动学方面进行了深入的研究<sup>[3]</sup>,但是因食用含克仑特罗残留的动物组织引起的急性中毒,其剂量已大大超过了临床常用剂量,而该剂量下的药动学,以及与治疗剂量的药动学之间可能存在的差异,目前国内外尚未见相关报道。本课题旨在研究在引起毒性反应的大剂量下兔体内的药动学,探讨中毒剂量与治疗剂量的药动学参数存在的差异,为临床克仑特罗中毒病人的诊治提供参考与依据。

### 1 材料

#### 1.1 药物和试剂

盐酸克仑特罗原料药(江苏林海药业有限公司制造分公司赠送,纯度99.0%,批号20020819);克仑特罗试剂盒(德国r-Biopham公司批号04352)。

#### 1.2 仪器

酶标分析仪(芬兰 Labsystems354)

#### 1.3 动物

新西兰兔(上海申旺实验动物养殖场提供,合格证号

22690,普通级)

### 2 方法

#### 2.1 分组与给药

新西兰兔12只,体重( $2.20 \pm 0.08$ )kg,雌雄兼有。动物自由进食、饮水,标准颗粒饲料购自上海申旺实验动物养殖场。于实验前在动物室观察1周动物的行为活动,进食、粪便等均无异常,测定有关生化指标,无异常者入选。

新西兰兔随机分为2组,每组6只,一组ig治疗剂量( $5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )的克仑特罗溶液,另一组ig中毒剂量( $150\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )的克仑特罗溶液,分别于药后15、30min,1、2、3、4、5、6、8、10、12h,静脉采血0.5mL,肝素抗凝后分离血浆,采用酶标免疫分析(ELISA)测定血药浓度。

#### 2.2 克仑特罗血药浓度的测定

采用酶标免疫分析法测定血浆中克仑特罗浓度(另文报道,待发表)。血浆用磷酸二氢钾缓冲液(pH6.0)稀释至合适浓度,直接测定。血浆的平均检测下限为 $0.2\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,克仑特罗在 $0.1$ 、 $0.3$ 、 $0.9$ 、 $2.7$ 、 $8.1\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的RSD分别为3.0%、3.5%、4.0%、0.5%、6.0%,标准曲线的线性范围 $0.1 \sim 8.1\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  ( $r=0.9916$ )。

#### 2.3 药动学模型拟合及参数计算

采用中国药理学学会数学专业委员会3P97软件进行处理。

#### 2.4 统计学处理

数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用t检验,应用SAS统计软件处理。

3 结果

3.1 中毒剂量与治疗剂量的血药浓度和药时曲线

表 1 克仑特罗 ( ig 150μg • kg<sup>-1</sup>)不同时间点的血药浓度 (ng• mL<sup>-1</sup>)

Tab 1 Plasma clenbuterol concentrations ( ng• mL<sup>-1</sup> ) for each rabbit at given times( ig 150μg • kg<sup>-1</sup> )

| 编号 | 0 25h | 0 5h  | 1h     | 2h     | 3h    | 4h    | 5h    | 6h    | 8h    | 10h  | 12h  |
|----|-------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| 1  | 18 98 | 91 57 | 108 10 | 116 96 | 91 59 | 43 51 | 40 53 | 27 08 | 12 70 | 5 67 | 3 73 |
| 2  | 2 89  | 12 40 | 31 85  | 39 99  | 29 07 | 25 63 | 17 48 | 13 89 | 6 17  | 3 91 | 2 26 |
| 3  | 36 36 | 89 11 | 100 81 | 97 07  | 72 72 | 33 79 | 30 57 | 26 56 | 4 90  | 3 29 | 0 83 |
| 4  | 4 33  | 18 39 | 51 97  | 46 80  | 42 30 | 32 63 | 24 64 | 19 40 | 6 43  | 3 12 | 0 94 |
| 5  | 26 39 | 42 60 | 57 85  | 68 29  | 53 52 | 45 57 | 35 82 | 18 48 | 9 37  | 5 46 | 2 72 |
| 6  | 11 26 | 16 93 | 55 43  | 54 27  | 37 94 | 37 59 | 26 21 | 14 45 | 13 69 | 5 35 | 2 44 |
| x  | 16 70 | 45 17 | 67 67  | 70 56  | 54 52 | 36 45 | 29 21 | 19 98 | 8 88  | 4 47 | 2 16 |
| s  | 13 11 | 36 55 | 30 03  | 30 41  | 23 57 | 7 39  | 8 26  | 5 73  | 3 66  | 1 16 | 1 11 |

表 2 克仑特罗 ( ig 5μg • kg<sup>-1</sup>)不同时间点的血药浓度 (ng• mL<sup>-1</sup>)

Tab 2 Plasma clenbuterol concentrations ( ng• mL<sup>-1</sup> ) for each rabbit at given times( ig 5μg • kg<sup>-1</sup> )

| 编号 | 0 25h | 0 5h | 1h   | 2h   | 3h   | 4h   | 5h   | 6h   | 8h   | 10h  | 12h  |
|----|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1  | 0 52  | 0 64 | 1 29 | 2 15 | 1 74 | 1 61 | 1 20 | 1 08 | 0 83 | 0 73 | 0 67 |
| 2  | 0 37  | 0 60 | 1 05 | 2 73 | 2 78 | 2 74 | 1 90 | 2 01 | 0 71 | 0 48 | 0 37 |
| 3  | 1 13  | 1 32 | 2 57 | 5 41 | 4 03 | 3 26 | 2 46 | 2 05 | 1 23 | 0 96 | 0 77 |
| 4  | 0 22  | 0 25 | 0 74 | 1 21 | 1 45 | 0 88 | 0 77 | 0 49 | 0 38 | 0 34 | 0 33 |
| 5  | 0 27  | 0 36 | 0 51 | 1 20 | 1 39 | 1 05 | 1 03 | 0 66 | 0 35 | 0 34 | 0 24 |
| 6  | 0 52  | 0 55 | 0 62 | 0 89 | 1 06 | 0 88 | 0 85 | 0 75 | 0 51 | 0 46 | 0 40 |
| x  | 0 50  | 0 62 | 1 13 | 2 27 | 2 08 | 1 74 | 1 37 | 1 17 | 0 67 | 0 55 | 0 46 |
| s  | 0 33  | 0 37 | 0 76 | 1 69 | 1 12 | 1 03 | 0 67 | 0 69 | 0 33 | 0 24 | 0 21 |

3.2 房室模型的确定

由 3P97软件拟合得中毒剂量组 ( 150μg• kg<sup>-1</sup>)与治剂量组 ( 5μg• kg<sup>-1</sup>)两种剂量均以房室数为 1,权重为 1/c/c 的模型的 AIC值最小且拟合优度值也最小。

3.3 中毒剂量与治疗剂量的药动学参数

经计算机 3P97软件拟合, 分别计算出两种剂量下的药动学参数: A, K<sub>e</sub>, K<sub>a</sub>, t<sub>lag</sub>, t<sub>1/2</sub>(k<sub>a</sub>), t<sub>1/2</sub>(k<sub>e</sub>), t<sub>m ax</sub>, C<sub>m ax</sub>, AUC, CL/F (S), V/F (c), MRT, 并且对两组剂量的药动学参数进行统计分析。结果表明, 两组剂量在 K<sub>e</sub>, t<sub>1/2</sub>(k<sub>a</sub>), t<sub>1/2</sub>(k<sub>e</sub>), t<sub>m ax</sub>, MRT 存在显著性差异; AUC 与 C<sub>m ax</sub> 随剂量增加而增加, C<sub>m ax</sub> /D<sub>0</sub>, AUC /D<sub>0</sub>无显著性差异。见表 3所示。

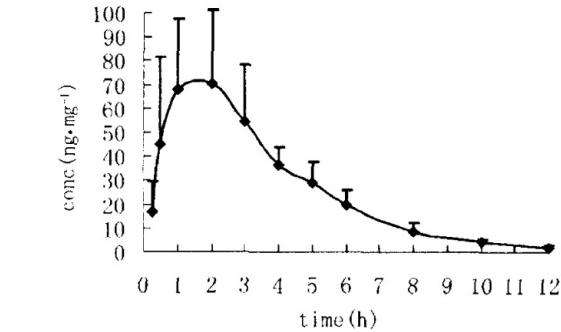


图 1 克仑特罗 ( ig 150μg • kg<sup>-1</sup>)的药时曲线

Fig 1 Concentration-time profile of clenbuterol( ig 150μg • kg<sup>-1</sup>)

表 1,表 2分别为中毒剂量组 ( 150μg• kg<sup>-1</sup>)与治疗剂量组 ( 5μg• kg<sup>-1</sup>)在不同时间点的血药浓度实测值。

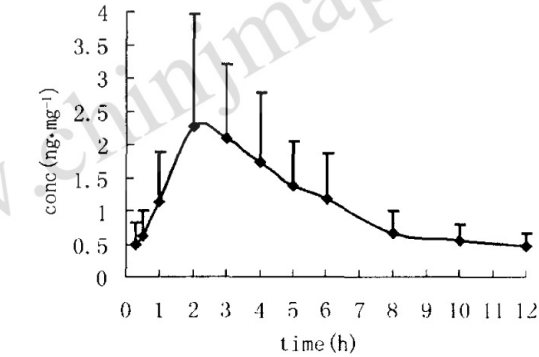


图 2 克仑特罗 ( ig 5μg • kg<sup>-1</sup>)的药时曲线

Fig 2 Concentration-time profile of clenbuterol( ig 5μg • kg<sup>-1</sup>)

4 讨论

本实验采用 ELISA 测定血浆中的克仑特罗, 由于该法的灵敏度高, 组织的平均检测下限为 100ng• kg<sup>-1</sup>, 血液的平均检测下限为 0.2 ng• mL<sup>-1</sup>, 用此法测定的 RSD在 0.1, 0.9, 8.1 ng• mL<sup>-1</sup>分别为 3%, 4%, 6%。而用高效液相色谱法 (HPLC)法检测, 组织的平均检测下限为 2.5μg• kg<sup>-1</sup>, 血浆的平均检测下限为 2 ng• mL<sup>-1</sup>, 因此本研究选择酶标免疫分析法作为定量方法<sup>[5]</sup>。

本实验采用新西兰兔为研究对象, 随机对照比较中毒剂量 ( ig 150μg• kg<sup>-1</sup>)与治疗剂量 ( ig 5μg• kg<sup>-1</sup>)的药动学, 探讨可能存在的差异。实验数据经 3P97拟合, 克仑特罗在中毒剂量与治疗剂量的药动学模型均为一室开放模型, 与国

表 3 两种剂量克仑特罗的主要药动力学参数 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 3 The main pharmacokinetic parameters of clenbuterol at toxic and the rapeutic dosages( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 参数 (单位)                                                  | 中毒剂量<br>(150 $\mu$ g $\cdot$ kg $^{-1}$ ) | 治疗剂量<br>(5 $\mu$ g $\cdot$ kg $^{-1}$ ) | P     |
|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|-------|
| A(ng $\cdot$ mL $^{-1}$ )                                | 219.76 $\pm$ 117.29                       | 4.29 $\pm$ 3.55                         | <0.01 |
| Ke(h $^{-1}$ )                                           | 0.39 $\pm$ 0.08                           | 0.18 $\pm$ 0.07                         | <0.01 |
| Ka(h $^{-1}$ )                                           | 1.25 $\pm$ 0.69                           | 0.69 $\pm$ 0.17                         | >0.05 |
| t <sub>lag</sub> (h)                                     | 0.10 $\pm$ 0.09                           | 0.03 $\pm$ 0.04                         | >0.05 |
| t <sub>1/2</sub> (ka)(h)                                 | 0.67 $\pm$ 0.28                           | 1.05 $\pm$ 0.28                         | <0.05 |
| t <sub>1/2</sub> (ke)(h)                                 | 1.82 $\pm$ 0.34                           | 4.30 $\pm$ 1.61                         | <0.05 |
| t <sub>max</sub> (h)                                     | 1.48 $\pm$ 0.39                           | 2.70 $\pm$ 0.22                         | <0.01 |
| C <sub>max</sub> (ng $\cdot$ mL $^{-1}$ )                | 71.37 $\pm$ 37.76                         | 1.56 $\pm$ 0.98                         | <0.01 |
| C <sub>max</sub> /D <sub>0</sub> (kg $\cdot$ L $^{-1}$ ) | 0.48 $\pm$ 0.25                           | 0.31 $\pm$ 0.20                         | >0.05 |
| AUC(ng $\cdot$ h $\cdot$ mL $^{-1}$ )                    | 310.28 $\pm$ 115.00                       | 14.28 $\pm$ 7.22                        | <0.01 |
| AUC/D <sub>0</sub> (kg $\cdot$ h $\cdot$ L $^{-1}$ )     | 2.07 $\pm$ 0.77                           | 2.86 $\pm$ 1.45                         | >0.05 |
| CL/F(s)(L $\cdot$ kg $^{-1}$ $\cdot$ h $^{-1}$ )         | 0.54 $\pm$ 0.19                           | 0.42 $\pm$ 0.19                         | >0.05 |
| V/F(c)(L $\cdot$ kg $^{-1}$ )                            | 1.44 $\pm$ 0.65                           | 2.60 $\pm$ 1.35                         | >0.05 |
| MRT(h)                                                   | 3.74 $\pm$ 0.51                           | 8.82 $\pm$ 2.78                         | <0.01 |

内方炳虎报道以 4 mg $\cdot$  kg $^{-1}$  单剂量 ig 猪为一室模型一致<sup>[6]</sup>。从拟合曲线图可以明显看出,两种剂量的克仑特罗在体内的消除均为一级动力学过程。两组剂量的克仑特罗,AUC与 C<sub>max</sub>随剂量增加而增加,C<sub>max</sub>/D<sub>0</sub>,AUC/D<sub>0</sub>无显著性差异,可见在此剂量范围内,未出现非线性动力学特征。比较中毒剂量与治疗剂量的主要药动力学参数,两种剂量在 Ke,t<sub>1/2</sub>(ka),t<sub>1/2</sub>(Ke),t<sub>max</sub>,MRT等存在明显差异。中毒剂量下克仑特罗的吸收较快,达峰时间较短,提示较大剂量的克仑特罗进入体内,产生的不良反应也较快,应该尽快采取有效措施。其 t<sub>1/2</sub>(Ke)明显缩短,Ke显著加大,表明剂量加大,该药的消除加快,这可能是因为较大剂量的克仑特罗进入体内,机体为了加快代谢和排泄,诱导了肝脏微粒体酶系统和激发肾转运机制,这样短时间内加大了肝、肾功能的负担,提示临床在

克仑特罗中毒时应注意采取措施保护肝肾功能。据文献报道,克仑特罗在人(po 20 $\mu$ g)<sup>[7]</sup>、猪(ig 4mg $\cdot$  kg $^{-1}$ )<sup>[6]</sup>、鸵鸟(po 2mg)<sup>[3]</sup>、兔(po 0.5 $\mu$ g $\cdot$  kg $^{-1}$ )<sup>[7]</sup>的半衰期分别为 34~35,3.15,19.7,9 h,提示该药的消除速度存在种属差异。我们的实验得出中毒剂量与治疗剂量的克仑特罗在兔体内的半衰期分别为(1.82 $\pm$ 0.34),(4.30 $\pm$ 1.61)h(P<0.05),这是否由于治疗剂量组的取样时间较短,或者与样本数太少,组内变异较大有关,还有待今后进一步探讨。两组剂量中各个体的血药浓度值差异也较大,表明存在明显的个体差异。

参考文献

[1] Dalrymple R H, Baker P K, Gingher P E, *et al*. A reparting agent to improve performance and carcass composition of brolers [J]. Poult Sci, 1984, 63(12): 2376-2383.

[2] Rothwell N J, Stock M J. Modification of body composition by clenbuterol in normal and dystrophic (mdx) mice [J]. Biosci Rep, 1985, 5(9): 755-760.

[3] Van-der-Merwe P J, Toerien S, Burger W P. Pharmacokinetics of clenbuterol in the ostrich. Analyse [J], 1998, 123(12): 2715-2717.

[4] 魏树礼.生物药剂学与药物动力学[M].北京:北京医科大学/中国协和医科大学联合出版社,1997: 212-213.

[5] 谢维平,胡桂莲,黄盈煜.高效液相色谱法测定动物组织盐酸克仑特罗残留量[J].中华预防医学杂志,2003,37(1): 53-54.

[6] 方炳虎,陈杖榴,黄显会.克仑特罗在猪体内的生物利用度及药物动力学研究[J].畜牧兽医学报,1997,28(3): 233-237.

[7] Yamamoto I, Iwata K, Nakashima M. Pharmacokinetics of plasma and urine clenbuterol in man, rat, and rabbit [J]. J Pharmacobiodyn, 1985, 8(5): 385-391.