

莱克多巴胺在兔体内的药物动力学 及生物利用度研究

王见一, 孙源泽, 彭涛, 王成, 谢洁, 张西亚, 江海洋*

(中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

[收稿日期] 2017-01-05 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 04-0050-05 [中图分类号] S859.79

[摘要] 为了研究莱克多巴胺静脉注射和灌胃在兔体内的药动学特征和生物利用度, 静脉注射和灌胃的给药剂量分别为 10 和 20 mg · kg⁻¹。兔静脉注射莱克多巴胺溶液的药-时数据符合无吸收两室模型, 主要药动学参数分别为 $T_{1/2\alpha}$ 为 0.56 ± 0.084 h、 $T_{1/2\beta}$ 为 7.20 ± 0.59 h、AUC 为 8.04 ± 2.32 h · μg · mL⁻¹。兔灌胃莱克多巴胺溶液的药-时数据符合一级吸收两室模型, 主要药动学参数分别为 T_{K01} 为 0.72 ± 0.07 h、 $T_{1/2\alpha}$ 为 0.72 ± 0.11 h、 $T_{1/2\beta}$ 为 26.43 ± 2.73 h、 T_{max} 为 1.13 ± 0.09 h、 C_{max} 为 1.29 ± 0.08 μg · mL⁻¹、AUC 为 3.98 ± 0.43 h · μg · mL⁻¹。灌服莱克多巴胺溶液的绝对生物利用度 F 为 24%。莱克多巴胺在兔体内的药动学特征是吸收迅速, 分布广泛, 消除缓慢, 生物利用度低。

[关键词] 莱克多巴胺; 药物动力学; 兔; 绝对生物利用度

The Pharmacokinetics and Bioavailability of Ractopamine in Rabbits

WANG Jian-yi, SUN Yuan-ze, PENG Tao, WANG Cheng, XIE Jie, ZHANG Xi-ya, JIANG Hai-yang*

(China Agricultural University, College of Veterinary Medicine, Beijing 100193, China)

Abstract: The pharmacokinetics and bioavailability of ractopamine were investigated in rabbits following single intravenous (10 mg · kg⁻¹), oral (20 mg · kg⁻¹) administration of ractopamine solution. The ractopamine concentration-time data were fitted to a two-compartment model after single intravenous administration of the ractopamine solution. The main pharmacokinetic parameters were as follows: $T_{1/2\alpha}$ 0.56 ± 0.084 h, $T_{1/2\beta}$ 7.20 ± 0.59 h, AUC 8.04 ± 2.32 h · μg · mL⁻¹. The ractopamine concentration-time data were described by a two-compartment model with first-order absorption after single oral administration of the ractopamine solution. The main pharmacokinetic parameters were as follows: T_{K01} 0.72 ± 0.07 h, $T_{1/2\alpha}$ 0.72 ± 0.11 h, $T_{1/2\beta}$ 26.43 ± 2.73 h, T_{max} 1.13 ± 0.09 h, C_{max} 1.29 ± 0.08 μg · mL⁻¹, AUC 3.98 ± 0.43 h · μg · mL⁻¹. The oral bioavailability of ractopamine solution was 24%. The pharmacokinetic characteristics of ractopamine in rabbit displayed rapid absorption, slow elimination and low bioavailability.

Key words: ractopamine; pharmacokinetics; rabbit; bioavailability

作者简介: 王见一, 博士研究生, 主要从事药理与毒理方面研究。

通讯作者: 汪海洋。E-mail: haiyang@cau.cn

莱克多巴胺(Ractopamine)是一种 β -肾上腺素受体激动剂,具有广泛的生理作用,能够松弛支气管平滑肌、增强纤毛运动和降低血管通透性。它曾经作为气喘用药进行研发,但未通过美国食品药品监督管理局的人体实验^[1],研究发现莱克多巴胺作为牛、羊、猪、家禽等动物的饲料添加剂,能够显著促进动物生长,提高饲料转化率和增强肉类品质^[2-3]。莱克多巴胺在猪^[4]及牛^[5]、火鸡^[6]、小鼠^[7]体内的药动学已有文献报道,但在兔体内的药动学国内外尚未见报道。本文对莱克多巴胺在兔体内的药动学特征及生物利用度进行研究,为莱克多巴胺在动物体内的代谢研究提供基本的药动学资料。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂 盐酸莱克多巴胺标准品:德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司,批号 C 16805000,纯度 98.0%;莱克多巴胺原料药:中国农业大学动物医学院药理与毒理实验室保存,含量 99%;莱克多巴胺溶液:按相关制剂要求自行配制,现制现用。 β -盐酸葡萄糖醛苷酶购自 Sigma 公司。甲醇和乙腈为色谱纯;乙酸乙酯、叔丁基甲醚、甲酸、盐酸、氢氧化钠、氨水等试剂为分析纯,水为 Milli-Q 高纯水。

1.2 仪器设备 Waters 2695 高效液相色谱仪(600 泵、717 自动进样器、2475 多波长荧光检测器、Empower 色谱工作站),涡旋振荡仪,LD4-2A 离心机,氮吹仪,MCX 固相萃取柱(Waters, 60 mg/3 cc)。

1.3 试验动物 8 只健康新西兰大白兔,雌雄各半,平均体重 3 ± 0.2 kg,购自北京维通利华实验动物有限公司。按常规饲养,自由饮水和采食,饲料为不含抗菌药物的全价日粮,试验前观察 2 周。

1.4 给药和血样采集 采用两周期随机交叉实验设计进行莱克多巴胺在兔体内的药动学研究。8 只大白兔随机分为 A、B 两组,每组 4 只;第一周期 A 组试验兔静脉注射给药^[6-7],剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,B 组试验兔灌胃给药^[6-7],剂量为 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;第二周期两组试验兔交换给药方式,剂量不变,两周期间隔 14 d。给药前 12 h 禁食,仅自由饮水,给药 6 h 后自由饮水和采食。首次给药前于兔的耳缘静脉采 1 次空白血样;静脉注射和灌胃给药后,分别于 0.16、

0.33、0.5、0.75、1、2、4、6、8、10、12、24 h 采血。每次采静脉血约 1 mL,分离血浆于 -20°C 冰箱保存待测。

1.5 血浆样品处理

1.5.1 酶解 准确称取 0.5 mL 血样于 10 mL 离心管内,加入 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵($\text{pH}=5.2$)2 mL,再加入 β -盐酸葡萄糖醛苷酶 40 μL ,涡旋混匀,于 37°C 下避光水浴振荡 16 h。

1.5.2 提取 酶解后放置室温,涡旋混匀,10000 r/min 高速离心 10 min,倾出上清液于另一 50 mL 离心管内,加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高氯酸溶液 2 mL,涡旋混匀,用高氯酸调 pH 至 1.0 ± 0.2 ,10000 r/min 离心 10 min 后,将上清液转移至另一 50 mL 离心管内,用 $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液调 pH 至 9.5 ± 0.2 ,加入乙酸乙酯 15 mL,涡旋混匀,并振荡 10 min,5000 r/min 离心 5 min,取出上层有机相至另一 50 mL 离心管内。再在下层水相中加入叔丁基甲醚 10 mL,涡旋混匀,并振荡 10 min,5000 r/min 离心 5 min,合并有机相, 50°C 下氮气吹干,用 2% 甲酸溶液 5 mL 溶解,备用。

1.5.3 净化 MCX 固相萃取柱依次用甲醇、水、2% 甲酸溶液各 3 mL 活化,取备用液全部过柱,再依次用 2% 甲酸溶液、甲醇各 3 mL 淋洗,抽干,用 3% 氨水甲醇溶液 2.5 mL 洗脱;洗脱液在 50°C 下用氮气吹干。残余物用甲醇-0.1% 甲酸溶液(10+90, V/V) 0.2 mL 溶解,涡旋混匀,15000 r/min 高速离心 10 min,取上清液 40 μL ,供高效液相色谱仪测定^[9]。

1.6 血药浓度测定 选择 Supelcosil LC-18 ($5 \mu\text{m}$, $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$) 色谱柱^[9],流动相为 0.1% 甲酸乙腈溶液(A 相)和 0.1% 甲酸水溶液(B 相);荧光检测器:激发波长为 226 nm,发射波长为 305 nm;流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;进样量: 40 μL ;柱温:室温;采集时间: 20 min。在上述条件下测定,莱克多巴胺的检测限为 $2 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,定量限为 $5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。血浆中莱克多巴胺的相对回收率为 73.1% ~ 95.5%,莱克多巴胺在 5 ~ 500 ng/mL 的范围内,呈良好的线性关系,线性方程为: $y = 1949x + 3767$,相关系数为 0.999。批内变异系数为

2.1%~6.6%,批间变异系数为4.9%~9.1%。

1.7 数据处理 采用药动力学软件 Winnonlin v5.2.1 处理药动力学数据,进行非房室模型和房室模型拟合,计算出每只试验兔的药动力学参数,以血药浓度平均值对时间作药-时曲线图;并根据公式 $F=\frac{AUC_{po} \times D_{iv}}{AUC_{iv} \times D_{po}} \times 100\%$,计算绝对生物利用度。

2 结 果

兔静脉注射和灌胃莱克多巴胺溶液不同时间的血药浓度实测值见表1,药时曲线(时间-对数浓度)见图1。兔静脉注射和灌胃莱克多巴胺溶液非房室模型拟合的参数见表2,房室模型拟合的参数

见表3,其中重要的药动力学参数有: $T_{1/2\alpha}$ 和 $T_{1/2\beta}$,分别为分布和消除半衰期; AUC (药时曲线下面积),反映药物的吸收程度; Cl (清除率),反映药物的清除程度; V_d ,表面分布容积,反映药物分布的广泛程度。两室模型的基本方程为: $C=Ae^{-\alpha t}+Be^{-\beta t}$,其中 α 和 β 分别代表吸收和消除速率常数, A 和 B 分别代表吸收相和消除相的截距。单剂量静脉注射莱克多巴胺溶液的药-时数据最佳拟合是无吸收两室模型,理论方程为: $C=3.49e^{-1.24t}+0.1e^{-0.1t}$,单剂量灌胃莱克多巴胺溶液的药-时数据最佳拟合是一级吸收两室模型,理论方程为 $C=37.58e^{-0.96t}+0.12e^{-0.02t}-37.7e^{-0.95t}$ 。

表 1 兔静脉注射和灌胃莱克多巴胺溶液的血药浓度 (n=8)

采血时间/h	血药浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	
	静脉注射/($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	灌胃/($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
0.16	3.52±0.38	ND
0.33	2.72±0.64	0.86±0.36
0.5	2.25±0.51	0.93±0.29
0.75	1.86±0.68	1.03±0.32
1	1.65±0.20	1.47±0.26
2	0.45±0.22	1.05±0.19
4	0.44±0.27	0.30±0.15
6	0.32±0.24	0.14±0.06
8	0.28±0.15	0.12±0.08
10	0.16±0.09	0.11±0.08
12	0.13±0.07	0.10±0.05
24	0.043±0.02	0.037±0.012
48	ND	ND

ND (not detectable), 为不可测得

表 2 兔静脉注射和灌胃莱克多巴胺溶液的非房室模型(NCA)拟合参数 (n=8)

参数	单位	参数值(平均值±标准差)	
		静脉注射/($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	灌胃/($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
T_{max}	h	0.16±0.042	1.00±0.18
$T_{1/2}$	$\text{h} \cdot \text{h}^{-1}$	7.43±0.11	8.7±0.1
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	3.52±0.14	1.47±0.07
AUC	$\text{h} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	7.25±1.68	3.54±1.23
V	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	26.45±3.04	45.35±5.41

续表

参数	单位	参数值(平均值±标准差)	
		静脉注射/(10 mg·kg ⁻¹)	灌胃/(20 mg·kg ⁻¹)
Cl	L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	2.62±1.77	3.34±2.03
AUMC	h·h·μg·mL ⁻¹	34.96±2.74	26.79±3.12
MRT	h	4.82±0.98	4.92±0.85
F	—	NA	24%

NA (Not Available), 为没有内容

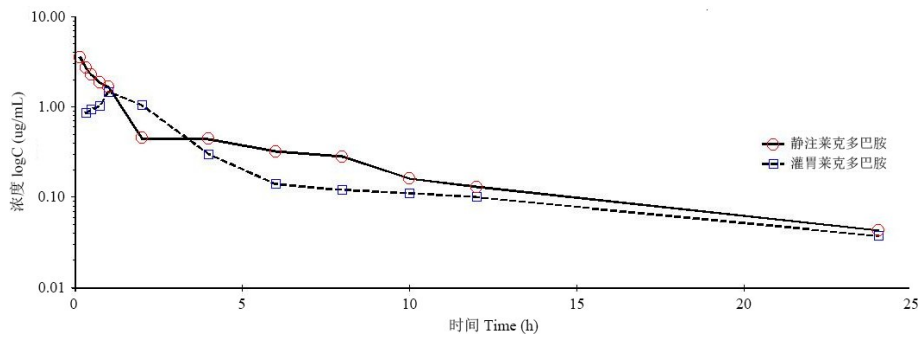


图 1 兔静脉注射莱克多巴胺溶液 (10 mg·kg⁻¹) 和灌胃莱克多巴胺溶液 (20 mg·kg⁻¹) 的药时曲线图

表 3 兔静脉注射和灌胃莱克多巴胺溶液的房室模型拟合参数 (n=8)

参数	单位	参数值(平均值±标准差)	
		静脉注射/(10 mg·kg ⁻¹)	灌胃/(20 mg·kg ⁻¹)
一室模型 AIC	—	-5±2.42	-14±3.56
两室模型 AIC	—	-15±1.38	-17±2.71
AUC	h·μg·mL ⁻¹	8.04±2.32	3.98±0.43
C _{max}	μg·mL ⁻¹	3.99±0.93	1.29±0.08
T _{max}	h	0.16±0.072	1.13±0.09
α	1·h ⁻¹	1.24±0.21	0.96±0.15
β	1·h ⁻¹	0.10±0.074	0.02±0.018
T _{1/2α}	h	0.56±0.084	0.72±0.11
T _{1/2β}	h	7.20±0.59	26.43±2.73
A	μg·mL ⁻¹	3.49±0.27	37.58±4.2
B	μg·mL ⁻¹	0.50±0.26	0.12±0.09
K ₀₁	1·h ⁻¹	NA	0.95±0.34
K ₁₀	1·h ⁻¹	0.50±0.15	0.43±0.09
TK ₀₁	h	NA	0.72±0.07
TK ₁₀	h	1.40±0.41	1.6±0.82
K ₁₂	1·h ⁻¹	0.66±0.15	0.50±0.12
K ₂₁	1·h ⁻¹	0.24±0.16	0.04±0.24
V ₁	L·kg ⁻¹	2.42±1.21	5.79±0.87
V ₂	L·kg ⁻¹	6.65±2.76	6.08±2.18

NA (Not Available), 为没有内容

3 讨论与小结

在非房室模型拟合中,兔单剂量 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 静脉注射莱克多巴胺溶液后,表观分布容积 V 为 $26.45\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$,血浆清除率 Cl 为 $2.62\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$,消除半衰期 $T_{1/2}$ 为 7.43 h ,平均滞留时间 MRT 为 4.82 h 。说明莱克多巴胺在兔体内分布广泛,半衰期长,消除缓慢。兔单剂量 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃莱克多巴胺溶液,吸收迅速,1 h后血药浓度达到峰值, $C_{\max}$ 为 $1.47\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。兔灌胃莱克多巴胺溶液的绝对生物利用度为 24% ,而莱克多巴胺在小鼠、火鸡和猪体内的生物利用度分别为 2.9% ^[7]、 8% ^[6]和 $4\sim 16\%$ ^[4],由此可见,莱克多巴胺在动物体内的生物利用度均较低,且存在种属差异性。兔单剂量 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃莱克多巴胺溶液与单剂量 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 静脉注射莱克多巴胺相比,后者达峰浓度是前者达峰浓度的2.5倍。该研究结果表明兔灌胃莱克多巴胺溶液在体内可能存在首过效应,大部分药物未进入血液循环,直接由胆汁排出体外,这与台湾Ho的报道^[7]相一致。

在房室模型拟合中,拟合结果根据赤池指数(AIC)进行判定,AIC值越小,模型拟合越好^[8]。静脉注射莱克多巴胺溶液的药动学数据采用一室模型和两室模型进行拟合,AIC值分别为-5和-15,因此无吸收两室模型更适合用于描述兔静脉注射莱克多巴胺溶液在体内的药动学过程。同样,灌胃莱克多巴胺溶液的药动学数据采用一室模型和两室模型进行拟合,AIC值分别为-14和-17,因此一级吸收两室模型更适合用于描述兔灌胃莱克多巴胺溶液在体内的药动学过程。

本研究阐明了莱克多巴胺在兔体内具有吸收迅速、分布广泛、消除缓慢和生物利用度低等药动学特征,为比较莱克多巴胺在不同动物体内的代谢规律提供了参考,同时也为研究莱克多巴胺多剂量给药后组织中的残留提供了一定的数据支持。

参考文献:

- [1] Freedom of Information Summary, Original New Animal Application NADA 140-863, Approval date, DEC 22, 1999. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/140863fi.pdf>
- [2] Uttaro B E, Ball R O, Dick P, *et al.* Effect of ractopamine and sex on growth, carcass characteristics, processing yield, and meat quality characteristics of crossbred swine[J]. *Journal of Animal Science*, 1993, 71(9): 2439-2449.
- [3] Armstrong T A, Ivers D J, Wagner J R, *et al.* The effect of dietary ractopamine concentration and duration of feeding on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of finishing pigs[J]. *Journal of Animal Science*, 2004, 82(11): 3245-3253.
- [4] Dalidowicz J E, Thomson T D, Babbitt G E. Ractopamine hydrochloride, a phenethanolamine repartitioning agent: metabolism and tissue residues[C]//ACS symposium series (USA). 1992.
- [5] Anderson D B, Veenhuizen E L, Wagner J F, *et al.* The effect of ractopamine hydrochloride on nitrogen retention, growth performance and carcass composition of beef cattle[J]. *Journal of Animal Science*, 1989, 67(Suppl 1): 222.
- [6] Smith D J, Feil V J, Huwe J K, *et al.* Metabolism and disposition of ractopamine hydrochloride by turkey poults[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 1993, 21(4): 624-633.
- [7] Ho J K, Huo T I, Lin L C, *et al.* Pharmacokinetics of ractopamine and its organ distribution in rats[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(38): 9273-9278.
- [8] Yamaoka K, Nakagawa T, Uno T. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations[J]. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 1978, 6(2): 165-175.
- [9] No.1025-18-2008 Bulletin of the Ministry of Agriculture. Determination of β -Agonists Residues in Animal Derived Food by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (农业部1025号公告-18-2008. 动物源性食品中 β -受体激动剂残留检测液相色谱-串联质谱法. 中华人民共和国国家标准).

(编辑:陈希)