

甘草酸對芍藥甘藥物動力學之影響

魏俊德 謝明村 劉正雄

中國醫藥學院 中國藥學研究所

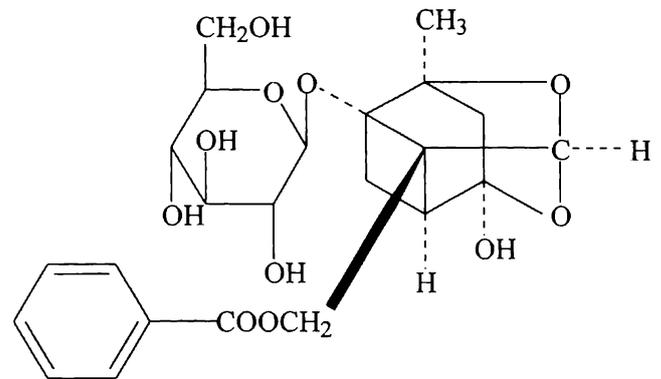
摘要

芍藥甘草湯為中藥著名方劑，由芍藥與甘草組成。本研究中，探討二藥之指標成分，芍藥苷與甘草酸以單獨成分注射與混合注射於家兔後的藥物動力學。實驗採隨機交叉試驗設計，6隻家兔分別接受芍藥苷或甘草酸單次劑量 (25 mg/kg) 或二成分之混合注射 (各 25 mg/kg)，間隔 1 週之交叉給藥。血中濃度分析採 HPLC 定量法。研究結果顯示，家兔接受二成分混合注射後，芍藥苷的曲線下面積 (AUC) 明顯的比單獨注射時小 (37.29 ± 2.58 對 $28.97 \pm 5.59 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$)；排除半衰期 (0.87 ± 0.10 對 $0.64 \pm 0.27 \text{ hr}$) 及平均滯留時間 (1.15 ± 0.18 對 $0.90 \pm 0.08 \text{ hr}$) 均縮短；清除率明顯的增加 (1.28 ± 0.14 對 $1.78 \pm 0.29 \text{ L/hr}$)。顯示甘草酸有加速芍藥苷從體內排除之現象。

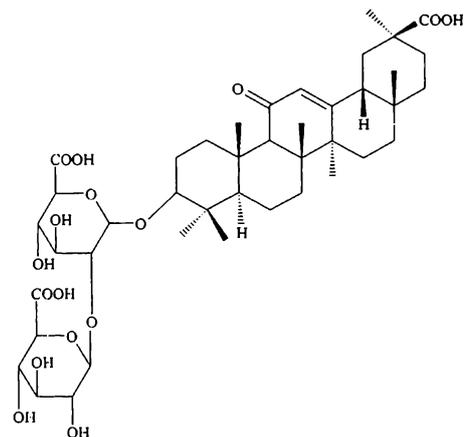
關鍵詞：芍藥苷、甘草酸、藥物動力學、交互作用

前言

芍藥甘草湯是傷寒論中著名方劑，由芍藥與甘草二藥組成，主治因外感誤用汗法造成腹部疼痛。芍藥苷 (Paeoniflorin, 圖 1) 為芍藥的有效成分。近代的研究，證明芍藥苷有抗過敏⁽¹⁾、抗痙攣⁽²⁾、鎮痛⁽³⁾、肌肉鬆弛⁽⁴⁾及抗炎作用⁽⁵⁾。而芍藥的療效可以用芍藥苷的藥理說明⁽⁶⁾。甘草酸 (Glycyrrhizinic acid, 圖 2) 是甘草的有效成分，有抗炎⁽⁷⁾、保肝⁽⁸⁾、類腎上腺皮質素作用⁽⁹⁾及抗病毒作用⁽¹⁰⁾。過去對於芍藥苷之藥動學與甘草酸的藥動學各有單獨的報告，但未見二者同時給藥的報告。在本研究將在家兔進行二個成分混合注射之藥物動力學研究，並與個別成分做交叉實驗比較，分析可能有的藥物動力學交互作用，並作為後續進行相關方劑藥物動力學研究之基礎。



圖一 芍藥②結構式



圖二 甘草酸結構式

聯絡作者：劉正雄

通訊處：台中市學士路 91 號

中國醫藥學院 藥學系

電話：+886-4-22053366 ext. 1907

收文日期：04/27/2001

收受日期：06/15/2001

材料與方法

一、藥物

甘草酸含量為95%購於日本Fluka公司，芍藥苷含量為91%購於日本米山公司。其他分析試劑及溶媒均為HPLC級。

甘草酸注射液或芍藥苷注射液之製備，均分別精確秤取200 mg，以少量乙醇溶解，而後溶於生理食鹽水，配成濃度為20 mg/mL之注射液。混合注射液之製備相同，惟其所含二成分之濃度各為20 mg/mL。

二、動物實驗

6隻紐西蘭家兔(2-3 kg)經隨機設計接受單獨注射芍藥苷(劑量25 mg/kg)，單獨注射甘草酸(25 mg/kg)或芍藥苷加甘草酸混合注射液(各25 mg/kg)，注射入家兔耳靜脈。交叉實驗的間隔時間在1週以上。血液檢品於給藥前及給藥後的2.5, 5, 10, 15, 20, 30 min及1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 8 hrs。從家兔耳靜脈之留置針上抽血，每次1 ml置入用肝素(heparin, 25 IU/mL)溼潤過的檢品管內。血液經離心後，取出上層血漿，保存於-20℃之冷凍櫃內待分析。

三、定量分析法

高效液相層析(HPLC)系統，包括層析幫浦(Jasco, PU-980, 日本)，配置UV偵測器(Jasco, PU-985, 日本)與自動取樣器(Jasco, 851-AS, 日本)。HPLC的定量分析條件如下：管柱用LiChrospher 100 RP-18管柱(250×4mm, Merck)；移動相為氘甲烷(含甲醇15%)／水(含磷酸10%)，對芍藥苷為20/80，甘草酸40/60。UV偵測波長，芍藥苷在243 nm，甘草酸在254 nm。流速為1 ml/min。

芍藥苷與甘草酸定量之標準溶液(1 mg/mL)係將成分溶於乙醇內製備而成，儲於0℃備用。供分析之檢品處理，是以微量吸管精確的量取血漿檢品200 μL，置入試管中，加氘甲烷800 μL混合均勻，以除去蛋白質。混合液於震盪器上振搖20秒，於10000 rpm離心15分

鐘。上清液移至另一乾淨試管，用氮氣噴吹至乾，殘渣用移動相200 μL溶解，然後用超音波震盪使混合均勻。利用自動取樣器，每次20 μL注入HPLC系統中，進行分析。

檢量線分別由芍藥苷或甘草酸之標準溶液加於兔血漿配成濃度為100 μg/mL至0.05 μg/mL構成。血漿檢品中的成分濃度，由波峰面積與濃度之間之回歸直線，經內插求得。

分析方法的確效，精確性試驗由同日與間日之標準血漿檢品溶液之標準曲線濃度測量(n=3)。回收率試驗以甘草酸或芍藥苷添加在血漿和水中，經同樣檢品處理及分析後比較而得。血漿檢品的安定性則分別於-20℃貯存後解凍處理及37℃貯存後，依設定時間取檢品分析觀察。

四、數據的處理與統計學的分析

各投藥法所得之血漿檢品，經定量之後，所得血中成分濃度值，利用電腦程式PCNONLIN處理，取得相關之藥物動力學參數，包括半衰期($t_{1/2}$)、曲線下面積(AUC)、和清除率(CI)等。不同給藥之參數間差異，利用統計學單向變異數分析(one way ANOVA)來分析。顯著水平訂於P<0.05。

結果與討論

一、定量法

血漿中芍藥苷濃度之定量法，依本實驗HPLC之條件具專一性，靈敏度為20 ng/mL。由標準品配成的0.05~100 μg/mL兔血漿液，構成之檢量線，有良好的線性關係($R^2=0.99998$, $y = 12357.34x + 267.09$)。此定量法的回收率為93.38%。在同日與異日之精確性試驗，變異係數在10%以下。芍藥苷在家兔血漿中，不論於-20℃，冷凍或室溫，皆能維持2週之安定。

血漿中甘草酸濃度之定量，依本實驗HPLC之條件也具專一性，靈敏度亦可達20 ng/mL，由0.05~100 μg/mL構成之檢量線有良好的線性關係($R^2=0.9998$, $y = 13308.79x - 3688.38$)。回收率為82.7%，同日與異日之精

確性，其變異係數也低於10%。甘草酸在兔血漿中也能維持2週以上之安定。

二、家兔單獨靜脈注射芍藥苷之藥動學

6隻家兔經靜脈注射單劑量(25 mg/kg)之芍藥苷後，血中濃度變化示於圖3，芍藥苷在家兔體內的血中濃度-時間曲線，經配適成二室模式，可以用下式表示： $C_p = 32.41e^{-1.86t} + 19.60e^{-0.80t}$ (C_p : μ g/mL; t : hr)

經處理所得之藥物動力學參數，列於(表一)。芍藥苷在6隻家兔靜脈注射後，平均半衰期 0.87 ± 0.10 hr，清除率為 1.28 ± 0.14 L/hr，曲線下面積 $37.29 \pm 2.58 \mu$ g · hr/mL。過去，Ishida等人在大鼠的試驗，發現芍藥苷屬二室模式，但半衰期只10分鐘⁽¹²⁾，陳崇宏等人在狗的試驗，也證實芍藥苷屬二室模式動力學，半衰期為 133.41 ± 84.89 分鐘⁽¹³⁾，此次在家兔實驗之觀察結果與陳光亮等人在家兔試驗結果66.02分鐘相近⁽¹⁴⁾，如果家兔的血容量依56 ml/kg計算⁽²¹⁾，實驗所得之分佈體積(近似584 ml/kg)約為血容量之10倍，顯示芍藥苷可能分佈到組織中。

三、家兔單獨靜脈注射甘草酸之藥動學

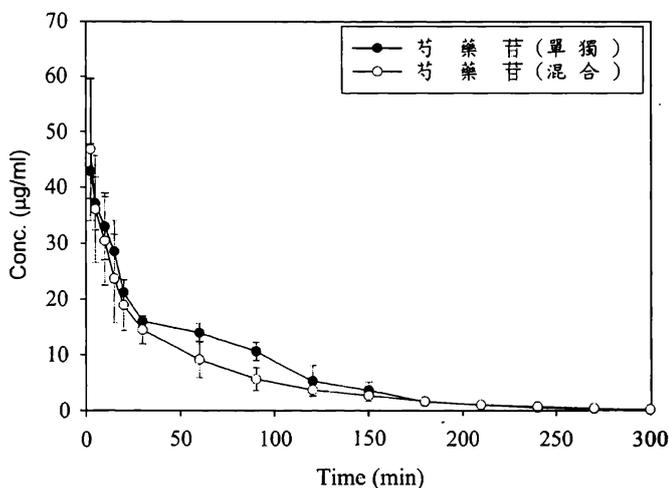
6隻家兔經靜脈注射單劑量(25 mg/kg)之甘草酸後，血中濃度變化示於圖4，甘草酸在家兔體內的血中濃度-時間曲線，經配適成二室模式，可以用下式表示： $C_p = 42.60e^{-6.56t} +$

$55.16e^{-0.47t}$ (C_p : μ g/mL; t :hr)，經處理所得之藥物動力學參數，列於(表二)。甘草酸在6隻家兔靜脈注射後，平均半衰期 1.45 ± 0.12 hr，清除率為 0.64 ± 0.11 L/hr，曲線下面積 $125.54 \pm 21.68 \mu$ g · hr/mL。

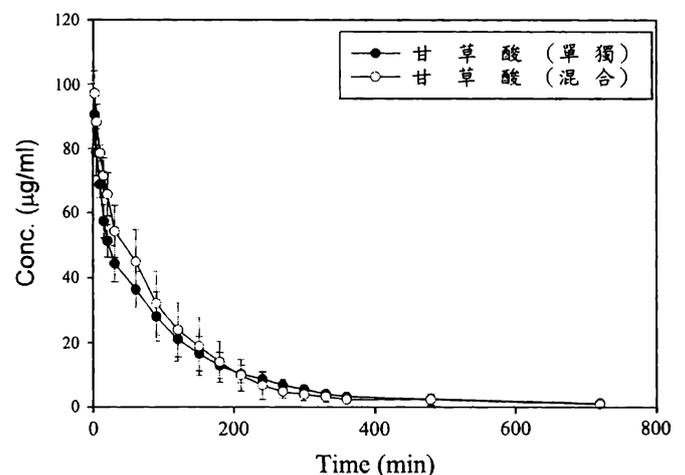
以往對於甘草酸之藥物動力學研究，幾乎都在大鼠進行⁽¹⁶⁻¹⁹⁾，發現甘草酸在大鼠體內為二室模式動力學。靜脈注射給藥劑量會逐漸飽和，血漿蛋白結合率高，排除半衰期為54~425 min不等。本實驗中，發現甘草酸在家兔的半衰期也在此範圍內。另外根據Ichikawa等之報告⁽¹⁶⁾，甘草酸在大鼠的分布體積小(132 ml/kg)。本實驗中，甘草酸在家兔的分布體積約為(528 ml/kg)亦遠大於家兔的血容體積，顯示甘草酸可分佈到家兔組織中。甘草酸在人靜脈注射後也呈二室模式動力學，半衰期約3.8-4.8小時⁽²⁰⁾。

四、家兔經靜脈注射芍藥苷加甘草酸混合注射液後之藥動學

六隻家兔經靜脈注射芍藥苷加甘草酸混合注射液(劑量各25 mg/kg)之後，分析所得之血漿中芍藥苷濃度變化示於圖3，而甘草酸之濃度變化示於圖4，於圖3可以見到芍藥苷之血中濃度受到甘草酸之影響，在兔體內的消逝變快，而圖4甘草酸之血中濃度未受到併用之影響。兩種成份在混合注射後，分析所得血中濃度經時變化，也個別用二室模式配適，所得藥物動力學參數分列於表一及表二。混合注射



圖三 六隻家兔單獨注射芍藥苷及與甘草酸混合注射後血漿中芍藥苷之平均濃度經時變化圖



圖四 六隻家兔單獨注射甘草酸及與芍藥苷混合注射後血漿中甘草酸之平均濃度經時變化圖

後，芍藥苷的半衰期為 0.64 ± 0.27 hr，分佈體積 (V_{dss}) 為 1.59 ± 0.26 L，清除率為 1.78 ± 0.29 L/hr 及曲線下面積為 $28.97 \pm 5.59 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$ 。甘草酸的半衰期為 1.45 ± 0.40 hr，分佈體積 (V_{dss}) 為 1.29 ± 0.77 L，清除率為 0.54 ± 0.11 L/hr 及曲線下面積為 $139.85 \pm 31.73 \mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$ 。

家兔在混合靜脈芍藥苷與甘草酸後，經用統計學 ANOVA 分析 (表一)，發現芍藥的曲線下面積明顯的減少，而排除半衰期及平均滯留時間縮短。穩定狀態分佈體積及中央室分佈體積無顯著差異。清除率的增加表現在中央室排除速率的增加 (K_{10} 由單獨注射的 $1.41 \pm 0.32 \text{ hr}^{-1}$ 增加至 $2.15 \pm 0.63 \text{ hr}^{-1}$)。可能是甘草酸影

響芍藥苷的排除，至於在排泄或代謝之機制，有待進一步之研究。

家兔不論單獨靜脈之注射甘草酸或與芍藥苷混合注射後，經計算所得甘草酸之藥物動力學參數，經用統計學 ANOVA 分析 (表二)，發現不論在曲線面積、排除半衰期、平均滯留時間、分佈體積、清除率均無顯著的差異。顯示甘草酸在家兔體內藥學行為未受芍藥苷之影響。

總之，經由本實驗之結果，初步探討到在家兔體內，甘草酸可能會加速芍藥苷從體內排除，其中有可能的藥物動力學方面之交互作用。

表一 六隻家兔單獨注射芍藥苷 (25mg/kg) 及與甘草酸 (25mg/kg) 混合注射後，芍藥苷之藥動學參數比較

參數	單獨	混合	P
AUC	37.29 ± 2.58	28.97 ± 5.59	$P < 0.05$
$t_{1/2}^{\beta}$	0.87 ± 0.1	0.64 ± 0.27	$P < 0.05$
CL	1.28 ± 0.14	1.78 ± 0.29	$P < 0.05$
V_{dss}	1.46 ± 0.15	1.59 ± 0.26	NS
MRT	1.15 ± 0.18	0.90 ± 0.08	$P < 0.05$

a. mean \pm S.D.

NS: No significant difference

表二 六隻家兔單獨注射甘草酸 (25 mg/kg) 及與芍藥苷 (25 mg/kg) 混合注射後，甘草酸之藥動學參數比較

參數	單獨	混合	P
AUC	125.54 ± 21.68	139.85 ± 31.73	NS
$t_{1/2}^{\beta}$	1.45 ± 0.12	1.45 ± 0.40	NS
V_1	0.80 ± 0.05	0.71 ± 0.07	NS
CL	0.64 ± 0.11	0.54 ± 0.11	NS
V_{dss}	1.32 ± 0.23	1.29 ± 0.77	NS
MRT	1.98 ± 0.28	2.41 ± 1.38	NS

a. mean \pm S.D.

NS: No significant difference

致 謝

本研究承蒙中國醫藥學院經費補助(84-009)，謹此致謝。

參考文獻

1. Yamahara J. Yamada T. Kimura H. Sawada T. Fujimura H. [Biologically active principles of crude drugs. Anti-allergic principles of "Shoseiryu-to." I. Effect on delayed-type allergy reaction]. [Japanese] Yakugaku Zasshi-Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 1982;102(9): 881-886.
2. Takagi K. Harada M. [Pharmacological studies on herb paeony root. II. Anti-inflammatory effect, inhibitory effect on gastric juice secretion, preventive effect on stress ulcer, antidiuretic effect of paeoniflorin and combined effects with licorice component Fm 100]. [Japanese] Yakugaku Zasshi-Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 1969;89(7): 887-892.
3. Sugishita E. Amagaya S. Ogihara Y. Studies on the combination of Glycyrrhizae Radix in Shakuyakukanzo-To. Journal of Pharmacobio-Dynamics. 1984,7(7):427-435.
4. Takagi K. Harada M. [Pharmacological studies on herb paeony root. 3. Effects of paeoniflorin on circulatory and respiratory systems and isolated organs]. [Japanese] Yakugaku Zasshi-Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 1969;89(7):893-898.
5. Takagi K. Harada M. [Pharmacological studies on herb paeony root. II. Anti-inflammatory effect, inhibitory effect on gastric juice secretion, preventive effect on stress ulcer, antidiuretic effect of paeoniflorin and combined effects with licorice component Fm 100]. [Japanese] Yakugaku Zasshi-Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 1969;89(7): 887-992.
6. Harada M. [Pharmacological studies on herb paeony root. IV. Analysis of therapeutic effects of paeony and licorice-containing frequent prescriptions in Chinese medicine and comparison with effects of experimental pharmacological tests]. [Japanese] Yakugaku Zasshi-Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 1969;89(7):899-908.
7. Tanaka H. Hasegawa T. Matsushita M. Miichi H. Hayashi S. Quantitative evaluation of ocular anti-inflammatory drugs based on measurements of corneal temperature in rabbits: dexamethasone and glycyrrhizin. Ophthalmic Research. 1987;19(4): 213-220.
8. Kiso Y. Tohkin M. Hikino H. Mechanism of antihepatotoxic activity of atractylon, I: Effect on free radical generation and lipid peroxidation. Planta Medica. 1985;50(2):97-100.
9. Armanini D. Karbowski I. Funder JW. Affinity of liquorice derivatives for mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. Clinical Endocrinology. 1983; 19(5):609-612.
10. Vogel, J.U., Cinatal,J.; Spielhofen, A., Kabickova, H.Doerr,H.W, Cinatl,Jr. Antiviral agent glycyrrhizin stimulates human cytomegalovirus replication in retinal pigment epithelial cell. Antiviral Research, 1998 37,85.
11. Xu, S., Chen. C.,and Chen. G. the pharmacokinetics of paeoniflorin. Eur. J.Pharmacol., 1990; 183,2390.
12. Ishida, S., Sakiya, Y., Ichikawa, T. Dose-dependent pharmacokinetics of paeoniflorin in rats. Xenobiot. Metabol. Dispos. 1990; 5,771-782.
13. Chen, C.,Zhang Y.,Chen G. The studies on pharmacokinetics of paeoniflorin. Chinese Pharmacol. Bulletin, 1990; 6(5),299-302.
14. Chem,GL,Chen C.H. and XU Shu,Y. The studies on pharmacokinetics of Paeoniflorin in rabbits and rats, Chinese Pharmacol. Bulletin, 1994;8(4),278-280.
15. Takeda S. Isono T. Wakui Y. Matsuzaki Y. Sasaki H. Amagaya S. Maruno M. Absorption and excretion of paeoniflorin in rats. Journal of Pharmacy & Pharmacology. 1995;47(12A):

1036-1040.

16. Ichikawa T. Ishida S. Sakiya Y. Akada Y. High performance liquid chromatographic determination of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in biological materials. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 1984;32(9):3734-3738.
17. Ichikawa T. Ishida S. Sakiya Y. Sawada Y. Hanano M. Biliary excretion and enterohepatic cycling of glycyrrhizin in rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1986;75(7):672-675.
18. Yamamura Y. Kawakami J. Santa T. Kotaki H. Uchino K. Sawada Y. Iga T. Selective high performance liquid chromatographic method for the determination of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid-3-O-glucuronide in biological fluids: application of ion-pair extraction and fluorescence labelling agent. *Journal of Chromatography*. 1991;567(1):151-160.
19. Tsai TH. Liao JF. Shum AY. Chen CF. Pharmacokinetics of glycyrrhizin after intravenous administration to rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1992;81(9):961-963.
20. Yamamura Y. Kawakami J. Santa T. Kotaki H. Uchino K. Sawada Y. Tanaka N. Iga T. Pharmacokinetic profile of glycyrrhizin in healthy volunteers by a new high performance liquid chromatographic method. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1992;81(10):1042-1046.

Possible Influences of Glycyrrhizinic Acid on the Pharmacokinetics of Paeoniflorin in Rabbits

Chun-Te Wei, Ming-Tsuen Hsieu, Cheng-Hsiung Liu

Institute of Chinese Pharmaceutical Science China Medical College

ABSTRACT

The pharmacokinetics of paeoniflorin and glycyrrhizinic acid in rabbits after single intravenous dose (25 mg/kg) or coadministration both drugs were studied. We used a randomized cross-over study. All blood samples were assayed using the HPLC method. When paeoniflorin was combined with glycyrrhizinic acid, the area under the plasma concentration curve of paeoniflorin decreased (37.29 ± 2.58 vs. $28.97 \pm 5.59 \mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$). Terminal half-life (0.87 ± 0.10 vs. 0.64 ± 0.27 hr) and mean residence time (1.15 ± 0.18 vs. 0.90 ± 0.08 hr) were shorter. The clearance (1.28 ± 0.14 vs. 1.78 ± 0.29 L/hr) increased significantly. However, the levels for glycyrrhizinic acid administered alone did not change. Our results suggest that there was pharmacokinetics interaction between paeoniflorin and glycyrrhizinic acid.

Key words: Paeoniflorin, glycyrrhizinic acid, pharmacokinetics, interaction

received: 4/27/2001

accepted: 6/15/2001

reprint requests: Cheng-Hsiung Liu

address: Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences

China Medical College

91, Hsueh-Shih Rd, Taichung,

Taiwan, R.O.C.

Tel: +886-4-22053366 ext.1907