



# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 降血糖天然化合物之藥物動力學研究

計畫編號：NSC89-2320-B-038-064

執行期限：89年08月01日至90年07月31日

主持人：許光陽 台北醫學大學藥學系

共同主持人：徐鳳麟 台北醫學大學藥學系

### 一、中文摘要

Paeoniflorin 是芍藥 (*paeoniae radix*) 的主要活性成份，在過去的報告中，被發現有降血糖作用，但是在藥物動力學的研究卻不甚完善。為了對 paeoniflorin 在生物體內動態有更完整的了解，本實驗以靜脈注射，腹膜腔以及口服的方式投與至家兔，來觀察 paeoniflorin 在家兔體內之藥物動力學表現，進一步探討 paeoniflorin 於家兔體內之生體可用率。

本實驗之分析方法乃利用逆相高效液相層析管柱配合波長 238nm 之紫外光檢測。在血漿濃度範圍為每毫升 50-50000ng 內，呈現良好的線性關係。

本研究先以三種不同劑量 0.5 mg/kg, 5mg/kg, 25 mg/kg 之 paeoniflorin 靜脈投與至六隻家兔，分析其血漿中濃度，顯示 paeoniflorin 於家兔體內動態符合二室性模式。而在此劑量範圍下呈線性藥物動力學特性，排除半衰期，清除率等各項藥物動力學參數並無統計上之差異；其曲線下面積 (AUC) 與劑量之關係呈良好的比例現象。

以腹膜腔內投與劑量 25 mg/kg 之 paeoniflorin 於六隻家兔，分析其結果，發現其血液內 paeoniflorin 之動態與靜脈注射之結果不相同，屬於一室性模式，而其曲線下面積與靜脈注射 25mg/kg 之數據比較，獲得腹膜腔內注射之生體可用率有  $1.03 \pm 0.16$ 。

另外將 paeoniflorin 以口服投與 25 mg/kg 至家兔體內，分析其結果，發現血液中 paeoniflorin 的含量很低。經由體外十二指腸滲透實驗結果顯示，paeoniflorin

經過 7 小時之滲透率僅  $0.124 \pm 0.044\%$ 。故由此結果印證，口服生體可用率不佳之主因乃是腸胃道吸收不良所造成。

關鍵詞：Paeoniflorin、藥物動力學，生體可用率

### Abstract

Paeoniflorin is the major constituent of *paeoniae radix*, which has been reported to have antihyperglycemic activity recently. Although the antihyperglycemic activity of paeoniflorin has been studied, the pharmacokinetics of paeoniflorin has not been studied well. An accurate, simple and specific HPLC method was developed to detect the concentration of paeoniflorin in biological sample firstly. A reverse phase column with UV detection at 238 nm was used in chromatographic separation. The calibration curve of plasma sample showed good linearity within the concentration range of 50 to 50000 ng/ml. The pharmacokinetics of paeoniflorin was studied by intravenous administration of three different doses (0.5, 5, 25 mg/kg) in six rabbits, respectively. The plasma concentration-time profiles of paeoniflorin could be described by a bi-exponential equation with each dose. There was no significant difference in pharmacokinetic parameters of half-life, systemic clearance. The area under the plasma concentration curve was proportional to the dose administered. It indicated that paeoniflorin had dose linearity property between 0.5 ~ 25 mg/kg after intravenous administration. Paeoniflorin was also intraperitoneal administered to rabbits at 25

mg/kg. The plasma concentration-time profiles could be fitted by one-compartment model. Comparing the area under plasma concentration time curve with that of intravenous administration, the absolute bioavailability was  $1.03 \pm 0.16$ . After oral administration of 25 mg/kg of paeoniflorin to rabbits, the concentration of paeoniflorin in plasma was very low. According to duodenum permeability study, the ratio of paeoniflorin permeability was only  $0.124 \pm 0.044\%$ . It suggested that poor absorption of paeoniflorin in intestine resulting the low bioavailability of paeoniflorin after oral administration.

Keywords: Paeoniflorin, Pharmacokinetics, Bioavailability

## 二、緣由與目的

中藥中之有效成分的確認為新要開發最有效來源之一。糖尿病長久以來一直位居國人十大死亡原因之一，但其所使用之藥物一直局限於胰島素及合成之 sulfonyurea 化合物等兩大類。國人一直相信中藥或民間草藥可治糖尿病，但缺乏科學方法證明有效成分及作用機轉。最近台北醫學大學徐鳳麟教授分別從 *Paeonia lactiflora* (芍藥), *Cimicifuga rhizoma* (天麻) 及 *Stevia rebaudiana* (甜菊) 單離出 paeoniflorin, isoferulic acid 及 isosteviol。又依成功大學鄭瑞棠教授的藥理實驗結果顯示 paeoniflorin、isoferulic acid、isosteviol 具相當顯著的降血糖效果，而且機轉也相當明確，是作為新要開發的好材料。

雖然 paeoniflorin、isoferulic acid、isosteviol 均具降血糖之效果，但有關此三化合物之藥物動力學研究卻不多。關於 paeoniflorin 之藥物動力學曾被在大白鼠、家兔研究過，但因分析方法不靈敏，故所得之藥物動力學參數相當不一致。唯一可確認的為 paeoniflorin 口服後生體可用率很低。至於 isoferulic acid、isosteviol 之藥物動力學研究則未見。重新評估傳統中藥中有效成份為新藥開發的發法之一，除了藥理、毒理的研究外，藥

物動力學的研究亦為新藥開發之過程中相當重要之課題。Paeoniflorin、isoferulic acid、isosteviol 均為從常用之天然物所單離之成份並被證實具降血糖之效能，此結果值得作為新藥發展之課題。關於傳統中藥成份之藥物動力學研究至今仍非常少，故此研究計畫乃針對被證實具降血糖效能之 paeoniflorin、isoferulic acid、isosteviol 之藥物動力學作一系統性研究。在第一年計畫中先執行 paeoniflorin 之血中藥物濃度分析方法之開發及基礎藥物動力學研究。

## 三、結果與討論

由於芍藥 (*Paeoniae Radix*) 為傳統的生藥材，在中醫學上已使用好長一段時間，且頗為廣泛。近年來，科學家們致力於研究傳統中藥成份之藥理特性，而 paeoniflorin 是芍藥的主要活性成分，目前已有不少有關藥理研究的文獻被發表，但在藥物動力學方面卻不甚完善。基於中藥科學化及安全用藥之原則，詳細完整的藥物資訊有其相當之重要性。因此本實驗以不同途徑投與 paeoniflorin 至家兔體內，包括靜脈注射 0.5, 5, 25 mg/kg, 腹腔腔內注射 25 mg/kg 及口服投與 25 mg/kg, 分析其血液及尿液檢品中之濃度，以期解得 paeoniflorin 之體內動態特性。以下為本研究之綜合結論：

1. 本實驗利用高效液相層析儀，以逆相層析管柱配合逆相流動相析離生物檢品中微量 paeoniflorin，並在波長 238 nm 之紫外線下偵測定量。此分析方法之最低檢測濃度血漿檢品可達 50 ng/ml，而尿液檢品可達 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ；在血漿檢品濃度 50 ~ 50000 ng/ml 及尿液檢品濃度 0.5 ~ 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之範圍內呈現良好之線性關係，迴歸係數  $r$  大於 0.999，同日分析與異日分析之變異係數皆小於 10%，顯示所開發之 HPLC 方法為一精確、靈敏、專一的 paeoniflorin 分析方法。

2. Paeoniflorin 於 37°C，酸鹼值為 1.2 之強酸下安定；而在室溫下 (25°C)，paeoniflorin 於 pH 2.6 ~ 9.6 之緩衝液中亦呈安定，在實驗時間之 48 小時內，皆維持穩定狀態，並未有降解的現象發生。

3. 以靜脈注射投與三種不同劑量 (0.5 mg/kg, 5 mg/kg, 25 mg/kg), paeoniflorin 之體內變化符合二室性藥物動力學模式。劑量 0.5~25 mg/kg 之各項藥物動力學參數, 統計上並無顯著之差異, 且在此劑量範圍內, paeoniflorin 呈現 Dose Independent 之藥物動力學特性, 其曲線下面積 (AUC) 與劑量之關係呈現良好的比例現象。

4. 靜脈注射 paeoniflorin 後, 分析尿液所得之數據, paeoniflorin 以原態排出佔  $36.54 \pm 1.75\%$ , 而以其他形式代謝或排出則約佔  $63.45 \pm 1.75\%$ , 可知其非腎性排出佔了極重要的部份。

5. 腹膜腔內投與 25 mg/kg paeoniflorin 於六隻家兔, 其藥物動力學現象屬於一室性模式, 利用曲線下面積 (AUC) 與靜脈注射之數據計算, 得到 paeoniflorin 之腹膜腔內投與之生體可用率 ( $F_{1\beta}$ ) 等於  $1.03 \pm 0.16$ , 由此可知 paeoniflorin 經肝門脈之首渡效應小, 為一肝抽提率低之藥物。

6. 腹膜腔內投與 paeoniflorin 後, 分析尿液所得之數據, paeoniflorin 以原態排出佔  $39.91 \pm 4.57\%$ , 而以其他形式代謝或排出則約佔 60%, 與靜脈注射的結果作比較, 在統計上並無顯著之差異, 由此可知, 肝藏之首渡效應並不是造成 paeoniflorin 代謝的主要原因。

7. 口服投與 paeoniflorin 於家兔體內, 發現血液檢品內 paeoniflorin 之濃度很低, 且血中濃度對時間之關係圖呈不規則之現象; 而分析尿液檢品, 也同樣發現 paeoniflorin 以原態排出只佔  $1.17 \pm 0.81\%$ ; 且由十二指腸黏膜穿透實驗之結果可知, paeoniflorin 之平均穿透回收率只有  $0.124 \pm 0.044\%$ 。由此推測, 不佳的穿透率導致 paeoniflorin 在胃腸道吸收不良, 而胃腸道吸收不良造成 paeoniflorin 口服低生體可用率。

根據傳統臨床應用及藥理實驗報告, 芍藥為人體口服療效甚好之中藥材。然而, 其主要活性成分 paeoniflorin 經本實驗發現: 家兔口服後血中只有少數原態的 paeoniflorin, 為令人費解之處。由於先

前 Hattori 等學者曾在報告中指出(44), paeoniflorin 可經由人體腸內菌代謝成許多代謝物, 主要包括 paeonimetabolin I, II, III, 因為本實驗不針對代謝物作分析, 所以無法了解代謝物在家兔體內之分佈情形, 且口服 paeoniflorin 之結果, 讓人不得想不到 paeoniflorin 所達成之藥效可能並非 paeoniflorin 本身所造成, 而實為其有效代謝物之療效, 惟此說法尚待更多實驗予以證實。

#### 四、計畫成果自評

本研究計畫僅核定執行期限為一年, 故僅對 paeoniflorin 的基礎藥物動力學進行研究。

由此研究所得之數據發現中藥方劑中主要成份之芍藥的主要具生理活性成份-paeoniflorin 在單獨口服給藥時吸收是非常的差, 故有關 paeoniflorin 在胃腸道之吸收實有進一步研究之必要。

#### 五、參考文獻

1. F.-L. Hsu, C.-W. Lai and J.-T. Cheng. Antihyperglycemic effect of paeoniflorin and 8-debenzoyl paeoniflorin, glucoside from the root of peonia lactiflora, *Planta Medica*, 63:p323-325, 1997.
2. C.-W. Lai, F.-L. Hsu and J.-T. Cheng. Stimulatory effect of paeoniflorin on adenosine A-1 receptors to increase the translocation of protein kinase C(PKC) and glucose transporter (GLUT4) in isolated rat white adipocytes, *Life Sciences*, 62:p1591-1595, 1998.
3. E.-J. Corey, Y.-J. Wu. Total synthesis of ( $\pm$ )-paeoniflorin and paeoniflorin. *Journal of American Chemical Society*. 115:p8871-8872, 1993.
4. S.Hatakeyama, M.Kawamura, and S.Takano. Total synthesis of (-)-paeoniflorin. *Journal of American Chemical Society*. 116:p4081-4082, 1994.
5. S.J. Lin, C.Y. Huang, K.C. Wen, and E.T. Suen. Quantitative analysis of paeoniflorin, geniposide and glycyrrhizin in Jing-Jieh-Lian-Chyan-Tong by high

performance liquid chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2:p133 -140, 1994.

6. Y.C. Lee, C.Y. Huang, K.C. Wen, and T.T. Suen: Determination of paeoniflorin, ferulic acid and baicalin in the traditional chinese medicinal preparation Dang-Guei-San by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 660:p299-306, 1994.

7. 劉芳淑, 林隆達, 溫國慶. 溫清中梔子之 geniposide 及芍藥之 paeoniflorin 定量研究. *Journal of Food and Drug Analysis*. 1(2):p191-198, 1993.

8. K.-C. Wen, C.-Y. Huang and F.-S. Liu. Determination of cinnamic acid and paeoniflorin in traditional chinese medicinal preparations by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 593:p191-199, 1992.

9. H.-K. Wu, S.-J. Sheu. Capillary electrophoretic determination of the constituents of paeoniae radix. *Journal of Chromatography*. 753:p139-146, 1996.

10. S. Takeda, T. Isono, Y. Wakui, Y. Matsuzaki, H. Sasaki, S. Amagaya and M. Maruno. Absorption and excretion of paeoniflorin in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 47:p1036-1040, 1995.