

枸杞子及其成分東莨菪素對家兔之藥動學與藥效學研究

研究生 劉淑鈴

中國醫藥學院 中國藥學研究所

摘要

枸杞子為中國傳統中藥，其成分東莨菪素(scopoletin)對家兔血小板有抗血小板凝集的作用，本研究主要先建立東莨菪素的藥物動力學模式，尋得其參數及生體可用率，接著探討枸杞子及其成分對血小板聚集抑制作用之試驗，最後針對效應濃度時間之相關性進行歸納整合，所得結果如下：

應用 HPLC 定量家兔東莨菪素的血藥濃度，東莨菪素偵測極限為 10 ng/mL，回收率可達 91.5±1.0 % 以上，偵測極量其最低濃度的 C.V. 小於 9.2 %，同日內及間日內之精確度其 C.V.均低於 8.7 %。所以本法是一靈敏、再現性良好及精確性高之定量分析法，足供進行東莨菪素藥物動力學及臨床藥物監測之定量分析用。

家兔靜脈注射東莨菪素 2、10 與 50 mg/kg 後，得到之藥物動力學參數 AUC 分別為 16.262±0.287、65.210±5.608、697.172±58.060 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ ；CL 分別為 0.322±0.014、0.382±0.057、0.184±0.019 L/min， V_{ss} 分別為 9.679±1.403、9.105±1.909、3.568±0.398 L。結果 A、B、 K_{12} 、 V_{ss} 、 $\alpha\text{-HL}$ 、CL、MRT、AUC 在三種劑量間均有明顯差異，尤其以 AUC 會因劑量增加而血藥濃度及藥曲線下面積呈超比例增加，尤其是 50 mg/kg 大劑量時會有明顯的變化，所以 2~10 mg/kg 呈現線性的藥物動力學，而 10-50 mg/kg 則呈 Michaelis-Menten 非線性的藥物動力學。

東莨菪素口服給予家兔 50、100 與 250mg/kg 三種劑量，得到之藥物動力學參數 AUC 依次為 67.7±1.4、85.1±2.6 與 173.8±15.4 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ ， $\alpha\text{-HL}$ 為 78.8±4.0、79.9±5.8 與 80.5±7.6 min， t_{max} 為 39.9±1.8、38.4±1.0 與 35.8±2.9min， C_{max} 為 0.506±0.017、0.678±0.026 與 1.488±0.065 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。取用靜脈 10 mg/kg 之 AUC，代入公式即可算出 scopoletin 口服後之絕對生體可用率，結果 F 分別為 0.19±0.01，

0.11±0.01 與 0.10±0.01，絕對生體可用率隨著劑量增加而下降，推測是腸粘膜代謝 first pass effect 的影響。

血小板聚集性採用 Born 氏比濁法測量家兔血小板聚集抑制率，靜脈給藥後 5, 30, 75, 150 及 300 min 抽血。給藥後之血小板聚集與給藥前空白血漿比較，對 ADP、AA、collagen 誘導的聚集抑制率，結果以注射東莨菪素 50 mg/kg, 5min 後，對三種血小板聚集誘導劑之抑制作用效果最強，對 ADP、AA、collagen 所誘導的聚集抑制率平均分別為 47.8, 50.7, 55.5 %，與給藥前比較其 p 值皆小於 0.001。

口服東莨菪素溶液 50、100 與 250 mg/kg 後於 10, 30, 60, 150 及 300 min，分析給藥後之血小板聚集和給藥前比較，結果以給予 250 mg/kg, 30min 後對血小板聚集之抑制效果最強。30min 後對 ADP、AA、collagen 聚集抑制率平均分別為 41.3, 48.8, 47.5 %，60 min 的抑制可達 37.4~45.3，與給藥前聚集抑制率比較，其 p 值皆小於 0.001。

家兔分別口服枸杞子氯仿層抽取物溶液 50、100 與 250 mg/kg，口服給藥後 10, 30, 60, 150 及 300 min，分析給藥後血漿數據，結果以 250 mg/kg 對血小板聚集之抑制效果最強，其中對 ADP、AA、collagen 血小板聚集誘導以給藥後 30min 的抑制效果最好，抑制率平均分別為 44.1、39.5 與 49.1 %，與給藥前聚集抑制率比較，其 p 值皆小於 0.001。

東莨菪素靜脈給藥後 5, 30, 75, 150 及 300min 的血小板聚集抑制率(E)與相對的血中濃度對數(log Cp)平均值之線性關係方程式為 $E = S \log Cp + e$ 其中以靜脈給予 50 mg/kg 之高劑量能得較佳的線性關係，其 R^2 值分別為 ADP: 0.845±0.113, AA: 0.843±0.212 與 collagen: 0.932±0.105。線性回歸所得的斜率(S)與截距(e)，結果 S 值會隨著劑量增加而增加，而 ADP (p<0.001), collagen (p<0.05)顯示 2、10 與 50 mg/kg 組間有差異；而 e 值則 ADP、AA, collagen 皆 p < 0.001，表示分別於 2、10 與 50 mg/kg 組間有差異。

口服給藥是取 30, 60, 150 至 300 min 的藥效與相對應的血藥濃度進行線性回歸，且 ADP、AA, collagen 誘導之聚集抑制效果在 2、10 與 50 mg/kg 之間，線性回歸所得的 S 與 e 值皆會隨著劑量增加而增加，S 值由 4.248±5.034 至 24.868±5.234，e 值由 11.182±2.539 增至 41.877±6.578 且 2、10 與 50 mg/kg 之 S 與 e 值對 ADP、AA, collagen 誘導之聚集抑制效果組間比較(p<0.001)，顯示三種不同劑量組間血小板聚集抑制效果有明顯差異。如同口服東莨菪素，口服枸杞子氯仿層抽出物後回歸所得 S 與 e 值，亦會隨著劑量增加而增加。S 與 e 值之統計比較 (p<0.001)，顯示三種不同劑量組間血小板聚集抑制效果有

明顯差異。

家兔注射或口服東莨菪素與枸杞子氯仿層抽出物溶液，對 ADP、AA、collagen 血小板聚集誘導的抑制效果，使用量效半衰期法，結果靜脈與口服東莨菪素之 $t_{1/2}ED$ 與 K_{ED} 有差異。而同樣口服給藥，東莨菪素與枸杞子抽出物在 AA 誘導之 K_{ED} 與 $t_{1/2}ED$ 較有差別。

綜合而言，枸杞子及其成分東莨菪素對家兔血小板聚集誘導劑皆有抑制作用，雖然東莨菪素口服吸收率不佳，但枸杞子氯仿層抽出物口服後，血中東莨菪素濃度明顯高於單服東莨菪素者。另外探討血中濃度高低與時間長短，分別如何影響家兔血小板聚集抑制作用大小，運用數量化的方式歸納出藥物在體內作用情形，是結合藥理學、藥物動力學與藥效學，俾有助於現代科學資訊化的研究。

The study of *Lycium barbarum* LINNAEUS and its constituent, scopoletin, on pharmacokinetics and pharmacodynamics in rabbits

SHU-LING LIU

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences,
China Medical College

Lycium barbarum LINNAEUS (abbreviated as LB) is commonly used traditional Chinese herbs. It was reported that the water extract of LB had partial inhibitory effect against platelet aggregation. Scopoletin, one constituent of LB, also exhibited a potent inhibitory effect on rabbit platelet aggregation induced by ADP, PAF, sodium arachidonate and collagen. The pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) derived by concentration, time and effect from scopoletin and LB had been investigated in this study.

The HPLC method of scopoletin was sensitive, precise and reproducible. The detection limit of scopoletin was 10 ng/mL. The recovery test was over 91.508 ± 1.005 . The coefficients of variances (C.V.) of limit of quantitation was lower than 9.2 %. The C.V. values of intraday and interday sensitivity were lower than 8.7 %.

The parameters of PK on rabbits after scopoletin intravenous bolus 2, 10 and 50 mg/kg were as follows: AUC 16.262 ± 0.287 , 65.210 ± 5.608 , 697.172 ± 58.060 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$; CL 0.322 ± 0.014 , 0.382 ± 0.057 , 0.184 ± 0.019 L/min, V_{ss} 9.679 ± 1.403 , 9.105 ± 1.909 , 3.568 ± 0.398 L. The AUC had an obvious variance on 50 mg/kg. Therefore, the PK of scopoletin was linear in 2-10 mg/kg, but 10-50 mg/kg was non-linear.

The parameters of PK on rabbits after oral administration of 50, 100 and 250 mg/kg scopoletin were as follows: AUC 67.7 ± 1.4 , 85.1 ± 2.6 , 173.8 ± 15.4 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$; -HL 78.8 ± 4.0 , 79.9 ± 5.8 , 80.5 ± 7.6 min; t_{max} 39.9 ± 1.8 , 38.4 ± 1.0 , 35.8 ± 2.9 min; C_{max} 0.506 ± 0.017 , 0.678 ± 0.026 , 1.488 ± 0.065 $\mu\text{g}/\text{mL}$. V_1/F 126.86 ± 10.66 , 189.73 ± 13.11 , 219.29 ± 38.63 L. With AUC of scopoletin on iv application of 10 mg/kg, the bioavailability (F) were as follows: 0.19 ± 0.01 , 0.11 ± 0.01 and 0.1 ± 0.01 . The F was decreased as dose increased.

Platelet aggregation was determined by a turbidimetric method. The

inhibitory effect was induced by ADP, AA and collagen on rabbit platelet aggregation. After 5 minutes iv bolus application of 50 mg/kg, scopoletin showed potently inhibitory effect as ADP (47.8 %), AA(50.7 %) and collagen (55.5 %), $p < 0.001$. After oral administration 30 minutes on 250 mg/kg, scopoletin and chloroform extract from LB (LBC) showed potently inhibitory effect as ADP (41.3 %), AA(48.8 %) and collagen (47.5 %) , $p < 0.001$. After oral administration 30 minutes on 250 mg/kg, LB showed potently inhibitory effect as ADP (44.1 %), AA(39.5 %) and collagen (49.1 %) , $p < 0.001$.

The parameters of log-linear model for scopoletin and LB were discussed. First, the rabbits were iv bolus application of scopoletin 2, 10 and 50 mg/kg, and compared at 5, 30, 75, 150 and 300 min. The R^2 values of iv application of 50 mg/kg scopoletin induced by ADP, AA and collagen were ADP 0.845 ± 0.113 , AA 0.843 ± 0.21 , collagen 0.932 ± 0.105 , respectively. The slope (s) values were increased with dose increased and had significantly different in the 3 different doses. The intercept (e) values also had significant difference in the 3 doses. Then, the rabbits were oral administration of scopoletin or LB 50, 100 and 250 mg/kg, and compared at 30, 60, 150 and 300 min. The s and e values of the two oral drugs were increased with dose increased, and had a significant difference among 3 different doses.

The dose-response half life had been reviewed in scopoletin and LB. The $_{1/2}ED$ and K_{ED} had significantly different between iv and oral dose. There were no differences between scopoletin and LB in oral administration, only AA induced platelet aggregation.

In conclusion, scopoletin and LB had inhibitory effect induced by AA, ADP and collagen. Therefore they can ameliorate atherosclerosis. The PK of scopoletin had been investigated. The PD of LB or scopoletin had been shown as different models. Quantifying the results of study is the aim of modern science and this study.

第一章

緒 論

- 1-1 枸杞子之文獻考察
- 1-2 東莨菪素之文獻回顧
- 1-3 研究背景及相關資料
- 1-4 研究目的

1-1

枸杞子之文獻考察

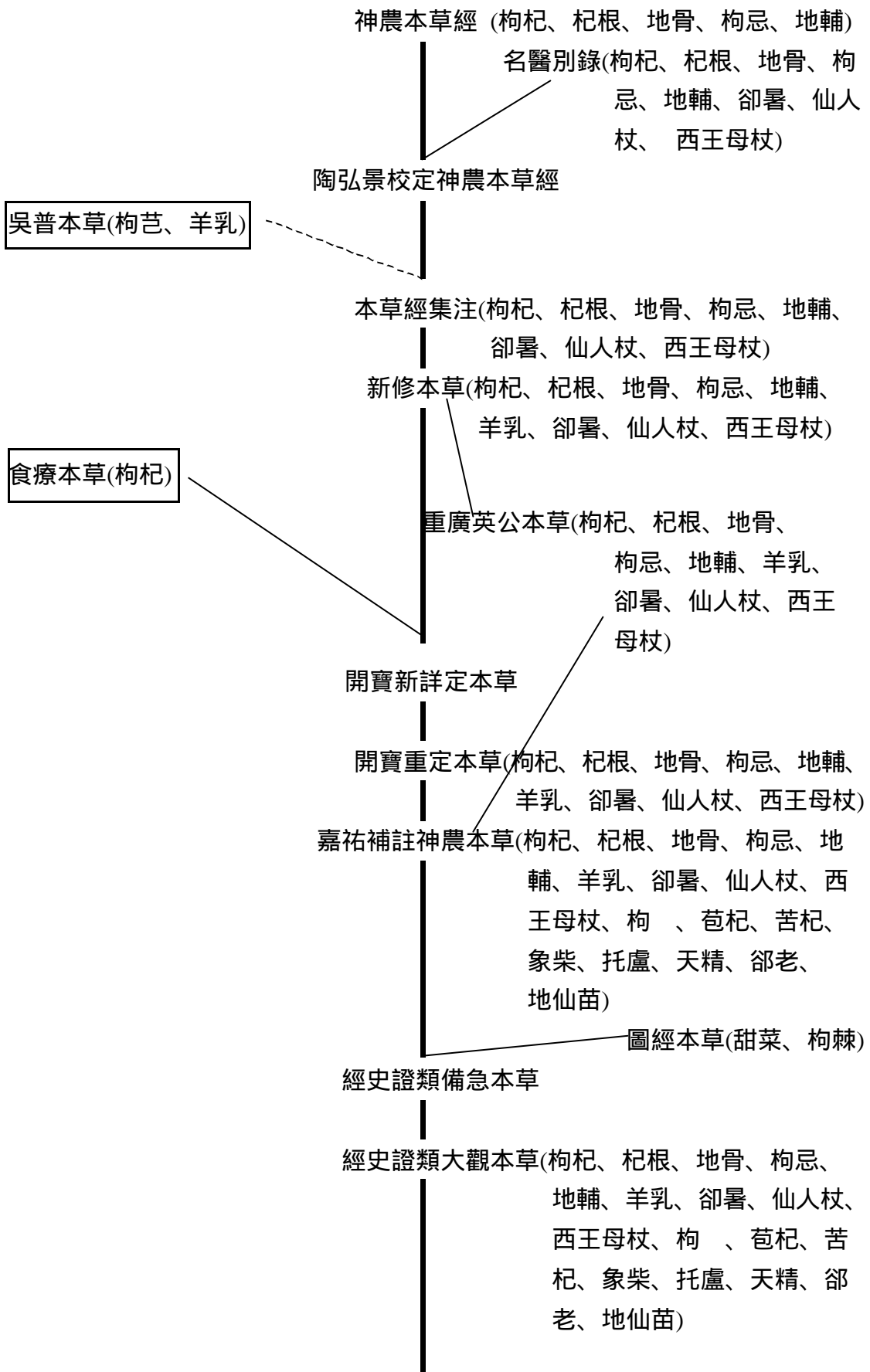
- 1-1-1 枸杞子之本草學考察
- 1-1-2 枸杞子之來源植物藥用植物學考察
- 1-1-3 枸杞子之生藥學考察
- 1-1-4 枸杞子之成分文獻考察
- 1-1-5 枸杞子之藥理文獻考察

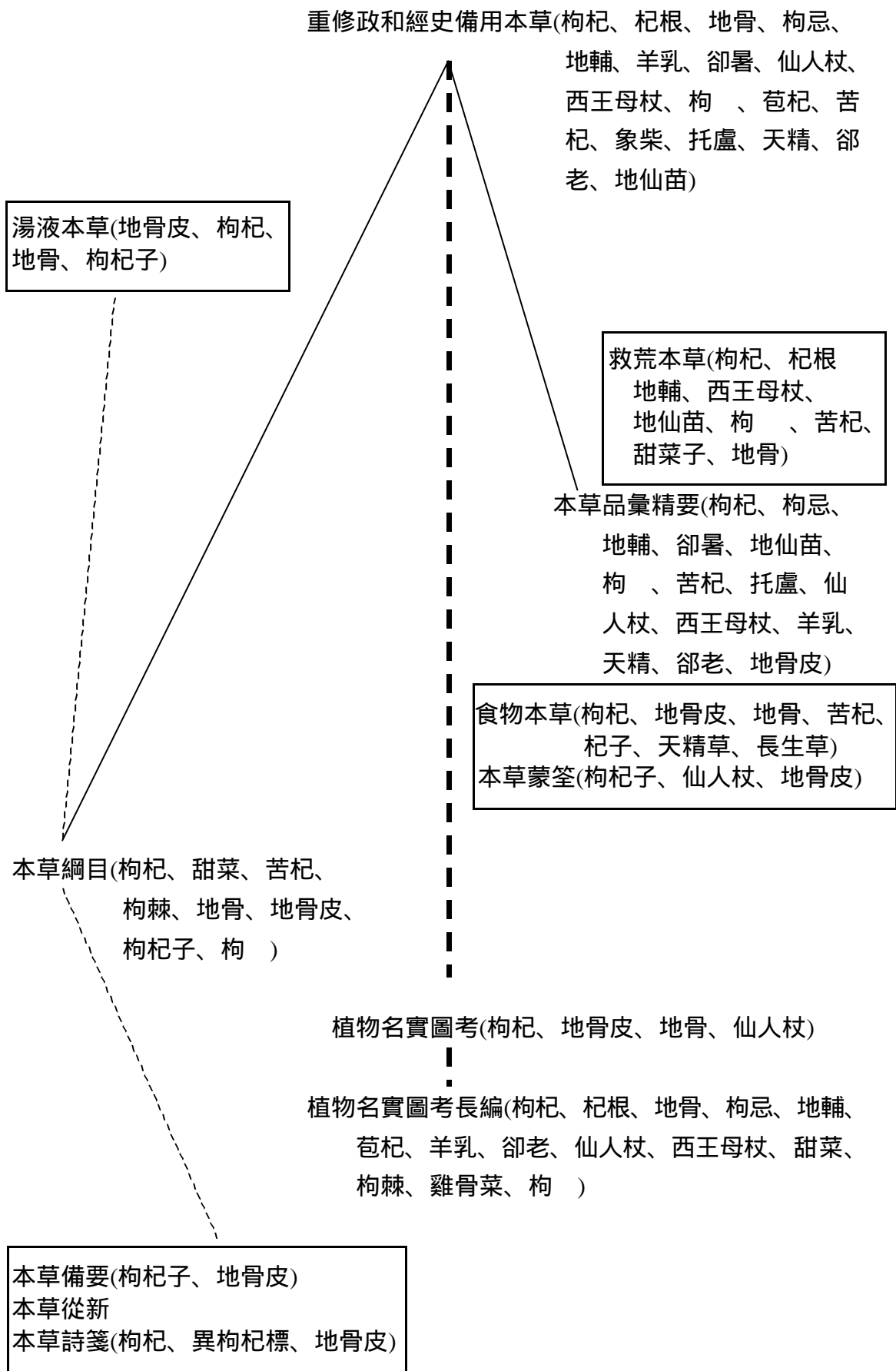
1-1 枸杞子之文獻考察

枸杞子是中國常用的中藥，要探討其效應，需參考已發表的論文，故就本草、藥用植物、生藥、成分與藥理學文獻加以考察，分別記述。

1-1-1 枸杞子之本草學考察

枸杞子最早記載於神農本草經，經歷代至明清近代皆有其本草記載，以年代先後順序，繪製枸杞子本草系統圖如下：





枸杞子之本草系統圖(Fig. 1)(那琦, 1982)

藥名考訂

枸杞之名稱最早出現在神農本草經，列為上品，經陳修園註解此處所言之功效，是指根苗花子而言。為茄科植物枸杞的根皮及果實。如根皮入藥，叫地骨皮；子實入藥，名枸杞子，或簡名杞子。嫩莖葉惟作蔬食(徐樹楠，1996)。因枸杞全株皆可食用，包括果實、根、莖、葉、嫩苗、花，因此考訂枸杞子之名稱，需同時考察其原植物，為便於瀏覽，首先列述諸家本草之記載如下：

枸杞、杞根、地骨、枸杞、地輔。本經：枸杞。一名杞根，一名地骨，一名枸杞，一名地輔(魏 吳普，1987)。

枸杞、羊乳。吳普本草：枸杞，一名枸杞，一名羊乳(魏 吳普，1987)。

卻暑、仙人杖、西王母杖。別錄：一名羊乳，一名去卻暑，一名仙人杖，一名西王母杖。(那琦，1977)。

枸。嘉祐引爾雅疏云：杞，一名枸，郭璞云：今枸杞也。

苞杞、苦杞。嘉祐引詩小雅四牡云：集于苞杞。陸機疏云：一名苦杞，一名地骨。(宋 掌禹錫，1989)。

象柴、托盧、天精、卻老。嘉祐引抱朴子云：象柴，一名純盧或名天精或名卻老或名地骨(宋 掌禹錫，1989)。

地仙苗。嘉祐引日華子：地仙苗，即枸杞也(宋 掌禹錫，1989)。

甜菜、枸棘。圖經：其根名地骨。今注云：世傳蓬萊縣南丘村多枸杞。又按枸杞一名仙人杖。陳子昂觀玉篇云：按此仙人杖作菜茹者。白棘木類，何因相似而致疑如此。或曰喬公所謂白棘，當是枸棘，枸棘是枸杞之有針者。而本經無白棘之別名(宋 蘇頌，1994)。

地骨皮、枸杞子、杞柳、杞。衍義：枸杞當用梗，地骨皮當用根皮，枸杞子當用其紅實，是一物有三用。(宋 寇宗奭，1987)。

枸、枸杞、天精草、長生草。綱目：枸杞 地骨皮 [釋名] 枸，爾雅音計，別錄作枸杞。時珍曰：「枸杞二樹名。此物棘如枸之刺。莖如杞之條，故兼名之。道書言千載枸杞，其形如犬。故得枸名，未審然否。[發明] 時珍曰：名天精草，夏采花，名長生草，秋采子，名枸杞子，冬采根，名地骨皮，並陰乾(明 李時珍，1990)。

雞骨菜。圖考長編引廣西通志：枸杞苗，一名雞骨菜(清 吳其濬，1975)。

蘿摩枸杞。圖考長編引農桑通訣曰：去家千里勿食蘿摩枸杞，言其補氣也(清 吳其濬，1975)。

圖考長編引嚴氏詩緝：詩中有三枸：將仲子樹杞，柳屬也；南山有杞、湛露杞棘，山木也；此詩苞杞，四月杞棗，北山言采其杞，枸杞也(清 吳其濬，1975)。

圖考：枸杞，本經上品，根名地骨皮。陸機詩疏，苞杞一名地骨是也。唐本草注，子似枸杞(清 吳其濬，1974)。

備要：枸杞子(清 汪昂，1993)。

異枸杞標。本草詩箋：枸杞色赤。地骨皮，產泉州者良。根皮名異枸杞標。葉和苗，苗葉亦清頭目(清 朱東樵)。

綜觀上述，枸杞子全株在歷代本草書籍曾出現以下的名稱：枸杞、杞根、地骨、枸杞、地輔、枸杞、羊乳、去卻暑、仙人杖、西王母杖、拘、苞杞、苦杞、象柴、托盧、天精、卻老、地仙苗、甜菜、枸棘、地骨皮、枸杞子、杞柳、杞、枸、枸杞、天精草、長生草、雞骨菜、蘿摩枸杞、異枸杞標。有依據外形而命名，如地骨、枸棘杞柳；有以性味或功用而命名，如羊乳、天精、長生草、去卻暑、仙人杖、苦杞；亦有以發音相同而命名，如枸杞；更因取用部位不同而有相異的名稱，如枸杞子與地骨皮。

另有一說，本經所言之枸杞是指枸杞根即地骨皮(張樹生，1996)，並非如陳氏所言是指根苗花子。故枸杞子最早則於名醫別錄中記載：根大寒，子微寒，無毒。……冬采根，春夏采葉，秋采莖實，陰乾。此處已提及枸杞實，另所言之秋采莖「實」之實，即是指枸杞子。而枸杞子之全名則以元朝王好古之湯液本草最早提及，後於本草綱目分列條文，詳記其修治、主治、發明。早於名醫始將枸杞子功效另述，而至證類更引用諸多枸杞子藥方，至明、清則有更多枸杞子之記載如本草品彙精要、綱目、備要、從新、本草詩箋，而枸杞子之應用亦愈形普遍。

形態、產地、藥用部位

枸杞子雖全株皆可食用，但早期本經只言枸杞，並未詳名使用部位，至陶注始分別言及根、實，後來葉、子(食療)(唐 孟詵，1984)，莖、苗(嘉祐)(魏 吳普，1987)等亦分別被述之，至證類更詳別枸杞子與地骨皮(宋 唐慎微，1977)。茲列各本草之記載於下：

本經：一名杞根，一名地骨，一名枸杞，一名地輔(徐樹楠，1996；魏 吳普，1987)。

吳普本草：枸杞，一名枸杞，一名羊乳(魏 吳普，1987)。

別錄：根大寒，子微寒，無毒。一名羊乳，一名去卻暑，一名仙

人杖，一名西王母杖。生常山平澤及諸丘陵阪岸上。冬采根，春夏采葉，秋采莖實，陰乾(那琦等，1977)。

陶注：今出堂邑，而石頭烽火樓下最多，其葉可作羹，味小苦。枸杞根、實，為服食家用，其說乃其甚美，仙人之杖，遠自旨乎也。

食療本草：葉及子：並堅筋能老，除風，補益筋骨，能益人，去虛勞。根：主去骨熱，消渴。葉和羊肉作羹，尤善益人(唐 孟詵，1984)。

嘉祐引詩小雅四牡陸機疏云：其莖似莓，子秋熟，正赤。莖、葉及子服之(宋 掌禹錫，1989)。

引藥性論：枸杞臣子葉同說。易顏色變白，明目安神，令人長壽，葉和羊肉作羹益人甚(宋 掌禹錫，1989)。

引日華子：地仙苗 即枸杞也(宋 掌禹錫，1989)。

圖經：..今處處有之。春生苗，葉如石榴葉而軟薄堪食，俗呼為甜菜；其莖幹高三、五尺，作叢；六月、七月生小紅紫花；隨便結紅實，形微長如棗核。其根名地骨。淮南枕中記：著西河女子服枸杞法：正月上寅採根，二月上卯治服之；三月上辰採莖，四月上巳治服之；五月上旬採葉，六月上未治服之；七月上申採花，八月上酉服之；九月上戌採子，十月上亥治服之；十一月上子採根，十二月上丑治服之。又有并花，實、根、莖、葉作煎，及單榨子汁煎膏服之，其功并等。世傳蓬萊縣南丘村多枸杞，高者一、二丈，其根蟠結甚固。故其鄉人多長壽，亦飲食其水土之品使然耳。潤州州寺大井傍生枸杞，亦歲久，云飲其水甚益人。 又按枸杞一名仙人杖。而陳藏器拾遺別兩種仙人杖：一種是枯死竹竿之色黑者，一種是菜類并此為三物，而同一名也。 按此仙人杖作菜茹者，葉似苦苣。白棘木類，何因相似而致疑如此。或曰喬公所謂白棘，當是枸棘，枸棘是枸杞之有針者。而本經無白棘之別名，又其味苦，仙人杖味甘，設疑為枸棘，枸棘亦非甘物(宋 蘇頌，1994)。

證類引雷公：凡使根掘得後，使東流水浸以物，刷上土了然後待乾破去心，用熟甘草湯浸一宿，然後焙乾，用其根，若似物命形狀者上，春食葉，夏食子，秋冬食根并子也(宋 唐慎微，1977)。

引食療：寒無毒，葉及子並堅筋能老除風，補益筋骨能益人，去虛勞。根主去骨熱消渴，葉和羊肉作羹，尤善益人(魏 吳普，1987)。

引聖惠方：枸杞子酒主補虛， 用生枸杞子五升，好酒二升，研搗勿碎浸七日，漉去滓飲之，初以三合為，始後即任性飲之(宋 掌禹錫，1989)。

引千金方：治齒疼，煮枸杞汁含之(宋 掌禹錫，1989)。

引又方：治肝虛或當風眼淚等雜病方，枸杞子最肥者二升治虛勞客熱，用枸杞根末調服，有固疾人不得喫(宋 掌禹錫，1989)。

引經驗後方：治五勞七傷，庶事衰弱，枸杞葉半斤，切粳米二合以豉汁中相和煮作粥，以五味末 等調和食之(宋 掌禹錫，1989)。

引孫真人備急方：治滿口齒有血，枸杞根為末煎湯嗽後喫，經治赤眼痒痛經驗後方同(宋 掌禹錫，1989)。

引兵部手集：療眼暴赤痛神效，枸杞汁點眼立驗(宋 掌禹錫，1989)。

引沈存中：陝西枸杞長一二丈，其圍數寸，無刺，根皮如厚朴，甘美異於諸處，生子如櫻桃，全少核，暴乾如餅極爛有味(宋 掌禹錫，1989)。

引外臺祕要：「療眼暴天行腫痒痛，地骨皮三升水三斗煮，取三升絞去滓，更內鹽二兩煎取二升傅目或加乾薑二兩(宋 掌禹錫，1989)。

別說云：「謹按枸杞本草所載及諸文所說名極多，故使人疑然此物用甚眾，花枝根實四時取採不絕，要之如圖經所說，實形長而枝無刺者真枸杞也，此說可為定論(宋 掌禹錫，1989)。

衍義：枸杞當用梗，地骨皮當用根皮，枸杞子當用其紅實，是一物有三用(宋 寇宗奭，1987)。

湯液本草：地骨皮(元 王好古，1987)。

救荒本草：葉及實皆可食 救肌：採葉煤熟，水淘淨，油鹽調食作羹食，皆可。子紅熟時亦可食，若渴煮，葉作飲以代茶飲之(明 朱肅，1996)。

本草品彙精要：枸杞，無毒，叢生。地：實陝西甘州茂州。時：春生苗；春取葉，秋取莖實。收：陰乾。用：莖葉實。質：葉如石榴葉而軟薄。色：青綠。 地骨皮，無毒，叢生(明 劉文泰，1982)。

食物本草：枸杞 地骨皮 [苗] 味苦，寒。[枸杞子] 味苦，寒。治堅筋骨，耐老，除風，去虛勞，補精氣(達美君，1994)。

本草蒙荃：枸杞子：味甘、苦，氣微寒。無毒。近道田側俱有，甘肅州并屬陝西者獨佳。春生嫩苗，作茹爽口。秋結赤實，入藥益人。依時採收，曝乾選用。紫熟味甜，粗小膏潤者有力；赤黯味淡，顆大枯燥者無能。 莖名仙人杖須識。地骨皮者。即此根名，惟取皮用(明 陳嘉謨，1988)。

綱目：枸杞 地骨皮

[集解] 時珍曰：古者枸杞地骨取常山者為上，其他丘陵阪岸

者皆可用，後世惟取陝西者良。而又以甘州者為絕品。今陝之蘭州靈州九原以西枸杞，並是大樹，其葉厚根粗，河西及甘州者，其子圓如櫻桃，暴乾緊小少核，乾亦紅潤甘美，味如葡萄，可作果食，異於他處者。沈存中筆談亦言陝西極邊生者高丈餘，大可作柱，葉長數寸，無刺，根皮如厚朴，則入藥大抵以河西者為上也。種樹書言收子及掘根種子於肥壤中，待苗生，剪為蔬食，甚佳(明 李時珍，1990)。

[氣味] 時珍曰：今考本經止云枸杞，不指是根莖葉子，別錄乃增根大寒子微寒字，似以枸杞為苗。而甄氏藥性論乃云，枸杞甘平，子葉皆同，似以枸杞為根。寇氏衍義又以枸杞為梗皮，皆是臆說。按陶弘景言枸杞根實為服食家用，西河女子服枸杞法，根莖葉花實俱採用，則本經所列氣主治。蓋通根苗花實而言，初無分別也。後世以枸杞子為滋補藥，地骨皮為退熱藥，始分而二之。竊謂枸杞苗葉味甘而氣涼，根味甘淡氣寒，子味甘氣平，氣味既殊。則功用當別，此後人發前人未到之處者也(明 李時珍，1990)。

[發明] 時珍曰：乃通指枸杞根苗花實並用之功也(明 李時珍，1990)。

本草述：入藥者大抵以河西為上也。愚按黃河圖說云，河歷西番至蘭州，而輿地圖說云，過河而西六百里至涼州，涼州西四百餘里至甘州，然則實貴甘為其極西地也，即不得甘州者，而出於河以西皆可用也，若然非河西而止屬陝西所產，猶不甚得力，則他土又可知矣(明 劉若金)。

圖考：陸機詩疏，嫩葉作蔬，根實入服食用，故有仙人杖之名。又澠疏，本經下品，代無識者。唐本草注，子似枸杞(清 吳其濬，1974)。

圖考長編引廣西通志：枸杞苗，一名雞骨菜(清 吳其濬，1975)。

引夢溪筆談：枸杞陝西極邊生者，高丈餘，大可作柱，葉長數寸無刺，根皮如厚朴，甘美異於他處者。千金翼云：甘州者為真，葉厚大者，是大抵出河西諸郡，其次江、淮間埂上者，實圓如櫻桃，全少核，暴乾如餅，極膏潤有味(清 吳其濬，1975)。

引種樹書曰：收子及掘根，種于肥壤中，待苗生，剪為蔬，食甚佳(清 吳其濬，1975)。

引博聞錄曰：種枸杞法，秋冬間收子，淨洗日乾。春耕熟地作町，闊五寸，紐草稔如臂大，置畦中，以泥塗草稔上。然後種子，以細土及牛糞蓋令偏，曲出頻水澆之，又可插種(清 吳其濬，1975)。

引務本新書曰：枸杞宜故區畦種，葉作菜食，子根入藥，

秋實收好子，至春畦種，如種菜法。又三月中苗出時，移栽如常法。伏內壓條，特為滋茂，一法截條長四五指許，掩於濕土地中亦生(清 吳其濬，1975)。

引農桑通訣曰：春夏採葉，秋採莖實，冬採根(清 吳其濬，1975)。

引嚴氏詩緝：詩中有三枸：將仲子樹杞，柳屬也；南山有杞、湛露杞棘，山木也；此詩苞杞，四月杞棗，北山言采其杞，枸杞也(清 吳其濬，1975)。

備要：枸杞子，南方樹高數尺，北方並是大樹，以甘州所產，紅潤少核者良，酒浸搗用，根名地骨皮。葉名天精草(清 汪昂，1993)。

地骨皮，瀉熱涼血補正氣(清 汪昂，1993)。

從新：枸杞子，滋補肝腎而潤(清 吳儀洛，1996)。

地骨皮，涼血除虛熱(清 吳儀洛，1996)。

本草詩箋：枸杞色赤，具溫甘苦帶微寒，根性耽。地骨皮，產泉州者良，根皮名異枸杞標枸杞根也，葉和苗苗葉亦清頭目(清 朱東樵)。

據上述諸家本草所論枸杞乃蔓生灌長於溝岸及山坡丘陵或灌溉田埂和水渠邊等處。果實(枸杞子)、根皮(地骨皮)與嫩莖葉皆可供藥用。枸杞子在夏、秋二季果實以色赤、圓如櫻桃時採收。晾至皮皺後，再曝曬至外皮乾硬、果肉柔軟、乾亦紅潤甘美者良，可生用或鮮用。枸杞子產地，古時以黃河以西之蘭州、涼州、甘州與茂州為主要產地，現於寧夏、內蒙古有大量栽培，其他甘肅、青海、新疆、河北、河南、陝西、四川、山西、江蘇亦有生產。

性味、藥能、方用、禁忌

考察枸杞之根、苗、葉、實、氣味、主治與枸杞子之附方、禁用如下：

本經：枸杞，味苦寒。主五內邪氣，熱中消渴，周痺。久服堅筋骨。輕身不老。

別錄：根大寒，子微寒，無毒。風濕，下胸脅氣，客熱，頭痛，補內傷，大勞嘔吸，堅筋骨，強陰，利大小腸。耐寒暑。

陶注：今出堂邑，其葉可作羹，味小苦。俗諺云，去家千里勿食蘿摩、枸杞，此言其補益精氣強盛陰道也。蘿摩一名苦丸，葉厚，作藤生、摺有白汁，人家多種之，可生噉，亦於蒸煮食也。枸杞根、實，為服食家用，其說乃其甚美，仙人之杖，遠自旨乎也。

食療本草：枸杞，寒。無毒。葉及子：並堅筋能老，除風，補益

筋骨，能益人，去虛勞。根：主去骨熱，消渴。葉和羊肉作羹，尤善益人。代茶法煮汁飲之，益陽事。能去眼中風癢赤膜，搗葉汁點良。又，取洗去泥，和麵拌作飲，煮熟吞之，去腎氣尤良。又益精氣。

嘉祐引詩小雅四牡云：春生作羹茹，微苦，其莖似莓，子秋熟，正赤。莖、葉及子服之，輕身益氣爾。

引藥性論：枸杞臣子葉同說味甘平能補益精諸不足。易顏色變白，明目安神，令人長壽，葉和羊肉作羹益人甚，除風明目，若渴可煮作飲，代茶飲之，白色無刺者良，與乳酪相惡發熱，諸毒煩悶，可單煮汁解之，能消熱麵毒。又根皮細剉，麵拌，熟煮吞之，主治腎家風，良又益精氣法。取葉上蟲窠子，暴乾為末，入乾地黃中為丸益陽事，主患眼風障赤膜昏痛，取葉搗汁注眼中妙。

引日華子：地仙苗，除頰益志，補五勞七傷，壯心氣，去皮膚骨節間風，消熱毒散瘡腫即枸杞也。

證類引雷公：凡使根掘得後，使東流水浸以物，刷上土了然後，待乾破去心，用熟甘草湯浸一宿，然後焙乾，用其根，若似物命形狀者上，春食葉，夏食子，秋冬食根并子也。

引食療：寒無毒，葉及子並堅筋能老除風，補益筋骨能益人，去虛勞。根主去骨熱消渴，葉和羊肉作羹，尤善益人，代茶法煮汁飲之，益陽事能去服中風，痒赤膜搗葉汁點之良，又取洗去泥和賣麵拌作飲，煮熟吞之，去腎氣尤良又益精氣。

引聖惠方：枸杞子酒主補虛，長肌肉，益顏色，肥健人，能去勞熱，用生枸杞子五升，好酒二升，研搗勿碎浸七日，漉去滓飲之，初以三合為，始後即任性飲之外臺祕要同。

引千金方：治齒疼，煮枸杞汁含之。

引又方：治肝虛或當風眼淚等雜病方，枸杞子最肥者二升，搗破內袋置罐中，以酒一升浸訖密封，勿泄氣三七日每旦飲之任性勿醉。治虛勞客熱，用枸杞根末調服，有固疾人不得喫。

引肘後方：治大赫瘡，此患急宜防毒氣，入心藏飲枸杞汁至差。

引又方：療目熱生膚赤白膜，搗枸杞汁洗目五七度。犬食馬肉生狂方，忽鼻頭燥眼赤不食，避人藏身皆欲發狂，便宜枸杞汁煮粥飼之即不狂。不肯食糜，以鹽塗其鼻既舐之則欲食矣。

引經驗方：金髓煎，枸杞子不計多少，逐日旋採摘紅熟者，去嫩蒂子揀令潔淨，便以無灰酒於淨器浸之，須是瓮用酒浸以兩月為限，用蠟紙封閉，緊密無令透氣，候日數足，漉出於新竹器內盛貯，旋於沙盆中研令爛細，然後以細布濾過，候研濾皆畢，去滓不用，即

并煎漬藥酒及濾過藥汁攪勻，量銀鍋內多少升斗，作番次慢火熬成膏，切須不住手用物攪，恐粘底不勻，候稠得所傾出用淨瓶盛之，勿令泄氣，每早晨溫酒下二大匙，頭夜臥服之，百日中身輕氣壯，積年不廢可以羽化。

引經驗後方：治五勞七傷，庶事衰弱，枸杞葉半斤，切粳米二合以鼓汁中相和煮作粥，以五味末等調和食之。

引又方：變白輕身，枸杞子二升，十月上亥日採，採時面東，摘生地黃汁三升，以好酒二升於瓷餅內浸二十一日，取出研令地黃汁同浸攪之，卻以紙三重封其頭了，更浸候至立春前三日，開心過逐日空心飲一盃，至立春後髭鬚變白，補益精氣服之耐老輕身無比。

引孫真人備急方：治滿口齒有血，枸杞根為末煎湯嗽後喫，經治赤眼痒痛經驗後方同。

引兵部手集：療眼暴赤痛神效，枸杞汁點眼立驗。

引沈存中：陝西枸杞長一二丈，其圍數寸，無刺，根皮如厚朴，甘美異於諸處，生子如櫻桃，全少核，暴乾如餅極爛有味。」

引外臺祕要：療眼暴天行腫痒痛，地骨皮三升水三斗煮，取三升絞去滓，更內鹽二兩煎取二升傳目或加乾薑二兩。

治疽：凡患癰疽惡瘡出黯血不止者，取地骨皮不拘多少淨洗，先刮上面，皮留之再刮取細白穰，取皮同地骨一處煎湯淋瘡上，令膿血淨以細貼之立效，有一朝土腹脅間病疽經歲不癒，差人燒骨皮傳之，初淋洗出血一二升其家人輩懼欲止病者曰，疽似少寬更淋之以至五斗許，血漸淡遂止以細貼之次日結痂遂愈。

別說云：..花枝根實四時取採不絕，要之如圖經所說實形長而枝無刺者真枸杞也，此說可為定論，不必多根而致疑，又用根去上浮皮，一重近白者，一重色微紫極薄陰乾，治金瘡有神驗。

衍義：枸杞當用梗，地骨皮當用根皮，枸杞子當用其紅實，是一物有三用。其皮寒，根大寒，子微寒，亦三等。..凡杞未有無棘者，雖大至有成架，然亦有棘，但此物小則多刺，大則少刺，還如酸棗及棘，其實皆一也，今人多用其子，直為補腎藥，是曾未考究經意，當更量其虛實冷熱用之。

湯液本草：地骨皮：氣寒，味苦，陰也大寒，無毒，足少陰經，手少陽經。象云：解骨蒸肌熱，主風濕鼻痺，消渴，堅筋骨，去骨用根皮。心云：去肌熱及骨中之熱。珍云：。涼血涼骨。

救荒本草：葉及實皆可食 救肌：採葉煤熟，水淘淨，油鹽調食作羹食，皆可。子紅熟時亦可食，若渴煮，葉作飲以代茶飲之。

本草品彙精要：枸杞，無毒。色：青綠。味：苦實甘。性：寒實

微寒。氣：氣薄味厚陰也。臭：朽。反：惡乳酪。主：強陰益精。合治：葉上蟲窠子暴乾為末入乾地黃中為丸益陽事助精氣。解：發熱諸毒煩悶煮汁解之及消熱麵毒。地骨皮，無毒，叢生。

食物本草：枸杞 地骨皮 [苗] 味苦，寒。主除煩益志，補五勞七傷。壯心氣。去皮膚骨節間風，消熱毒，散瘡腫。[枸杞子] 味苦，寒。治堅筋骨，耐老，除風，去虛勞，補精氣。主心病嗑干心痛，渴而引飲，腎病消中。滋腎潤肺，榨油點燈，明目。

本草蒙荃：枸杞子：味甘、苦，氣微寒。無毒。春生嫩苗，作茹爽口。秋結赤實，入藥益人。紫熟味甜，粗小膏潤者有力；赤黯味淡，顆大枯燥者無能。今市家多以蜜拌欺人，不可不細認爾。去淨梗蒂，任作散丸。明耳目安神，耐寒暑延壽。添精固髓，健骨強筋。滋陰不致陽衰，興陽常使陽舉。諺云：離家千里，勿服枸杞，亦以其能助陽也。更正消渴，尤補勞傷。葉搗汁注目中，能除風癢去膜。若作茶啜喉內，亦解消渴強陰。諸毒煩悶善驅，麵毒發熱立卻。葉上蟲窠子收曝，可同乾地黃作丸。不厭酒吞，甚益陽事。莖名仙人杖須識，皮膚骨節風能追。熱毒兼消，瘡腫可散。地骨皮者，性甚寒涼。即此根名，惟取皮用。經入少陰腎臟，并手少陽三焦。解傳尸有汗，肌熱骨蒸；療在表無寒，風濕周痺。去五內邪熱，利大小二便。強陰強筋，涼血涼骨。

綱目：枸杞 地骨皮

[氣味] 時珍曰：今考本經止云枸杞，不指是根莖葉子，別錄乃增根大寒子微寒字，似以枸杞為苗。而甄氏藥性論乃云，枸杞甘平，子葉皆同，似以枸杞為根。寇氏衍義又以枸杞為梗皮，皆是臆說。按陶弘景言枸杞根實為服食家用，西河女子服枸杞法，根莖葉花實俱采用，則本經所列氣主治。蓋通根苗花實而言，初無分別也。後世以枸杞子為滋補藥，地骨皮為退熱藥，始分而二之。竊謂枸杞苗葉味甘而氣涼，根味甘淡氣寒，子味甘氣平，氣味既殊。則功用當別，此後人發前人未到之處者也。

苗 [氣味] 時珍曰：甘涼，伏砒砂。[主治] 去上焦心肺客熱。

地骨皮 [氣味] 時珍曰：甘淡寒。；杲曰：苦、平、寒、升也。陰也。；好古曰：入足少陰，手少陽經，制硫黃丹砂。[主治] 孟詵：去骨熱消渴；元素：解骨蒸肌熱消渴、風濕痺、堅筋骨，涼血。；李杲：治在表無定之風邪，傳尸有汗之骨蒸。；好古：瀉腎火、降肺中伏火，去胞中火，退熱、補正氣；吳瑞：「治上膈吐血，煎湯嗽口，止齒血，治骨槽風；陳承：治金瘡神驗；時珍：去下焦肝腎虛熱。

枸杞子 [主治] 好古：主心病嗑乾心痛，渴而引飲，腎病消中。

時珍：滋腎潤肺，榨油點燈，明目。[發明] 時珍曰：按劉禹錫枸杞井詩云，僧房藥樹依寒井，井有清泉藥有靈，翠黛葉生籠石磴，殷紅子熟照銅鉞枝繁本是仙人杖，根老能成瑞犬形，上品功能甘露味，還知一勺可延齡，又續仙傳云，朱孺子見溪側二花犬，逐入于枸杞叢下。掘之得根，形如二犬，烹而食之，忽覺身輕。周密浩然齋日鈔云，宋徽宗時，順州築城，得枸杞于土中，其形如獒狀，馳獻闕下，乃仙家所謂千歲枸杞，其形如犬者，據前數說，則枸杞之滋益不獨子，而根亦不止于退熱而已，但根苗子之氣味稍殊，而主治亦未必無別，蓋其苗乃天精，苦甘而涼，上焦心肺客熱者宜之，根乃地骨，甘淡而寒，下焦肝腎虛熱者宜之，此皆三焦氣分之藥，所謂熱淫于內，瀉以甘寒也。至于子則甘平而潤，性滋而補，不能退熱，止能補腎潤肺，生精益氣，此乃平補之藥，所謂精不足者補之以味也，分而用之，則各有所主，兼而用之，則一舉兩得，世人但知用黃芩黃連苦寒以治上焦之火，黃蘗知母苦寒以治下焦陰火，謂之補陰降火，久服致傷元氣，而不知枸杞地骨甘寒平補，使精氣充而邪火自退之妙，惜哉子嘗以青嵩佐地骨退熱，屢有殊功，人所未喻者，兵部尚書劉松石諱天和，麻城人，所集保壽堂方，載地仙丹，云昔有異人赤腳張傳此方于猗氏縣一老人，服之壽百餘，行走如飛，髮白反黑，齒落更生，陽事強健。此藥性平，常服能除邪熱，明目輕身，春采枸杞葉，名天精草，夏采花，名長生草，秋采子，名枸杞子，冬采根，名地骨皮，並陰乾。用無灰酒浸一夜，曬露四十九晝夜，取日精月華氣，待乾為末，鍊蜜丸如彈子大，每早晚各用一丸，細嚼，以隔夜百沸湯下。此藥采無刺味甜者，其有刺者服之無益。

本草述：時珍曰本經止云枸杞不指是莖葉子根，初未有分別也，後世以子為滋補，根為退熱，始分而二之，竊謂枸杞苗葉味苦甘而氣涼，根味甘淡氣寒，子味甘氣平，氣味既殊則功用自當別也。

備要：枸杞子，平補而潤；甘平本草苦寒。潤肺、清肝滋腎，益氣生精，助陽，補虛勞，強筋骨肝主筋，腎主骨。去風明目目為肝竅，瞳子屬腎。利大小腸，治嗌乾消渴昂按古諺有云出家千里勿食枸杞其色赤屬火能補精壯陽然氣味甘寒而性潤仍是補水之藥所以能滋腎益肝明目而治消渴也。南方樹高數尺，北方並是大樹，以甘州所產，紅潤少核者良，酒浸搗用，根名地骨皮。葉名天精草，苦甘而涼，清上焦心肺客熱，代茶止消渴，時珍曰皆上焦氣分之藥。

地骨皮，瀉熱涼血補正氣。甘淡而寒，降肺中伏火，瀉肝腎虛熱，能涼血而補正氣，故內治五內邪熱。熱淫於內治以甘寒地骨一斤生地五斤酒煮服。吐血尿血，搗鮮汁服，欬嗽消渴，清肺，外治肌熱虛汗，上除頭風痛，能除風者，肝腎同治也，肝有熱則自生風，與外感之風不同，熱退則風自息。中平胸樂脇痛，清肝下痢大

小腸，療在表無定之風邪，傳尸有汗之骨蒸。李東垣曰地為陰骨為裏皮為表地骨皮瀉腎火牡丹皮瀉包絡火總治熱在外無汗而骨蒸知母瀉腎火治熱在內有汗而骨蒸四物陽加二皮治婦人骨蒸朱二允日能退內潮人所知也能退外潮人實不知病或風寒散而未盡作潮往來非柴葛所能治用地骨皮走表又走裏之藥消其浮游之邪服之未有不愈者特表明之時珍曰枸杞地骨甘寒平補使精氣充足而邪火自退世人多用苦寒以芩連降上焦知柏降下焦致傷元氣惜哉予嘗以青蒿佐地骨退熱累有殊功。甘草水浸一宿用，腸滑者忌枸杞子，中寒者忌地骨皮，搗鮮者同鮮小蘗煎濃汁浸下疳甚效。

從新：枸杞子，滋補肝腎而潤。甘微溫，滋肝益腎。景岳曰用之以助熟地甚妙。生精助陽。養營除煩，去風明目。肝開竅於目黑水神光屬腎。

地骨皮，涼血除虛熱。甘淡而寒，降肺中伏火，除肝腎虛熱，能涼血而治五內煩熱。熱淫於內治以甘寒地骨一斤生地五斤酒煮服治帶下。中寒者勿用。止消渴。婦人陰腫或生產，地骨皮煎水頻洗效。

本草詩箋：枸杞色赤，具溫甘苦帶微寒，根性耽。根味苦，性微寒。地骨皮，產泉州者良，根皮名異枸杞標。枸杞根也，葉和苗苗葉亦清頭目。

綜如上述：枸杞子性味甘、平，有滋腎補肝明目潤肺、補水製火，平補陰陽的功效，主治肝腎陰虛、陰血虧損、陰虛勞嗽諸證。地骨皮性味甘、淡、寒，有涼血退蒸、清泄肺熱，主治陰虛血熱、骨蒸潮熱、血熱吐、肺熱嗽經所列氣味主治，蓋通根、苗、花、實而言，初無分別。後世則以枸杞子為滋補藥，地骨皮為退熱藥(張樹生，1996)，至綱目謂枸杞苗葉味苦甘而氣涼，根味甘淡氣寒，子味甘氣平，氣味既殊，則功用當別。枸杞子尚有祛風明目，強筋健骨，治消渴之功用。枸杞子雖滋膩性較小，但畢竟為味甘質潤之品，本草經疏云：脾胃薄弱，時泄瀉者勿入(顏正華，1991)。本草彙言云：脾胃有寒痰冷癖者勿入，故脾虛有濕及泄瀉者忌服(明 倪朱謨，1996)。故脾胃濕虛與腹瀉者，不宜食用枸杞子，以免加重病情。

修治、炮製、貯藏

綱目：凡用揀淨枝梗，取鮮明者洗淨，酒潤一夜，搗爛入藥(明 李時珍，1990)。

聖濟總錄：去蒂(宋 趙佶，1982)。

普濟方：去莖蒂，曬乾，研細用(明，朱橚，1991)。

聖惠方：去蒂(宋 王懷隱，1982)。

增廣驗方新編：去核炒(顏正華，1991)。

中華本草：將食鹽置鍋內，用文火炒熱後，再加入枸杞子炒至黃色發脹時，篩去鹽即可(國家中醫藥管理局，1999)。

中國藥材學：置於冷藏庫內，少量時整理後用紙包封固，貯於石灰缸內。防霉、防蛀、防變色(徐國鈞，1996)。

據上述，枸杞子現今取原藥材，除去雜質，摘去殘留果梗和蒂。炮製則炒枸杞子與鹽枸杞子。保存於乾燥容器內。炒枸杞子、鹽枸杞子密閉，置陰涼乾燥處，防熱、防潮、防蛀。

1-1-2 枸杞子之來源植物藥用植物學考察

枸杞子之特徵

原植物寧夏枸杞 *Lycium barbarum* LINNAEUS 為灌木或經栽培後成大灌木，高 1~3m。主莖數條，粗壯；小枝有縱稜紋，有不生葉的短棘刺和生葉、花的長棘刺，果枝細長，通常先端下垂，外皮淡灰黃色，無毛。葉互生或數片簇生於短枝上；葉柄短；葉片披針形或長圓狀披

針形，長 2~8cm，寬 0.5~3cm，先端尖，基部楔形或狹楔形而下延成葉柄，全緣，上面深綠色，背面淡綠色，無毛。花腋生，常單 1 或 2~6 朵簇生在短枝上；花梗細；花萼鐘狀，長 4~5mm，先端 2~3 深裂，裂片寬卵狀或卵狀三角形；花冠漏斗狀，管部長約 8 mm，先端 5 裂，裂片卵形，長約 5mm，粉紅色或淡紫紅色，具暗紫色脈紋，管內雄蕊著生處上方有一圈柔毛；雄蕊 5；雌蕊 1，子房長圓形，2 室，花柱線形，柱頭頭狀(國家中醫藥管理局，1999)。

枸杞子為茄科植物寧夏枸杞 *Lycium barbarum* LINNAEUS 的乾燥成熟果實。漿果呈卵圓形、橢圓形或闊卵形，長 8~20mm，直徑 5~10mm，紅色或橘紅色，果皮肉質。種子多數，近圓腎形而扁平，棕黃色。花期 5~10 月，果期 6~11 月(國家中醫藥管理局，1999)。新貨表面紅色或深紅色，陳貨暗紅色，具不規則皺紋，略帶光澤，頂端有凸起的花柱痕，基部有稍小凹的白色果梗痕。橫切面類圓形，可見果皮柔韌，果肉柔軟滋潤。種子黃色，有細微凹點，凹側有明顯的種臍。無臭，味甜微酸(徐國鈞等，1996；黃進，1993)。

枸杞子別名有西枸杞、中寧枸杞、白刺(青海)、山枸杞(山西)、白疙針、白葛針(內蒙古)(徐國鈞等，1996)。

枸杞子同科屬植物之特徵與分佈

(一)血枸杞子：茄科植物枸杞 *Lycium chinensis* MILLER 的乾燥果實。異名：土枸杞、津枸杞、河北枸杞子。安徽廣為分佈，且習用。本品為橢圓形或卵圓形，兩端略尖，長 1~1.5cm，直徑 4~6mm。新貨表面鮮紅色，具不規則皺紋，皮肉稍薄，無光澤，久存變暗紅，質不及寧夏枸杞子柔軟，較硬。種子粒多而大，味微甜，細嚼後微有苦味(黃進，1993)。

(二)大果枸杞子：茄科植物北方枸杞 *Lycium chinensis* MILLER. var. *potaninii* (POZARKOVA) A.M.LU 的乾燥成熟果實。異名：椒形枸杞子(陳岩等，1988)。主要分佈於河北省。本品為長紡錘形。顆粒長而大，身扁，長約 2~3cm，寬 4~6mm，表面紅色，果皮很薄，呈半透明狀。果核隱約可見，味先微甜後苦澀，糖分少(黃進，1993；陳岩等，1993)。

(三)珊瑚櫻果：茄科植物珊瑚櫻 *Solanum pseudo-capsicum* LINNAEUS 的果實。安徽有分佈。本品為橢圓形或圓球形，兩端鈍圓，長 0.8~1.5cm，直徑 0.6~1.5cm。表面暗棕色或黃棕色，具光澤，基部有深色凸起的果梗痕，果皮薄而稍硬，極皺縮，半透明，可見到裡面的種子。氣微香，味微酸(黃進，1993)。

(四)土庫曼枸杞：茄科植物 *Lycium turcomanicum* TURCZANINOW 的果實。異名：甘州子(江蘇新醫學院，1978)。

(五)西北枸杞：茄科植物 *Lycium potaninii* POZARKOVA 的果實(江蘇新醫學院，1978)。

(六)毛蕊枸杞：為毛蕊枸杞 *Lycium dasystemum* POZARKOVA 的果實，當地都作枸杞子使用。異名：新疆產的“古城子”(江蘇新醫學院，1978)。

1-1-3 枸杞子之生藥學文獻考察

枸杞子以粒大、色紅、肉厚、質柔潤、籽少、味甜者為佳。本論文是使用茄科植物寧夏枸杞 *Lycium barbarum* LINNAEUS 的乾燥成熟果實，但近期有以同科植物果實做為藥用，故引述數篇有關枸杞子生藥鑑識方法的報導如下：

一、寧夏枸杞子鑒別文獻

正品枸杞、偽品北方枸杞與混淆品首陽小檗鑒別(張雪琴、魏加印, 2000), 寧夏枸杞子與枸杞子的鑒別(姜艷玲, 1997), 市售枸杞子生藥學鑒定(林麗等, 2000)。

二、顯微鑑別

果皮橫切面：外果皮 1 層細胞，切向壁增厚，非木化或微木化，外被角質層，外緣不規則細齒狀。中果皮為 10 餘層細胞，含眾多橙紅色素顆粒，有的含草酸鈣砂晶；維管束雙韌型，多數，散列，導管細小。內果皮 1 層細胞，排列成微波狀。在果實的橫隔及中軸胎座的薄壁組織中，散有維管束，有的維管束中導管數目較多(徐國鈞等, 1996)。

三、粉末特徵

黃橙色或暗紅色。(一)種皮石細胞表面不規則多角形或長多角形，垂周壁深波狀彎曲或微波狀彎曲，直徑 37~117 μm ，長至 196 μm ，壁厚 5~27 μm ；斷面觀類方形或扁方形，側壁及內壁增厚，內壁稍彎曲，外壁黏液化。(二)外果皮細胞表面觀類多角形或長多角形，垂周壁細波狀彎曲或平直，外平周壁表面有較細密平行角質條紋。(三)中果皮薄壁細胞類多角形，胞腔內含橙紅色或紅棕色色素顆粒；有的含草酸鈣砂晶。(四)內胚乳細胞多角形，含橙黃色脂肪油滴及糊粉粒。此外，可見單個散在的果皮石細胞，胞腔較大，紋孔、孔溝及層紋明顯(徐國鈞等, 1996)。

四、枸杞子商品

枸杞子商品有西枸杞、津枸杞(血枸杞)。西枸杞系指寧夏、甘肅、內蒙古、新疆等地的產品。血枸杞系指河北、山西等地產品。

(一)西枸杞

分五等。一等：呈橢圓形或長卵形，果皮鮮紅，紫紅或紅色；糖質多。質柔軟滋潤。味甜。每 50g 370 粒以內。二等：每 50g 580 粒以內，餘同一等。三等：果皮紅褐色或淡紅色，糖質較少。每 50g 900 粒以內，餘同一等。四等：每 50g 1100 粒以內。油果不超過 15%，餘同三等。五等：色澤深淺不一，每 50g 1100 粒以外，破子、油果不超過 30%，餘同四等(國家中醫藥管理局，1999)。

(二)血枸杞

分三等。一等：類紡錘形，略扁，果皮鮮紅或深紅色，果肉柔軟，味甜微酸。每 50g 600 粒以內。無油果、黑果。二等：每 50g 800 粒以內，油果不超過 10%，無黑果，餘同一等。三等：色澤深淺不一，每 50g 800 粒以外(包括油果)，餘同二等(國家中醫藥管理局，1999)。

1-1-4 枸杞子之成分考察

枸杞子的化學成分分析研究，自其主要成分分離迄今已有三十餘年，目前約已分離出近百餘種成分(國家中醫藥管理局，1999)，茲將已分離鑑定之成分分述如下：

一、寧夏枸杞子成分

寧夏枸杞的成熟果實含甜菜鹼(betaine)，阿托品(atropine)，天仙子胺(hyoscyamine)(Harsh, 1989)。又含玉蜀黍黃質(zeaxanthin)，酸漿果紅素(physalene)，隱黃質(cryptoxanthin)(齊宗紹等，1986)，東莨菪素(scopoletin)(徐國鈞，1996)，胡蘿蔔素(carotene)，硫胺素(thiamine)，核黃素(riboflavin)，煙酸(nicotinic acid)，維生素 C(vitamin C)(齊宗紹等，1986)。種子含氨基酸：天冬氨酸(aspartic acid)、脯氨酸(proline)、丙氨酸(alanine)、亮氨酸(leucine)、苯丙氨酸(phenylalanine)、絲氨酸(serine)、甘氨酸(glycine)、谷氨酸(glutamic acid)、半胱氨酸(cysteine)、賴氨酸(lysine)、精氨酸(arginine)、異亮氨酸(ileucine)、蘇氨酸(threonine)、組氨酸(histidine)、酪氨酸(tyrosine)、色氨酸(tryptophan)、蛋氨酸(methionine)(李春生，1990)。還含有鉀、鈣、鈉、鋅、鐵、銅、錳、硒、鉻、鋁、鉛、鎳、鎘、砷、鈷、鎂等元素(王杰，1991)。另含具促進免疫作用的多糖，含量為 7.09 % (王強等，1991)。又含牛磺酸(taurine)， β -氨基丁酸(β -aminobutanoic acid)(陳綏清，1991)。

二、寧夏枸杞同屬植物成分

同屬植物枸杞的成熟果實含甜菜鹼，玉蜀黍黃質，酸漿果紅素。還含氨基酸：亮氨酸、纈氨酸(valine)、脯氨酸、丙氨酸、酪氨酸、谷氨醯胺(glutamine)、甘氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、天冬醯胺(asparagine)、組氨酸、色氨酸。又含揮發性成分，主要是藏紅花醛(safranal)、 β -紫羅蘭酮(β -ionone)，3-羥基- β -紫羅蘭酮(3-hydroxy- β -ionone)，左旋 1,2-去氫- β -香附子烯(1,2-dehydro- β -cyperene)，馬鈴薯螺二烯酮(solavetivone)。另報導，果實含胡蘿蔔素，硫胺素，核黃素，煙酸，維生素 C。種子含油，其中非皂化部分含有多種固醇：屬於 4-去甲基固醇類的有膽固醇(cholesterol)，7-膽固烯醇(cholest-7-enol)，菜油固醇(campesterol)，24-亞甲基膽固醇(24-methylenecholesterol)，異岩藻固醇(isofucosterol)，豆固醇(stigmasterol)， β -谷固醇(β -sitosterol)，24-甲基-5,24-膽固二烯醇(24-methylcholesta-5,24-dienol)，24-乙基

-5,24-膽固二烯醇(24-ethyl-cholesta-5,24-dienol) , 膽固烷醇(cholestanol) , 24-甲基膽固烷醇(24-methylcholestanol) , 24-乙基膽固烷醇(24-ethylcholestanol) , 24-乙基-22-膽固烯醇(24-ethylcholest-22-enol) ; 屬於4-甲基固醇類的有31-去甲基環木菠蘿烷醇(31-norcycloartanol) , 31-去甲基環木菠蘿烯醇(31-norcycloartenol) , 環桉烯醇(cycloeucalenol)31-去甲基-8-羊毛固烯醇(31-norlanost-8-enol) , 31-去甲基羊毛固醇(31-norlanosterol) , 鈍葉固醇(obtusifoliol) , 4 , 14 , 24-三甲基-8,24-膽固二烯醇(4 , 14 , 24-trimethylcholesta-8-24-dienol) , 31-去甲基-9(11)-羊毛固烯醇[31-norlanost-9(11)-enol] , 24-甲基-31-去甲基-9(11)-羊毛固烯醇[24-methyl-31-norlanost-9(11)-enol] , 4-甲基-8-膽固烯醇(4-methylcholest-8-enol) , 4-甲基-7-膽固烯醇(4-methylcholest-7-enol) , 4-甲基-24-乙基-7-膽固烯醇(24-ethyllophenol) , 4,24-二甲基-7-膽固烯醇(4,24-methyllophenol) , 禾本固醇(gramisterol) , 檸檬固二烯醇(citrostadienol) , 4 , 24-二甲基-7,24-膽固二烯醇(4 , 24-dimethylcholesta-7,24-dienol) , 4-甲基-24-乙基-7,24-膽固二烯醇(4-methyl-24-ethylcholesta-7,24-dienol) ; 屬4,4-二甲基固醇類的有8-羊毛固烯醇(lanost-8-enol) , 環木菠蘿烷醇(cycliartanol) , 環木菠蘿烯醇(cycloartenol) , 羊毛固醇(lanosterol) , β -香樹脂醇(β -amyrin) , 羽扇豆醇(lupeol) , 24-亞甲基-8-羊毛固烯醇(24-methylenelanost-8-enol) , 24-亞甲基環木菠蘿烷醇(24-methylenecycloartanol)等。另含具促進免疫作用的多糖 , 含量 5.42 % ~8.23 % (王強 , 1991)。又含牛磺酸 , γ -氨基丁酸。

1-1-5 枸杞子之藥理文獻考察

一、對免疫功能的影響

(一)免疫調節作用

給老年小鼠腹腔注射枸杞多糖(LBP)1~20 mg/kg，連續 7 天，可使其脾溶血空斑形成細胞(PFC)值達到正常成年小鼠量。在給予枸杞多糖 5mg/kg 時可使 H-TdR 摻入值提高 10 倍。應用超適劑量綿羊細胞(SRBC)免疫法(SOD)表示，適宜劑量的 LBP 對老年小鼠抑制細胞 T 細胞(Ts)有明顯調節作用，增強 Ts 細胞的活性(耿長山等，1989)。低劑量 LBP(5 mg/kg)可增加 Ts 細胞抑制抗體的功能，當劑量增加到 25 mg/kg、50 mg/kg 時，對細胞功能的增強作用明顯下降。說明 LBP 對淋巴細胞有選擇性藥理作用，並且有免疫調節功能(耿長山等，1988)。LBP 對小鼠 T、B 淋巴細胞因子呈雙向調節作用，劑量大至 1 mg/mL 時呈抑制作用，小至 10^{-5} mg/mL 時呈增長作用(錢玉昆等，1988)。

(二)免疫增強作用

枸杞多糖(LBP)10mg/kg 給小鼠灌胃，連續 7 天，能顯著地增加巨噬細胞受體的數量和活力，並能減弱醋酸氫化可的松對巨噬細胞受體的抑制作用(黎雪如，1990)。LBP5mg/kg 腹腔注射，細胞的殺傷率由 12.4 % 提高到 18 %，說明 LBP 增強正常小鼠 T 細胞免疫反應的活性(王柏昆等，1990)。應用細胞培養和小鼠腹腔巨噬細胞吞噬功能觀察測定方法，觀察到枸杞子提取液作用於第 35 代 2BS 細胞(體外培養的正常人胚肺二倍體成纖維細胞)，細胞則多見分裂，增殖數呈線性上升，受此作用的巨噬細胞數量增多，體積增大，偽足增多及吞噬紅細胞的能力增強(王淑蘭等，1990)。枸杞子水煎劑 10mg/(kg/day)灌服，連續 9 天能增加大鼠中性粒細胞吞噬死酵母菌的作用，並能恢復注射過環磷酰胺的小鼠白血球數，恢復率(%)為 79.24 ± 18.2 。枸杞子水煎劑、枸杞多糖都能增加溶血空斑(PFC)計數，水煎劑增加 PFC 計數(/ 10^6)為 1246(趙連根等，1990；1990a)。枸杞子水煎劑 200mg/隻灌胃，連續 14 天和 30 天，可明顯對抗鉛降低外周 T 淋巴細胞數，抑制遲發型變態反應和降低抗體效價等免疫毒性，表示枸杞對鉛的免疫毒性有明顯的拮抗作用(尹秀琴等，1993)。LBP 用生理鹽水配成 1mg/mL 的濃度，腹腔給藥 0.2mL/隻小鼠，連續 7 天，實驗結果，LBP 對環磷酰胺和 ^{60}Co 照射所致的白血球數降低有明顯的升白細胞作用(王強等，1993)。枸杞水浸液對小鼠灌胃後全身給予 X 線照射，進行了淋巴細胞轉化率、腹腔巨噬細胞吞噬功能、抗體分泌功能的檢測和胸腺、脾重影響的觀察，結果顯示：枸杞水浸液具有明顯的抗 X 射線

輻射作用，用藥組之系列免疫指標與對照組比較，具有非常顯著性差異。給大鼠灌服枸杞袋泡茶 2mL/隻，持續 2 星期，可明顯提高免疫球蛋白含量(尤其是 IgM)和補體活性。

二、延緩衰老作用

枸杞提取液在試管內有明顯抑制小鼠肝勻漿過氧化脂質(LPO)的生成作用，並呈劑量反應關係；小鼠體內試驗證實，枸杞提取液 0.5mg (生藥) /kg、5mg (生藥) /kg 灌胃，共 20 天，可明顯抑制肝 LBP 生成，並使血中谷胱甘 過氧化 (GSH-PX)活力增高；人體試驗顯示可明顯抑制血清 LPO 生成，使血中 GSH-PX 活力增高，但紅細胞 SOD 活力未見升高，提示枸杞提取液具有延緩衰老作用(王惠琴等，1992)。

三、抗腫瘤作用

用枸杞子的丙酮提取液對致癌劑誘導的突變株 TA₉₈、TA₁₀₀ 有抑制突變作用，抑制率分別為 91.8 %、82.6 %。說明枸杞子含有抗突變物質和具有抗禦、阻斷致突變作用(阮萃才等，1990)。枸杞子冷凍乾燥粉混懸液對大鼠肉瘤 W₂₅₆，LBP 對小鼠肉瘤 S₁₈₀，均能提高其機體的免疫能力並有一定的抑瘤作用，LBP 10 mg/kg 腹腔注射，共七天，可使小鼠的 T 淋巴細胞增殖反應從 0.3 % (正常) 提高到 24.6 %，LBP 10~20 mg/kg 抑瘤率為 31 %~39 %，環磷醯胺 12.5 mg/kg 單次皮下注射的抑瘤率為 14 %，與 LBP 10 mg/kg 合用的抑瘤率為 54 %，有明顯的協同作用；用枸杞子冷凍乾燥粉混懸液治療大鼠肉瘤 W₂₅₆1 星期內白血球有明顯回升，第 14 日白血球細胞回升到正常值(歐陽卓志，1988)。枸杞子 20g(生藥)/kg 灌胃，連續 7 天，能減輕環磷醯胺引起的小鼠外周白血球減少，其升高率為 30.6 % (王順祥等，1992)。LBP 5~10mg/kg 腹腔注射 C₅₇BL/6 小鼠，可明顯促進小鼠脾細胞增殖，將這種脾細胞以 2x10⁶/mL 經 125~1000 μ/mL 白介素-2 體外誘導 4 天，用 [¹²⁵I]UdR 釋放分析測 LAK 細胞活性，發現注射 LBP 組小鼠脾細胞 LAK 細胞活性比注射生理鹽水組提高 26 %~80 %，LBP 注射老齡小鼠顯著促進脾細胞增殖，且 LAK 細胞活性可提高 120 %~200 % (曹廣文等，1993)。通過細胞體外培養方法試驗證明，枸杞子、葉對人胃癌 KATO-III 細胞，枸杞果柄、葉對人子宮頸癌(HeLa)細胞均有明顯抑制作用，其作用機轉主要表現在抑制細胞 DNA 合成，干擾細胞分裂，細胞再殖能力下降。用 C57BL 純系小鼠及可移植性 Lewis 肺癌模型實驗，結果表明，單獨使用枸杞多糖的放射增敏作用。枸杞多糖對急性乏氧腫瘤細胞也具有一定的放射增敏效應，本品對機體無明顯

的毒性反應(呂長興, 1991)。

四、降血脂與保肝、抗脂肪肝作用

枸杞可降低大鼠血中膽固醇。有輕微抗家兔實驗性動脈粥樣硬化形成的作用。75 天長期飼餵含枸杞水提取物(0.5%與 1%)或甜菜鹼(0.1%)的飼料對四氯化碳引起的肝損害有保護作用,能抑制四氯化碳引起的血清及肝中的脂質變化,縮短 pentobarbital 睡眠時間,減少酚四溴鈉滯留,降低天冬氨酸轉氨酶。小鼠灌服枸杞水浸液對四氯化碳引起的肝損害有輕微的抑制在肝細胞內沉積和促進肝細胞新生的作用。用天冬氨酸甜菜鹼也觀察到對四氯化碳中毒的保護效果。甜菜鹼的保肝作用與其作為甲基供體有關。給長期用電擊加低劑量 X 射線照射 5 月齡雄性應激大鼠腹腔注射 LBP5mg/kg 和 10mg/kg, 5 次/2 星期,共給藥 15 次,實驗結果證明,給藥組脾和腦勻漿總脂量與對照組接近,同時脾勻漿 MDA(丙二醛)含量顯著降低,此外, LBP10mg/(kg/day)、15mg/(kg/day)共 1 星期,對四氯化碳導致的小鼠肝脂質過氧化損傷亦起到明顯的保護作用(詹皓等, 1989; 賀捷等; 1993)。

五、對造血系統的影響

每隻灌服 10% 枸杞煎劑 0.5mL, 連續 10 天, 對正常小鼠造血功能有促進作用, 可使白血球增多。LBP10mg/kg 腹腔注射, 連續 3 天, 小鼠骨髓中爆式紅系集落形成單位(BFU-E)和紅系集落形成單位(CFU-E)分別上升到對照組的 342% 和 192%, 外周血網織紅細胞比例於給藥後第 6 日上升到對照組 218%, LBP 注射後還可促進小鼠脾臟 T 淋巴細胞分泌集落刺激因子, 提高小鼠血清集落刺激活性水準; 在體外培養系中 LBP 對粒-單系祖細胞無直接刺激作用, 但可加強集落刺激因子(SF)的集落刺激活性(周志文等, 1991)。

六、抗遺傳損傷

Ames 試驗表明 LBP 對 TA100 菌株的致突變活性具有明顯抑制作用, 加入 LBP 後, 絲裂霉素 C 所誘發的人淋巴細胞 SCE 頻率明顯降低, 兩者均有明顯的劑量反應關係(陶茂宣, 1992)。老年人口服枸杞子後具有抗絲裂霉素誘發 SCE 作用, 提高 DNA 損傷後的修復能力, 降低 SCE 頻率, 對遺傳物質損傷具有保護作用(王慕娣等, 1992)。

七、降血糖作用

寧夏枸杞提取物可引起大鼠血糖顯著而持久的降低，碳水化合物耐量升高，認為其降血糖作用乃由於其中含有 的衍生物。早期研究也報導枸杞有降血糖作用。

八、其他作用

枸杞水提取物有降低血壓、抑制心臟、興奮腸道等擬膽鹼作用，甜菜鹼無此作用。枸杞提取物能促進乳酸桿菌之生長，並刺激其產酸。枸杞水煎劑(13.23 %濃度)給予小鼠口服 0.3mL/20g，每日 1 次，30 天後可使小鼠皮膚羧脯氨酸含量增 15.5 %，能顯著增加 15.5 %，能顯著延長小鼠游泳時間(陳淑清等，1990)。甜菜鹼為生物刺激劑，每噸飼料中加入甜菜鹼 4~6 kg 可使雌雛雞和雄雛雞體重分別超過對照組 12 % ~13 %與 17 %~18 %；每噸飼料中加入甜菜鹼 8kg，可增加產蛋量，超過對照組 24.3 %。

九、毒性

枸杞毒性很小。甜菜鹼進入體內以原形排出，大鼠靜注 2.4g/kg，未見毒性反應，小鼠腹腔注射 25g/kg，10min 內出現全身痙攣，呼吸停止。枸杞水提取物小鼠皮下注射的 LD50 為 8.32g/kg，而甜菜鹼為 18.78 g/kg，表明前者毒較後者大 1 倍多。

1-2

東莨菪素之文獻回顧

- 1-2-1 東莨菪素的抽取及其物理、化學特性
- 1-2-2 東莨菪素之藥理作用
- 1-2-3 東莨菪素相關結構 coumarin (香豆素)類之 HPLC 研究

1-2 東莨菪素之文獻回顧

東莨菪素 (scopoletin ; 6-甲氧基-7-羥基香豆素 ; 7-hydroxy-6-methoxycoumarin) 是枸杞子所含成分之一 (李春生, 1990), Fig. 2。東莨菪素具有 coumarin (香豆素) 的結構, 已知 coumarin 類之化合物大都具有抗血小板凝聚的作用 (Chen et al., 1996; Matano et al., 1986; Prosdociami et al., 1982; Socini et al., 1982; Poller et al., 1969; Newland et al., 1967)。另外還報導有抗炎、抗風濕、止痛、抗腫瘤的作用。枸杞子是中國傳統常用的中藥, 不僅用於臨床醫療, 也用於日常飲食中, 故對枸杞子與其成分東莨菪素之間的藥效關係值得進一步探討。

1-2-1 東莨菪素的抽取及其物理、化學特性

東莨菪素存在茄科植物東莨菪 *Scopolia japonica* MAXIMOWICZ 的根, 繖形科植物興安白芷 *Angelica dahurica* BENTHAM. et HOOKER 的根, 冬青科植物禿毛冬青 *Ilex pubescens* HOOKER. et ARNOTT. var. *glabra* CHANG 的葉, 杜鵑科植物白杜鵑 *Rhododendron micranthum* TURCZANINOW 的葉, 芸香科植物全緣小蘋果 *Micromelum integerrimum* WIGHT et ARNOTT 莖葉, 豆科植物多變小冠花 *Coronilla varia* LINNAEUS 的種子, 旋花科植物丁公藤 *Erycibe obtusifolia* BENTHAM 的根、莖 (江紀武等, 1986)。

東莨菪素不僅可由植物抽取、過濾、濃縮析出結晶, 也可由秦皮素 (fraxetin) 合成。淡黃色針狀或棱狀結晶 (氯仿或醋酸), 熔點 204 (207~208)。略溶於水或冷乙醇, 溶於熱乙醇或熱冰醋酸, 易溶於氯仿、乙醇, 乙醇溶液有藍色螢光。UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm : 253, 300, 349。

IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3320(OH), 1698(內酯), 1602, 1558, 1502(芳環), 1428,

1280, 1253, 1183, 1130, 1010, 912, 850, 810, 733, 578MSm/e :

192(M^+), 177(M- CH_3), 164(M-CO), 149, 121。NMR(CDCl_3), δ :

6.26(1H, d, C_3 -H), 7.60(1H, d, C_4 -H), 6.90(1H, s, C_5 -H), 6.38(1H,

s, C_8 -H), 6.11(1H, s, C7-OH), 3.69(3H, s, CH_3)。分子式 : $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$,

分子量 : 192.16(孫文基等, 1994)。

1-2-2 東莨菪素之藥理作用

茵陳蒿乙酸乙酯抽出物成分東莨菪素，經由體外試驗，對 ADP，PAF(platelet-activating factor)，sodium arachidonate 與 collagen 誘導之家兔血小板聚集，展現抑制作用，其 IC₅₀ 分別為 0.3，0.5，0.1 與 0.2 μg/mL (Okada et al., 1995)。

東莨菪素製成的注射劑 25mg/kg 對蛋清、組織胺、甲醛引起的大鼠急性、亞急性關節腫脹有抑制作用，50mg/kg 對二甲苯引起血管通透性增加有抑制作用。抑制體外妊娠大鼠子宮自發性收縮，認為東莨菪素對前列腺素合成 的有抑制和拮抗前列腺素。小鼠靜脈注射東莨菪素，最大耐受量大於 100 mg/40mL/kg，毒性較小，使用安全，是一種較好的抗炎中草藥(朱惠蘭等，1984)。

東莨菪素(10-100 mg/kg i.v.)明顯降低麻醉大鼠動脈血壓，而且此種低血壓現象無法被 atropinization 改善。東莨菪素存在劑量依存性的降低天竺鼠離體右動脈自發性的收縮作用。東莨菪素有似 papaverine 對動脈有明顯下降收縮的作用，東莨菪素亦有似 d-tubocurarine 對離體 acetylcholine 誘導肌肉收縮有抑制作用，其解除痙攣的作用有如 papaverine 是非專屬性的(Ojewole et al., 1983a; Ojewole et al., 1983)。

另含有東莨菪素的植物已被報導分別具有鎮痛(Tanaka et al., 1977)、鎮靜(陳妙華等，1991)、抗腫瘤(Cassady et al., 1979)、抗風濕(葉惠珍等，1981)、抗炎(Erazo et al., 1997; Pistelli et al., 1996)、抗菌(Jurd et al., 1971)、解痙(Jarboe et al., 1967)的作用。

1-2-3 東莨菪素相關結構 coumarin (香豆素)類的 HPLC

研究

東莨菪素具有 coumarin 的結構，已知 coumarin 的代謝物有 7-hydroxycoumarin 與 7-hydroxycoumarin glucuronide，其在人體血液的逆相 HPLC 分析使用梯度法、用 C₁₈ 層析管柱，7-hydroxycoumarin 與 coumarin，7-hydroxycoumarin glucuronide 的 LOD 分別為 50 ng/mL 與 200 ng/mL。線性範圍為 0.5-100μg/mL，平均濃度百分比偏差低於 10%。此分析方法分別用於測量給予 7-hydroxycoumarin 後的血清，與 coumarin 後的血漿中上述三種藥物的分析，結果統計上並無任何差異(Bogan et al., 1996)。

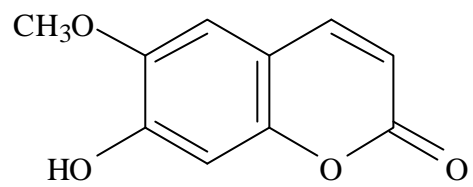


Fig. 2. The chemical structure of scopoletin.

1-3

研究背景及相關資料

1-3-1 藥物動力學

1-3-2 血小板功能及其與血管壁相互作用的機轉

1-3-3 血藥濃度與藥理效應

1-3-1 藥物動力學

定義

藥物動力學(pharmacokinetics)是研究藥物吸收、分佈、代謝與排泄經時之過程，也研究了藥物和化學品之藥理(治療和毒理)作用強度和時間處理的關係。藥物動力學是一需要數學計算的定量研究，它也是一門生物研究，並對生物醫學有極大的用處(Milo and Donald, 1982)。

吸收

藥物以口服、肌肉注射或舌下給藥後，要進入體內循環所需的過程稱為吸收。腸胃道疾病、藥物-藥物或藥物-食物相互作用皆可影響藥物的吸收(Peter, 1986)。

分佈與分室

藥物進入體循環後向各組織轉運的過程為分佈。在組織中分佈的多少主要決定於該組織的血流量、膜通透性藥物的理化性質和血漿蛋白結合能力。藥物吸收後即刻分佈到作用部位，這種藥物稱做單室模室(one-compartment)藥物。另一類藥物在吸收後，很快進入血流豐富的部位，如肝、腎等，但較難進入另外血流不充盈的部位，如脂肪、骨髓等組織，需要一段時間才能完成分佈，這種藥物稱做二室模式(two-compartment)藥物。同理也有多室模式(multi-compartment)藥物。此分室理論(compartment model)是從速度論，並非解剖部位來區分的。目前，藥物動力學大都依藥物在體內的分佈特徵，用科學實驗數據來採用單室或二室分室(Peter, 1986)。

代謝

代謝是指藥物吸收進入體內後，經由體內的酸鹼、各種系統或腸道菌叢的作用下，發生生物轉換(biotransformation)，產生結構的改變。藥物的生物轉換主要在肝臟中進行。藥物代謝速度並非常數，有些藥物可增加活性，如 pentobarbital, phenobarbital, ethyl alcohol, 但亦有些藥物可抑制活性，如 β -diethylaminoethyl

diphenylpropylacetate、allopurinol、chloramphenicol、warfarin 等(Peter, 1986)。

排泄

體內的原形藥物或代謝產物，經由腎-尿、膽汁-腸道-糞便排出體外的過程為排泄。另有肺臟呼氣、皮膚汗腺以及產婦乳汁排泄等(Peter, 1986)。

非線性藥物動力學

大部分藥物動力學在治療或無毒血漿濃度，是以一級(first order)或線性處理。然而，有一些藥物具有非線性吸收或分佈的特徵，如 ascorbic acid 與 naproxen，還有許多藥物在人體是以非線性形式消失。非線性藥物動力學主要出現在生物轉化有關的飽和代謝過程，或藥物吸收、排泄有關的飽和載體(carrier)過程，如腎小管主動分泌、膽汁排泄。凡有關容量限定(capacity limited)的藥物都有可能出現非線性藥物動力學，這種飽和載體和容量限定的動力學呈現明確的劑量依賴性(dose-dependent)，故非線性藥物動力學又稱做劑量依賴性動力學(Milo and Donald, 1982)。

生體可用率

Bioavailability 的定義是藥物經由某途徑給予適量後，所測得未改變的速度或量與標準品的比值。Bioavailability 亦有寫為 biological availability 或 systematic availability。絕對生體可用率(absolute bioavailability)是與靜脈快速注射給藥比較藥物的吸收量與速度之公式。靜脈快速給予標準品是直接進入血循環，所以並無吸收現象。絕對生體可用率公式 $F=(AUC_{po}/Dose_{po})/(AUC_{iv}/Dose_{iv})$ ，相對生體可用率(relative bioavailability)是藥物產品與標準品比較吸收量與速度之公式(Hamed, 1989)。

1-3-2 血小板聚集抑制藥物作用機轉

抗血小板藥物(血小板功能抑制劑)是經由不同機制和途徑，抑制血小板聚集和/或活化，並能阻止血小板參與血栓形成的藥物。血小板具有粘附、聚集、釋放功能，但在正常血液循環中，血小板不發生凝聚，只有在聚集誘導劑如膠原(collagen; Coll) 二磷酸腺 (adenosine 5'-diphosphate; ADP)、去甲腎上腺素(norepinephrine; NE)等作用下，使血小板膜磷脂釋放出花生四烯酸(arachidonic acid ; AA)，經環氧化 (cyclooxygenase ; CO)作用，最終產生血栓素 A_2 (thromboxane A_2 ; TXA_2)和前列環素(prostaglandin I_2 ; PGI_2)。 TXA_2 是最強的血小板聚集劑，所以凡是能抑制 TXA_2 ，增加 PGI_2 和/或環磷酸腺 (cyclic adenosine monophosphate ; cAMP)生成的藥物均屬於抗血小板藥物。血小板及其與血管壁相互作用的調節機制詳如 Parmley and Chatterjee, 1994。現就其作用機理分類作一概述。

影響花生四烯酸代謝

(一)環氧化 抑制劑(Cyclooxygenase inhibitor)

有 aspirin 和其他 NSAIDS (nonsteroidal anti-inflammatory drugs)、sulfipyrazone、phenylbutazone 等使血小板 cyclooxygenase 乙酰化，抑制 TXA_2 生成的一類藥。

1. Aspirin：近年來大多數學者主張推廣使用長療程，在血栓形成危險性高時，宜配合其他心血管疾病藥物共同治療，效果會較佳 (Mazurov et al., 1984; Lui, 1996)。

2. Sulfipyrazone(苯磺吡酮 ; spz)屬於血小板 cyclooxygenase 競爭抑制劑，也可抑制膠原、ADP、NE 等誘發的血小板聚集(Cerskus et al., 1980; Uotila, 1982)。

3. KC-764：同 aspirin 一樣具有 cyclooxygenase 抑制作用，因其對血管壁 PGI_2 影響小，故不引起 aspirin 副作用。目前該藥以短暫性腦缺血發作為對象的臨床研究正在進行中(Satoh et al., 1994; Yoshioka et al., 1992; Ohmuro et al., 1992; Momo et al., 1992)。

(二)磷脂 (phospholipase)抑制劑：主要是使花生四烯酸不易從血小板膜磷脂釋放出來。

1. 魚油：可抑制 PGG_3 、 PGH_3 、 TXA_3 生物活性，刺激 PGI_3 生成 (Logan et al., 1992; Kalman et al., 1992; Croft et al., 1986)。

2. E-5510 本劑既有 phospholipase 抑制作用又有 cyclooxygenase

抑制作用，為抑制凝血 和膠原凝集的抗血小板劑。另具有抑制膜 AA 游離作用和細胞內 Ca^{2+} 作用，目前正在臨床研究中(Suga et al., 1998; Adachi et al., 1990)。

(三)TXA₂ 合成 抑制劑

1. Dazoxiben：通過抑制 TXA₂ 合成，阻止 PGG₃ (H₂)轉化為 TXA₂，並可促進內皮細胞合成和釋放更多 PGI₂，達到抗血小板聚集作用(Thaulow et al., 1984; Patrignani et al., 1984)。

2. OKY-046：僅有抑制血小板 TXA₂ 產生，而對血管壁 PGI₂ 產生無抑制作用。由於抑制 TXA₂ 產生，可引起 PGG₃ (H₂)等環內過氧化物蓄積並轉化為原始型 PG_s，增加血小板中 cAMP，從而增強抗血栓作用(Kuzuya et al., 1986; Komatsu et al., 1986)。

3. Y-20811：屬 imidazole 衍生物，具有對損傷後血小板血栓形成的抑制效果(Matsumoto et al., 1992)。

(四)TXA₂ 拮抗劑

1. KW-3635 屬 dibenzoxepin 衍生物，具有拮抗 TXA₂ 和 PGH₂ 受體作用，顯示對血小板聚集的抑制作用(Miki and Ishii 1992)。

2. 其它：AA-2414, S-1542, BAYU-3405 均為 TXA₂ 拮抗劑，目前正在臨床研究中(Imura et al., 1990; 陳國偉, 1992)。

增加血小板內 cAMP 的藥物

(一)PGI₂ 製劑

PGI₂ 作用時間短，藥理作用在 30 分鐘內消失，可以改善冠狀動脈內溶栓的效果。Flolan 屬人工合成的 PGI₂ 製劑，通過興奮血小板膜腺 酸環化 (adenylate cyclase)受體，使 cAMP 合成增多。此外，本藥還能抑制血小板膜纖維蛋白原受體，使纖維蛋白原不能與受體結合，從而抑制血小板聚集(Nielsen et al., 1997; Jouve et al., 1985)。

(二)磷酸二酯 (phosphodiesterase)抑制劑

1. Dipyridamole：通過增強腺 活性，使腺 環化 adenylyate cyclase 增多，增強內皮細胞合成 PGI₂，抑制血小板合成 TXA₂，以及與血小板膜 ADP 受體結合，使後者失活，從而具有抗血小板聚集作用(Moncada and Korb, 1978)。

2. Cilostamide：通過抑制 phosphodiesterase 抑制血小板聚集作用(Hidaka et al., 1979; Nishikawa et al., 1992)。

3. 其它：theophylline、papaverine、caffeine 等也具有 phosphodiesterase 抑制作用，但需較大劑量才能達到抗血小板目的

(Choi et al., 1988; Greeff and Schmitt, 1987)。

抑制血小板膜和受體的藥物

(一)Ticlopidine 屬廣譜抗血小板藥，其作用機制包括：

1. 抑制血小板膜纖維蛋白原(fibrinogen)受體與 Ca^{2+} 依賴性 fibrinogen 結合(Dunn et al., 1984)。
2. 興奮血小板 adenylate cyclase，增加 cAMP 生成(Gachet et al., 1990)。
3. 減少 TXA_2 合成及增加 PGI_2 的作用(Dembinska-Kiec et al., 1992)。
4. 穩定血小板膜作用(Hardisty et al., 1990)。
5. 抑制膠原誘發的血小板聚集(Di Minno et al., 1985)。

(二)Trifusal 新型血小板膜抑制劑(Alvarez, 1995)

(三)SR25990c(Clopidogrel)

為具有以 Thienopyridine 為主要結構的藥物。雖在試管內無抑制血小板凝集作用，但動物試驗發現有強力血小板凝集抑制作用，為對 ADP 依賴性血小板凝集特異性抑制劑，目前正在臨床研究中(Weber et al., 1999)。

抑制凝血 (thrombin)

雙香豆素(dicoumarol)類藥物如 warfarin，經由抑制 thrombin 而達到抑制血小板聚集的作用(Elg et al., 1999)。

抑制鈣通道(calcium-channel)

抑制鈣通道而抑制血小板凝集的作用如 verapamil (Bonadonna et al., 1986)、nifedipine (Dale et al., 1983)、diltiazem (Salam et al., 1991)、chlorpromazine (Prokopenko et al., 1995)、trifluoperazine (White and Raynor, 1980)。

其他

中國傳統中藥與民間藥經證實對血小板有影響，川芎(呂愛剛等，1997；王少媛等，1999)、當歸(李自成等，1997)、丹參(劉敏，

1998)、燈臺花(翁雪莉等,1998)、仙鶴草(顧麗貞等,1995)、益母草(張陳福等,1986)、白蒺藜(周端等,1995)、赤芍(何愉生,1982;王繼峰,1984)、紅花(馬世平等,1999;黃正良等,1987)、三七(徐皓亮等,1998;潘鑫鑫等,1993;王作祥,1983)、大蒜(劉萍,1999;李素民等,1997;慶慧,1997;王晶華等,1996;金小君等,1993;劉鬱等,1992;黨瑛,1992;陳靜波,1991;韓金祥等,1990;張勝樂,1986)、黑木耳(李濤等,1988;樑佩瓊,1987;林志彬,1983)、銀耳(鄒道全等,1990),蛇毒蛋白質(鄧哲明,1990)等均有不同程度抗血小板作用。

1-3-3 血藥濃度與藥理效應

藥物的療效是臨床治療關心的問題，服用相當劑量的藥物後，即可經由抽血測量到血中藥物濃度，而血藥濃度的高低範圍，即可影響藥物的效應。近年來，人們對中草藥有更深入的研究，發現許多中草藥有效成分的藥理作用與血藥濃度有關，如粉防己鹼的降壓及血管外周阻力降低等作用，在所有時間均與血藥濃度直接相關；消旋二甲基筒箭毒次鹼的肌肉鬆弛作用隨血藥濃度而變化，不隨肌肉中藥物濃度而變，抗癲靈的抗驚厥作用與血藥濃度密切相關(Zeng et al., 1985; 黃教成, 1987)。但同時亦發現藥效相對於血藥濃度常存在於一定的滯後現象，還有一些藥物的藥效不與血藥濃度有關，而是與作用部位組織的藥物濃度有關，甚至有藥效與血藥濃度相反者，面對上述複雜關係，可使用適當公式與電腦軟體，整理歸納藥效學數據(韓國柱, 1999; 高清芳等 1997)。

1-4 研究目的

心、腦血管血栓性疾病是我國常見的病，血栓形成是心肌梗死的原因(李家增，2000)。血栓可使血流阻滯而引起組織或器官損傷以致發生嚴重後果，而其病理改變又都與血小板功能異常有密切關係。枸杞子為中國傳統常使用的中藥，據文獻報導，枸杞子(果實)水煎劑有部分抗凝作用(施永德等，1981)。東莨菪素(scopoletin)是枸杞子所含成分之一(李春生等，1990)。東莨菪素具有 coumarin (香豆素)的結構，已知 coumarin 類之化合物大都具有抗血小板凝聚的作用(Chen et al., 1996; Matano et al., 1986; Prosdocimi et al., 1985; Socini et al., 1982; Poller et al., 1969; Newland and Nordoy, 1967)。Okada 等進行家兔體外(in vitro)比濁法試驗，結果亦證明 scopoletin 對家兔誘導之血小板聚集，展現強有力的抑制作用(Okada et al., 1995)。具有抑制血小板作用的藥物很多，但目前用以防治疾病的藥物大都有不良反應(李家泰，1991)，而能在平常食用即具有抗血小板作用的中藥，如枸杞子的文獻則尚未報導。故本論文擬分析比較枸杞子抽出物與東莨菪素血小板聚集抑制作用；進行家兔東莨菪素之藥物動力學研究，評估藥物的吸收、分佈與生體可用率；結合量效、時效關係，運用血藥濃度 - 藥效關係，應用電腦程式導出相關的數學公式或藥效模式，建立資訊化的研究成果，以供將來相關學術之應用，是本研究進行的目的亦是現今中西醫藥科技發展的趨勢。

本論文擬進行東莨菪素藥物動力學，評估枸杞子氯仿層抽出物與東莨菪素之血小板聚集抑制作用並探索以下問題：

- 一、建立東莨菪素的 HPLC 分析方法，測定家兔血中藥物濃度。
- 二、比較家兔靜脈、肌肉注射與口服給予東莨菪素的藥物動力學參數與絕對生體可用率。
- 三、家兔給藥後連續抽血，比較各時間點對血小板聚集誘導之抑制效果。
- 四、比較靜脈、口服給予家兔東莨菪素後，對血小板聚集誘導劑之抑制效果。
- 五、比較靜脈、口服給予家兔枸杞子氯仿層抽出物後，對血小板聚集誘導劑之抑制效果。
- 六、依據血藥濃度與藥效進行對數線性配飾。
- 七、建立量效與時效曲線，推算出量效半衰期與體內有效藥量的消除速率常數。

第二章

實驗材料與方法

2-1 實驗材料與設備

2-2 實驗方法

2-1

實驗材料與設備

2-1-1 藥物動力學實驗

2-1-2 血小板聚集性抑制實驗

2-1 實驗材料與設備

本論文實驗使用 New Zealand 系雄性白兔，體重 2.3-3.3 kg。為清楚介紹本研究之實驗，故分二標題分別敘述：

藥物動力學實驗與血小板聚集性抑制實驗

2-1-1 藥物動力學實驗

藥品與試劑

東莨菪素(scopoletin)	TCI 東京化成
methylparaben	SIGMA
磷酸(ortho-phosphoric acid 85%)	Merck
甲醇(methanol)	Riedel-deHaën
乙 (acetonitrile)	德國 Riedel-deHaën
肝素鈉(heparin sodium)	Novo Industrial Co.
氫氧化鈉(sodium hydroxide)	德國 Riedel-deHaën
氮氣	源吉行

註：使用於高效液相層析儀之試劑均為 HPLC 級。

儀器與配備

1. 高效液相層析儀組

自動取樣機(autosampler)	Jasco 851-AS Japan
幫浦(chromatographic pump)	Jasco PU-980
偵測器(UV detector)	Jasco UV-975
積分儀(integrator)	Scientific Information Service
層析管(C ₁₈ reverse-phase column)	ODS-3, 4.6×150mm, Vercotech

2. 實驗室配備

微量移液管(micropipette):	1-10μL, 22-200μL, 100-1000μL Socorex Transfer pipette
酸鹼測定儀(pH meter)	Model 2002, Good Digital Co.
超音波振盪器	BRANSON 5510, Branson Ultrasonics Co.
吹氣濃縮裝置	Organomation Associates INC. Model No. 112.

2-1-2 血小板聚集性抑制實驗部分

藥品與試劑

二磷酸腺 (ADP)	Helena BioSciences Co.
花生四烯酸(AA)	Helena BioSciences Co.
膠原(collagen)	Helena BioSciences Co.
稀釋液(cellpack)	三東儀器
白血球分類溶血液(stromatolyser-wh)	三東儀器
東莨菪素(scopoletin)	TCI 東京化成

儀器與設備

血小板聚集儀(platelet aggregometer)	Helena BioSciences Co.
自動血球分類計數器(platelet counter)	Sysmex K-1000 , TOA Co.
微量移液管(micropipette):	1-10 μ L , 22-200 μ L , 100-1000 μ L
	Socorex Transferpette
試管振盪器	Maxi Mix II Thermolyne Type 37600 Mixer

2-2

實驗方法

- 2-2-1 溶液製備
- 2-2-2 東莨菪素血漿檢品之 HPLC 定量分析方法
- 2-2-3 血小板聚集性測定法 - 比濁法
- 2-2-4 藥效與藥理學模型

2-2 實驗方法

2-2-1 溶液製備

枸杞子氯仿層溶液製備

1. 藥材來源

枸杞子(*Lycium barbarum* LINNAEUS)購於台中市欣隆藥行。經本所邱年永技正鑑定，確定為寧夏枸杞子後，開始進行萃取。

2. 抽取與分離

取枸杞子果實 4 公斤切碎，以甲醇於室溫浸泡，反覆抽取四次，經過濾後，減壓濃縮得到甲醇粗抽取物 2.784 公斤，抽出率為 69.6 %。

取此甲醇粗抽取物，加入去離子水使之成懸浮液，再以氯仿萃取五次，萃取合併減壓濃縮至乾，得氯仿層抽取物 54.8 公克，抽出率為 1.37 %。

3. 枸杞子氯仿層溶液

枸杞子氯仿層溶液之調配：每 10mg 枸杞子氯仿抽出物以 1mL 生理食鹽水溶解，且每 1mL 內含 0.01mL 1N NaOH 助溶，口服或肌肉注射給藥。靜脈給藥時再使用 0.22 μ m 濾膜過濾，成為枸杞子氯仿層注射溶液。枸杞子氯仿層溶液簡寫為 LBC。

東莨菪素溶液製備

東莨菪素溶液之調配：每 10mg 藥物以 1mL 生理食鹽水溶解，且每 1mL 內含 0.01mL 1N NaOH 助溶，口服或肌肉注射給藥。靜脈給藥時再使用 0.22 μ m 濾膜過濾，成為東莨菪素注射溶液。東莨菪素溶液簡寫為 Scop。

2-2-2 東莨菪素血漿檢品之 HPLC 定量分析方法

HPLC 分析條件

層析管	建吾 C ₁₈ reverse-phase column ODS-3, 4.6×150mm, Vercotech Inc.
偵測波長	Scopoletin: UV 340 nm, Methylparaben(內標): UV 260 nm
移動相	MeOH : H ₂ O = 50 : 50 , pH 2.5-2.8
流速	1 mL/min
注入量	50μL
分析時間	15min

血漿檢品之前處理

取血漿檢品 200μL 置入試管中，加入 15μL 之 Methylparaben 內標準液及 800μL 之 氰甲烷(acetonitrile)溶液，以振盪器振盪 20 秒，使蛋白沉澱。再以 3000 rpm 離心 20min。吸取上清液置於另一試管中，以氮氣噴吹至 acetonitrile 完全逸離後，以移動相 200μL 溶解之。接著進行 HPLC 分析。

血漿檢品分析之流程

血漿檢品分析之波長，東莨菪素為 UV 340 nm；內標 methylparaben 為 UV 260 nm。依下列流程自動變化波長：0 min：UV 340 nm 1 min：auto zero 7.5 min：UV 260 nm 8 min：auto zero 11 min：UV 340 nm，至 15 min 分析完成。

檢量線之製作

取家兔空白血漿 180μL 加入 20μL 不同濃度之 scopoletin 標準溶液，配製成濃度 0.01-100μg/mL 之標準血漿檢品液(Table 1) 加入 15μL 之 methylparaben 內標準液與 800μL 之 acetonitrile，振盪 20 秒，使蛋白沉澱，再以 3000 rpm 離心 20min，取上清液。以氮氣噴吹至 acetonitrile 完全逸離後，以移動相 200μL 溶解之。接著以 HPLC 分析，由所得之 scopoletin 與 methylparaben 之波峰面積比與校正液濃度作線

性回歸以製作檢量線。

Table 1. 東莨菪素標準濃度血漿檢品溶液之製備

標準溶液濃度($\mu\text{g/mL}$) (取 20 μL)	空白血漿體積 (μL)	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
1000	180	100
500	180	50
100	180	10
50	180	5
10	180	1
5	180	0.5
1	180	0.1
0.5	180	0.05
0.1	180	0.01

靈敏度試驗

分析過程中，欲找出能和背景濃度相區分的分析物最低濃度，故做偵測極限試驗(limit of detection ; LOD)。而偵測極量(limit of quantitation , LOQ)，將依前述一之「檢量線之製作」，採標準濃度血漿檢品製備方法，取六次檢品分析決定之。

回收率實驗

目的在比較 scopoletin 添加在空白血漿和空白溶液(methanol)中，經血漿檢品之前處理步驟後檢出量的差異。實驗步驟如同校正曲線製作中對檢品之處理過程。回收率可從下式求得：

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{scopoletin concentration in plasma}}{\text{scopoletin concentration in methanol}} \times 100 \quad (1)$$

精確性試驗

為了確認 scopoletin 定量分析方法之精確性，因此做同日內(intraday)及間日內(interday)的精確性比較。Intraday 試驗是以不同濃度之 scopoletin 標準濃度血漿檢品，分別於同一日的早上、中午、晚上各建立一次檢量線，計算各個校正液濃度之平均值(mean)標準偏差

(S.D.)、變異係數(C.V.)與誤差值(error)。若於不同天以同法操作則可得 interday 的精確性比較。

安定性試驗

1. 37 下 scopoletin 在家兔血漿中之安定性試驗

取濃度 10, 50, 100 μ g/mL 之標準溶液 500 μ L, 加入 4,500 μ L 之空白血漿中, 振盪混合均勻, 即得濃度為 1, 5, 10 μ g/mL 之血漿檢品, 將之分裝後置於 37 \pm 1 的恒溫箱中, 於第 0, 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48 小時, 分別取出一組檢品。依血漿檢品之前處理後, 以 HPLC 分析, 觀察 scopoletin 之濃度變化情形。

2. -30 下 scopoletin 在血漿中之安定性試驗

取濃度 10, 50, 100 μ g/mL 之標準溶液 500 μ L, 加入 4500 μ L 之空白血漿中, 振盪混合均勻, 即得濃度為 1, 5, 10 μ g/mL 之血漿檢品, 將之分裝後置於-30 的冷凍櫃中, 於第 0, 1, 3, 6, 10, 15, 21, 30 天分別取出一組檢品。解凍後, 依血漿檢品之前處理後, 以 HPLC 分析, 觀察 scopoletin 之濃度變化情形。

給藥法與檢品處理

1. 靜脈注射給藥及血漿檢品之處理

實驗時家兔先稱重記錄實際體重以便配製注射溶液。將兩耳之毛剃除後以固定器固定之, 接著以燈炮照射兔耳使其血管擴張, 再以酒精消毒並助血管擴張, 隨即插入靜脈留置針, 將針塞(injection plug)注滿肝素鈉(heparin solution)後, 固定於靜脈留置針上。每次採血後均由針塞注入約 0.2mL 之 25 I.U.之 heparin solution, 以防靜脈留置針管內之血液凝固。

給藥前先抽取 1.2mL 之空白血液, 由另一耳靜脈給藥(i.v.) scopoletin 2, 10, 50mg/kg 後, 分別於給藥後 2.5, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 150, 180, 210, 240, 300 及 360min 由靜脈留置針之針塞抽取 1.2mL 血液, 置於試管中, 以 3000 rpm 轉速離心 20min 後, 取出上層血漿, 若不馬上分析則保存於-30 冷凍櫃中。

血漿檢品之前處理, 檢量線及分析條件均依前述方法操作, scopoletin 之濃度則由標準檢量線經內插法推算而得。

2. 口服給藥及血漿檢品之處理

如同上述靜脈注射給藥，口服給藥以胃管插入給藥，scopoletin 50, 100, 250 mg/kg。而其採血點為給藥後 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300 及 360min 由耳靜脈抽取。

3. 肌肉注射給藥及血漿檢品之處理

如同上述靜脈注射給藥，唯肌肉注射給藥(i.m.)則是將 scopoletin 注射液 50mg/kg，注射於家兔的大腿肌肉內。而採血點為給藥後之 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300 及 360min。

數據處理及統計方法

各種給藥法所得之血漿檢品經定量後，依檢量線換算 scopoletin 血中濃度數據後，利用電腦程式 WinNonlin Program 以二室模式作曲線配適(curve fitting)來處理血中藥物濃度數據，求其相關藥動學參數。所有的藥動學參數皆以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示，不同劑量組間均以單因子變異數分析(one-way analysis of variance; ANOVA)，統計並分析其間差異之顯著性，凡 p 值小於 0.05，則認為差異有統計意義。

2-2-3 血小板聚集性測定法 - 比濁法

血小板聚集性測定法是採用比濁法(turbidimetric method)(Born, 1962a; Born, 1962)。

東莨菪素溶液給藥

1. 實驗前準備事項

家兔抽血後需在 3 小時內完全檢測完畢。血小板聚集測定儀、比濁管皆於測定前於 37 至少溫機 20 分鐘。二磷酸腺，花生四烯酸，膠原，聚集誘導劑實驗中均維持於 2-6，且於實驗前才使用 0.9% 生理食鹽水稀釋調製，並於有效期限內使用完畢。

2. 操作步驟

家兔採血前至少空腹 8 小時，且至少二週內未給任何藥物。用注射器取兔血，立即將血液放入採血管(內含 0.129M 3.8% 枸橼酸鈉溶液 sodium citrate solution，與血之比為 1：9)，輕輕搖晃均勻，將血液在室溫下，以 1,000 轉/分，離心 10 分鐘，吸出上層 PRP(platelet rich plasma)。餘下的血漿再以 3,000 轉/分，離心 10 分鐘，管中上清液即 PPP(platelet poor plasma)。血液檢品先置於有蓋的棕色尖嘴微量管內，使用自動血球分類計數器，測量 PRP 中血小板數，以 PPP 調 PRP 使血小板數在 $500 \times 10^3/\mu\text{L}$ 範圍。

血小板聚集測定儀先溫機 20 分鐘，使溫度到達 37。接著取 0.45mL 的 PRP 置於比濁管內。測定時先以 0.45mL PPP 標本將記錄儀上的透光度調節到 100%，然後將 0.45mL PRP 標本放入測定孔，調節透光度為 0%，加攪拌石，在 37 溫育 3-5 分鐘。隨後在 PRP 中加入 0.05 mL 聚集誘導劑(ADP 10 μM ，AA 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，collagen 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，並於 3 小時內完成測定。觀察和比較對照 PRP 與給藥管 PRP 在 5 分鐘內最大聚集程度，計算藥物血小板聚集抑制率百分率 (ratio of anti-platelet aggregation (%))：

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{MAX \% of control} - \text{MAX \% of sample}}{\text{MAX \% of control}} \times 100 \quad (2)$$

MAX %: maximal intensity of platelet aggregation and agglutination.

3. 各種給藥方法與實驗

(1) 靜脈注射給藥

實驗時家兔先稱重記錄實際體重以便配製溶液。東莨菪素溶液之調配：每 10 mg 藥物以 1mL 去離子水溶解，且每 1mL 內含 0.01mL 1N

NaOH 助溶。靜脈給藥時經過 0.22 μ m 濾膜過濾，成為東莨菪素注射液。分別給予 2, 10, 與 50mg/kg 三種不同劑量，每種劑量以 8 隻家兔為一組。家兔先以固定器固定之，再以 70 % 酒精消毒並助血管擴張，隨即於給藥前先動脈抽取 7.2mL 之對照組空白血液，由另一耳靜脈給藥(i.v.)後，分別於給藥後 5, 30, 75, 150 及 300 分鐘由再分別由動脈抽取 7.2mL 實驗組血液，置於採血管中，輕輕搖晃均勻，待離心後繼續之操作步驟如上述。分析比較實驗組與對照組血小板聚集性之抑制作用。

(2)口服給藥

口服給藥是以胃管插入給藥，分別給予 50, 100, 與 250mg/kg 三種不同劑量，每種劑量以 8 隻家兔為一組。家兔先以固定器固定之，再以酒精消毒並助血管擴張，隨即於給藥前先動脈抽取 7.2mL 之對照組空白血液，口服給藥(p.o.)後，分別於給藥後 10, 30, 60, 150 及 300 分鐘由再分別由動脈抽血，置於採血管中，輕輕搖晃均勻，待離心後繼續之操作步驟如上述。分析比較實驗組與對照組血小板聚集性之抑制作用。其餘操作如同上述靜脈注射給藥方式。

枸杞子氯仿層溶液給藥

以枸杞子氯仿層抽取物取代東莨菪素，其餘操作方法與步驟同上之「東莨菪素溶液給藥」部分。

數據處理及統計方法

將東莨菪素與枸杞子氯仿層溶液不同濃度、不同時間，給藥後之血小板聚集抑制率，與給藥前進行 Student's t-test，統計並分析其間差異之顯著性，凡 p 值小於 0.05，則認為其差異有統計意義。

2-2-4 藥效與藥理學模式

藥效與藥理學模式的配飾主要參考 Sheiner 氏的著作 (Sheiner, 1979)。

對數線性模式(Log linear Model)

當以藥效 E 對血藥濃度 C 的對數作圖(本實驗均取各組平均值), 將得到一條典型的 S 形曲線。此曲線在最大效應的 20% ~ 80% 範圍內表現為極好的線性關係, 其表達的方程式為:

$$E = S \log C_p + e \quad (3)$$

S 為斜率, e 為截矩。此模式不能預測最大效應及零效應。

效量半衰期法

1. 建立量效曲線

動物給藥後, 紀錄各劑量組的藥物效應, 以對數劑量為橫座標, 藥物效應百分率為縱座標, 進行直線回歸, 得回歸方程式:

$$Y = a_d + b_d X \quad (4)$$

a_d 、 b_d 分別為量效直線的截矩和斜率。

2. 建立時效曲線

以 $ED_{80} \sim ED_{90}$ 之間的劑量給藥, 給藥途徑與量效關係實驗相同, 紀錄不同時間的效應。以效應機率單位為縱座標, 時間為橫座標, 進行直線回歸, 得回歸方程式,

$$Y = a_t + b_t X \quad (5)$$

a_t 、 b_t 分別為時效直線的截矩和斜率。

3. 計算

$$\text{效量半衰期 } t_{1/2} ED = 0.301 b_d / b_t \quad (6)$$

$$\text{體內有效藥量的消除速率常數 } K_{ED} = -2.303 b_t / b_d \quad (7)$$

4. 按下列公式計算給藥後不同時間體內有效藥物存留量:

$$X = \frac{a_t - a_d}{b_d} + \frac{b_t}{b_d} t \quad (8)$$

X 為對應 t 時間藥物有效量(為對數量)。如還想求得其他藥代動力學參數, 可按上列方法進行量效—時效的逐點轉換, 得體內有效藥物殘留量—時間曲線, 進而按通常的藥代動力學解析方法確定房室模式, 並求解藥代動力學參數。

第三章

東莨菪素家兔血漿檢品之 HPLC 分析

本章已發表於 The Chinese Pharmaceutical Journal, 1999, 51, 245-254.

實驗目的

傳統藥物中成分的含量與藥效有直接的關係，故東莨菪素在儲存期間藥效是否安定，實驗操作的精準度是否良好，及在給藥前藥效成分的含量是否在預估的範圍內，都關係著整個醫療品質。因此本實驗擬建議一簡單、迅速，可信賴的分析系統，來探討枸杞子中草藥中東莨菪素的含量。

實驗結果

本研究之定量分析，是將添加內標準品 methylparaben 之東莨菪素(scopoletin)血漿檢品經氫甲烷(acetonitrile)去蛋白後，取上清液以氮氣噴吹逸離 acetonitrile，加入移動相溶解，再注入 HPLC 分析，經過多次試驗與修正後，找出最適當定量分析條件。Fig. 3 顯示空白血漿、標準濃度血漿及靜脈注射後血漿檢品之 HPLC 層析圖。層析圖中 scopoletin 波峰與內標準品 methylparaben 波峰基線清晰且穩定，亦無干擾性波峰。Scopoletin 檢測波長為 340 nm，遲滯時間(retention time) 為 5.4min；methylparaben 檢測波長為 260 nm，遲滯時間為 9.2min。

Scopoletin 檢量線之製作，取高與低濃度 2 條標準曲線，其中共有 0.01，0.05，0.1，0.5，1，5，10，50，100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 9 種不同濃度，在 0.01-1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 使用

$$Y=1.2182X+0.0023 \quad (9)$$

，其決定係數(coefficients of determination； R^2)為 0.9992 (Fig. 4)；在 1-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 使用

$$Y=0.966182X - 0.0003 \quad (10)$$

，其決定係數(R^2)為 0.9998(Fig. 5)。顯示高、低濃度二條檢量線皆有良好的線性關係，其中 y：scopoletin / internal standard 波峰面積；x：對應濃度， $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

本法之偵測極限(limit of detection)，經逐步稀釋 scopoletin 標準溶液後分析之，且以訊號：雜訊(signal to noise) 3 以上，測得感度極限為 10 ng/mL。以製備標準曲線之標準液，取六次標準液獨立檢品測得之偵測極量(LOQ)，其最低濃度 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的變異係數值(C.V.)為 9.182%，小於 10% (Table 2)，顯示分析準確度良好。

東莨菪素血漿檢品之回收率(recovery)在濃度 0.01-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的範圍為 91.5-98.6% (Table 3)。為了確認 scopoletin 定量分析方法之精確性，因此做同日內(Intraday)及間日內(Interday)的精確性比較。

Intraday 試驗是以 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 濃度之 scopoletin 血漿檢品, 分別於同一日的早上、中午、晚上各建立一次檢量線, 計算各個校正液濃度之平均值(mean)、標準偏差(S.D.)及變異係數(C.V.)。並於 1, 2, 4 天以同法操作則得到 Interday 的精確性比較。如 Table 4 與 Table 5 所示, Intraday 及 Interday 精確性試驗之 C.V. 值皆小於 8.7 %。

東莨菪素在家兔血漿中之安定性試驗, 結果如 Table 5, Table 6 及 Fig. 6, 7 所示, 東莨菪素在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恆溫貯存 48 小時內, 與 -30 $^{\circ}\text{C}$ 恆溫貯存 30 天內, 經分析兩者濃度無明顯下降, 其安定性頗佳。

討論

本研究應用 HPLC 定量分析技術, 對兔子血漿進行 scopoletin 之體內藥物動力學探討。首先需有適合兔子血漿的東莨菪素 HPLC 分析方法。從東莨菪素血漿檢品中之 HPLC 定量分析中, 所製備之高與低二濃度所得之標準曲線, 其決定係數(determination of coefficient; R^2)皆高於 0.999, 顯示此分析條件具有良好的線性關係。偵測極限(limit of detection)為 10 ng/mL。回收率(recovery)在濃度 0.01-100 $\mu\text{g/mL}$ 的範圍為 91.508 \pm 1.005 至 98.582 \pm 0.788 %, 回收率亦很高。同日內(Intraday)及間日內(Interday)的精確性試驗比較, 所得之 C.V. 值皆小於 8.660 %。綜合上述結果, 可認定東莨菪素之血漿檢品之高效液相層析法, 為一靈敏、精確、再現性良好之分析法。

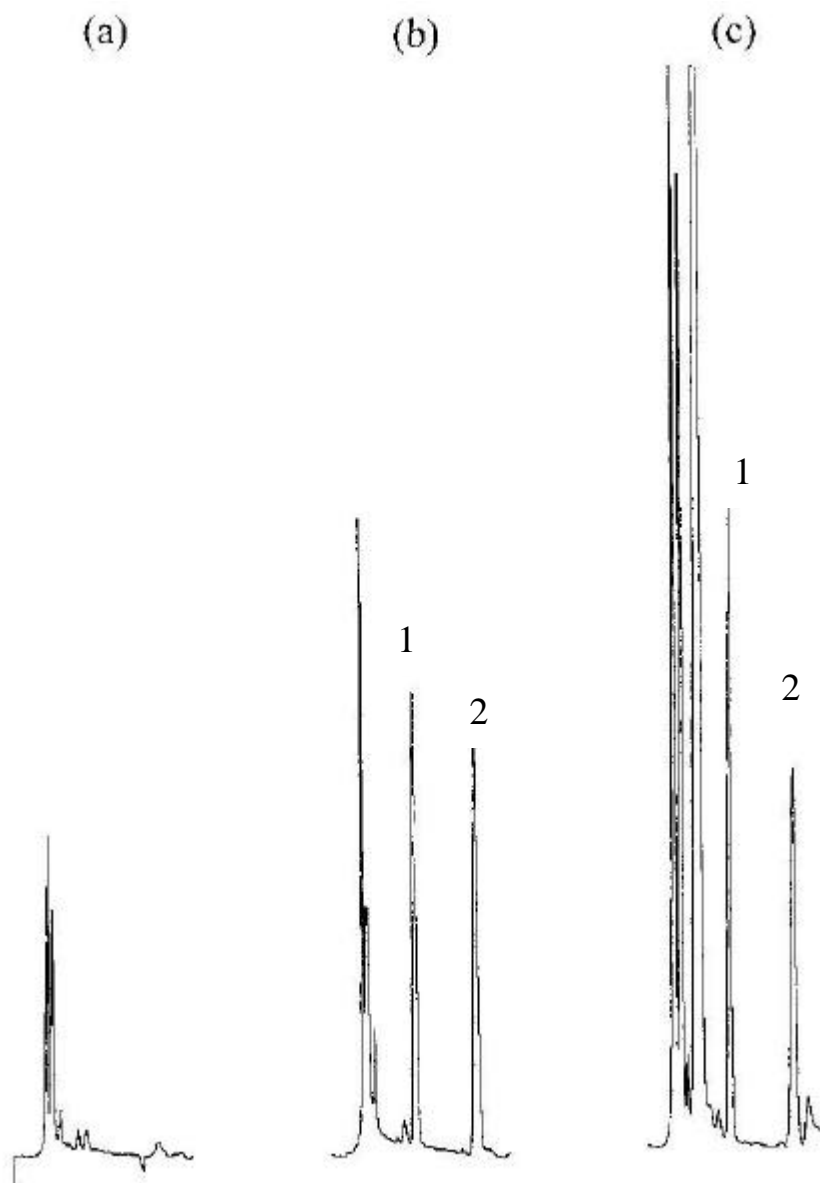


Fig. 3. Chromatograms of scopoletin in rabbits plasma: (a) blank plasma, (b) blank plasma spiked with scopoletin ($10 \mu\text{g/mL}$) and internal standard (methylparaben), and (c) plasma sample at 45 min after a 50 mg/kg iv bolus of scopoletin (10 mg/mL). 1, scopoletin (retention time: 5.4 min); 2, methylparaben (retention time: 9.2 min).

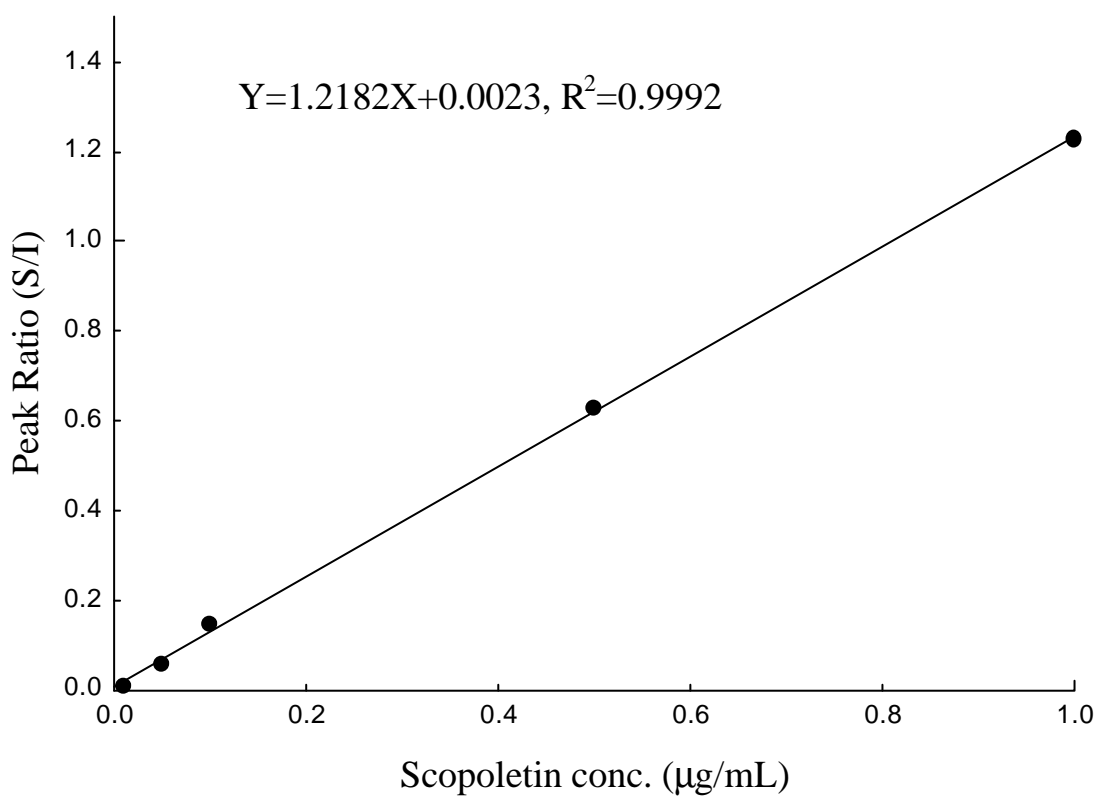


Fig. 4. The standard curve of scopoletin (0.01-1µg/mL) in rabbits plasma. S/I: scopoletin/internal standard peak area.

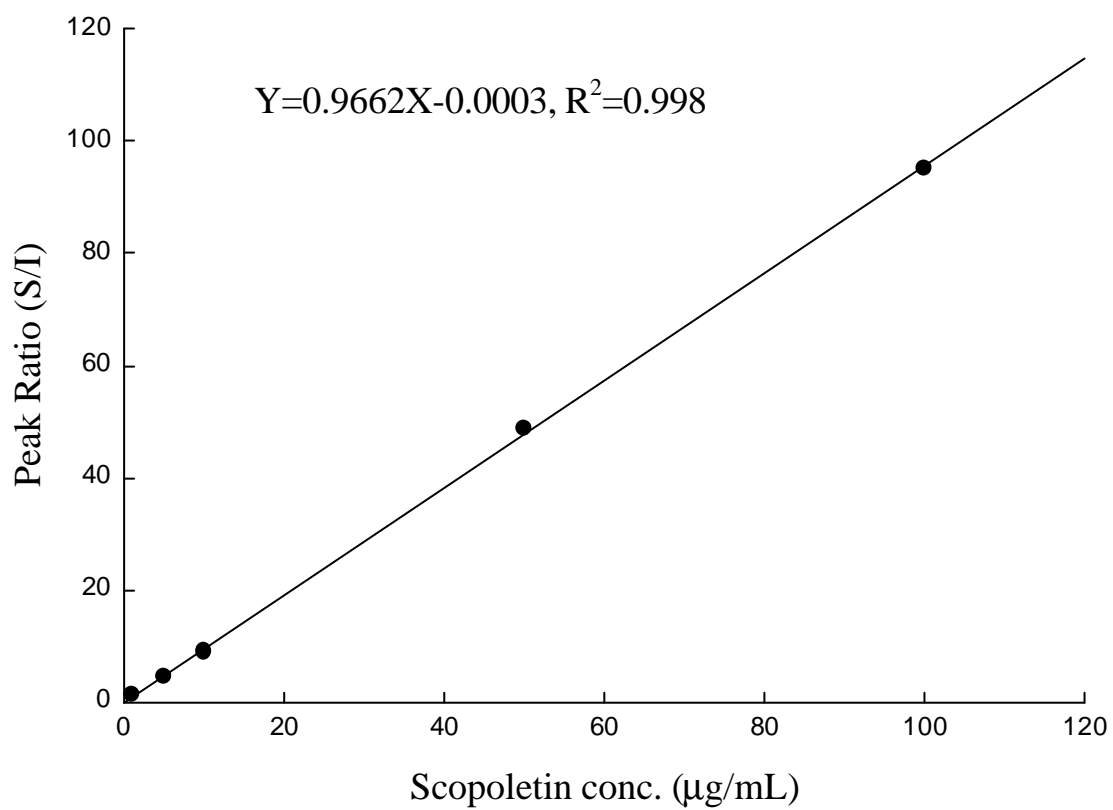


Fig. 5. The standard curve of scopoletin (1-100µg/mL) in rabbits plasma. S/I: scopoletin/internal standard peak area.

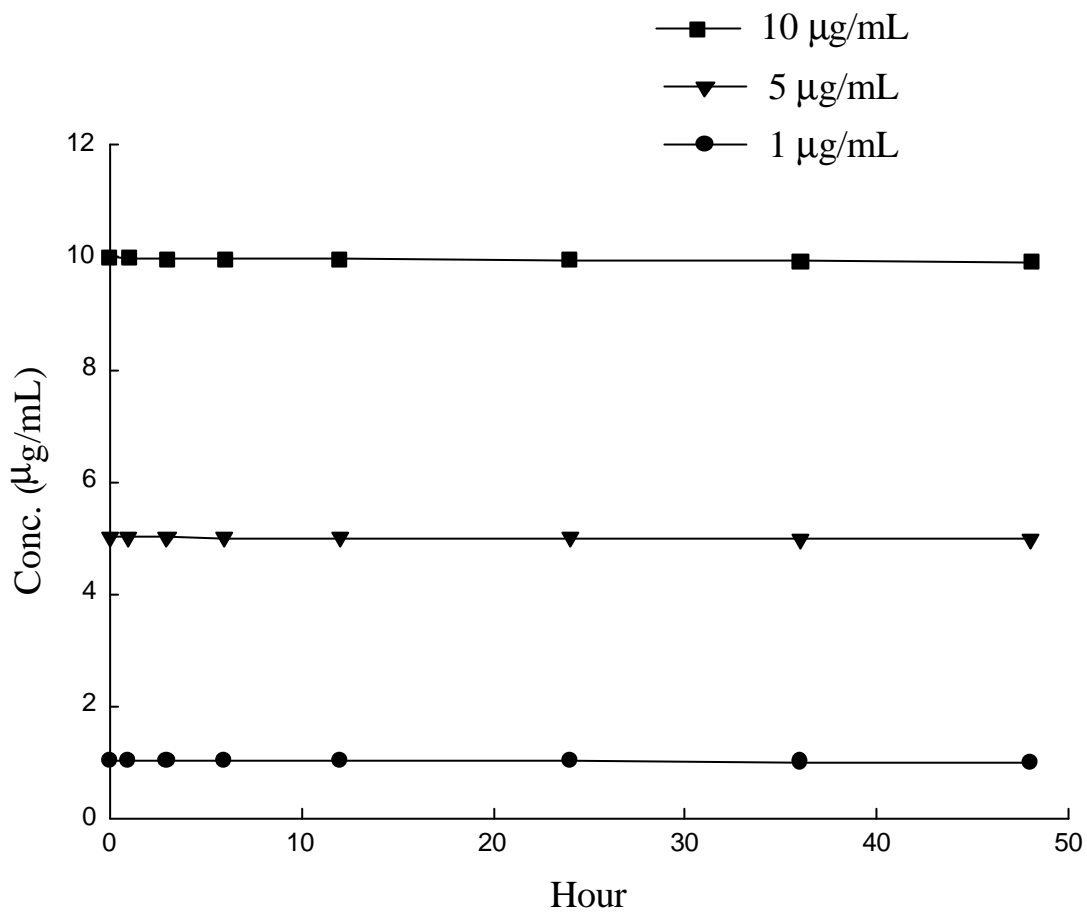


Fig. 6. Stability of scopoletin in rabbit plasma at 37 °C.

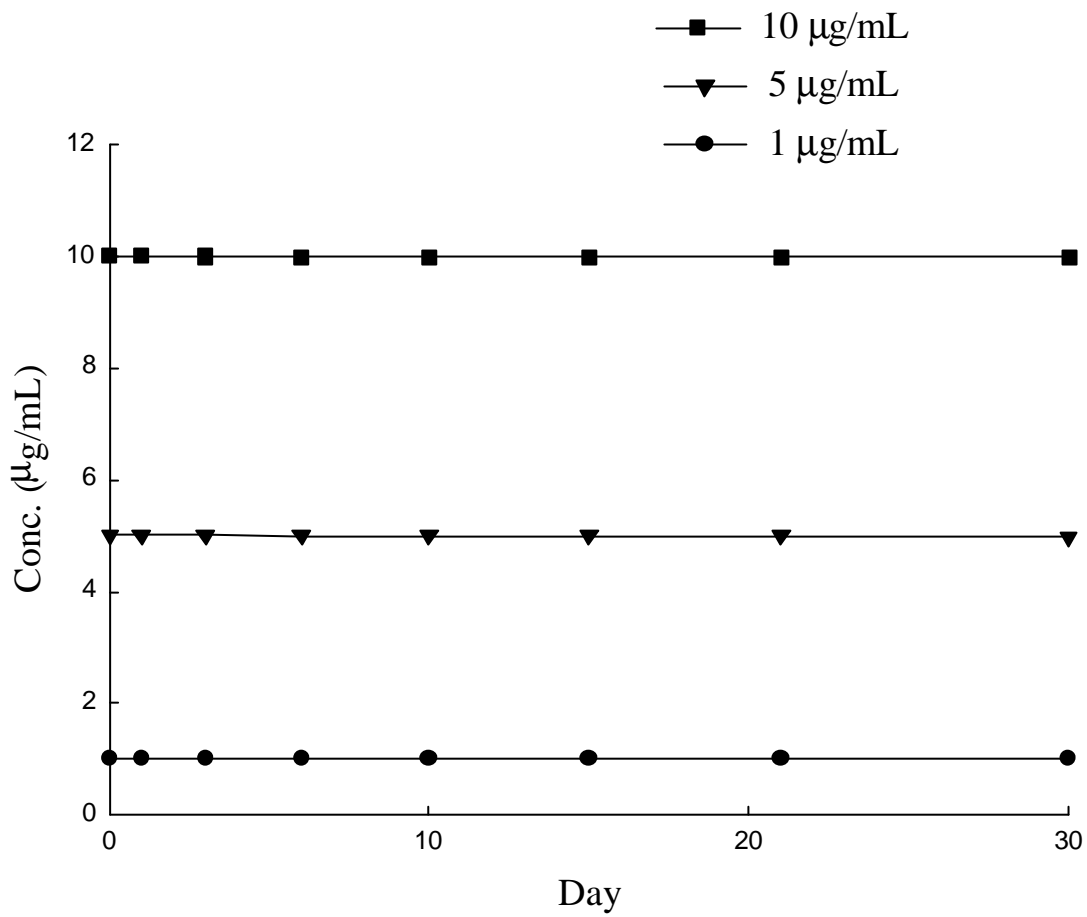


Fig. 7. Stability of scopoletin in rabbit plasma at -30 .

Table 2. Limit of quantitation test for scopoletin in rabbit plasma.

Spiked conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Test No.			Mean	S.D.	C.V.(%)	Error [#] (%)
	1 4	2 5	3 6				
100	102.2	105.1	98.0	100.9	3.071	3.043	2.639
	99.1	103.3	97.7				
50	49.9	49.8	49.0	49.8	0.419	0.843	0.606
	50.1	49.8	50.1				
10	10.2	9.8	10.2	10.0	0.183	1.822	1.687
	9.9	10.2	10.1				
5	5.1	5.2	4.9	5.0	0.152	3.016	2.693
	4.961	4.865	5.208				
1	1.0	1.0	1.0	1.0	0.029	2.899	2.417
	1.032	0.982	1.043				
0.5	0.5	0.5	0.5	0.51	0.011	2.260	2.367
	0.50	0.51	0.49				
0.1	0.10	0.11	0.10	0.10	0.006	5.767	4.833
	0.10	0.11	0.10				
0.05	0.048	0.047	0.051	0.050	0.002	4.708	4.000
	0.051	0.048	0.053				
0.01	0.011	0.009	0.011	0.010	0.001	9.182	8.333
	0.009	0.011	0.010				

[#]The average value of error

Table 3. Recovery test of scopoletin in rabbit plasma

Spiked conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Scopoletin in plasma ($\mu\text{g/ml}$)	Scopoletin in methanol ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)
100	97.2 \pm 0.7	102.5 \pm 1.7	94.863 \pm 1.635
50	49.6 \pm 0.8	50.3 \pm 0.4	98.582 \pm 0.788
10	9.6 \pm 0.2	10.0 \pm 0.1	96.134 \pm 2.006
5	4.7 \pm 0.1	5.0 \pm 0.8	94.189 \pm 1.737
1	1.0 \pm 0.	1.0 \pm 0.2	93.188 \pm 2.478
0.5	0.49 \pm 0.01	0.51 \pm 0	96.035 \pm 0.964
0.1	0.10 \pm 0	0.11 \pm 0	95.197 \pm 2.573
0.05	0.049 \pm 0.002	0.052 \pm 0.001	94.214 \pm 2.575
0.01	0.011 \pm 0.001	0.012 \pm 0.001	91.508 \pm 1.005

% Recovery test: (Scopoletin in plasma/Scopoletin in methanol) \times 100.

Data are expressed as mean \pm SD (n = 3).

Table 4. Intraday precision for scopoletin determination in rabbit plasma

Spiked conc. ($\mu\text{g/ml}$)	1	2	3	Mean	S.D.	C.V. (%)	Error [#] (%)
100	98.2	102.0	101.9	100.7	2.267	2.152	1.902
50	49.8	50.0	50.0	49.9	0.101	0.203	0.137
10	10.1	10.0	10.2	10.1	0.160	1.587	1.280
5	5.0	5.0	5.0	5.1	0.031	0.618	0.413
1	1.0	1.1	1.0	1.0	0.062	5.902	5.600
0.5	0.51	0.50	0.51	0.51	0.009	1.839	1.733
0.1	0.11	0.10	0.12	0.11	0.009	8.566	9.000
0.05	0.052	0.049	0.056	0.052	0.004	6.711	6.000
0.01	0.014	0.012	0.014	0.013	0.001	8.660	33.333

[#]The average value of error

Table 5. Interday precision for scopoletin determination in rabbit plasma.

Spiked conc. ($\mu\text{g/ml}$)	1	2	3	Mean	S.D.	C.V. (%)	Error [#] (%)
100	103.0	98.5	100.7	100.7	2.251	2.235	1.717
50	49.8	49.7	50.2	49.9	0.253	0.507	0.445
10	10.2	10.0	10.1	10.1	0.115	1.138	0.970
5	5.0	5.0	5.0	4.998	0.023	0.450	0.327
1	1.0	1.0	1.0	1.018	0.037	3.603	5.600
0.5	0.49	0.56	0.51	0.520	0.038	7.222	5.533
0.1	0.11	0.10	0.11	0.103	0.007	6.444	6.000
0.05	0.051	0.052	0.049	0.051	0.002	3.015	2.667
0.01	0.012	0.011	0.011	0.011	0.001	5.094	13.333

[#]The average value of error

Table 6. Stability of scopoletin in rabbit plasma at 37 °C.

Time (hr)	Scopoletin		Conc
	1.0 (µg/ mL)	5.0 (µg/ mL)	10.0 (µg/ mL)
0	1.025	5.009	9.998
1	1.024	5.008	9.985
3	1.022	5.005	9.976
6	1.018	5.001	9.971
12	1.015	4.999	9.966
24	1.012	4.997	9.948
36	1.005	4.985	9.936
48	0.992	4.981	9.915

Table 7. Stability of scopoletin in rabbit plasma at -30 .

Time (day)	Scopoletin		Conc.
	1.0 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	5.0 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	10.0 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0	1.027	5.007	9.999
1	1.022	5.006	9.997
3	1.019	5.003	9.989
6	1.018	5.002	9.985
10	1.015	5.000	9.983
15	1.012	4.999	9.982
21	1.007	4.997	9.976
30	1.002	4.985	9.971

第四章

東莨菪素家兔之藥物動力學

4-1 東莨菪素家兔靜脈注射後之藥物動力學研究

本節已發表於 The Chinese Pharmaceutical Journal, 1999,
51, 245-254.

4-2 東莨菪素家兔口服給藥後之藥物動力學研究

本節已發表於 The Chinese Pharmaceutical Journal, 2000,
52, 203-210.

4-3 東莨菪素家兔肌肉注射給藥後之藥物動力學研究

4-1

東莨菪素家兔靜脈注射後之藥物動力學研究

本章已發表於 *The Chinese Pharmaceutical Journal*, 1999, 51, 245-254.

實驗目的

東莨菪素家兔血漿檢品之靈敏、精確、再現性良好之 HPLC 分析方法已獲得，但有關家兔靜脈注射東莨菪素後之血漿檢品之吸收、分佈、代謝如何則尚未被探討。故給予家兔靜脈注射東莨菪素 2、10、50mg/kg 三種不同劑量，進行 6 小時的連續抽血，將所得血中濃度作曲線配適(curve fitting)，應用 WinNonlin 電腦程式，得到藥物動力學參數，比較不同劑量中東莨菪素藥物動力學之差異。

實驗結果

東莨菪素靜脈注射給予家兔後，其血中濃度之變化可以公式

$$C_p (\mu\text{g/mL}) = A e^{-\lambda_1 t} + B e^{-\lambda_2 t} \text{ 表示，} \quad (11)$$

而 2、10 與 50mg/kg 三種劑量之血中濃度變化分別以下列方程式表示：

$$2\text{mg/kg} : C_p = 1.534e^{-0.121t} + 0.035e^{-0.010t} \quad (12)$$

$$10\text{mg/kg} : C_p = 6.794e^{-0.125t} + 0.098e^{-0.010t}$$

(13)

$$50\text{mg/kg} : C_p = 56.756e^{-0.090t} + 0.590e^{-0.010t} \quad (14)$$

血中濃度-時間曲線圖如 Fig. 8。所得結果以 WinNolin Pharmacokinetics Model 8 進行曲線配適，以二室體模式(two compartment model) 可以得到良好的配適。所得之藥物動力學參數列於 Table 8。靜脈注射東莨菪素 2、10 與 50 mg/kg，在家兔體內的清除率(CL)依次為 0.322 ± 0.014 、 0.382 ± 0.057 與 0.184 ± 0.019 L/min。半衰期($t_{1/2}$)為 74.301 ± 16.309 、 74.458 ± 12.830 與 71.981 ± 2.437 min。穩定狀態分佈體積(V_{ss})為 9.678 ± 1.403 、 9.105 ± 1.909 與 3.368 ± 0.398 L。曲線下面積(AUC)為 16.262 ± 0.287 、 65.210 ± 5.608 與 697.172 ± 58.060 $\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ 。平均滯留時間(mean residence time; MRT)為 30.158 ± 4.854 、 23.838 ± 3.263 與 19.415 ± 1.404 min。靜脈注射 2、10 與 50 mg/kg 後所得參數，經 ANOVA 統計分析，結果 A, B, K_{12} , V_{ss} , α -HL, CL, MRT, AUC 在三種劑量間均有明顯差異($p < 0.05$)。

由上述結果，東莨菪素在靜脈注射三種劑量 2、10 與 50 mg/kg 給予家兔後，CL 隨劑量增加而下降，AUC 隨劑量增加而明顯上升，呈現劑量依存性(dose-dependent)動力學。但 V_{ss} 與 $t_{1/2}$ 在 2-10 mg/kg

統計上無差異，表示在此劑量內呈現線性關係。

討論

靜脈注射東莨菪素 2 mg/kg，約 2 小時後，血漿分析中已測不出東莨菪素的量，表示東莨菪素呈現快速的吸收、分佈與消除現象。靜脈注射 2、10 與 50 mg/kg 後所得參數，經 ANOVA 統計分析，以 AUC 與 AUMC 會因劑量增加而血藥濃度及-藥曲線下面積呈超比例增加，是呈現米曼型 (Michaelis-Menten) 非線性的藥物動力學 (Gibaldi and Perrier, 1982)。CL 在注射 2-10 mg/kg 劑量間呈現線性關係 (linearity)，而最高劑量 50 mg/kg 注射後，CL 呈現非常明顯的下降。50 mg/kg 組之 k_{12} 、 β -HL、MRT 與另二低劑量組；即 2 與 10 mg/kg 比較，經 ANOVA 統計分析，亦有明顯差異 ($p < 0.05$)。且 V_{ss} 值 50 mg/kg 明顯低於 2 與 10 mg/kg 組。

上述結果：AUC 會隨著劑量增加而變大，而 CL 卻隨著劑量增加而變小，尤其是 50 mg/kg 大劑量時會有明顯的變化。表示東莨菪素在靜脈注射給予家兔後，其血藥濃度在體內是呈現劑量依賴性即 dose-dependent (non-linear) 的藥物動力學形態。大部分非線性藥物動力學均是由於容量限定性過程引起的。但非線性藥物動力學也可由於容量限定以外的效應所引起的。某些藥物的代謝產物消除較慢，當達到足夠高的濃度時可以競爭性抑制催化原形藥代謝的，從而能夠抑制原形藥自身代謝，此即所謂產物抑制 (product inhibition)。產物抑制過程同樣也能引起非線性藥物動力學 (Gibaldi and Perrier, 1982)。雙香豆素是這種特殊的非線性藥物動力學的一個典型藥物，這種動力學通常在高濃度藥物時會出現，呈現飽和的零級動力學 (zero-order kinetics)，並可能會延長它的藥效 (Takada and Levy 1980; Kekki et al., 1977; Ritschel et al., 1976; Cheung and Levy, 1989)。但是排除半衰期， β -HL 分別為 74.301 ± 16.309 、 74.458 ± 12.830 、 71.981 ± 2.437 min，統計上這三組劑量間並無任何差異，表示實際上，東莨菪素在靜脈注射後，其分佈、清除與體積間會達成平衡，導致末端排除半衰期沒有改變。

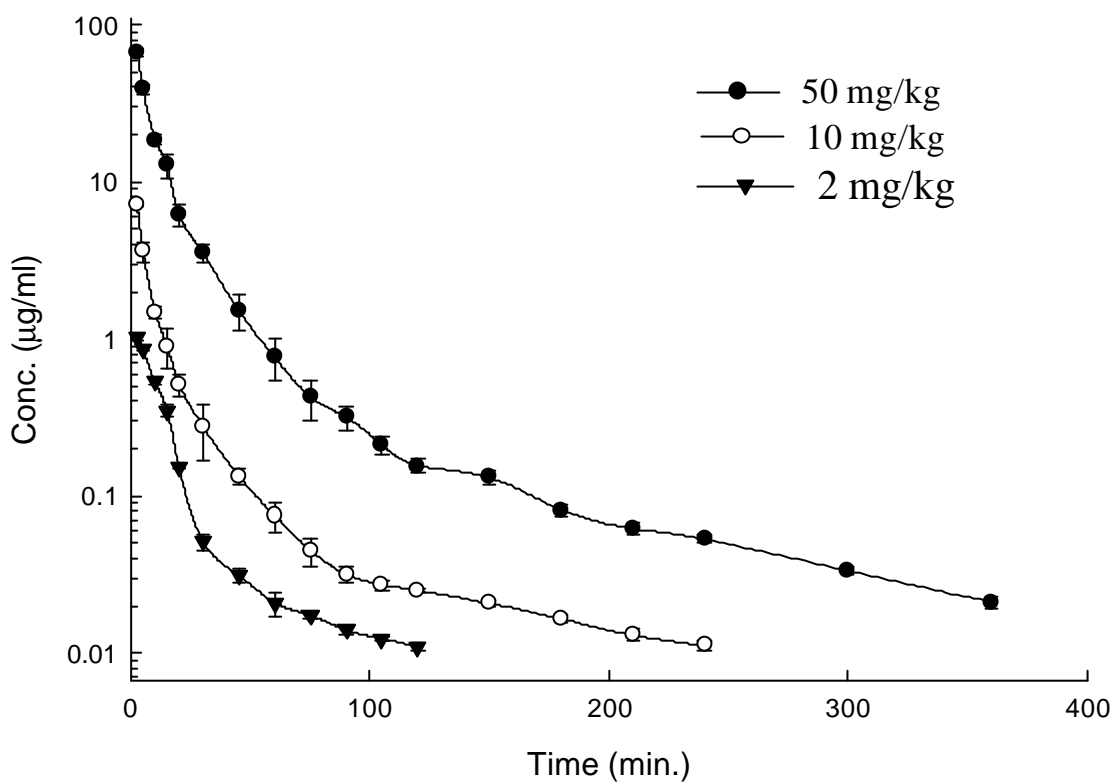


Fig. 8. Mean plasma concentration-time profiles of scopoletin (2, 10 or 50 mg/kg, i.v.) in rabbits. Each value represents mean \pm SD (n = 6).

Table 8. Pharmacokinetic parameters of scopoletin in rabbits after after bolus intravenous injection.

Parameter (unit)	2 mg/kg	10 mg/kg	50 mg/kg
$A(\mu\text{g/mL})$	1.534±0.048	6.794±1.103 ^a	56.756±5.511 ^b
$B(\mu\text{g/mL})$	0.035±0.008	0.098±0.021 ^a	0.590±0.083 ^b
$\alpha(\text{min}^{-1})$	0.121±0.004	0.125±0.028	0.090±0.011
$\beta(\text{min}^{-1})$	0.010±0.002	0.010±0.002	0.010±0.000
$K_{10}(\text{min}^{-1})$	0.097±0.004	0.107±0.022	0.083±0.010
$K_{12}(\text{min}^{-1})$	0.022±0.001	0.017±0.005	0.006±0.001 ^b
$K_{21}(\text{min}^{-1})$	0.012±0.003	0.011±0.002	0.010±0.000
$V_{ss}(\text{L})$	9.679±1.403	9.105±1.909	3.568±0.398 ^b
$\alpha\text{-HL}(\text{min})$	5.719±0.197	5.781±1.399	7.823±0.953 ^b
$\beta\text{-HL}(\text{min})$	74.301±16.309	74.458±12.830	71.981±2.437
$\text{CL}(\text{L}/\text{min})$	0.322±0.014	0.382±0.057 ^a	0.184±0.019 ^b
$\text{AUMC}(\mu\text{g}\cdot\text{min}^2/\text{mL})$	491.213±86.224	1558.420±277.917 ^a	13546±1630.310 ^b
$\text{MRT}(\text{min})$	30.158±4.854	23.838±3.263	19.415±1.404 ^b
$\text{AUC}(\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL})$	16.262±0.287	65.210±5.608 ^a	697.172±58.060 ^b

Data are expressed as mean ± SD (n = 6).

^aSignificantly different (p < 0.05) from 2 mg/kg dose.

^bSignificantly different (p < 0.05) from 2 and 10 mg/kg doses.

4-2

東莨菪素家兔口服給藥後之藥物動力學研究

本節已發表於 *The Chinese Pharmaceutical Journal*, 2000, 52, 203-210.

實驗目的

家兔靜脈注射東莨菪素後之藥物動力學在上節中已被提出，接著探討家兔口服東莨菪素後之藥物動力學與生體可用率，故進行了 6 小時的連續抽血，分析所得血中濃度作曲線配適(curve fitting)，應用 WinNonlin 電腦程式，得到東莨菪素之藥物動力學參數，並比較生體可用率在不同劑量間之差別。

實驗結果

東莨菪素口服給藥的分析方法同靜脈注射，東莨菪素口服給予家兔後，其血中濃度之變化以公式

$$C_p(\mu\text{g/mL}) = Ae^{-\lambda_1 t} + Be^{-\lambda_2 t} + Ce^{-k_{at}t} \text{ 表示，} \quad (15)$$

且 $C = - (A+B)$

而 50、100 與 250mg/kg 三種劑量之血中濃度變化分別以下列方程式表示：

$$50\text{mg/kg} : C_p = 3.102e^{-0.025t} + 0.472e^{-0.009t} + 3.574e^{-0.034t} \quad (16)$$

$$100\text{mg/kg} : C_p = 4.894e^{-0.026t} + 0.491e^{-0.009t} - 5.385e^{-0.033t} \quad (17)$$

$$250\text{mg/kg} : C_p = 11.057e^{-0.024t} + 0.740e^{-0.009t} - 11.797e^{-0.036t} \quad (18)$$

血中濃度-時間曲線圖如 Fig. 9。所得結果以 WinNolin Model 13 進行曲線配適，以二室體模式(two compartment model)可以得到良好的配適。所得之藥物動力學參數列於 Table 9。在家兔體內的 AUC 依次為 67.7 ± 1.4 , 85.1 ± 2.6 與 $173.8 \pm 15.4 \mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ 。-HL 為 78.8 ± 4.0 , 79.9 ± 5.8 與 $80.5 \pm 7.6 \text{ min}$ 。藥物達到血中最高濃度時間(t_{\max})為 39.9 ± 1.8 , 38.4 ± 1.0 與 $35.8 \pm 2.9 \text{ min}$ 。藥物達到血中最高濃度(C_{\max})為 0.506 ± 0.017 , 0.678 ± 0.026 與 $1.488 \pm 0.065 \mu\text{g/mL}$ 。藥物在中央室之擬似分佈體積/絕對生體可用率(V_1/F)為 126.86 ± 10.66 , 189.73 ± 13.11 與 $219.29 \pm 38.63 \text{ L}$ 。

據上述結果，東莨菪素在口服給予家兔 50、100 與 250 mg/kg 三種劑量後，排除半衰期($t_{1/2\beta}$)依次 78.8 ± 4.0 , 79.9 ± 5.8 , $80.5 \pm 7.6 \text{ min}$ 統計上並無差異，且與靜脈注射之半衰期相近；靜脈注射東莨菪素 2、10 與 50 mg/kg 之 β -HL 分別為 74.301 ± 16.309 , 74.458 ± 12.830 , $71.981 \pm 2.437 \text{ min}$ 。依據 AUC 及 A/B 數據來看，口服 250 mg/kg 之血中濃度介於靜脈 10-50 mg/kg 之間，且較接近 10 mg/kg。而靜脈給藥的結果，10 mg/kg 以下之藥物動力學為線性，10-50 mg/kg 開始顯示非線性。由此銜接可知靜脈之藥動線性可延伸至血中濃度相當於

口服 250 mg/kg。因此取用靜脈 10 mg/kg 之 AUC，代入公式即可算出 scopoletin 口服後之

$$\text{絕對生體可用率}(F_{po}) = \frac{AUC_{oral} / \text{Dose}_{oral}}{AUC_{iv} / \text{Dose}_{iv}} \quad (19)$$

結果 F 分別為 0.19 ± 0.01 ， 0.11 ± 0.01 與 0.1 ± 0.01 。F 隨著劑量增加而下降。接著將推算出的 F 代入 $CL = F \text{ Dose} / AUC$ ，得到 CL 皆為 0.374 ± 0.001 L/min，結果與靜脈之 CL 無明顯不同；靜脈給予 10 mg/kg 之 CL 為 0.382 ± 0.057 L/min。同理，由 V_1/F 代入各別劑量的 F 值，可以得到三種劑量之 V_1 值分別為 23.89 ± 1.16 ， 21.56 ± 0.66 與 20.66 ± 3.14 L；口服三種劑量之 V_1/F 平均值列於 Table 9。再利用公式 $V_{ss} = V_1(1 + k_{12}/k_{21})$ ，分別得到 V_{ss} 為 30.88 ± 0.52 ， 28.43 ± 0.88 與 25.74 ± 1.44 L，結果口服之 V_{ss} 明顯大於靜脈注射給藥。

討論

東莨菪素口服給予家兔 50、100 與 250mg/kg 三種劑量，於 10 min 開始採血檢測血中濃度-時間曲線圖，圖中可觀察到口服給予東莨菪素後，在兔子體內吸收非常快，藥物達到血中最高濃度時間(t_{max})約為 40 min。東莨菪素在口服給予家兔 50、100 與 250mg/kg 三種劑量後，排除半衰期($t_{1/2}$): 78.8 ± 4.0 、 79.9 ± 5.8 、 80.5 ± 7.6 min 統計上並無差異($p > 0.05$)，且與靜脈注射之半衰期相近(74.3 ± 16.3 、 74.5 ± 12.8 、 72.0 ± 2.4 min)。又口服三種劑量後 K_a - $t_{1/2}$ 分別為 20.7 ± 1.0 、 20.8 ± 0.7 、 19.6 ± 2.7 min； t_{max} 分別為 39.9 ± 1.8 、 38.4 ± 1.0 、 36.8 ± 2.9 min。由上述可觀察到，隨著口服東莨菪素劑量的增加，到達血中最高濃度的時間會縮短。另外 k_{12} 分別為 0.004 ± 0.001 、 0.004 ± 0.001 、 0.003 ± 0.001 min^{-1} ， k_{21} 分別為 0.014 ± 0.002 、 0.013 ± 0.001 、 0.011 ± 0.001 min^{-1} ，由周邊至中樞的轉移速度快於中樞至周邊約 3 倍，表示當穩定狀態到達時，中樞室的東莨菪素量會大於周邊室。另統計上 k_{12} 、 k_{21} 均無差異，而 k_{21} 會隨著劑量增加而下降($p < 0.05$)，表示隨著劑量增加，兔子在內部轉換中會遺失越來越多的東莨菪素，故 k_{21} 會隨著劑量增加而下降；而 k_{10} 會隨著劑量增加而增加。由公式 $k_{10} = k_{12} / k_{21}$ 中得知，因 k_{12} 與 k_{21} 無變化($p > 0.05$)，而 k_{21} 會下降，故 k_{10} 就會隨著劑量增加而上升，故此實驗結果合乎常理。

取用靜脈 10 mg/kg 之 AUC，代入公式算出 scopoletin 口服後之

絕對生體可用率，結果 F 分別為 0.19 ± 0.01 ， 0.11 ± 0.01 與 0.10 ± 0.01 。F 隨著劑量增加而下降。接著將推算出的 F 代入 $CL = F \cdot Dose / AUC$ ，得到 CL 皆為 $0.374 \pm 0.001 L/min$ ，結果與靜脈之 CL 無明顯不同。同理，由 V_1 / F 代入各別的 F 值，可以得到 V_1 分別為 23.89 ± 1.16 ， 21.56 ± 0.66 與 $20.66 \pm 3.14 L$ 。再利用公式 $V_{ss} = V_1(1 + k_{12}/k_{21})$ ，分別得到 V_{ss} 為 30.88 ± 0.52 ， 28.43 ± 0.88 與 $25.74 \pm 1.44 L$ 結果口服之 V_{ss} 明顯大於靜脈注射給藥。如上所述，CL 無明顯差異， V_1 隨著劑量增加而下降，再由公式 $CL = k_{10} \cdot V_1$ 證實 k_{10} 會隨著劑量增加而上升。由以上結果得知，東莨菪素口服給予家兔 50 至 250mg/kg 是呈現非線性關係，AUC 隨著劑量增加而增加，但不會呈現比例性的增加。口服東莨菪素的生體可用率相當低(0.10 至 0.19)，可能是東莨菪素在水中的溶解度很差的原因，根據 Merk Index 記載：scopoletin 為微溶於水(slightly sol in water)。因本實驗在配製東莨菪素溶液時，如戴氏處理方式將東莨菪素加鹼(NaOH)處理，成為可溶性鹽(戴平，2000)。但其溶液如果在胃中酸化，東莨菪素即重新析出，可致使東莨菪素給兔子口服後在胃腸道吸收差的原因。

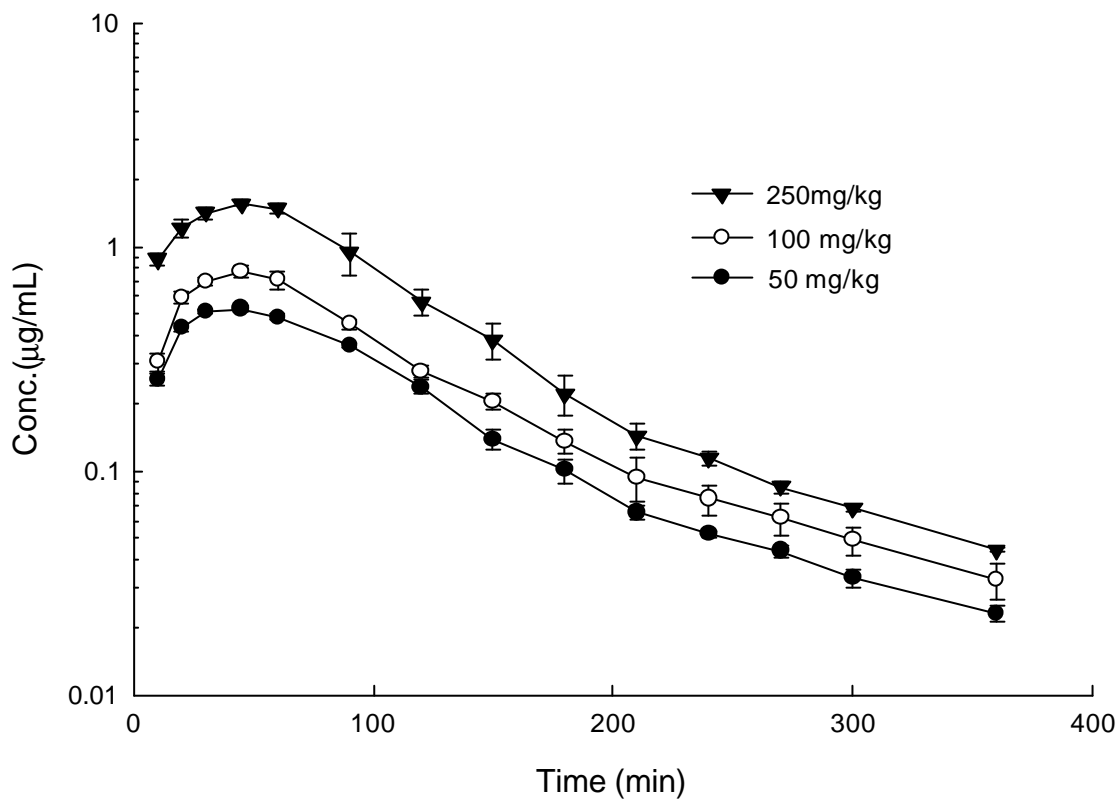


Fig. 9. Mean plasma concentration-time profiles of scopoletin (50, 100, or 250 mg/kg, p.o.) in rabbits. Each value indicates mean \pm SD (n =8).

Table 9. Pharmacokinetic parameters of scopoletin in rabbits after oral administration.

Parameter (unit)	50 mg/kg	100 mg/kg	250 mg/kg
A($\mu\text{g/mL}$)*	3.102 \pm 1.103	4.894 \pm 0.967	11.057 \pm 6.548
B($\mu\text{g/mL}$)	0.472 \pm 0.082	0.491 \pm 0.086	0.740 \pm 0.301
k_a (min^{-1})	0.034 \pm 0.002	0.033 \pm 0.001	0.036 \pm 0.006
α (min^{-1})	0.025 \pm 0.002	0.026 \pm 0.001	0.024 \pm 0.004
β (min^{-1})	0.009 \pm 0.001	0.009 \pm 0.001	0.009 \pm 0.001
k_{10} (min^{-1})*	0.016 \pm 0.001	0.017 \pm 0.001	0.018 \pm 0.003
k_{12} (min^{-1})	0.004 \pm 0.001	0.004 \pm 0.001	0.003 \pm 0.001
k_{21} (min^{-1})*	0.014 \pm 0.002	0.013 \pm 0.001	0.011 \pm 0.001
AUC($\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$)*	67.7 \pm 1.4	85.1 \pm 2.6	173.8 \pm 15.4
K_a -HL(min)	20.7 \pm 1.0	20.8 \pm 0.7	19.6 \pm 2.7
$t_{1/2\alpha}$ (min)	27.5 \pm 2.4	27.2 \pm 1.2	29.8 \pm 5.4
$t_{1/2\beta}$ (min)	78.8 \pm 4.0	79.9 \pm 5.8	80.5 \pm 7.6
V_1/F (L) *	126.86 \pm 10.66	189.73 \pm 13.11	219.29 \pm 38.63
Cl/F (L/min)*	1.99 \pm 0.10	3.29 \pm 0.17	3.99 \pm 0.45
t_{max} (min) *	39.9 \pm 1.8	38.4 \pm 1.0	36.8 \pm 2.9
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)*	0.506 \pm 0.017	0.678 \pm 0.026	1.488 \pm 0.065

Data are expressed as mean \pm SD (n = 8).

*Significantly different ($p < 0.05$) compared among 50, 100 and 250 mg/kg.

4-3

東莨菪素家兔肌肉注射給藥後之
藥物動力學研究

實驗目的

家兔靜脈注射或口服東莨菪素後之藥物動力學情形已在前二節被敘述，故接著進行家兔肌肉注射東莨菪素，同樣抽血分析作分室分析、曲線配適並求算藥物動力學參數，並擬比較靜脈、口服與肌肉注射東莨菪素後之藥物動力學與生體可用率之異同。

實驗結果

東莨菪素肌肉注射 50mg/kg 給予家兔後，其血中濃度之變化以公式

$$C_p(\mu\text{g/mL}) = Ae^{-\lambda_1 t} + Be^{-\lambda_2 t} + Ce^{-k_{at} t} \text{ 表示，且 } C = -(A+B)$$

而 50mg/kg 之血中濃度變化以下列方程式表示：

$$50\text{mg/kg} : C_p = 58.194e^{-0.030t} + 1.605e^{-0.008t} - 59.799e^{-0.038t}$$

(20)

血中濃度-時間曲線圖如 Fig. 10。所得結果以 WinNolin Model 13 進行曲線配適(curve fitting)，以二室體模式(two compartment model) 可以得到良好的配適。所得之藥物動力學參數列於 Table 10。在家兔體內的 AUC 為 $477.7 \pm 9.5 \mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ 。-HL 為 $83.6 \pm 4.4 \text{ min}$ 。 t_{max} 為 $31.5 \pm 0.5 \text{ min}$ 。 C_{max} 為 $4.773 \pm 0.129 \mu\text{g/mL}$ 。 V_1/F 為 12.39 ± 0.92 。

同上述口服之推論取用靜脈 10 mg/kg 之 AUC，代入公式算出 scopoletin 肌肉注射後之

$$\text{絕對生體可用率}(F_{\text{im}}) = \frac{\text{AUC}_{\text{im}} / \text{Dose}_{\text{im}}}{\text{AUC}_{\text{iv}} / \text{Dose}_{\text{iv}}} \quad (21)$$

結果 F 為 1.304 ± 0.0671 ，顯然不合理。若採用靜脈 50 mg/kg 之 AUC，同樣代入上述公式，結果 F 為 0.623 ± 0.032 ，似乎較合理。接著將推算出的 F 代入 $CL = F \cdot \text{Dose} / \text{AUC}$ ，得到 CL 為 $0.179 \pm 0 \text{ L/min}$ ，結果與靜脈之 50mg/kg 之 CL 值相近；靜脈 50mg/kg 之 CL 值為 0.184 ± 0.019 。同理，由 V_1/F 代入各別的 F 值，可以得到 V_1 為 $7.698 \pm 0.376 \text{ L}$ 。再利用公式 $V_{\text{ss}} = V_1(1 + k_{12}/k_{21})$ ，得到肌肉注射 50mg/kg 之 V_{ss} 為 $10.856 \pm 0.274 \text{ L}$ 。

討論

東莨菪素肌肉注射 50 mg/kg 給予家兔後，結果 F_{im} 為 0.623 ± 0.032 ，表示東莨菪素肌肉注射，比口服給藥可得較好的生體利用率。另推算得到 CL 為 0.179 ± 0.019 L/min，結果與靜脈給藥之 50 mg/kg 之 CL 值相近；靜脈 50mg/kg 之 CL 值為 0.184 ± 0.019 。肌肉注射 50 mg/kg 之 V_{ss} 為 10.856 ± 0.274 L，結果 V_{ss} 值肌肉注射大於靜脈注射給藥，但小於口服給藥；靜脈注射 50 mg/kg 之 V_{ss} 為 3.568 ± 0.398 L；口服 50 mg/kg 之 V_{ss} 為 30.88 ± 0.52 L。表示給予相同劑量的東莨菪素，即 50 mg/kg，在分佈達穩定狀態下，分佈體積最大的是口服，肌肉注射居中，最小的是靜脈注射給藥。由上述結果推論，口服東莨菪素比肌肉與靜脈注射會有較長的作用時間。

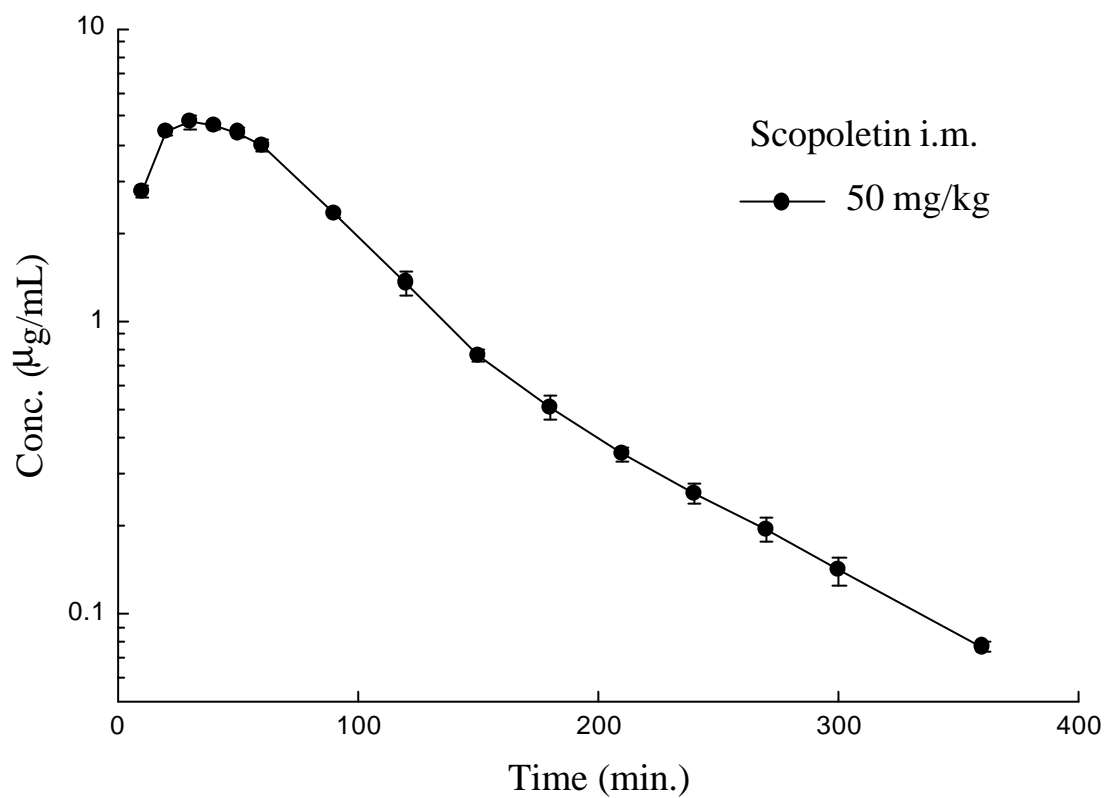


Fig. 10. Mean plasma concentration-time profiles of scopoletin (50 mg/kg, i.m.) in rabbits. Each value indicates mean \pm SD (n =8)

Table 10. Pharmacokinetic parameters of scopoletin in rabbits after intramuscular administration.

Parameter (unit)	50 mg/kg
A($\mu\text{g/mL}$)	58.194 \pm 21.510
B($\mu\text{g/mL}$)	1.605 \pm 0.180
k_a (min^{-1})	0.038 \pm 0.002
α (min^{-1})	0.030 \pm 0.002
β (min^{-1})	0.008 \pm 0
k_{10} (min^{-1})	0.023 \pm 0.001
k_{12} (min^{-1})	0.004 \pm 0.001
k_{21} (min^{-1})	0.0108 \pm 0.001
AUC($\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$)	477.744 \pm 9.527
K_a -HL(min)	18.433 \pm 1.0567
$t_{1/2\alpha}$ (min)	23.060 \pm 1.588
$t_{1/2\beta}$ (min)	83.648 \pm 4.384
V_1/F (L)	12.391 \pm 0.924
Cl/F (L/min)	0.288 \pm 0.014
t_{max} (min)	31.518 \pm 0.531
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	4.773 \pm 0.129

Data are expressed as mean \pm SD (n = 8).

第五章

東莨菪素與枸杞子氯仿層抽出物之 血小板聚集性抑制作用

5-1 東莨菪素血小板聚集性抑制之研究

5-2 枸杞子氯仿層抽出物血小板聚集性抑制之研究

5-1

東莨菪素血小板聚集性抑制之研究

實驗目的

心、腦血管血栓性疾病是常見的病，血栓形成是心肌梗死的原因(李家增，2000)，而血栓病理改變又都與血小板功能異常有密切關係。東莨菪素具有 coumarin(香豆素)的結構，已知 coumarin 類之化合物大都具有抗血小板凝聚的作用(Chen et al., 1996; Matano et al., 1986; Prosdocimi et al., 1985; Socini et al., 1982; Poller et al., 1969; Newland, 1967)。且 Okada 等對家兔進行體外(in vitro)比濁法試驗，結果證實 scopoletin 對 ADP、AA、collagen 誘導之家兔血小板聚集有抑制作用(Okada et al., 1995)。另本研究亦做 in vitro 預試驗，結果 scopoletin 與 LBC 對 AA、ADP、collagen 誘導家兔血小板聚集均有抑制作用，IC₅₀ 分別為 5.205-6.833 與 5.064-6.928 μ g/mL。故東莨菪素經由體內靜脈注射或口服給予東莨菪素後，其對血小板聚集誘導劑之抑制作用如何，是本論文想要探究的問題。

實驗結果

觀察家兔血小板聚集性採用 Born 氏比濁法(turbidimetric method)(Born, 1962a; Born, 1962)。利用血小板聚集測定儀，先測出對照組的血小板聚集抑制率，所得最大聚集抑制率做為對照組，如 Fig.11。

家兔靜脈注射 2, 10 與 50 mg/kg 東莨菪素注射溶液後，血小板聚集與給藥前空白血漿比較，對 ADP、AA、collagen 誘導的聚集抑制率，結果以注射東莨菪素 50 mg/kg，5 min 後，對三種血小板聚集誘導劑之抑制作用效果最強。對 ADP、AA、collagen 所誘導的聚集抑制率平均分別為 47.8, 50.7, 55.5 %，與給藥前比較其 p 值皆小於 0.001，結果詳如 Table 11 與 Fig. 12。

家兔口服東莨菪素給藥後 10, 30, 60, 150 及 300 min，分析得到實驗組血漿數據。給藥後之血小板聚集與給藥前比較，結果以給予 250mg/kg 後 30 min 對血小板聚集之抑制效果最強，30 min 之 ADP、AA、collagen 的聚集抑制率平均分別為 41.3, 48.8, 47.5 %。其次 60 min 的抑制效果亦不錯，可達 37.4~45.3 %，與給藥前聚集抑制率比較，其 p 值皆小於 0.001。詳如 Table 12 與 Fig. 13。

討論

東莨菪素對 ADP、AA、collagen 誘導的血小板聚集作用，在靜脈注射 5min 後即可產生抑制效果，抑制率 2 mg/kg 組可達 10.2 %，隨著劑量增加抑制效果亦增強，至 50 mg/kg 組，對 ADP、AA、collagen 的抑制效果分別可達 47.8，50.7，55.5 %，而東莨菪素靜脈注射後血中濃度亦以 5min 為最高，且隨著時間增加，濃度亦漸消失，如 Fig. 13。而血小板聚集抑制效果亦隨著時間而減弱，表示東莨菪素靜脈注射給藥之血小板聚集抑制作用與血中濃度有關。如 Table 11。但對 50 mg/kg 組，AA 誘導的抑制至 300min 仍有 16.6 % 的抑制率，可能東莨菪素的血小板抑制效果仍可延至 300min 以後。

口服給予東莨菪素，給藥後在 5 小時內的抽血點，對誘導劑的抑制效果以給藥後 30min 的抑制率最大，250mg/kg 組抑制率分別為 41.3，48.8，47.5，過了 30 min 後，接著隨著時間消逝對血小板的抑制效果亦隨之下降。至 5 小時對 collagen 的抑制率仍有 20.1 %，Table 12。同樣的，已知東莨菪素的 t_{max} 約為 40 min，而東莨菪素對血小板聚集誘導劑的作用也以 30min 的抑制效果最大，30min 後，口服給予東莨菪素的血中濃度亦隨著時間而逐漸代謝消失，故家兔口服東莨菪素後對血小板聚集抑制效果亦與東莨菪素的血中濃度相關。

由以上的結果，可知對 ADP、AA、collagen 誘導的血小板聚集抑制作用，無論靜脈或口服給予東莨菪素，其抑制作用大小皆分別與其同時的血中濃度有關。但並非與其濃度成等比關係，其中給藥方式也會影響聚集抑制效果，雖然靜脈注射東莨菪素 50 mg/kg 在 5 min 具有較高的血中濃度，平均值為 39.1 $\mu\text{g/mL}$ 與最大的血小板抑制率，平均值為 55.5 %，但口服給予東莨菪素 250 mg/kg，在 30 min 時，雖然其血中濃度平均值僅 1.4 $\mu\text{g/mL}$ ，但其最大的血小板抑制率仍平均有 48.8 %。表示靜脈注射所致的高濃度血中東莨菪素會抑制血小板聚集，但經由口服給予東莨菪素，在一定的作用時間後，東莨菪素約 30min，仍能對血小板聚集產生不錯的抑制作用。可能東莨菪素的高劑量與一定的作用時間，皆可影響血小板的聚集作用。

因 thrombin 會自行分解血小板，即在大量 thrombin 引起血小板的顆粒釋放功能消失與血小板無法維持其正常結構的情況下，即使顆粒無法釋放 ADP，花生四烯酸與 ADP 仍能繼續擁有其血小板的聚集作用。所以 ADP 的血小板的聚集作用是一獨立的作用機轉，ADP 亦是血小板聚集誘導的首選之藥(Charo et al., 1977; Kinlough-Rathbone et al., 1975; Kinlough-Rathbone et al., 1976; Charo et al., 1977)。本研究

中兔子口服枸杞子氯仿層提取物溶液與東莨菪素靜脈注射、口服給藥皆能對 ADP 誘發的血小板聚集產生抑制作用，但枸杞子提取物與東莨菪素是影響血小板膜上 ADP 受體，還是影響血小板內顆粒成分的釋放，尚待進一步實驗證明。

當血小板激活時，則進行 Arachidonate pathway，是血小板的膜磷脂 A_2 (phospholipase A_2)作用生成的 AA，AA 經由環氧化 (cyclooxygenase)代謝為前列腺素內過氧化物，在血小板中前列腺素內過氧化物經血栓素 A_2 合成 作用轉變為血栓素(thromboxane A_2 ; TXA_2)。 TXA_2 的生物活性為誘導血小板聚集，降低血小板 cAMP 數量和收縮血管(Lapetina, 1978; Vargaftig, 1977; Vargaftig and Zirinis, 1973)。本研究發現東莨菪素與枸杞子氯仿層提取物對 AA 誘導的血小板聚集有抑制作用，因此，推測枸杞子與其成分東莨菪素，對血小板聚集的抑制作用，可能與抑制 AA 的代謝途徑有關。

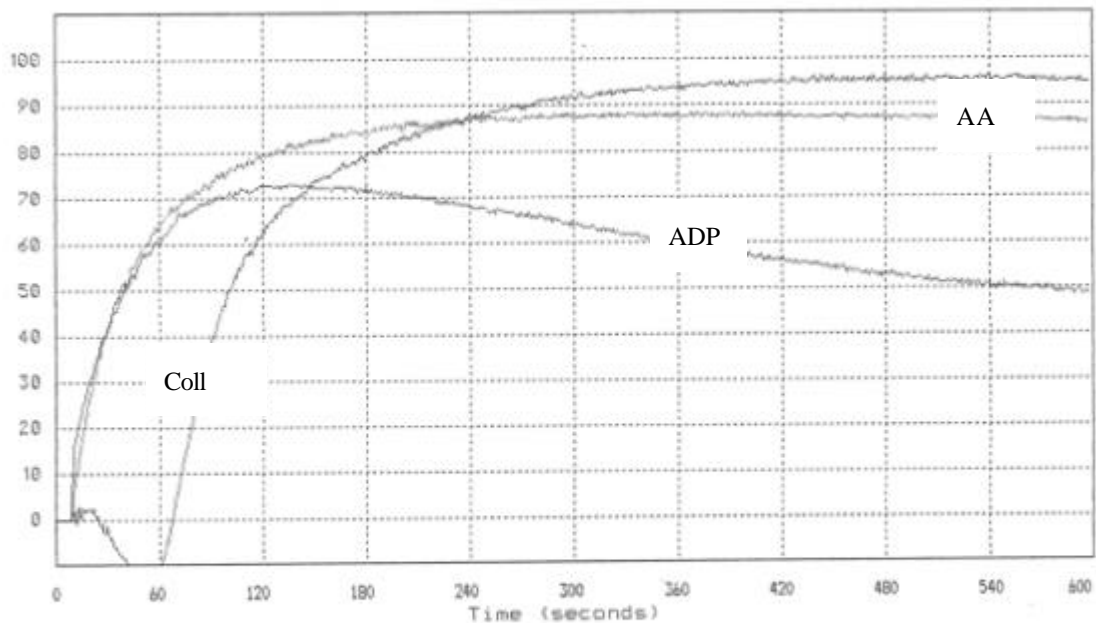
血小板膜上存在著各種受體，包括膠原受體，它們與相應的配體結合後，如膠原與膠原受體結合，血小板被激活而發生形態變化、粘附聚集和釋放等系列反應(Puett et al., 1973; Katzman et al., 1973; Packham et al., 1973; Caen and Legrand, 1972; Nossel et al., 1971; Zucker, 1967)。最近研究指出 glycoprotein VI (GPVI)在膠原誘導血小板的聚集和活化上扮演相當重要的角色，如果人們缺乏 GPVI 則會有出血之虞(Jandrot-Perrus et al., 2000; Miura et al., 2000)。所以若東莨菪素或枸杞子提取物對膠原誘導血小板的聚集有抑制效果，則可能直接與血小板膜上的 GPVI 接受器有關。由以上結果，可知東莨菪素與枸杞子提取物都可抑制 ADP、AA 及膠原誘導的兔子血小板聚集，但對此三種誘導劑無明顯的選擇性。且對血小板聚集的兩條主要途徑(田澤等，2000)，即血小板內源性 ADP 釋放及血小板膜磷酯花生四烯酸的代謝產物 TXA_2 皆有影響。

Okada 等報告，東莨菪素體外給藥之量效關係，求出東莨菪素對家兔 ADP、AA 與 collagen 的血小板聚集半數抑制濃度(IC_{50})分別為 0.3、0.1 與 $0.2\mu\text{g/mL}$ (Okada., 1995)，本實驗東莨菪素口服 50mg/kg 後 30 min 之血中濃度為平均值為 $0.49\mu\text{g/mL}$ ，是東莨菪素口服與靜脈給藥各組中較接近 IC_{50} 值的組別。本實驗觀察了東莨菪素對 ADP、AA、collagen 誘導的兔半體內血小板的聚集作用，結果量效方面：靜脈以給予東莨菪素 50 mg/kg；口服東莨菪素以 250 mg/kg 後對家兔血小板聚集之抑制效果最強。時效方面：靜脈以 5 min，口服以 30 min 的血小板聚集抑制效果最強。故本研究完成了家兔體內給藥對血小板聚集的影響之量效與時效的關係。

血小板聚集誘導劑之濃度：ADP 本實驗使用 10 μ M(Okada, 1995), 有使用 0.2mmol/L、4 μ mol/L、0.1mg/mL、5 μ M 與 40 μ g/ μ L(石晶等, 1996; 喻晶、胡文淑, 1997; 田澤等, 2000; Samama et al., 1995; 呂愛剛等, 1997; 馮欣、劉鳳鳴, 1999; 卡慧敏等 2000)。AA 本實驗使用 5mg/mL, 有使用 750 μ mol/L、0.3mmol/L 與 2mg/mL(喻晶、胡文淑, 1997; 呂愛剛等, 1997)。本實驗使用 10 μ g/mL 膠原(Samama et al., 1995), 有使用 30 μ g/mL、0.2g/mL、20 μ g/mL(Okada, 1995; 田澤等, 2000; 呂愛剛等, 1997)。雖然誘導劑之使用單位或濃度不同, 但本實驗操作過程中所使用之誘導劑之劑量與濃度皆能聚集誘導成功, ADP 有 75%, AA 有 90%, collagen 有 95%之抑制效果。

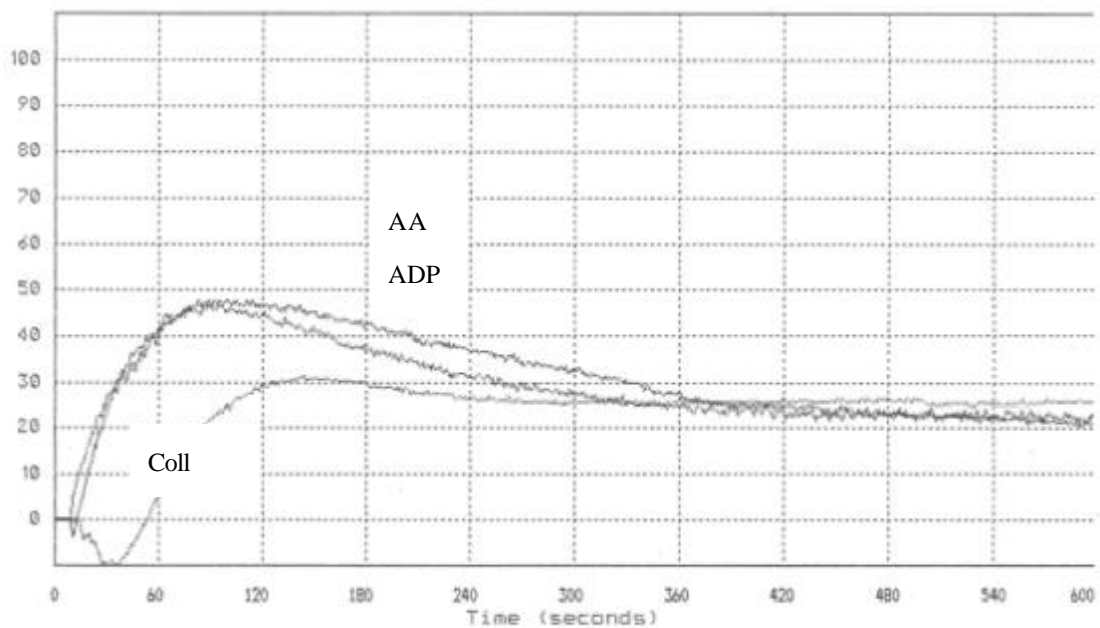
使用比濁法測定血小板聚集效率, 必須使用 PPP 調整 PRP, 使血小板數在一定的範圍才可進行實驗的比較。而且依據不同動物, 各自有最合適的濃度, 如人類: 20~25, 兔子: 40~50, 大鼠 60~70 $\times 10^4$ 血小板/ μ L(喻晶、胡文淑, 1997; 徐叔雲、卡如濂等, 1982; 葛爭豔等, 1994), 研究前經多次預試驗, 使用與 Okada 相同的兔子血小板濃度 50 $\times 10^4$ / μ L 進行比濁法實驗, 而能得到滿意的結果。

東莨菪素有抗炎, 治療風濕性關節炎的作用(葉惠珍等, 1981; Erazo et al., 1997; Pistelli et al., 1996; 饒高雄、孫漢董, 1996; Tanaka et al., 1977)。因為人類風濕性關節炎和關節炎大鼠模型血液均處於濃、粘、聚的狀態, 導致血液流動性下降(胡永紅等, 1985; 樑文波等, 1995)。抗炎藥物的篩選亦是利用對 ADP 誘導血小板聚集的模式, 觀察藥物若具有抑制血小板聚集的效果, 則可能通過降低血液粘度, 通血脈, 化瘀阻, 來改善關節炎的血液流動性。故東莨菪素具有的血小板聚集抑制作用, 不僅可改善血栓患者的病情, 亦可治療風濕性關節炎的病人。



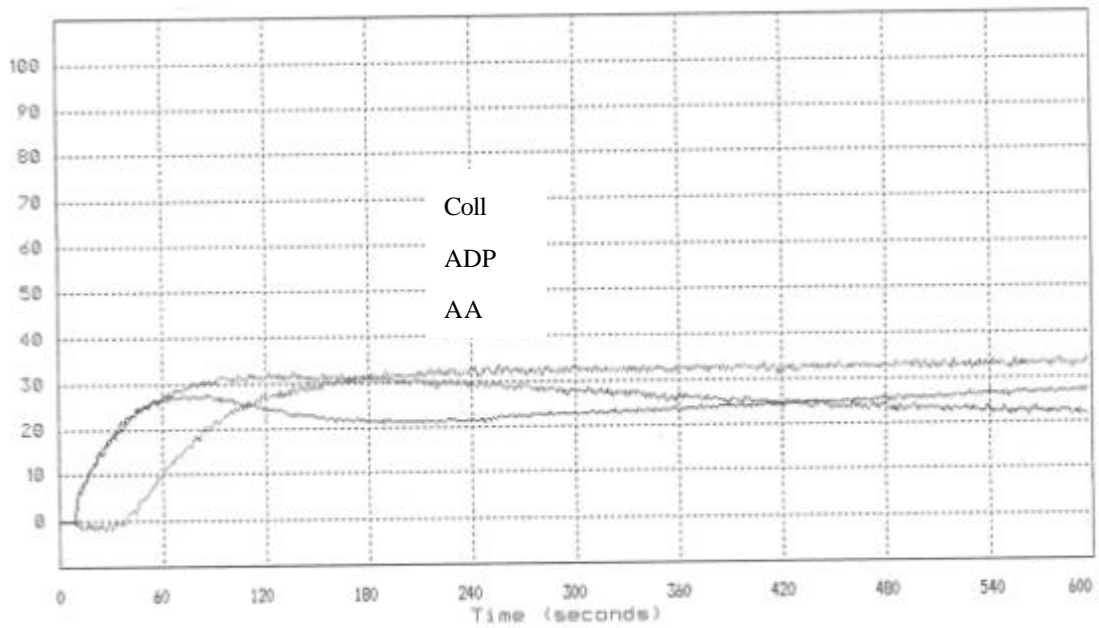
REAG	CONC.	PPP	PRP	MAX %	MAX TIME	SLP1	SLP2	LAG
ADP	10 μ M	1.187	2.108	73.2	103 sec	49.0	N/A	3 sec
AA	500 μ g/mL	1.372	2.114	88.6	314 sec	56.5	N/A	3 sec
Coll	10 μ g/mL	1.460	2.170	95.9	419 sec	78.4	8.1	65 sec

Fig. 11. Maximal intensity and velocity of platelet aggregation induced by 10 μ M ADP, 500 μ g/mL AA and 10 μ g/mL collagen in rabbit.



REAG	CONC.	PPP	PRP	MAX %	MAX TIME	SLP1	SLP2	LAG
ADP	10 μ M	1.276	1.853	46.4	74 sec	37.8	N/A	3 sec
AA	500 μ g/mL	1.554	2.120	48.2	81 sec	42.5	N/A	3 sec
Coll	10 μ g/mL	1.460	2.107	31.4	124 sec	32.4	N/A	50 sec

Fig. 12. Maximal intensity and velocity of platelet aggregation induced by 10 μ M ADP, 500 μ g/mL AA and 10 μ g/mL collagen in rabbit at 5 min after scopoletin (50 mg/kg, i.v.).



REAG	CONC.	PPP	PRP	MAX %	MAX TIME	SLP1	SLP2	LAG
ADP	10 μ M	1.272	2.326	32.3	105 sec	24.2	N/A	3 sec
AA	500 μ g/mL	1.550	2.569	27.7	67 sec	21.4	N/A	3 sec
Coll	10 μ g/mL	1.450	2.405	34.1	561 sec	23.6	1.1	23 sec

Fig. 13. Maximal intensity and velocity of platelet aggregation induced by 10 μ M ADP, 500 μ g/mL AA and 10 μ g/mL collagen in rabbit at 30 min after scopoletin (250 mg/kg, p.o.).

Table 11. Effect of scopoletin bolus intraveneous injection on rabbits platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen.

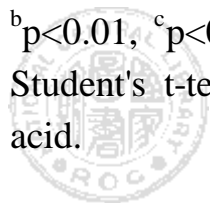
Drug	Dose (mg/kg)	Time (min)	ADP (10 μ M)		AA (500 μ g/mL)		Collagen (10 μ g/mL)	
			MAX (%)	Inhibiti on (%)	MAX (%)	Inhibiti on (%)	MAX (%)	Inhibiti on (%)
Scop	2	0	63.4 \pm 10.1	-	81.1 \pm 10.9	-	84.8 \pm 7.8	-
		5	58.2 \pm 9.8 ^c	8.1	75.8 \pm 10.7 ^b	7.2	76.4 \pm 10.0 ^c	10.2
		30	60.5 \pm 10.2 ^a	4.7	77.8 \pm 9.8 ^a	4.0	77.4 \pm 9.3 ^b	8.8
		75	60.5 \pm 9.3 ^a	4.4	79.1 \pm 9.3	2.2	79.7 \pm 8.7	6.4
		150	61.1 \pm 10.8 ^b	3.7	80.2 \pm 10.6	1.0	82.2 \pm 5.4	2.7
		300	62.3 \pm 9.6	1.5	80.3 \pm 9.8	0.8	83.9 \pm 7.8	1.1
	10	0	65.1 \pm 9.3	-	85.2 \pm 10.6	-	90.8 \pm 4.7	-
		5	49.2 \pm 8.4 ^c	24.2	59.8 \pm 8.9 ^c	29.5	67.0 \pm 10.6 ^c	26.4
		30	54.3 \pm 7.0 ^b	16.2	67.03 \pm 11.0 ^b	20.9	74.5 \pm 9.3 ^c	18.1
		75	57.4 \pm 7.8 ^b	11.5	73.7 \pm 9.2	13.1	80.9 \pm 8.2 ^b	10.9
		150	60.9 \pm 10.3 ^b	6.7	76.9 \pm 8.1 ^c	9.5	85.1 \pm 4.9 ^b	6.2
		300	62.7 \pm 8.5	3.5	81.4 \pm 9.0 ^b	4.2	88.8 \pm 6.3	2.2
	50	0	68.6 \pm 5.1	-	89.2 \pm 4.0	-	91.5 \pm 2.8	-
		5	35.8 \pm 8.9 ^c	47.8	44. \pm 8.4 ^c	50.7	40.7 \pm 6.2 ^c	55.5
		30	45.6 \pm 9.2 ^c	33.1	52.2 \pm 3.8 ^c	41.4	52.5 \pm 4.3 ^c	42.6
		75	53.1 \pm 9.4 ^b	22.6	60.8 \pm 4.8 ^c	31.7	60.4 \pm 6.1 ^c	34.0
		150	61.0 \pm 6.7 ^a	10.9	69.2 \pm 8.8 ^c	22.4	70.8 \pm 3.6 ^c	22.6
		300	62.2 \pm 4.8 ^c	9.3	75.5 \pm 7.6 ^b	15.3	79.0 \pm 4.8 ^c	13.6

All values of platelet aggregation are expressed as mean \pm S.D., (n = 8). ^ap<0.05, ^bp<0.01, ^cp<0.001 compared with the group before iv application of scopoletin (0 min) by Student's t test. Scop: scopoletin, MAX (%): maximal intensity of platelet aggregation and agglutination; ADP: adenosine 5'-diphosphate, AA: arachidonic acid.

Table 12. Effect of scopoletin oral administration on rabbits platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen.

Drug	Dose (mg/kg)	Time (min)	ADP (10 μ M)		AA (500 μ g/mL)		Collagen (10 μ g/mL)	
			MAX (%)	Inhibition (%)	MAX (%)	Inhibition (%)	MAX (%)	Inhibition (%)
Scop	50	0	65.2 \pm 7.5	-	89.1 \pm 4.9	-	91.2 \pm 5.4	-
		10	61.7 \pm 4.9 ^a	5.0	86.7 \pm 4.2 ^a	2.7	86.6 \pm 3.4 ^a	4.9
		30	56.9 \pm 6.1 ^c	12.6	80.5 \pm 4.1 ^b	9.7	79.2 \pm 4.2 ^b	12.9
		60	56.0 \pm 6.0 ^c	13.9	80.5 \pm 4.2 ^b	9.5	81.8 \pm 5.5 ^b	10.2
		150	57.7 \pm 4.6 ^b	11.1	82.8 \pm 6.0	7.1	83.1 \pm 5.5 ^b	8.8
		300	60.2 \pm 5.2 ^b	8.1	86.0 \pm 5.0	3.5	87.9 \pm 4.6	3.7
	100	0	63.1 \pm 6.4	-	89.4 \pm 3.7	-	92.3 \pm 4.3	-
		10	57.0 \pm 5.7 ^b	9.4	82.9 \pm 5.3 ^c	7.2	84.3 \pm 5.5 ^a	8.5
		30	45.8 \pm 5.3 ^c	27.3	69.8 \pm 7.8 ^c	21.8	69.6 \pm 4.9 ^c	24.5
		60	49.6 \pm 7.1 ^c	21.5	70.4 \pm 4.4 ^c	21.2	64.6 \pm 3.2 ^c	29.9
		150	54.4 \pm 6.9 ^b	13.9	76.7 \pm 5.2 ^b	14.1	78.3 \pm 3.3 ^c	15.1
		300	58.7 \pm 5.3	6.8	83.2 \pm 4.1 ^b	6.9	84.8 \pm 3.6 ^a	8.8
	250	0	67.3 \pm 5.8	-	88.4 \pm 3.9	-	92.0 \pm 3.7	-
		10	52.5 \pm 6.1 ^c	21.7	72.2 \pm 6.1 ^c	18.2	80.3 \pm 6.6 ^b	12.6
		30	39.0 \pm 5.2 ^c	41.3	45.2 \pm 10.9 ^c	48.8	48.1 \pm 9.5 ^c	47.5
		60	41.8 \pm 4.3 ^c	37.4	48.5 \pm 8.9 ^c	45.3	50.4 \pm 11.3 ^c	44.1
		150	51.6 \pm 3.5 ^b	22.7	63.7 \pm 7.4 ^c	28.0	66.8 \pm 5.1 ^c	27.3
		300	56.9 \pm 2.8 ^a	18.4	75.6 \pm 6.5 ^b	14.5	76.9 \pm 5.2 ^b	20.1

All values of platelet aggregation are expressed as mean \pm S.D., (n = 8). ^ap<0.05, ^bp<0.01, ^cp<0.001 compared with the group before oral administration (0 min) by Student's t-test. Scop: scopoletin, ADP: adenosine 5'-diphosphate, AA: arachidonic acid.



5-2

枸杞子氯仿層抽出物血小板聚集性
抑制之研究

實驗目的

枸杞子為中國傳統中藥，神農本草經列為上品，據文獻報導，枸杞子具抗凝作用(施永德等，1981)。臨床上專門利用抗血小板作用以防治疾病的藥物，大都有不良反應，如 aspirin 易致胃潰瘍、腎損傷、皮疹、噁心，腹部不適及腹瀉等症狀(李家泰，1991)。因此，尋求普遍又可長期食用的藥物，將可造福人類。為了證實枸杞子之抗凝作用是否與 scopoletin 有關，將枸杞子氯仿層抽出物製成溶液，分析靜脈注射或口服給藥後對 ADP、AA、collagen 誘導的兔體外血小板的聚集作用，並對血小板數目變化進行觀察比較。

實驗結果

家兔分別靜脈注射 2, 10 與 50 mg/kg 枸杞子氯仿層抽取物注射液。每隻家兔分別於給藥前動脈抽血，分析得到對照組空白血漿數據。接著於靜脈給藥後 5, 30, 75, 150 及 300 min，分別再動脈各抽血，分析可得到實驗組血漿數據。但靜脈注射枸杞子氯仿層抽取物溶液後，離心後所得血漿檢品，由自動血球分類計數器所測得之血小板數平均皆小於 $500 \times 10^3/\mu\text{L}$ ，如 Table 13 所列，故無法進行血小板聚集性抑制實驗。

家兔分三組，每組 8 隻，分別胃管口服枸杞子氯仿層抽取物溶液 50、100 與 250 mg/kg。每隻兔子分別於給藥前動脈抽血，分析得到對照組空白血漿數據，接著於口服給藥後 10, 30, 60, 150 及 300 min，分別再動脈各抽血 7.2 mL，分析得到實驗組血漿數據。給藥後之血小板聚集與給藥前比較，結果以 250 mg/kg 對血小板聚集之抑制效果最強，其中對 ADP、AA、collagen 血小板聚集誘導以給藥後 30 分的抑制效果最好，抑制率平均分別為 44.1、39.5 與 49.1 %，與給藥前聚集抑制率比較，其 p 值皆小於 0.001，其餘各組血小板聚集抑制結果如 Table 14 與 Fig. 14。

本實驗選用血小板數為 810.1 ± 45.8 至 $872.3 \pm 119.4 \times 10^3/\mu\text{L}$ 之健康家兔，進行血小板聚集性抑制實驗。東莨菪素靜脈注射、口服給藥與枸杞子氯仿層抽出物口服給藥血小板數的變化皆大於 $500 \times 10^3/\mu\text{L}$ ，唯獨枸杞子氯仿層抽取物溶液注射給藥血小板數皆低於 $500 \times 10^3/\mu\text{L}$ ，因此無法進行血小板聚集性測定實驗，尤其以高劑量給藥後的抽血點(5 min 後抽血)，血小板數下降最明顯。給藥前後家兔之血小板之數目變化如 Table 13。

討論

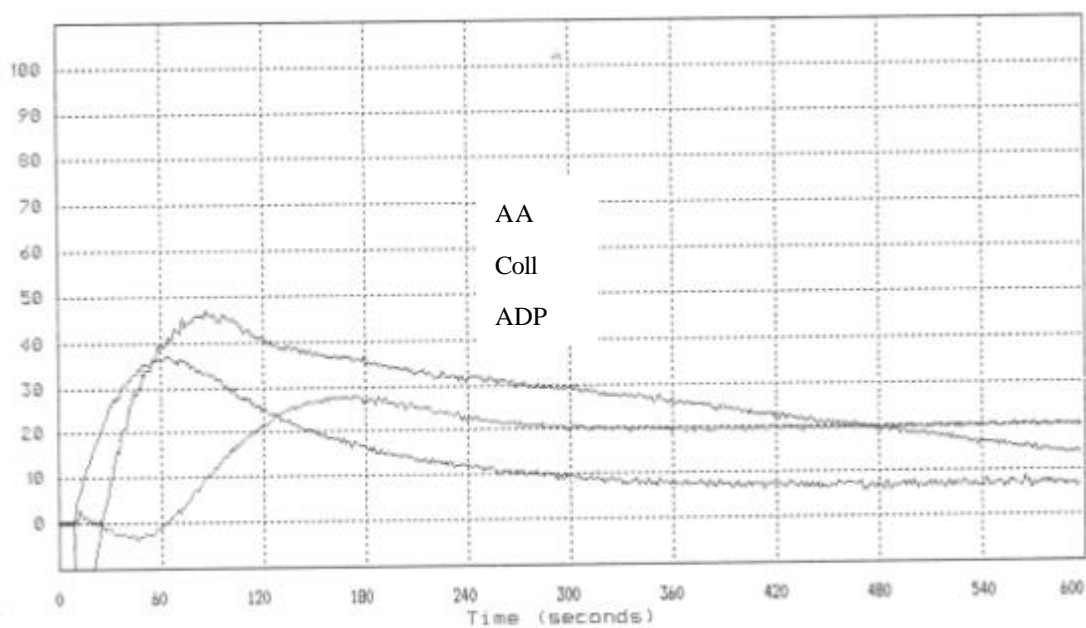
血小板聚集常導致輕微心肌血管衰竭病人突然死亡(Haerem, 1971)。血小板活化的主要部位包括膜 glycoproteins(糖蛋白)與血小板接受器，而 thrombin(凝血)已被認同是血小板最主要的刺激物之一(Tollefsen et al., 1974; Okumura et al., 1978; Tam and Detwiler, 1978)。在血小板活化過程中，首先血小板進行快速的細胞膜形態變化，再進行聚集作用。活化血小板代謝物能對抗凝聚作用。雖然具有凝聚活化的因子 ristocetin，如果血小板預先經過 formaldehyde 處理，也不會引起聚集(Allain et al., 1975)。接著進行釋放反應，期中並伴隨著聚集作用。在這期間血小板細胞內顆粒物質：serotonin、ATP、ADP、鈣、與花生四烯酸(AA)的各種代謝物皆被釋放至細胞間液中形成媒介物(Kinlough-Rathbone et al., 1977; Holmsen and Weiss, 1979)，產生一系列反應。隨著血小板形態和功能方面的研究工作日益深化，對於血小板在血栓形成和動脈粥樣硬化等疾病的發生和發展所引起的重要日益被重視。要研究血小板抗凝作用，首先要明瞭抗血小板藥物的作用機轉。血小板具有粘附、聚集、釋放功能，但在正常血液循環中，血小板不發生聚集，只有在聚集誘導劑如膠原、ADP、腎上腺素(NE)等作用下，使血小板膜磷脂釋放出 AA，經環氧化 (cyclooxygenase) 作用，最終產生血栓素 A_2 (TXA₂)和前列環素(PGI₂)。TXA₂ 是最強的血小板聚集劑，所以凡是能抑制 TXA₂，增加 PGI₂ 和/或環磷酸腺(cAMP)生成的藥物均屬抗血小板藥物。

枸杞子提取物可抑制 ADP、AA 及 collagen 誘導的兔子血小板聚集，但對此三種誘導劑無明顯的選擇性。且可能對血小板聚集的兩條主要途徑(田澤等，2000)，即血小板內源性 ADP 釋放及血小板膜磷酯花生四烯酸的代謝產物 TXA₂ 皆有影響。

此外，本研究以口服枸杞子氯仿層提取物 250 mg/kg 後對家兔血小板聚集之抑制效果最強。還發現實驗結束時(約 5 小時)，血小板聚集抑制作用已下降，表示枸杞子氯仿層提取物，還能解聚血小板發生的不可逆聚集，使血小板恢復原來的功用。但同樣在給藥 5 小時後，雖然血中濃度已非常低，枸杞子提取物仍尚有聚集抑制的作用，已有報導指出給予雙香豆素類化合物後 $t_{1/2}$ 會明顯延長(King et al., 1995)，故本實驗推測可能延長的半衰期，會使枸杞子氯仿層提取物與東莨菪素在 5 小時後，仍有藥效作用。

本研究中僅有枸杞子氯仿層提取物靜脈注射給予兔子後，血漿離心後在血球分類計數器分析測得的血小板計數非常低，有少至平均

18.1 x 10³/μL，遠少於實驗所需的 500 x 10³/μL，雖然枸杞子抽取物溶液有經 0.22μm 濾膜過濾，且實驗結束後注射過的兔子亦都存活下來。推測可能是血小板在靜脈給藥後，即刻產生變形，包括偽足生成，顆粒移向中央區，微管解聚，分泌顆粒的胞吐現象及分泌顆粒減少等一系列反應(丁艦等，1996)，也有可能是由於枸杞子中的某些成分與血清蛋白結合，這種結合使血小板暫時失去活性，致使血球分類計數器的電極無法感測到血小板。枸杞子中的某些成分與血清蛋白結合，這種結合是可逆的，當呈游離狀態時，活性又恢復。由於兔子對氯仿抽取物代謝很快，且藥物與血小板非特異結合，故血小板計數能夠逐漸回升(江西省第二人民醫院藥物組，1976)。據文獻報導，藥物對 ADP、AA、collagen 的抑制率可達 90 % 以上(Samama et al., 1995; 齊剛等，1997))，而本研究最大只達 55.5 %，也許對 coumarin 類這種有產物抑制的藥物需經較長的天數，才能觀察到最佳的血小板聚集抑制效果。雖然血小板聚集的研究大部分是做 in vitro 實驗，但如本論文對兔進行 in vivo 的也有報導(方放治等，1998)。



REAG	CONC.	PPP	PRP	MAX %	MAX TIME	SLP1	SLP2	LAG
ADP	10 μ M	1.274	1.982	37.3	54 sec	31.1	N/A	3 sec
AA	500 μ g/mL	1.558	2.154	46.4	78 sec	56.5	N/A	23 sec
Coll	10 μ g/mL	1.465	2.135	27.7	143 sec	22.5	N/A	57 sec

Fig. 14. Maximal intensity and velocity of platelet aggregation induced by 10 μ M ADP, 500 μ g/mL AA and 10 μ g/mL collagen in rabbit at 30 min after chloroform extract of *Lycium barbarum* (250 mg/kg, p.o.).

Table 13. The number of platelets in PRP after 5 minutes of various drugs administration.

Drug	route	Dose (mg/kg)	10 ³ platelets / μ L					
			0 min	5 min	30 min	75 min	150 min	300 min
Scop	iv	2	831.4 \pm 50.7	787.1 \pm 49.4	738.5 \pm 53.8	702.0 \pm 65.9	649.4 \pm 69.5	587.5 \pm 50.6
		10	872.3 \pm 119.4	802.4 \pm 95.5	734.4 \pm 76.2	668.8 \pm 65.6	619.8 \pm 67.9	560.9 \pm 56.3
		50	850.5 \pm 65.2	797.5 \pm 59.8	739.1 \pm 51.2	680.6 \pm 51.4	629.4 \pm 56.2	574.5 \pm 51.0
LBC	iv	2	830.85 \pm 52.3	39.8 \pm 19.4*	181.5 \pm 94.6*	279.5 \pm 97.7*	349.4 \pm 75.6*	411.0 \pm 85.0*
		10	810.1 \pm 45.8	34 \pm 22.0*	62.8 \pm 23.9*	147.1 \pm 60.4	257.3 \pm 50.7*	325.0 \pm 34.0*
		50	833.1 \pm 46.8	18.1 \pm 13.2*	24.4 \pm 12.8*	78.1 \pm 17.6*	124.9 \pm 20.2*	289.5 \pm 40.1*
Scop	po	50	852.9 \pm 52.8	801.3 \pm 51.9	733.9 \pm 55.4	670.4 \pm 36.7	606.0 \pm 45.0	546.0 \pm 48.4
		100	843.6 \pm 40.6	781.4 \pm 48.8	723.6 \pm 49.8	648.0 \pm 51.5	604.6 \pm 51.5	543.5 \pm 38.2
		250	866.6 \pm 103.2	798.6 \pm 82.8	734.3 \pm 82.3	669.9 \pm 87.4	608.8 \pm 63.3	551.0 \pm 48.4
LBC	po	50	852.9 \pm 76.4	763.1 \pm 71.9	703.1 \pm 80.1	646.9 \pm 57.9	590.3 \pm 63.5	535.9 \pm 43.3
		100	813.3 \pm 21.4	746.9 \pm 29.0	692.3 \pm 30.5	638.3 \pm 36.2	589.5 \pm 27.3	543.4 \pm 24.0
		250	860.5 \pm 107.5	781.1 \pm 49.3	721.9 \pm 41.1	665.5 \pm 47.9	603.4 \pm 44.6	549.4 \pm 44.5

All values are expressed as mean \pm S.D.

*: The number of platelets were low 500 x 10³ platelets / μ L.

Table 14. Effect of *Lycium barbarum* chloroform extract oral administration on rabbits platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen.

Drug	Dose (mg/kg)	Time (min)	ADP (10 μ M)		AA (500 μ g/mL)		Collagen (10 μ g/mL)	
			MAX (%)	Inhibition (%)	MAX (%)	Inhibition (%)	MAX (%)	Inhibition (%)
LBC	50	0	66.6 \pm 6.0	-	88.9 \pm 3.2	-	93.4 \pm 4.7	-
		10	64.0 \pm 5.6 ^c	3.9	84.2 \pm 3.9 ^b	5.3	88.4 \pm 5.7 ^c	5.4
		30	57.4 \pm 4.3 ^c	13.7	76.2 \pm 3.9 ^c	14.3	80.4 \pm 5.7 ^c	13.8
		60	58.6 \pm 5.7 ^c	12.0	76.9 \pm 5.5 ^c	13.5	82.1 \pm 5.6 ^c	12.0
		150	62.1 \pm 4.8 ^c	6.7	81.4 \pm 2.8 ^b	8.4	85.4 \pm 5.2 ^b	8.5
		300	64.4 \pm 6.1 ^a	3.6	85.6 \pm 2.9	3.8	89.7 \pm 4.6 ^a	4.0
	100	0	63.6 \pm 4.2	-	90.2 \pm 2.7	-	91.5 \pm 3.1	-
		10	59.0 \pm 5.5	7.3	83.5 \pm 3.5 ^c	7.4	82.8 \pm 4.1 ^c	9.5
		30	48.1 \pm 5.8 ^c	24.6	62.8 \pm 6.2 ^c	30.3	60.3 \pm 5.5 ^c	34.0
		60	50.6 \pm 3.7 ^c	20.4	66.2 \pm 5.4 ^c	26.6	65.9 \pm 8.1 ^c	27.8
		150	56.2 \pm 3.5 ^a	11.7	75.4 \pm 4.9 ^b	16.3	75.8 \pm 4.1 ^c	17.0
		300	59.7 \pm 4.0	6.7	84.0 \pm 2.0	6.8	83.0 \pm 2.0 ^a	9.2
	250	0	63.5 \pm 5.2	-	89.2 \pm 3.4	-	92.3 \pm 3.6	-
		10	55.2 \pm 5.2 ^a	12.7	79.5 \pm 8.1 ^a	10.7	82.6 \pm 9.8 ^b	10.7
		30	35.3 \pm 7.2 ^c	44.1	53.8 \pm 9.1 ^c	39.5	47.2 \pm 12.8 ^c	49.1
		60	42.7 \pm 4.6 ^c	32.5	59.8 \pm 5.9 ^c	32.9	51.9 \pm 9.4 ^c	42.1
		150	49.8 \pm 3.2 ^b	21.1	70.4 \pm 6.3 ^c	21.1	69.3 \pm 5.7 ^c	24.9
		300	57.3 \pm 4.3 ^b	10.7	81.4 \pm 4.4 ^c	8.8	80.3 \pm 4.9 ^b	15.2

All values of platelet aggregation are expressed as mean \pm S.D., n = 8.

^ap<0.05, ^bp<0.01, ^cp<0.001 compared with the group of before iv scopoletin (0 min).

LBC: Chloroform Extract from *Lycium barbarum*, ADP: adenosine 5'-diphosphate, AA: arachidonic acid.

第六章

東莨菪素與枸杞子氯仿層抽出物對家兔血小板 聚集性抑制作用之藥效學研究

6-1 東莨菪素對家兔血小板聚集性抑制作用之藥效學研究

6-2 枸杞子氯仿層抽出物對家兔血小板聚集性抑制作用之藥
效學研究

6-1

東莨菪素對家兔血小板聚集性抑制作用之
藥效學研究

實驗目的

藥物濃度 - 藥效關係的研究主要是血藥濃度 - 藥效關係的研究。然而，藥效與血藥濃度的關係往往是十分複雜的。面對上述複雜的關係，藥物濃度 - 效應關係需要通過建立不同的藥動學 - 藥效學結合模式以及多重受體理論加以研究，並借助電子計算機用一定公式或函數加以描述(羅建平、張銀娣，2000；韓國柱，1999)。探討枸杞子抽出物與東莨菪素血小板聚集抑制作用之血藥濃度 - 藥理關係，配合時間所導出的量效、時效關係，應用電腦程式導出相關的數學公式或藥效模式，建立資訊化的研究成果，以供將來相關學術之應用，是本研究進行的目的亦是現今中西醫藥科技發展的趨勢。

實驗結果

家兔東莨菪素給藥後，隨著時間變化，所得的體內血漿濃度、血小板聚集性抑制效果、劑量多寡與時間相關的結果進行整合，不僅可以得到完整藥理效應結果，並可推測無限或無法進行的實驗，而預估可能結果。

一、效應、濃度、時間

給予家兔東莨菪素後，由 ADP、AA、collagen 誘導之血小板聚集性抑制效力為縱軸，時間與血漿東莨菪素對數濃度分別為上下橫軸而作圖。靜脈注射東莨菪素後 2、10、50 mg/kg 後，隨著濃度增加，血小板聚集抑制效力亦隨之增加；而隨著時間增長，血小板聚集抑制效力亦隨著減弱，所得圖分別為 Fig. 15-17。口服東莨菪素 50、100、250 mg/kg 後，約需 30 min 以上的時間，才會達到最大的抑制率，接著會隨著濃度減少而血小板聚集抑制效力亦隨著減弱，所得圖分別為 Fig. 18-20。

二、對數線性模式(Log linear model)

東莨菪素之抗血小板藥效(E，縱軸)對血藥濃度的對數(logC，橫軸)作圖，所得線性關係通式為 $E = S \log C_p + e$ 。東莨菪素靜脈注射 5 min 後，即可得到最高血中濃度與最大血小板聚集抑制效果，隨著時間的消逝，濃度與效果亦隨著下降，二者間呈現量效關係，故進行線性回歸。

東莨菪素靜脈給藥後 5，30，75，150 及 300 分鐘的血小板聚集

抑制率(E)與相對的血中濃度對數(logCp)平均值之線性關係方程式列於下：

$$2 \text{ mg/kg ADP} : E = 2.955 \log Cp + 8.779 \quad (22)$$

$$2 \text{ mg/kg AA} : E = 6.285 \log Cp + 1.856 \quad (23)$$

$$2 \text{ mg/kg Collagen} : E = 6.878 \log Cp + 4.531 \quad (24)$$

$$10 \text{ mg/kg ADP} : E = 7.862 \log Cp + 20.331 \quad (25)$$

$$10 \text{ mg/kg AA} : E = 9.603 \log Cp + 25.080 \quad (26)$$

$$10 \text{ mg/kg Collagen} : E = 9.320 \log Cp + 22.141 \quad (27)$$

$$50 \text{ mg/kg ADP} : E = 13.134 \log Cp + 26.292 \quad (28)$$

$$50 \text{ mg/kg AA} : E = 11.659 \log Cp + 33.653 \quad (29)$$

$$50 \text{ mg/kg Collagen} : E = 13.446 \log Cp + 35.249 \quad (30)$$

其中以靜脈給予東莨菪素 50 mg/kg 之高劑量能得較佳的線性關係，其 R^2 值分別為 ADP: 0.845 ± 0.113 ，AA: 0.843 ± 0.212 與 collagen: 0.932 ± 0.105 。線性回歸所得的斜率(S)與截距(e)，以 one way ANOVA 統計分析比較，結果 S 值會隨著劑量增加而增加，而 ADP ($p < 0.001$)，collagen ($p < 0.05$)顯示 2、10 與 50 mg/kg 組間有差異；而 e 值則 ADP、AA，collagen 皆 $p < 0.001$ ，表示分別於 2、10 與 50 mg/kg 組間有差異，Table 15。

因口服給予東莨菪素的血小板聚集抑制效果於 30 min 後才達到最大值，故口服給藥是取 30，60，150 至 300 min 的藥效與相對的血藥濃度進行線性回歸。東莨菪素的血小板聚集抑制率 E 與相對的血中濃度對數 logC 平均值回歸所得方程式列於下：

$$50 \text{ mg/kg ADP} : E = 4.248 \log Cp + 14.545 \quad (31)$$

$$50 \text{ mg/kg AA} : E = 5.047 \log Cp + 11.182 \quad (32)$$

$$50 \text{ mg/kg Collagen} : E = 6.486 \log Cp + 13.677 \quad (33)$$

$$100 \text{ mg/kg ADP} : E = 15.453 \log Cp + 26.847 \quad (34)$$

$$100 \text{ mg/kg AA} : E = 12.078 \log Cp + 23.562 \quad (35)$$

$$100 \text{ mg/kg Collagen} : E = 15.445 \log Cp + 29.207 \quad (36)$$

$$250 \text{ mg/kg ADP} : E = 16.233 \log Cp + 35.227 \quad (37)$$

$$250 \text{ mg/kg AA} : E = 24.868 \log Cp + 41.877 \quad (38)$$

$$250 \text{ mg/kg Collagen} : E = 19.174 \log Cp + 41.185 \quad (39)$$

口服東莨菪素效果與濃度所得線性關係，其 R^2 值由 0.638 ± 0.284 至 0.869 ± 0.107 。線性回歸所得的 S 與 e，以 one way ANOVA 統計分析比較，結果 S 與 e 值皆會隨著劑量增加而增加，S 值由 4.248 ± 5.034 至 24.868 ± 5.234 ，e 值由 11.182 ± 2.539 增至 41.877 ± 6.578 。且 2、10 與 50 mg/kg 之 S 與 e 值對 ADP、AA，collagen 誘導之聚集抑制效果

組間比較 ($p < 0.001$), 顯示三種不同劑量組間血小板聚集抑制效果有明顯差異; Table 16。

三、量效半衰期法

兔子注射或口服東莨菪素, 靜脈以 2, 10, 50 mg/kg, 口服以 50, 100, 250 mg/kg 的對數劑量為橫座標(X 軸), 血小板聚集抑制率效應百分率的最大值為縱座標(Y 軸), 進行直線回歸, 量效回歸通式為

$$Y = a_d + b_d X,$$

所得平均值之方程式分別為:

$$\text{Scop iv ADP 2-50 mg/kg } Y = - 14.372 + 28.213 X \quad (40)$$

$$\text{Scop iv AA 2-50 mg/kg } Y = - 15.654 + 31.349 X \quad (41)$$

$$\text{Scop iv collagen 2-50 mg/kg } Y = - 13.733 + 30.559 X \quad (42)$$

$$\text{Scop po ADP 50-250 mg/kg } Y = - 75.840 + 41.941 X \quad (43)$$

$$\text{Scop po AA 50-250 mg/kg } Y = - 128.562 + 63.591 X \quad (44)$$

$$\text{Scop po collagen 50-250 mg/kg } Y = - 106.067 + 55.484 X \quad (45)$$

上述直線回歸所得 R^2 在 0.853 ± 0.161 以上, 最佳可達 0.954 ± 0.065

時效直線回歸是以最大效應為縱座標(Y 軸), 靜脈取 50 mg/kg, 口服取 250 mg/kg 的最大效應為縱座標, 對應時間(靜脈取 5、30、75、150、300; 口服取 30、60、150、300)為橫座標, 進行直線回歸, 得通式為 $Y = a_t + b_t X$, 所得平均值之方程式分別列於下:

$$\text{Scop iv 50 mg/kg ADP } Y = 37.655 - 0.115 X \quad (46)$$

$$\text{Scop iv 50 mg/kg AA } Y = 44.749 - 0.111 X \quad (47)$$

$$\text{Scop iv 50 mg/kg Collagen } Y = 48.108 - 0.129 X \quad (48)$$

$$\text{Scop po 250 mg/kg ADP } Y = 41.467 - 0.085 X \quad (49)$$

$$\text{Scop po 250 mg/kg AA } Y = 51.626 - 0.129 X \quad (50)$$

$$\text{Scop po 250 mg/kg Collagen } Y = 48.705 - 0.103 X \quad (51)$$

依據上述所得截距(a_d 、 a_t)和斜率(b_d 、 b_t), 利用 $t_{1/2}ED = 0.301 b_d / b_t$ 計算量效半衰期, 與 $K_{ED} = - 2.303 b_t / b_d$ 計算體內有效藥量的消除速率常數。結果 $t_{1/2}ED$, 東莨菪素靜脈注射所得值與口服比較有差異, 分別為 ADP($p < 0.01$), AA($p < 0.05$), collagen($p < 0.001$)。另外 K_{ED} 靜脈注射與口服比較亦是有差異, 分別為 ADP, AA ($p < 0.01$), collagen($p < 0.001$), Table 17。

東莨菪素溶液靜脈注射或口服後, 不同時間體內有效藥物存留量

通式為 $X = \frac{a_t - a_d}{b_d} + \frac{b_t}{b_d} t$, 所得各組公式分述如下:

$$\text{Scop iv ADP } X=1.780 - 0.004t \quad (52)$$

$$\text{Scop iv AA } X= 1.947 - 0.003 t \quad (53)$$

$$\text{Scop iv Collagen } X= 2.010 - 0.004 t \quad (54)$$

$$\text{Scop po ADP } X= 2.797 - 0.002 t \quad (55)$$

$$\text{Scop po AA } X= 2.830 - 0.002 t \quad (56)$$

$$\text{Scop po Collagen } X= 2.777 - 0.002t \quad (57)$$

可利用上述之東莨菪素的有效藥物存留量公式，得體內有效藥品殘留量，再對時間作圖，得體內有效藥物殘留量 - 時間曲線，進而按照藥物動力學解析方法確定房室模式，並求解藥物動力學參數。

討論

家兔靜脈注射東莨菪素溶液後，血小板聚集抑制效力 E 對血藥濃度 C_p 的對數線性回歸，所得對數線性模式(log linear model)參數如 Table 15 所示， R^2 值在注射較低劑量的東莨菪素溶液時，如 2 mg/kg 對 ADP、AA、collagen 各組之 R^2 值較差，可能是低劑量時對血小板聚集誘導劑的抑制作用較不均一，抑制效應並未隨著時間增加而逐漸下降，故注射低劑量東莨菪素所得對數線性回歸之 R^2 值並不理想。而高劑量則有較佳的線性關係，如 50 mg/kg 組 R^2 平均值為 0.932 ± 0.105 ，表示血漿中高濃度的東莨菪素值，血小板的抑制效果較一致，故線性回歸會得到較佳的效果。靜脈注射東莨菪素之效應與濃度對數線性回歸，結果隨著劑量增加， S (斜率) 與 e (截距) 值亦隨之增大；即劑量由 2 mg/kg 至 50 mg/kg， S 平均值由 2.955 ± 3.051 升至 13.446 ± 2.225 ， e 平均值由 1.856 ± 2.317 升至 35.249 ± 3.391 。表示靜脈注射東莨菪素後隨著血液中藥物濃度增加，經由 $E = S \log C_p + e$ 回歸所得直線會愈趨高陡，即會有愈大的血小板聚集的抑制效果。

家兔口服東莨菪素溶液是取 30, 60, 150, 300 min 之血小板聚集抑制效力 E 對血藥濃度 C 的對數線性回歸， $E = S \log C + e$ ，所得結果如 Table 16。口服東莨菪素 50, 100, 250mg/kg 線性回歸所得 R^2 值在 0.638 ± 0.284 至 0.869 ± 0.107 之間，僅取 4 點做直線回歸，所導出的直線誤差會較大，故 R^2 值並非很高。同樣亦是隨著濃度增加，劑量從 50 至 250 mg/kg， S 平均值由 4.248 ± 5.034 升至 24.868 ± 5.234 ， e 平均值由 11.182 ± 2.539 升至 41.877 ± 6.578 。表示隨著劑量增加，口服東莨菪素的血小板聚集抑制效力亦相對的增加。同樣給予東莨菪素，比較靜脈與口服的對數線性模式，結果高與低劑量的 S 值之間的差距，靜脈為 10.491，口服為 20.620，口服的 S 值差距較靜脈多一倍，

表示靜脈比口服有較平緩的回歸直線。

在許多情形下，用 $E = S \log C_p + e$ 的簡單的線性模式是有價值的，其最大特點是簡單，易於分析處理，特別在電子計算機以及非線性配適技術普及前，人們通常使用線性回歸法來分析量效關係時廣為採用(Levy, 1966)。但此模式只能預測 20% ~ 80 % 之間的藥物效應，不能預測最大效應及零效應，預估高於 80 % 的 E_{max} 或低於 20 % 的 E_{max} 效應時，將發生較大的偏差(Sheiner et al., 1979)。

目前文獻中出現的藥物半衰期有許多種，在藥代動力學中常用的最有臨床意義的是消除半衰期，即血藥半衰期。通常用 $t_{1/2}$ 表示。在藥效動力學中，藥物半衰期即通常所謂的生物半衰期或藥效半衰期，以 $t_{1/2}E$ 表示。此處的量效半衰期有別於上述兩種半衰期，但又與之有關聯。量效半衰期可定義為體內有效藥量的半衰期，以 $t_{1/2}ED$ 表示。依據量效半衰期法對家兔進行東莨菪素藥理效應評估，所得結果列於 Table 17。東莨菪素靜脈注射 2、10、50 mg/kg 後，對 ADP、AA 與 collagen 誘導之血小板聚集抑制實驗，所得 $t_{1/2}ED$ 分別為 75.383 ± 16.052 、 97.356 ± 46.178 與 71.502 ± 8.732 min，即 ADP、collagen 與兔子靜脈注射莨菪素之血藥半衰期 $t_{1/2}$ 71.981-74.458 min 相近。東莨菪素口服給藥 50 至 250 mg/kg 後之 ADP、AA 與 Collagen 之 $t_{1/2}ED$ 值分別為 153.559 ± 56.261 、 148.157 ± 19.514 與 173.306 ± 55.802 min，經 ANOVA 統計分析，得靜脈給藥組與口服組之間有差異，對 ADP、AA 與 Collagen 誘導血小板聚集抑制所得 $t_{1/2}ED$ 之 p 值分別 $p < 0.01$ ， $p < 0.05$ ， $p < 0.001$ 。上述口服給藥之 $t_{1/2}ED$ 明顯高於同樣是口服給藥之血藥半衰期 $t_{1/2}$ ：78.8-80.5 min，也許口服給藥後，半體內試驗會使東莨菪素的效應延遲，或者是血小板聚集的作用是在血液，但口服後會經胃腸道吸收，所以效應會較慢，也有可能是口服所採用的抽血點不足，或者口服給藥實際上並非一級反應，直線回歸亦不理想，所以同樣的口服模式，所推算出的半衰期會不相同。隨著藥效學研究不斷深入，不少藥物被發現藥效相對於血藥濃度常常存在一定的滯後現象，即初期血藥濃度較高時，藥物作用不是最大，只有當分布達平衡後藥效才與血藥濃度平行，如石吊蘭素的降壓作用在靜脈滴注停止後 5~10 min，其降壓作用達最大，然後隨血藥濃度下降而下降(韓國柱，1982)。上述原理也許可以解釋為何口服東莨菪素有較長的量效半衰期 $t_{1/2}ED$ 的原因。

家兔靜脈注射東莨菪素之 K_{ED} 值，ADP、AA、collagen 分別為 0.010 ± 0.002 、 0.008 ± 0.002 、 0.010 ± 0.001 min^{-1} 與血藥 K_{10} 值比較，2、10、50 mg/kg 分別為 0.097 ± 0.004 、 0.107 ± 0.022 、 0.083 ± 0.010 min^{-1} ，

即兔東莨菪素中央室排除速率常數 K_{10} 明顯大約 10 倍的體內有效藥量的消除速率常數 K_{ED} ，即靜脈注射東莨菪素有效藥量的消除較中央室東莨菪素的排除慢。東莨菪素口服給藥 50 至 250 mg/kg 後之 ADP、AA 與 collagen 之 K_{ED} 值分別為 0.005 ± 0.002 、 0.005 ± 0.001 與 $0.004 \pm 0.001 \text{ min}^{-1}$ 。而兔子口服東莨菪素 50、100、250 mg/kg 之 K_{10} 分別為 0.016 ± 0.001 、 0.017 ± 0.001 、 $0.018 \pm 0.003 \text{ min}^{-1}$ ，口服東莨菪素之 K_{10} 約為 K_{ED} 之 3.2 至 4.5 倍，表示兔子口服東莨菪素之血藥排除速度快於體內有效藥量的消除速率。經 ANOVA 統計分析，比較東莨菪素靜脈與口服給藥，結果 K_{ED} 對 ADP AA 與 collagen 分別 $p < 0.01$ ， $p < 0.01$ ， $p < 0.001$ ，Table 17。

觀察公式(52)至(57)， b_t/b_d 值各組幾乎相同，為 0.002、0.003 或 0.004 而靜脈注射 ADP、AA、collagen 之 $(a_t - a_d)/b_d$ 分別為 1.780、1.947、2.010，值較口服東莨菪素為小。口服東莨菪素之 $(a_t - a_d)/b_d$ 分別為 2.797、2.830、2.777，最大差距僅 0.053，認為口服之間無差異。故推論兔子給藥後，不同時間體內東莨菪素有效存留量以口服給藥高於靜脈注射。此結果亦與上述的結論：口服給藥之 $t_{1/2ED}$ 明顯高於血藥半衰期 $t_{1/2}$ 相符合。東莨菪素屬於雙香豆素類主結構的化合物，已有報導，雙香豆素抗凝藥口服後數小時，即出現血藥濃度峰值，但凝血元的降低只在服藥後 2~4 天才出現最大效應，這是由於雙香豆素的直接作用僅是抑制血清凝血元轉變加速因子 P 的合成，但對已合成的 P 在體內的生理降解無作用，只有在 P 的正常循環值大大下降後才能呈現明顯的抗凝作用(朱家璧，1985)。故東莨菪素亦可能在給藥後雖然血液中即刻出現最高的濃度，但其抗血小板聚集的最大作用是會在最高濃度發生的時間後延遲產生，所以口服給藥的血中濃度雖無靜脈注射高，但仍然有相當的效應。建立了東莨菪素的量效曲線與時效曲線，不僅可算出量效半衰期與消除速率常數，如還想求得其他藥物動力學參數，可利用完成的給藥後不同時間兔子體內有效藥物存留量公式，進行量效-時效的逐點較換，得體內有效藥品殘留量，再對時間作圖，得體內有效藥物殘留量 - 時間曲線，進而按照通常藥物動力學解析方法確定房室模式，並求解藥物動力學參數。

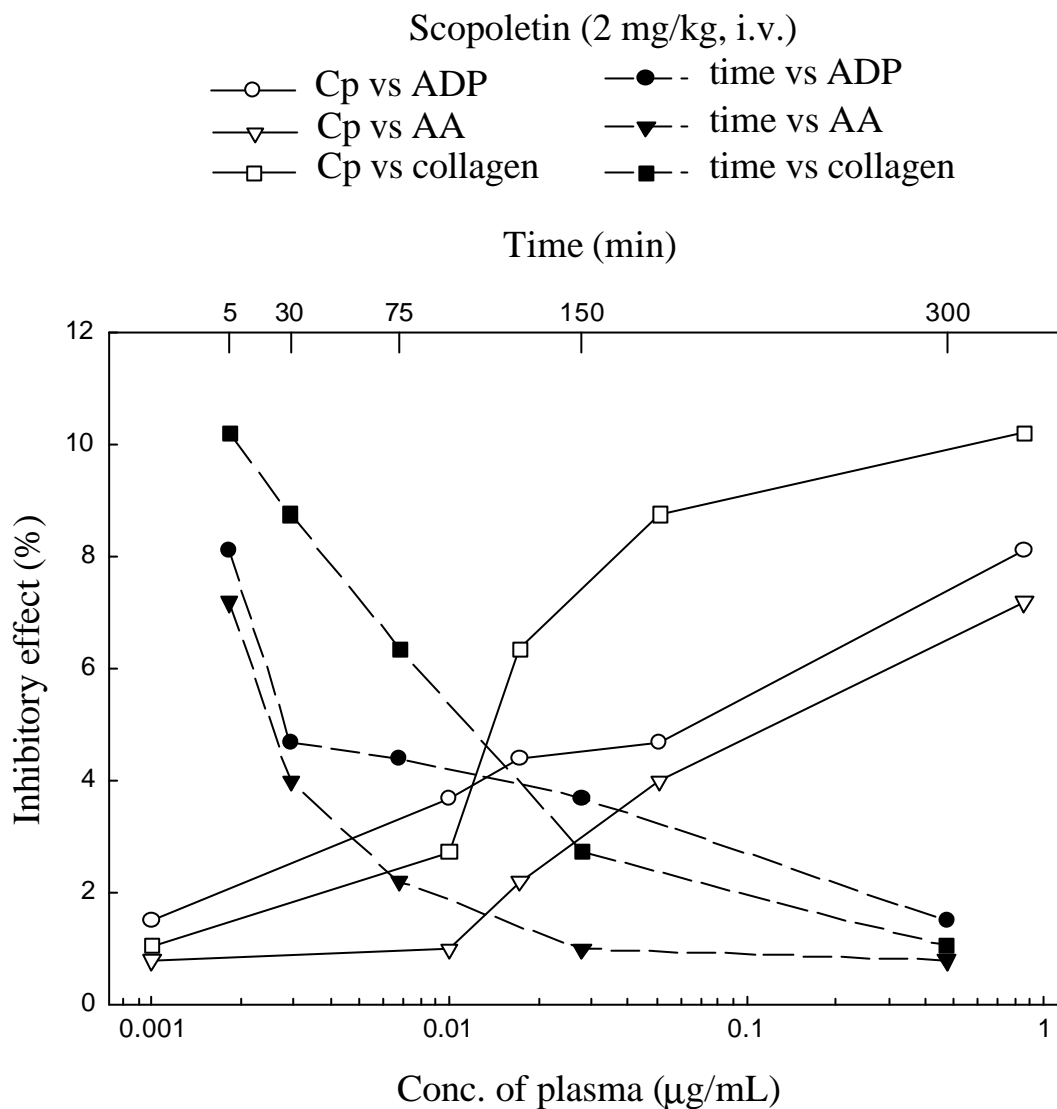


Fig. 15. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after intravenous bolus injection scopoletin (2 mg/kg) in rabbits.

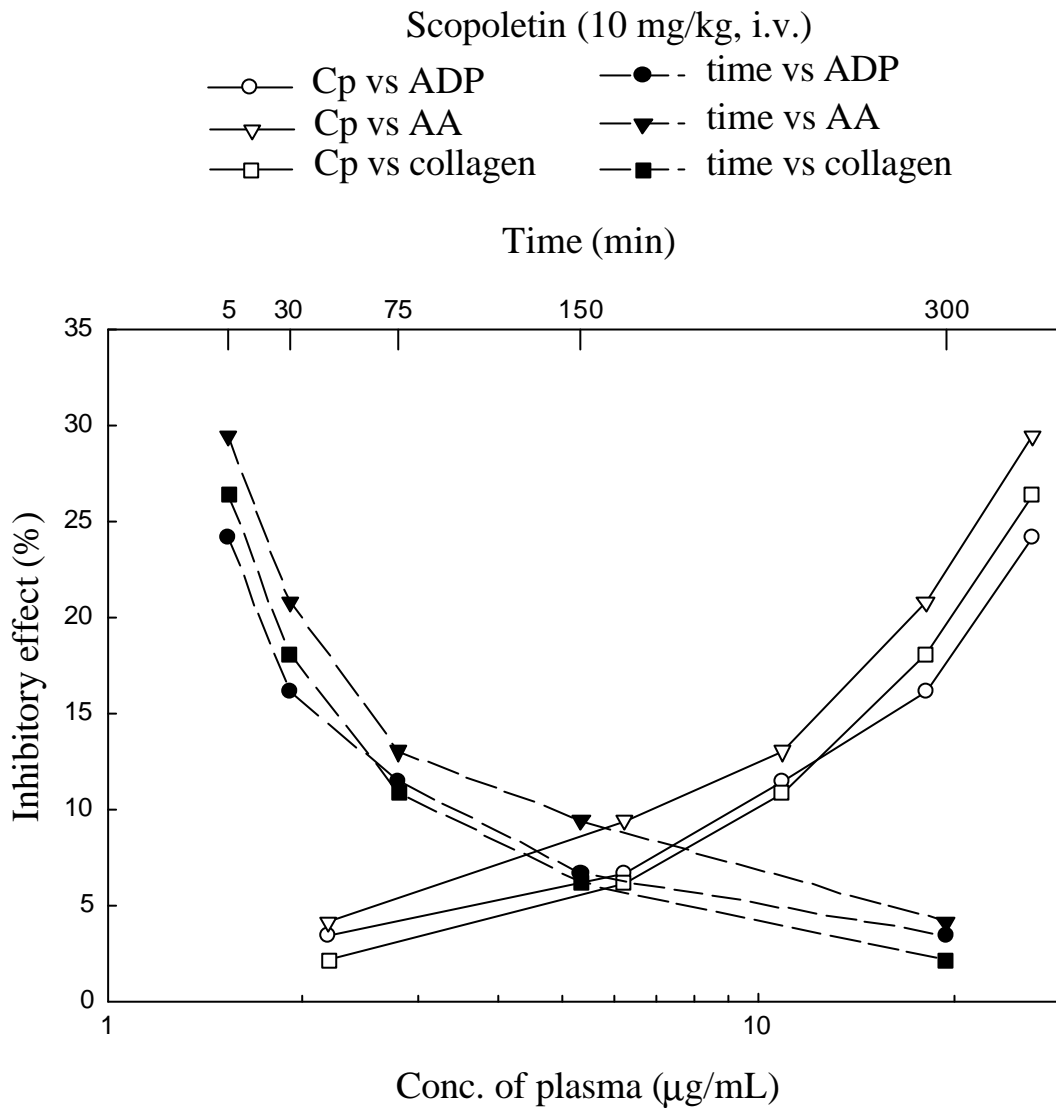


Fig. 16. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after intravenous bolus injection scopoletin (10 mg/kg) in rabbits.

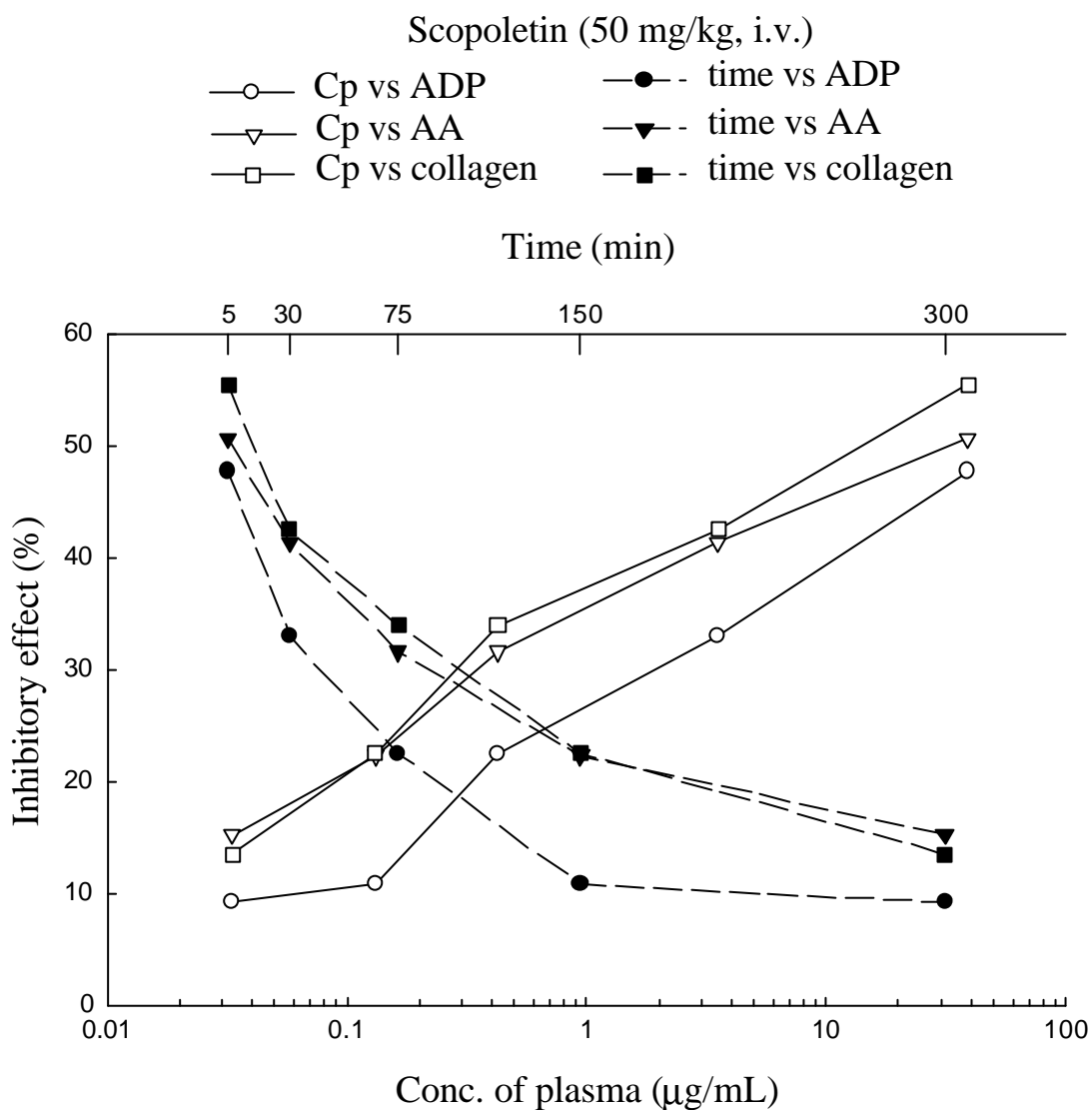


Fig. 17. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after bolus intravenous injection scopoletin (50 mg/kg) in rabbits.

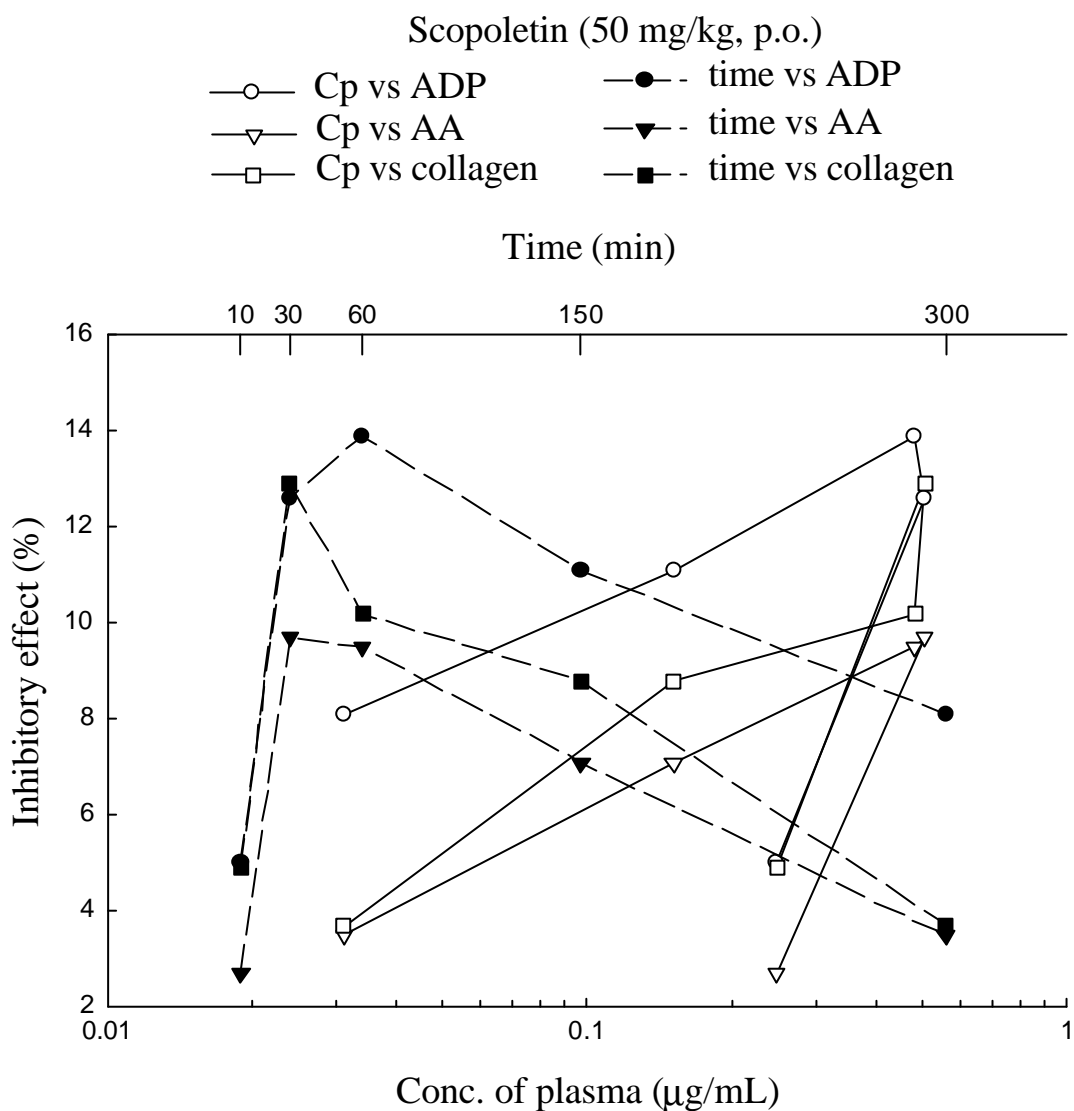


Fig. 18. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after oral administration scopoletin (50 mg/kg) in rabbits.

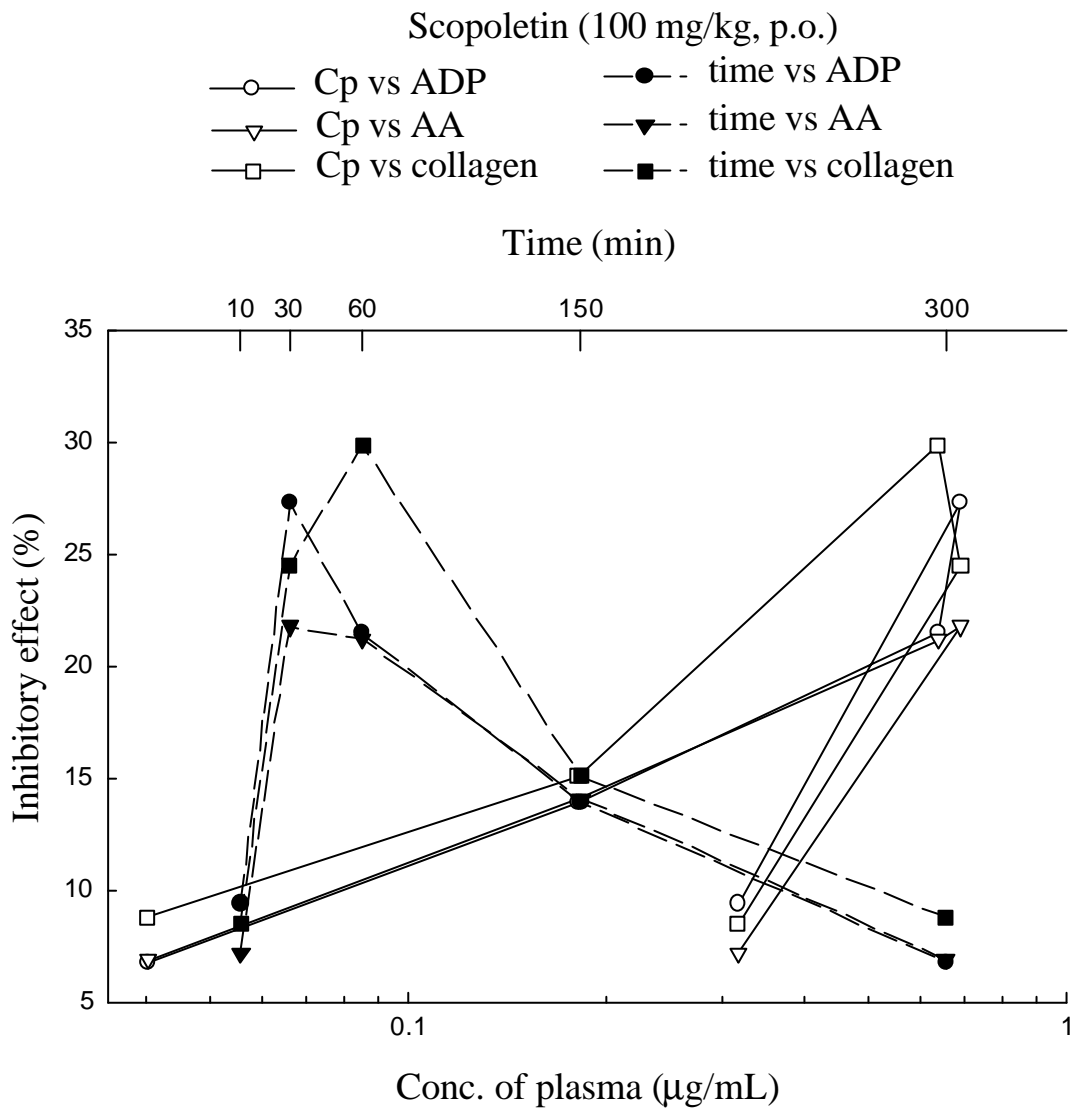


Fig. 19. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after oral administration scopoletin (100 mg/kg) in rabbits.

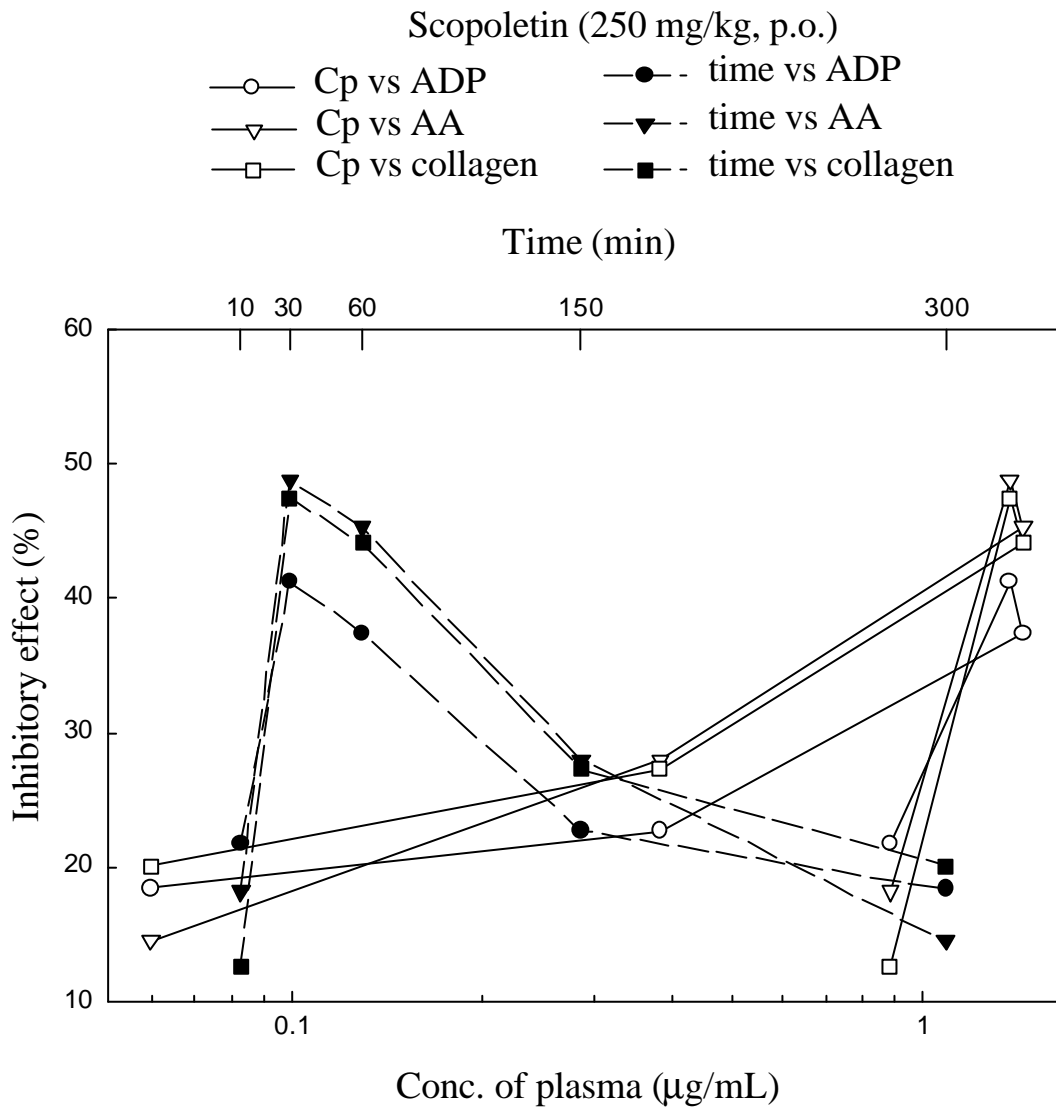


Fig. 20. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after oral administration scopoletin (250 mg/kg) in rabbits.

Table 15. Slope and intercept of log-linear model in inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen with log Cp of scopoletin on rabbits after bolus intravenous injection.

Drug	Dose (mg/kg)	Inducer	S	e	R ²
Scop	2	ADP	2.955±3.051	8.779±6.386	0.459±0.498
		AA	6.285±4.715	1.856±2.317	0.594±0.222
		Collagen	6.878±7.229	4.531±4.176	0.415±0.346
	10	ADP	7.862±3.409	20.331±7.268	0.780±0.199
		AA	9.603±3.404	25.080±6.084	0.707±0.244
		Collagen	9.320±4.142	22.141±8.696	0.916±0.063
	50	ADP	13.134±4.494 ^c	26.292±8.647 ^c	0.845±0.113
		AA	11.659±5.769	33.653±3.145 ^c	0.843±0.212
		Collagen	13.446±2.225 ^a	35.249±3.391 ^c	0.932±0.105

All values are expressed as mean ± S.D., n = 8.

^ap<0.05, ^cp<0.001 significantly different in the 2, 10 and 50 mg/kg inhibitory effect of platelet aggregation by ADP, AA or collagen.

S: slope, e: intercept.

Table 16. Slope and intercept of log-linear model in inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen with log Cp of scopoletin on rabbits after oral administration.

Drug	Dose (mg/kg)	Inducer	S	e	R ²
Scop	50	ADP	4.248±5.034	14.545±4.547	0.746±0.249
		AA	5.047±2.132	11.182±2.539	0.784±0.323
		Collagen	6.486±3.409	13.677±6.319	0.638±0.284
	100	ADP	15.453±4.188	26.847±5.953	0.836±0.121
		AA	12.078±3.989	23.562±5.722	0.807±0.807
		Collagen	15.445±2.803	29.207±5.350	0.869±0.107
	250	ADP	16.233±4.989 ^c	35.227±9.117 ^c	0.778±0.150
		AA	24.868±5.234 ^c	41.877±6.578 ^c	0.847±0.112
		Collagen	19.174±8.857 ^c	41.185±8.571 ^c	0.747±0.197

All values are expressed as mean ± S.D., n = 8.

^cp < 0.001 significantly different in the 2, 10 and 50 mg/kg inhibitory effect of platelet aggregation by ADP, AA or collagen.

S: slope, e: intercept.

Table 17. The effects on half-life, elimination rate and dose retained with time after application of scopoletin in rabbits.

Drug	Route	Inducer	a_d	b_d	a_t	b_t	$t_{1/2}ED$ (min)	K_{ED} (min^{-1})	
Scop	iv	ADP	2-50 mg/kg		50 mg/kg				
			-14.372	28.213	37.655	-0.115	-75.383	0.010	
				\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
		14.925	11.446	13.133	0.046	16.052 ^b	0.002 ^b		
		AA	-15.654	31.349	44.749	-0.111	-97.356	0.008	
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	
		9.699	7.852	4.690	0.049	46.178 ^a	0.002 ^b		
		Collagen	-13.733	30.559	48.108	-0.129	-71.502	0.010	
			\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	
		9.840	4.658	4.017	0.015	8.732 ^c	0.001 ^c		
				50-250 mg/kg		250 mg/kg			
		po	ADP	-75.840	41.941	41.467	-0.085	-153.559	0.005
				\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
			31.566	14.162	9.779	0.023	56.261	0.002	
AA	-128.562		63.591	51.626	-0.129	-148.157	0.005		
	\pm		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm		
28.124	11.812		8.102	0.021	19.514	0.001			
Collagen	-106.067		55.484	48.705	-0.103	-173.306	0.004		
	\pm		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm		
43.450	18.348	10.960	0.046	55.802	0.001				

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.001$, bolus intravenous injection significantly different with oral administration by one way ANOVA.

6-2

枸杞子氯仿層抽出物對家兔血小板聚集性
抑制作用之藥效學研究

實驗目的

前一節已討論東莨菪素對血小板聚集性抑制作用之藥效學研究，本節繼續探討家兔枸杞子氯仿層抽出物給藥後，有關時間，血漿濃度、血小板聚集性抑制效果之相關性，最後亦導出量效、時效與體內有效藥物存留量之方程式。

實驗結果

一、效應、濃度、時間

家兔口服給予枸杞子抽出物後，由 ADP、AA、collagen 誘導之血小板聚集性抑制效力為縱軸，時間與血漿中東莨菪素對數濃度分別為上下橫軸而作圖，口服 50、100、250 mg/kg 後，約需 30 min，才可到達最大的抑制效果，接著會隨著濃度減少而血小板聚集抑制效力亦隨著減弱，三種劑量所得圖分別為 Fig. 21-23。

二、對數線性模式(Log linear model)

氯仿層抽出物之抗血小板藥效(E，縱軸)對血藥濃度 C 的對數(logC，橫軸)作圖，所得線性關係通式為 $E = S \log C_p + e$ 。

因口服給藥後的血小板聚集抑制效果於 30 min 才達到最大值，故口服給藥是取 30，60，150 至 300 min 的藥效與相對的血藥濃度進行線性回歸。以血小板聚集抑制率平均值 E 對血藥濃度的對數 $\log C_p$ 平均值，進行線性回歸，呈現的線性關係方程式列於下：

$$50 \text{ mg/kg ADP} : E = 18.635 \log C_p + 1.069 \quad (58)$$

$$50 \text{ mg/kg AA} : E = 19.891 \log C_p + 1.524 \quad (59)$$

$$50 \text{ mg/kg collagen} : E = 20.441 \log C_p + 0.286 \quad (60)$$

$$100 \text{ mg/kg ADP} : E = 33.460 \log C_p - 8.788 \quad (61)$$

$$100 \text{ mg/kg AA} : E = 43.955 \log C_p - 12.309 \quad (62)$$

$$100 \text{ mg/kg collagen} : E = 45.833 \log C_p - 11.706 \quad (63)$$

$$250 \text{ mg/kg ADP} : E = 57.576 \log C_p - 37.163 \quad (64)$$

$$250 \text{ mg/kg AA} : E = 54.854 \log C_p - 35.676 \quad (65)$$

$$250 \text{ mg/kg collagen} : E = 61.911 \log C_p - 36.266 \quad (66)$$

其 R^2 值由 0.779 ± 0.156 至 0.947 ± 0.041 。線性回歸所得的 S 與 e，以 one way ANOVA 統計分析比較，結果 S 值會隨著劑量增加而增加，S 值由 18.635 ± 4.925 升至 61.911 ± 22.835 ，但 e 值是隨著劑量增加而減少，由 1.524 ± 1.886 下降至 -37.163 ± 11.829 。且 2、10 與 50 mg/kg 之 S

與 e 值對 ADP、AA, collagen 誘導之聚集抑制效果組間比較 ($p < 0.001$), 顯示三種不同劑量組間血小板聚集抑制效果有明顯差異(Table 18)。

如同口服東莨菪素, 口服枸杞子氯仿層抽出物後, 三種劑量直線回歸所得 S(或 e)值間之差距, 亦會隨著劑量增加而有差距, ADP、AA, collagen 誘導之聚集抑制效果在 2、10 與 50 mg/kg 之間, S(或 e)值之統計比較 ($p < 0.001$), 顯示三種不同劑量組間血小板聚集抑制效果有差異(Table 18)。

三、量效半衰期法

家兔口服枸杞子氯仿層抽出物溶液, 以 50, 100, 250 mg/kg 的對數劑量為橫座標(X 軸), 血小板聚集抑制率效應百分率最大值為縱座標(Y 軸), 進行直線回歸, 量效回歸通式為:

$$Y = a_d + b_d X,$$

所得平均值之方程式分別為:

$$\text{LBC po ADP } 50\text{-}250 \text{ mg/kg } Y = - 77.418 + 42.487 X \quad (67)$$

$$\text{LBC po AA } 50\text{-}250 \text{ mg/kg } Y = - 64.965 + 38.065 X \quad (68)$$

$$\text{LBC po Collagen } 50\text{-}250 \text{ mg/kg } Y = - 92.419 + 50.367 X \quad (69)$$

上述直線回歸所得 R^2 在 0.853 ± 0.161 以上, 最佳可達 0.954 ± 0.065

時效直線回歸是以最大效應為縱座標(Y 軸), 即口服是取 250 mg/kg 的最大效應為縱座標, 以時間(口服取 30、60、150、300)為橫座標, 進行直線回歸, 得通式為 $Y = a_t + b_t X$, 所得平均值之方程式分別列於下:

$$\text{LBC po } 250 \text{ mg/kg } \text{ ADP } Y = 42.374 - 0.113 X \quad (70)$$

$$\text{LBC po } 250 \text{ mg/kg } \text{ AA } Y = 40.384 - 0.110 X \quad (71)$$

$$\text{LBC po } 250 \text{ mg/kg } \text{ Collagen } Y = 49.493 - 0.123 X \quad (72)$$

依據上述所得截距(a_d 、 a_t)和斜率(b_d 、 b_t), 利用 $t_{1/2}ED = 0.301 b_d / b_t$ 計算量效半衰期, 與 $K_{ED} = - 2.303 b_t / b_d$ 計算體內有效藥量的消除速率常數。口服東莨菪素或枸杞子抽出物在 AA 誘導之 a_d 、 b_d 、 $t_{1/2}ED$ 、 K_{ED} 間有差異, collagen 誘導之 b_d 間有差異, Table 19。

口服枸杞子氯仿層抽出物溶液後不同時間體內有效藥物存留量

通式為 $X = \frac{a_t - a_d}{b_d} + \frac{b_t}{b_d} t$, 所得各組公式分述如下:

$$\text{LBC po ADP } X = 2.798 - 0.003 t \quad (73)$$

$$\text{LBC po AA } X = 2.792 - 0.003 t \quad (74)$$

$$\text{LBC po Collagen } X = 2.819 - 0.003 t \quad (75)$$

討論

家兔口服枸杞子氯仿層抽出物溶液亦是取 30、60、150、300 min 之血小板聚集抑制效力 E 對血藥濃度 C_p 的對數線性回歸， $E = S \log C_p + e$ ，所得結果，50、100 與 250 mg/kg 各組對 ADP、AA 與 collagen 誘導血小板聚集抑制的對數線性回歸， R^2 值在 0.779 ± 0.156 至 0.947 ± 0.041 之間。觀察 S 與 e 平均值，劑量從 50 至 250 mg/kg， S 值由 18.635 ± 4.925 升至 61.911 ± 22.835 ， e 值由 1.524 ± 1.886 至 -37.163 ± 11.829 。比較靜脈東莨菪素；靜脈注射東莨菪素、口服東莨菪素、口服枸杞子抽出物三者的 S 值差距分別為 10.5、20.6、43.3，表示口服枸杞子在高與低劑量有較大差異範圍，而靜脈注射東莨菪素則有最小的差異。接著比較三者的 e 值，靜脈注射東莨菪素、口服東莨菪素、口服枸杞子抽出物三者的 e 值差距分別為 33.4、30.7、38.7，表示三者給藥後在高與低劑量間差異不大，但口服枸杞子抽出物 e 值在 100 與 250 mg/kg 為負值，表示家兔口服給予相同劑量的情況下，單一的東莨菪素給藥的抗血小板作用會比枸杞子氯仿中之東莨菪素會有較強的效應。上述結論在 Fig. 18-23 中可觀察到此現象。

依據量效半衰期法對家兔進行枸杞子氯仿抽出物之藥理效應評估，所得結果列於 Table 19。比較口服枸杞子與東莨菪素，枸杞子氯仿層抽出物口服給藥 50 至 250 mg/kg 後之 ADP、AA 與 Collagen 之 K_{ED} 值分別為 0.007 ± 0.002 、 0.007 ± 0.002 與 $0.006 \pm 0.002 \text{ min}^{-1}$ 。而家兔口服東莨菪素 50、100、250 mg/kg 之 K_{10} 分別為 0.016 ± 0.001 、 0.017 ± 0.001 、 $0.018 \pm 0.003 \text{ min}^{-1}$ ，而口服東莨菪素之 K_{10} 約為口服枸杞子氯仿抽出物 K_{ED} 之 2.3 至 3.0 倍，表示家兔口服東莨菪素之血藥排除速度快於口服枸杞子氯仿抽出物體內有效藥量的消除速率 2.3 至 3.0 倍。經 ANOVA 統計分析，比較口服東莨菪素與口服枸杞子抽出物之 a_d 、 b_d 、 K_{ED} 、 $t_{1/2}ED$ 結果在 AA 誘導方面二者之間有差異 ($p < 0.01$)，表示枸杞子氯仿層抽出物中，不僅東莨菪素，可能尚有其他成分會對 AA 誘導之血小板聚集有不同程度之影響。

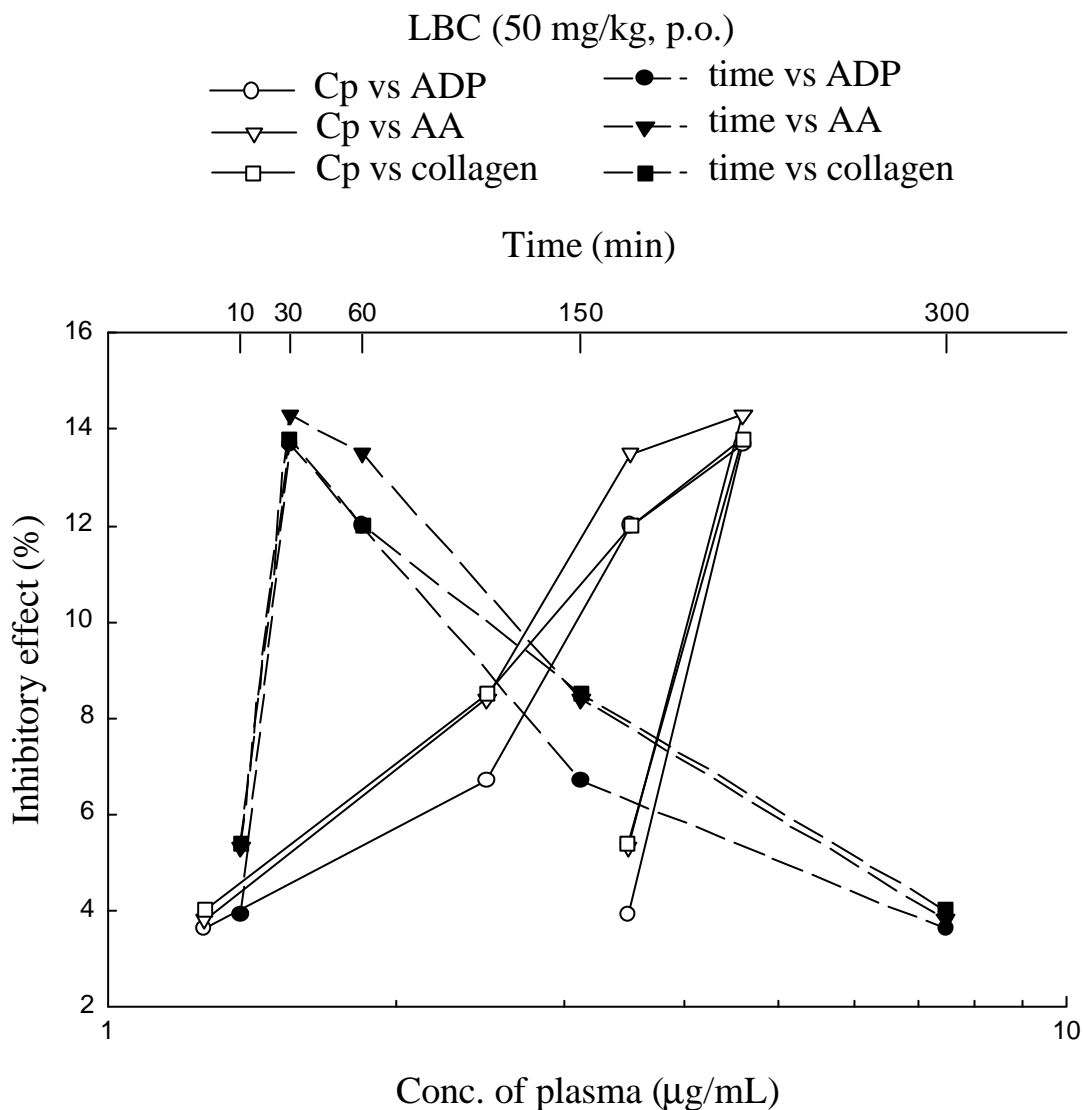


Fig. 21. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after oral administration chloroform extract of *Lycium barbarum* LINNAEUS (50 mg/kg) in rabbits.

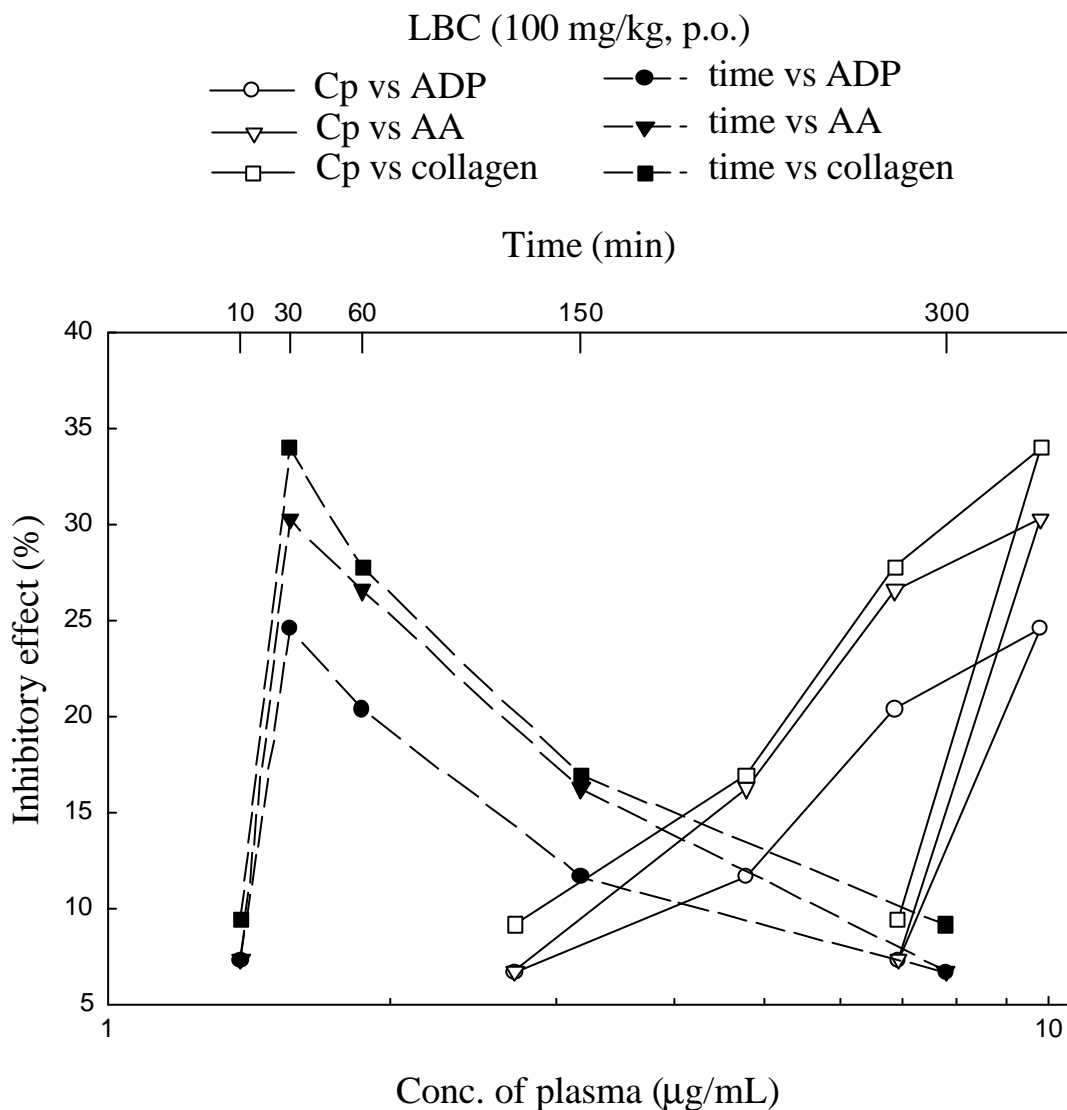


Fig. 22. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after oral administration chloroform extract of *Lycium barbarum* LINNAEUS (100 mg/kg) in rabbits.

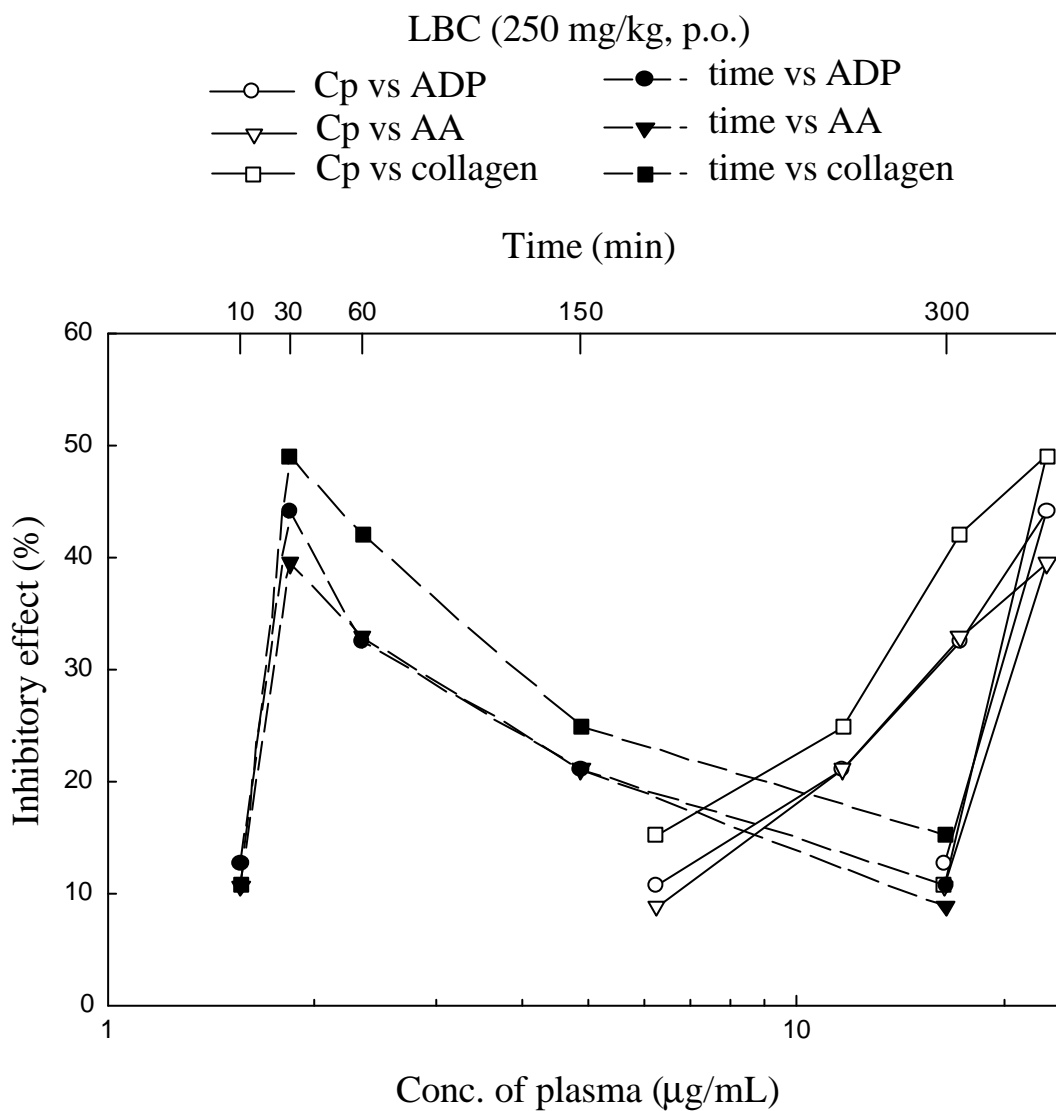


Fig. 23. Time and mean plasma concentration versus inhibitory effect profile, respectively. The inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen after oral administration chloroform extract of *Lycium barbarum* LINNAEUS (250 mg/kg) in rabbits.

Table 18. Slope and intercept of log-linear model in inhibitory effect of platelet aggregation induced by ADP, AA and collagen with log Cp of *Lycium barbarum* chloroform extract on rabbits after oral administration.

Drug	Dose (mg/kg)	inducer	S	e	R ²
LBC	50	ADP	18.635±4.925	1.069±1.190	0.779±0.156
		AA	19.891±7.716	1.524±1.886	0.863±0.128
		Collagen	20.441±8.943	0.286±2.833	0.947±0.041
	100	ADP	33.460±8.204	-8.788±5.159	0.885±0.095
		AA	43.955±10.585	-12.309±5.908	0.895±0.102
		Collagen	45.833±11.105	-11.706±4.270	0.896±0.105
	250	ADP	57.576±16.051 ^c	-37.163±11.829	0.925±0.052
		AA	54.854±18.235	-35.676±18.312	0.855±0.146
		Collagen	61.911±22.835	-36.266±20.718	0.912±0.091

All values are expressed as mean ± S.D., n = 8.

^cp < 0.001 significantly different in the 2, 10 and 50 mg/kg inhibitory effect of platelet aggregation by ADP, AA or collagen.

S: slope, e: intercept.

Table 19. The effects on half-life, elimination rate and dose retained with time after oral administration of scopoletin or *Lycium barbarum* chloroform extract on rabbits.

Drug	inducer	a _d	b _d	a _t	b _t	t _{1/2} ED (min)	K _{ED} (min ⁻¹)
		50-250 mg/kg		250 mg/kg			
Scop	ADP	-75.840	41.941	41.467	-0.085	-153.55	0.005
		±	±	±	±	9	±
	AA	31.566	14.162	9.779	0.023	56.261	0.002
		±	±	±	±	±	±
	Collagen	-128.56	63.591	51.626	-0.129	-148.15	0.005
		2	±	±	±	7	±
Collagen	±	11.812 ^b	8.102	0.021	±	0.001 ^b	
	28.124 ^b	±	±	±	±	±	
LBC	ADP	-106.06	55.484	48.705	-0.103	-173.30	0.004
		7	±	±	±	6	±
	AA	±	18.348	10.960	0.046	±	0.001 ^a
		43.450	±	±	±	±	±
	Collagen	-77.418	42.487	42.374	-0.113	-107.89	0.007
		±	±	±	±	3	±
AA	48.373	20.446	11.329	0.031	±	0.002	
	±	±	±	±	±	±	
Collagen	-64.965	38.065	40.384	-0.110	-102.49	0.007	
	1	±	±	±	1	±	
Collagen	±	17.372	7.905	0.033	±	0.002	
	41.584	±	±	±	±	±	
Collagen	-92.419	50.367	49.493	-0.123	-121.35	0.006	
	7	±	±	±	7	±	
Collagen	±	24.759	12.066	0.045	±	0.002	
	58.943	±	±	±	±	±	
Collagen	-92.419	50.367	49.493	-0.123	-121.35	0.006	
	7	±	±	±	7	±	
Collagen	±	24.759	12.066	0.045	±	0.002	
	58.943	±	±	±	±	±	

^ap < 0.05, ^bp < 0.01, ^cp < 0.001 significantly different between scopoletin and LBC in oral administration by one way ANOVA.

第七章

結論、新發現與展望

- 7-1 結論
- 7-2 新發現
- 7-3 展望

7-1 結論

枸杞子為中國傳統中藥，文獻報導，能改善血液流變學性質和微循環的作用，證實具有血小板抗凝作用。東莨菪素(scopoletin)是枸杞子的成分之一，且東莨菪素具有 coumarin(香豆素)的結構，已知 coumarin 類之化合物大都具有抗小板凝聚的作用。另有文獻報導，scopoletin 對 ADP, sodium arachidonate 與 collagen 誘導之家兔血小板聚集，展現強有力的抑制作用。經由 ADP、AA 與 collagen 誘導血小板聚集實驗，證實了枸杞子與其所含成分東莨菪素對家兔血小板聚集作用皆有抑制效果。

為了明瞭血藥濃度與時間的關係，故應用 HPLC 定量分析技術，對家兔血漿進行 scopoletin 之體內藥物動力學探討。首先製備東莨菪素高與低二濃度所得之標準曲線，其 R^2 高於 0.999 且得 intraday 及 interday 的精確性高，回收率亦很高，偵測極限為 10 ng/mL。可認定東莨菪素之血漿檢品之高效液相層析法，為一靈敏、精確、再現性良好之分析法。

東莨菪素靜脈給予三種劑量 2、10 與 50 mg/kg 家兔後，得到之藥物動力學參數 AUC 分別為 16.262 ± 0.287 、 65.210 ± 5.608 、 697.172 ± 58.060 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ ；CL 為 0.322 ± 0.014 、 0.382 ± 0.057 、 0.184 ± 0.019 L/min， V_{ss} 為 9.679 ± 1.403 、 9.105 ± 1.909 、 3.568 ± 0.398 L。AUC 會隨著劑量增加而變大，而 CL 卻隨著劑量增加而變小，尤其是 50 mg/kg 大劑量時會有明顯的變化。表示東莨菪素在靜脈注射給予家兔後，其血藥濃度在體內是呈現劑量依賴性即 dose-dependent (non-linear)的藥物動力學。

東莨菪素口服給予家兔 50、100 與 250mg/kg 三種劑量，於 10 min 開始採血檢測血中濃度，藥物達到血中最高濃度時間(t_{max})約為 40 min。所得結果以 WinNolin Model 13 進行曲線配適，以二室體模式(two compartment model)可以得到良好的配適。根據 AUC 及 A、B、C 數據來看，口服 250 mg/kg 之血中濃度在靜脈注射 10-50 mg/kg 之間，且較接近 10 mg/kg。而靜脈注射結果 10 mg/kg 以下藥物動力學為線性，10-50 mg/kg 開始顯示非線性。由此銜接可知靜脈之藥動線性可延伸至血中濃度相當於口服 250 mg/kg。因此取用靜脈 10 mg/kg 之 AUC，代入公式即可算出 scopoletin 口服後之絕對生體可用率 F 分別為 0.19 ± 0.01 ， 0.11 ± 0.01 與 0.10 ± 0.01 。

東莨菪素肌肉注射 50mg/kg 給予家兔後，其血中濃度-時間曲線，

所得結果以 WinNolin Model 13 進行曲線配適(curve fitting),以二室體模式(two compartment model)可以得到良好的配適。採用靜脈 50 mg/kg 之 AUC, 結果 F_{im} 為 0.623 ± 0.032 , 表示東莨菪素肌肉注射, 比口服給藥可得較好的生體利用率。

東莨菪素靜脈注射 2, 10, 50 mg/kg 後, 對 ADP、AA、collagen 誘導的血小板聚集作用, 注射 5min 後即可產生抑制效果, 50 mg/kg 組, 對 ADP、AA、collagen 的抑制效果分別可達 47.8, 50.7, 55.5 %。東莨菪素靜脈注射給藥之血小板聚集抑制作用, 隨著時間增加, 濃度亦漸下降, 血小板聚集抑制效果亦減弱, 表示東莨菪素靜脈注射給藥之血小板聚集抑制作用與血中濃度有關。

口服給予東莨菪素, 對 ADP、AA、collagen 誘導劑的抑制效果以給藥後 30 分的抑制率最大, 250mg/kg 組抑制率分別為 41.3, 48.8, 47.5, 過了 30min 後, 接著隨著時間消逝對血小板的抑制效果亦隨之下降。至 5 小時對 collagen 的抑制率仍有 20.1 %, 表示東莨菪素有效應延遲作用。口服給予東莨菪素的血中濃度亦隨著時間而逐漸代謝消失, 故家兔口服東莨菪素後對血小板聚集抑制效果亦與東莨菪素的血中濃度相關。

同樣口服給予枸杞子氯仿層抽取物溶液, 給藥後仍同東莨菪素, 以 30min 有最大的血小板的抑制效果, 且隨著劑量增加, 抑制效果亦隨著增加, 同樣也以給予高劑量之 250 mg/kg 枸杞子氯仿層抽取物組的抑制效果最好, ADP、AA、collagen 分別為 43.1、39.5、49.1。而且口服給藥後至 5 小時對 collagen 仍有 15.2 % 的抑制效果, 表示口服給予枸杞子抽取物亦有效應延遲作用。

東莨菪素與枸杞子抽出物都可抑制 ADP、AA 及 collagen 誘導的家兔血小板聚集。故推論可能與下列機轉有關, 血小板膜上 ADP 受體, 或影響血小板內顆粒成分的釋放; 與抑制 AA 的代謝途徑有關; 直接與血小板膜上的膠原受體 GPVI 接受器有關。但亦表示東莨菪素與枸杞子抽取物對 ADP、AA 及 collagen 此三種誘導劑無明顯的選擇性。

家兔靜脈注射東莨菪素溶液後, 血小板聚集抑制效力 E 對血藥濃度 C_p 的對數線性回歸, 所得對數線性模式 $E = S \log C_p + e$, 隨著劑量增加, S 與 e 值亦隨之增大, 即隨著血藥濃度增加, 回歸所得直線會愈趨高陡, 會有愈大的血小板聚集的抑制效果。口服東莨菪素溶液的對數線性回歸, 隨著劑量增加, 口服東莨菪素的血小板聚集抑制效力亦相對的增加。同樣給予東莨菪素, 比較靜脈與口服的對數線性模式, 結果高與低劑量的 S 值之間的差距, 靜脈為 10.491, 口服為

20.620，口服的 S 值差距較靜脈多一倍，表示靜脈比口服有較平緩的回歸直線。同樣也做口服枸杞子氯仿層抽出物溶液的對數線性回歸，比較靜脈東莨菪素；口服東莨菪素或枸杞子氯仿層抽出物，口服枸杞子抽出物之高與低劑量之 S 值差距為 14.735，所以口服枸杞子氯仿層抽出物線性回歸所得直線陡度介於靜脈東莨菪素與口服東莨菪素之間，且靜脈注射東莨菪素在高與低劑量有較大差異範圍，而口服枸杞子則有最小的差異。

依據量效半衰期法對家兔進行東莨菪素與枸杞子氯仿層抽出物之藥理效應評估，經 ANOVA 統計分析，所得 $t_{1/2ED}$ 與 K_{ED} ，靜脈注射與口服東莨菪素組之間有差異。口服東莨菪素或枸杞子抽出物各組二者之間統計上在 AA 方面結果有差異，表示枸杞子氯仿層抽出物中，不僅東莨菪素，可能尚有其他成分會對 AA 誘導之血小板聚集有不同程度之影響。

綜合上述，為要得到完整的藥效學研究，如本論文，採取連續的作用時間點，定量枸杞子氯仿層抽出物與東莨菪素之血藥濃度、測量血小板聚集抑制效力，結合時間、濃度與藥理作用，再結合電腦軟體，利用相關數學公式與計算，不僅可得到藥物動力學參數，還可推導出更詳盡藥效學結果。

7-2 新發現

1. 首先建立家兔血漿中東莨菪素之高效液相層析定量分析方法。
2. 確立靈敏、精確、再現性良好之東莨菪素檢品高效液相層析法。
3. 東莨菪素在家兔的藥物動力學呈現二室體分佈，在高劑量呈現非線性關係。
4. 家兔東莨菪素口服生體可用率為 10~19%，肌肉注射為 62.3%。
5. 家兔口服枸杞子氯仿層抽出物較單服東莨菪素，血漿分析可得較高之東莨菪素含量。
6. 枸杞子氯仿層抽取物所含成分與東莨菪素對家兔血小板聚集作用皆有抑制效果，但以東莨菪素對血小板抑制效果較佳。
7. 東莨菪素與枸杞子抽取物對 ADP、AA 及 collagen 此三種血小板聚集誘導劑無選擇性。
8. 建立東莨菪素對家兔血小板聚集抑制作用之半體內實驗。
9. 建立枸杞子氯仿層抽取物口服給藥後，對兔血小板聚集抑制作用之半體內實驗。
10. 探討對數劑量 - 效應，時間 - 效應關係，計算出東莨菪素與枸

杞子氯仿層抽取物之量效半衰期和藥量的消除速率常數。

11. 可利用有效藥物殘留量，再對時間作圖，所得曲線進行房室配適，再按藥物動力學分析求解參數。

7-3 展望

1. 運用藥物動力學的發展，監測中草藥血藥濃度，調配有效劑量的範圍。
2. 探討長期給予枸杞子後，對血栓引起心血管疾病作用是否有預防作用，及其作用機轉。
3. 建立各種天然物之藥物劑量(給藥量)與藥理作用之量效關係。



第八章

參考文獻

- 丁艦、俞彰、鍾慈聲：兔血小板被 A23187、凝血、ADP 激活時其超微結構和顆粒數的變化。上海醫科大學學報 1996;23(6):434-438。
- 尹秀琴、黃會堂、李鳳梅、劉桂珠、劉桂珠：寧夏枸杞子對鉛免疫毒性影響的研究。中華預防醫學雜誌 1993 ; 27(3) : 184-185。
- 方放治、單春文、陳平雁：鉤吻素子對兔血小板聚集的影響。中藥藥理與臨床 1998 ; 14(1) : 21-24。
- 王少媛、辛凱旋、馬端、杜向陽、王言森：、川芎 對肺心病急性加重期患者血漿血小板聚集率、血栓素 B₂、6-酮-前列腺素 F₁ 、血管性假血友病因子及血氣影響。中國中西醫結合雜誌 1999 ; 19(10) : 602-604。
- 王亦流、陳剛：藥效學模型研究硫酸鎂在重度妊高征患者降血壓效應。中國臨床藥理學雜誌 1994 ; 10(2) : 87-92。
- 王好古、羅漢平：湯液本草重刊，華夏文獻資料出版社，台中 1987 ; pp.163。
- 王作祥、王瓊琨：三七冠心寧家兔血小板聚集、血粘度的影響。中草藥 1983 ; 14(3) : 29-30。
- 王杰：濟南枸杞子化學成分分析。中國藥學雜誌 1991;26(5):269-270。
- 王柏昆、邢善田、周金黃：枸杞多糖對小鼠 T_H1 殺傷和 NK 細胞的免疫藥理作用及對抗環磷醯胺的免疫抑制作用。中國藥理學與毒理學雜誌 1990 ; 4(1) : 39-43。
- 王強，徐國鈞、張志華：枸杞及地骨皮多糖對小鼠免疫系統的作用。中華藥理與臨床 1993 ; 9(3) : 39-40。
- 王強、陳綏清、張志華、俞祥生、龔孫蓮、吳家坤：中草藥 1991 ; 22(2) : 67-68。
- 王淑蘭、李淑蓮、吳勝東：枸杞子等八種中藥提取液對體外培養細胞和小鼠腹腔巨噬細胞影響的實驗研究。白求恩醫科大學學報 1990 ; 16(4) : 325-328。
- 王惠琴、蔣保季、馬忠傑：枸杞提取液抗衰老作用的實驗研究。首都醫學院學報 1992 ; 13(2) : 83-86。
- 王晶華、王導光、郭海民：大蒜的化學及藥理作用研究進展。黑龍江醫藥 1996 ; 9(6) : 340-341。
- 王順祥、吳細丕、高其鑫、段志友、魏經建、劉淑真、邵國慶、楊占軍、關東、袁瑞珍：補益中藥及復方生血靈防止環磷醯胺降低白細胞的作用。中國中西醫結合雜誌 1992 ; 129(2) : 99-100。
- 王慕娣、鬪捷、劉菊年、趙曉航、戴壽芝：枸杞子對絲裂霉素 C 誘發遺傳物質損傷的保護作用。中草藥 1992 ; 23(5)251-253。

- 王懷隱：太平聖惠方，人民衛生出版社，北京 1982；pp.898-987。
- 王繼峰、張家俊：赤芍成分及其衍生物抗血小板聚集和調節氧化磷酸作用的研究。中西醫結合雜誌 1984；4(12)：745-747。
- 卡慧敏、龔婕寧、馬健：六味地黃湯對家兔體外血小板聚集率的影響。中成藥 2000；22(11)：789-791。
- 田澤、高光耀、楊峻山、李玲玲、肖培根：狹序唐松草中三類生物鹼對血小板聚集的影響。中草藥 2000；31(11)：839-841。
- 石晶、王中孝、盧旭輝：山楂與澤瀉抗血小板聚集的協同作用。中草藥 1996；27(6)：350-352。
- 朱東樵：本草詩箋，卷七 灌木 21，謝文全珍藏本。
- 朱家璧：藥動學基礎講座(六)。中國醫院藥學雜誌 1985；5(8)：22-26。
- 朱惠蘭、黃金城：丁公藤結晶 I(東莨菪素)抗炎作用。中草藥 1984；15(10)：30-33。
- 朱肅：救荒本草，卷三，葉及實皆可食，中醫古籍出版社，北京：1996；pp.42。
- 朱櫛：普濟方，卷一八五，古籍出版社，上海 1991；pp.125-158。
- 江西省第二人民醫院藥物組，合成魚腥素在大鼠體內的吸收、分布和排泄，中華醫學雜誌 1976；7：454-455。
- 江紀武、肖慶祥：植物藥有效成分手冊，人民衛生出版社，北京 1986；pp.333-336。942-943。
- 江蘇新醫學院：中藥大辭典，上海科學技術出版社，上海 1978；pp.3162。
- 何愉生、吳余：赤芍精抗血小板聚集作用的臨床及實驗研究。中西醫結合雜誌 1982；2(1)：15-18。
- 吳其濬：植物名實圖考，世界書局，台北 1974；pp.776。
- 吳其濬：植物名實圖考長編，世界書局，台北 1975；pp.1063-1067。
- 吳普、清 孫星衍、孫憑翼：神農本草經，中華書局，台北 1987；pp.38。
- 吳普：吳普本草，人民衛生出版社，北京 1987；pp.60-61。
- 吳儀洛著、郭薇整理：本草從新，紅旗出版社，北京 1996；pp.151-152。
- 呂長興、程柄權：枸杞多糖對 Lewis 肺癌放射增敏效應的研究。中西醫結合雜誌 1991；11(10)：611-612。
- 呂愛剛、李更生、洪素蘭、毛理納：川芎口服液對兔血小板聚集的作用。中藥藥理與臨床 1997；13(2)：38-40。
- 李自成、宋翠娥、曹茂銀：當歸注射液對冠心病患者血漿前列環素、

- 血栓素 A₂ 及血小板聚集的影響。中國醫院藥學雜誌 1997; 17(5): 210-211。
- 李春生、杜桂芝、趙全成、安鳳敏、王路宏：枸杞子化學成分的研究。中國中藥雜誌 1990；15(3)：43-44。
- 李家泰：臨床藥理學，人民衛生出版社，北京 1991：pp.963-985。
- 李家增：應重視溶栓藥物的血液學基礎研究。中華醫學雜誌 2000；80(5)：325-326。
- 李時珍：新校增訂本草綱目，大台北出版社，台北 1990；pp.1206-1211。
- 李素民、楊文昌、田彩鎖：大蒜的現代研究進展。中醫藥學報 1997；25(6)：30-32。
- 李梅、周燕文、楊正鴻、趙素榮、陸敏儀、盧勇、覃麟：反相高效液相色譜法測定丁公藤注射液中東莨菪內酯含量。中草藥 1994；25(5)：247-249。
- 李濤、陳春景、祁功才：黑木耳抗血小板聚集作用的初步研究。中西醫結合雜誌 1988；8(1)：41。
- 汪昂原著、王效蘭點校；本草備要，天津科學技術出版社，天津 1993；pp.123-124。
- 那琦、謝文全重輯：重輯名醫別錄，中國醫藥學院，台中 1977；pp.45-46。
- 那琦：本草學，南天書局，台北 1982 pp.；23-24。
- 阮萃才、樑遠、劉錦玲：當歸等 13 種中藥對致突變作用的影響。廣西醫學院學報 1990；7(2)：21-23。
- 周志文、周金黃、邢善田：枸杞多糖對正常小鼠紅系造血及集落刺激因子的影響。中華血液學雜誌 1991；12(8)：409-411。
- 周端、顧仁樾、陳瓊：白蒺藜有效組分治療腦血管障礙(瘀血型)的臨床研究。中醫雜誌 1995；36(5)：289-290。
- 孟詵：食療本草，人民衛生出版社，北京 1984；pp.16-17。
- 林志彬：中國黑木耳抗血小板功能的作用。生理科學進展 1983；14(1)：18。
- 林麗、朱學藝、何娟生、閔清：枸杞子的生藥鑒定。甘肅中醫學院學報 2000；17：61-65。
- 金小君、彭清芝、許友芝：大蒜素對血小板聚集功能的影響。湖北醫學院學報 1993；14(1)：60-62。
- 姜艷玲：寧夏枸杞子與枸杞子的鑒別。時珍國藥研究 1997；8(3)：252。
- 施永德、梁子鈞、步燕芳、鄭葆芬：對 50 種中藥體外抗凝血作用的

- 觀察。中草藥 1981；12(6)：26-28。
- 柳曉泉、黃經凱：普魯卡因及其代謝物的藥物動力學和藥效學結合模
分析。中國藥理學報 1991；12(1)：7-11。
- 胡永紅、劉沛霖、葉望雲：雷公藤治療類風濕關節炎的血液流變學觀
察。同濟醫科大學學報 1985；14(6)：446。
- 倪朱謨編：本草彙言，卷十，中醫古籍出版社，北京 1996；pp. 32-37。
- 唐慎微：經史證類大觀本草，正言出版社，台南 1977；pp.335-336。
- 孫文基、張科登、黨治穩：天然藥物成份提取分離與製備，中國醫藥
科技出版社，天津 1994；pp.333-336。
- 徐叔雲、卡如濂、陳修：藥理實驗方法學，人民衛生出版社，北京
1982；pp1120-1134。
- 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊、金蓉鸞：中國藥材學，中國醫藥科技出版
社，北京 1996；pp.1156-1159。
- 徐皓亮、季勇、饒曼人：三七皂 Rg~1 對大鼠實驗性血栓形成，血
小板聚集率及血小板內游離鈣水平的影響。中國藥理學與毒理學
雜誌 1998；12(1)：40-42。
- 徐樹楠、朱兵占、許占民：神農本草經，河北科學技術出版社，石家
莊 1996；pp.40。
- 翁雪莉、李習鵬、張永：燈臺花注射液治療急性腦血栓 50 例。浙江
中西醫結合雜誌 1998；8(3)：138-139。
- 耿長山、王葛英、林永棟、邢善田、周金黃：枸杞子多糖對 ³H-TdR
滲入小鼠脾淋巴細胞及 Ts 細胞的影響。中草藥 1988；19(7)：
313-316。
- 耿長山、王葛英、林永棟、儲寶孟、邢善田、周金黃：枸杞多糖對老
年小鼠免疫功能低下的調節作用。中華老年醫學雜誌 1989；
8(4)：236-239。
- 馬世平、劉保林、周素娣、徐向偉、楊巧巧、周錦祥：西紅花總 的
藥理學研究: II.對血凝、血小板聚集及血栓形成的影響。中草藥
1999；30(3)：196-198。
- 高清芳、馮克玉、張曉友：現代臨床藥學，人民軍醫出版社，北京
1997；pp. 38-62。
- 國家中醫藥管理局：中華本草，上海科學技術出版社，上海 1999；
pp.6263-6265。
- 寇宗奭、羅漢平重刊：本草衍義重刊，華夏文獻資料出版社，台中
1987；pp.8。
- 張陳福、宮斌、李承珠：益母草抗血小板聚集的機理研究。中西醫結

- 合雜誌 1986 ; 6(1) : 39。
- 張雪琴、魏加印：枸杞子鑒別。時珍國醫國藥 2000 : 11(1) : 52。
- 張勝樂、徐英傑：大蒜及其抗小血小板聚集作用(綜述)國外醫學-中醫中藥分冊 1986 ; 8(5) : 17-20。
- 張樹生：神農本草經貫通，中國醫藥科技出版社，北京 1996 ; pp.165-167。
- 曹廣文、杜平：黃耆多糖、刺五加多糖和枸杞多糖在體內對 LAK 細胞抗腫瘤活性的調節作用。第二軍醫大學學報 1993 ; 14(1) : 10-13
- 陳妙華、劉鳳山：羅布麻葉鎮靜化學成分的研究。中國中藥雜誌 1991 ; 16(10) : 609-611。
- 陳岩、吳敬陽、高明、徐必達：常用中藥材真偽鑒別，廣東科技出版社，廣州 1988 ; pp.100-101。
- 陳國偉：抗血小板藥物。新醫學 1992 ; 23 : 429。
- 陳淑清、馬碧娜、謝敏：當歸、枸杞、黃精、黃耆和竹節參總皂的實驗研究 - 對小白鼠羥脯氨酸含量、耐缺氧研究。中藥藥理與臨床 1990 ; 6(3) : 28-29。
- 陳綏清、王強、吳家坤：中國藥科大學學報 ; 1991 ; 22(1) : 53。
- 陳嘉謨、王淑民點校：本草蒙荃，人民衛生出版社，北京 1988 ; pp.234-235。
- 陳靜波、唐毓環：大蒜的化學成分與抗動脈粥樣化作用。中國藥理學通報 1991 ; 7(2) : 88-91。
- 陶茂宣、趙忠良：枸杞多糖對抗遺傳損傷作用的體外研究。中草藥 1992 ; 23(9) : 474-476。
- 喻晶、胡文淑：甲基蓮心鹼對兔血小板聚集功能的影響。藥學學報 1997 ; 32(1) : 1-4。
- 掌禹錫、那琦、謝文全、李一宏重輯：重輯嘉祐補註神農本草，中國醫藥學院，台中 1989 ; pp.116-117。
- 賀捷、潘力、郭富祥、王錦茹、管代義、王柏昆：枸杞多糖對實驗性肝損傷小鼠的保護作用。中國藥理學與毒理學雜誌 1993 ; 7(4) : 293。
- 馮欣、劉鳳鳴：蒲黃有機酸對家兔血小板聚集性的影響。中國民間療法 1999 ; 6(6) : 48-49。
- 黃正良、崔祝梅、任遠：紅花黃色素的抗凝血作用研究。中草藥 1987 ; 18(4) : 22。
- 黃教成：建國以來中草藥有成的藥物代謝動力學研究。藥學學報 1987 ; 22(7) : 553-560。

- 黃進：安徽常用中藥材易混品種鑒別，安徽科學技術出版社，合肥 1993；pp.225-226。
- 葉惠珍、范椰新、劉植蔚、金怡順：丁公藤抗風濕有效成分的研究。中草藥 1981；12(5)：5-7。
- 葛爭豔、林成仁、周亞傳、王敏、李連達：活血化瘀經典古方對家兔血小板聚集性的影響。中國中西醫結合雜誌 1994；14(8)：489-490。
- 詹皓、劉傳績、周金黃：枸杞子多糖對物理應激刺激和四氯化碳所致組織質代謝異常的保護作用。中國藥理學與毒理學雜誌 1989；3(3)：168-174。
- 達美君、樓紹來點校：食物本草點校版，人民衛生出版社，北京 1994；pp.1259-1264。
- 鄒道全、徐宜英、田大武：16 β -溴代雌酚酮-3-甲醚及其與銀耳多糖合並甲藥治療白細胞減少症 105 例療效報告。中國醫院藥學雜誌 1990；10(2)：62-65。
- 趙佶：聖濟總錄，人民衛生出版社，北京 1982；pp.1881-1943。
- 趙連根、高淑娟、孟青竹、張鳳雲：幾類補益藥對機體防禦機能作用的比較研究。中醫雜誌 1990a；31(4)：244-245。
- 趙連根、高淑娟、孟青竹：單味補益藥對機體防禦機能作用的比較研究。天津中醫 1990；(2)：30-32。
- 齊宗紹、李淑芳、吳繼平、曲蓉、楊玉芳、張麗娟、楊曉萍：枸杞子和枸杞葉化學成分的研究 第一報，枸杞子和枸杞葉的營養成分。中藥通報 1986；11(3)：169-171。
- 齊剛、張莉、李長齡、馬健、蘇亞岷：絞股藍總皂 對血小板聚集和血栓形成的影響。中草藥 1997；28(3)：163-165。
- 劉文泰等纂修：本草品彙精要，人民衛生出版社，北京 1982；pp.459-461。
- 劉若金：本草述，嘉慶庚午 pp.709-714，謝文全珍藏本。
- 劉皋林、張正行、安登魁：數學模型在藥效動力學研究中的應用。藥學進展 2000；24(2)：77-81。
- 劉敏、褚海林：丹參注射液對偏頭痛患者血小板血漿 5-HT 水平影響。實用中西醫結合雜誌 1998；11(12)：1069。
- 劉萍：大蒜的藥理作用及臨床應用。天津藥學 1999；11(4)：18。
- 劉鬱、趙麗娟、項永遷：大蒜提取物對動脈粥樣硬化家兔血小板功能的影響。中國醫科大學學報 1992；21(6)：436-439。
- 慶慧：大蒜降血脂抗動脈粥樣硬化的研究進展。中醫研究 1997；10(1)：50-52。

- 樑文波、金正男、朴惠順：雷公籐對實驗性關節炎大鼠血液流變學的影響。中草藥 1995；26(11)：589-591。
- 樑佩瓊：中國黑木耳抗血小板物質的驗證。中草藥 1987；18(2)：41。
- 歐陽卓志、李廣粹：枸杞子在抗腫瘤治療中的升白作用。藥學通報 1988；23(12)：746。
- 潘鑫鑫、嚴晴山、劉天培：人參、西洋參及三七總皂 對大鼠血小板功能及血栓形成的抑制作用。中國藥理學與毒理學雜誌 1993；7(2)：141-144。
- 鄧哲明：蛇毒蛋白質與中藥成分對血液凝固和血小板凝集之探討。生命科學簡訊 1990；4(5)：7-9。
- 黎雪如、吳慰萱、周婭、沈水：枸杞多糖對小鼠腹腔巨噬細胞 C₃b 受體和 Fc 受體的影響。中華微生物學和免疫學雜誌。1990；10(1)：27。
- 錢玉昆、Cheung H T、Richardson A：中藥(苦參及枸杞子)對免疫細胞和細胞因子的實驗調節。中華微生物學和免疫學雜誌 1988；8(5)：312-314。
- 戴平：紫外分光光度法測定雙香豆素片的含量。華夏醫學 2000；13(6)800。
- 韓金祥、王美嶺、馮進波：大蒜素抗血小板聚集的研究山東醫科大學學報 1990；28(4)：42-45。
- 韓國柱：中草藥藥代動力學，中國醫藥科技出版社，北京 1999；1：pp.19-79。
- 韓國柱：石吊蘭素在大鼠體內的吸收、分布和消除以及血藥濃度與降壓效應之間的關係。藥學學報 1982；(17)：572-577。
- 顏正華：中藥學，知音出版社，台北 1991；pp.860-862。
- 羅建平、張銀娣：藥代動力學藥效學結合模型的研究進展。中國臨床藥理學雜誌 2000；16(4)：309-314。
- 蘇頌：圖經本草，安徽科學技術出版社，安徽 1994；pp.356-357。
- 饒高雄、孫漢董：龍眼獨活的化學成分。中國中藥雜誌 1996；21(8)：482-483。
- 黨瑛、吳其夏：大蒜素對血小板鈣離子濃度升高的抑制作用基礎醫學與臨床 1992；12(4)：250。
- 顧麗貞、張百舜、張潤珍：仙鶴草對家兔體外血栓形成的抑制作用。中國中醫藥科技 1995；2(2)：21-22。
- Adachi H, Fujimori T, Shoji T. Inhibitory effects of a novel antiplatelet aggregating agent, E-5510, on cyclic flow variations in electrically

- stimulated coronary arteries of the pig. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1990;16(5):733-741.
- Allain JP, Cooper HA, Wagner RH, Brinkhous KM. Platelets fixed with paraformaldehyde: a new reagent for assay of von Willebrand factor and platelet aggregating factor. *J. Lab. Clin. Med.* 1975; 85(2):318-328.
- Alvarez SJ. Acetyl-salicylic acid and trifusal in the prevention of atherothrombotic stroke. *Revista. Neurologia.* 1995;23(123): 1091-1095.
- Bogan DP, O'Kennedy R. Simultaneous determination of coumarin, 7-hydroxycoumarin and 7-hydroxycoumarin glucuronide in human serum and plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B.* 1996; 686, 267-273.
- Bonadonna G, Lechi C, Corradini P, Sinigaglia D, Togni P, Miroslawa G. Verapamil inhibits platelet aggregation by a calcium-independent mechanism. *Thromb. Haemostasis.* 1986;56(3):308-310.
- Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature.* 1962a;194(4832)927-929.
- Born GVR. Quantitative investigations into the aggregation of blood platelets. *Proc. Physiol. Soc.* 1962;(23-24)67-69.
- Caen JP, Legrand Y. Abnormalities in the platelet-collagen reaction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1972;201:194-204.
- Cassady JM, Olima N, Chang CJ, Mclaughlin JL. An investigation of the antitumor activity of *Micromelum integerrimum* (rutaceae). *J. Nat. Prod.* 1979; 42(3) 274-278.
- Cerskus AL, Ali M, McDonald JW. Thromboxane B₂ and 6-keto-prostaglandin F₁ alpha synthesis during infusion of collagen and arachidonic acid in rabbits: inhibition by aspirin and sulfinpyrazone. *Thromb. Res.* 1980;18(5)693-705.
- Charo IF, Feinman RD, Detwiler TC, Smith JB, Ingerman CM, Silver MJ. Prostaglandin endoperoxides and thromboxane A₂ can induce platelet aggregation in the absence of secretion. *Nature.* 1977;269(5623):66-69.
- Charo IF, Feinman RD, Detwiler TC. Interrelations of platelet aggregation and secretion. *J. Clin. Invest.* 1977;60(4):866-87.
- Chen YL, Wang TC, Liang SC, Teng CM, Tzeng CC. Synthesis and

- evaluation of coumarin alpha-methylene-gamma-butyrolactone: a new class of platelet aggregation inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* 1996; 44(8):1591-1595.
- Cheung WK, Levy G. Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants XLIX: Nonlinear tissue distribution of S-warfarin in rats. *J. Pharm. Sci.* 1989;78(7):541-546.
- Choi OH, Shamim MT, Padgett WL, Daly JW. Caffeine and theophylline analogues: correlation of behavioral effects with activity as adenosine receptor antagonists and as phosphodiesterase inhibitors. *Life Sci.* 1988;43(5):387-398.
- Croft KD, Beilin LJ, Vandongen R. The effect of dietary fish oil on platelet metabolism of ¹⁴C arachidonic acid. *Thromb. Res.* 1986;42(1):99-104.
- Dale J, Landmark KH, Myhre E. The effects of nifedipine, a calcium antagonist, on platelet function. *Am. Heart J.* 1983;105(1):103-105.
- Dembinska-Kiec A, Virgolini I, Rauscha F, Sinzinger H. Ticlopidine and platelet function in healthy volunteers. *Thromb. Res.* 1992;65(4-5):559-570.
- Di Minno G, Cerbone AM, Mattioli PL, Turco S, Iovine C, Mancini M. Functionally thrombasthenic state in normal platelets following the administration of ticlopidine. *J. Clin. Invest.* 1985;75(2):328-38.
- Dreyfuss F, Zahavi J. Adenosine diphosphate induced platelet aggregation in myocardial infarction and ischemic heart disease. *Atherosclerosis.* 1973;17(1):107-120.
- Dunn FW, Soria J, Soria C, Thomaidis A, Lee H, Caen JP. In vivo effect of ticlopidine on fibrinogen-platelet cofactor activity and binding of fibrinogen to platelets. *Agents & Actions - Suppl.* 1984;15:97-104.
- Elg M, Gustafsson D, Carlsson S. Antithrombotic effects and bleeding time of thrombin inhibitors and warfarin in the rat. *Thromb. Res.* 1999;94(3):187-197.
- Erazo S, Garcia R, Backhouse N, Lemus I, Delporte C, Andrade C. Phytochemical and biological study of *Radal lomatia* HIRSUTA (proteaceae). *J. Ethnopharmacol.* 1997;57, 81-83.
- Gachet C, Cazenave JP, Ohlmann P, Bouloux C, Defreyn G, Driot F, Maffrand JP. The thienopyridine ticlopidine selectively prevents the inhibitory effects of ADP but not of adrenaline on cAMP levels

- raised by stimulation of the adenylate cyclase of human platelets by PGE₁. *Biochem. Pharm.* 1990;40(12):2683-2687.
- Gibaldi M, Perrier D. *Pharmacokinetics*. 2nd ed. Marcal Dekker Inc., New York, 1982; pp.221-318.
- Greeff K, Schmitt M. Interaction of phosphodiesterase inhibitors triamterene, papaverine, theophylline, IBMX and amrinone with other positive inotropic acting substances on isolated guinea-pig atria. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1987;287(2):248-57.
- Haerem JW. Sudden coronary death: the occurrence of platelet aggregates in the epicardial arteries of man. *Atherosclerosis*. 1971;14(3):417-32.
- Hamed M A. *Dissolution, bioavailability & bioequivalence*. Mack Publishing Co., Easton 1989; pp. 297-414.
- Hardisty RM, Powling M, Nokes TJ. The action of ticlopidine on human platelets. Studies on aggregation, secretion, calcium mobilization and membrane glycoproteins. *Thromb. & Haemostasis*. 1990;64(1):150-155.
- Harker LA, Slichter SJ. Arterial and venous thromboembolism: kinetic characterization and evaluation of therapy. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 1974;31(2):188-203.
- Harsh ML. Tropane alkaloids from *Lycium barbarum* L_{INN.}, in vivo and in vitro. *Curr. Sci.* 1989;58(14):817-818.
- Hidaka H, Hayashi H, Kohri H, Kimura Y, Hosokawa T, Igawa T, Saitoh Y. Selective inhibitor of platelet cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase, cilostamide, inhibits platelet aggregation. *J. Pharmacol. & Exp. Ther.* 1979;211(1):26-30.
- Holmsen H, Weiss HJ. Secretable storage pools in platelets. *Ann. Rev. Med.* 1979;30:119-1134.
- Imura Y, Terashita Z, Shibouta Y, Inada Y, Nishikawa K. Antagonistic action of AA-2414 on thromboxane A₂/prostaglandin endoperoxide receptor in platelets and blood vessels. *Jap. J. Pharmacol.* 1990;52(1):35-43.
- Jandrot-Perrus M, Busfield S, Lagrue AH, Xiong X, Debili N, Chickering T, Le Couedic JP, Goodearl A, Dussault B, Fraser C, Vainchenker W, Villeval JL. Cloning, characterization, and functional studies of human and mouse glycoprotein VI: a platelet-specific collagen receptor from the immunoglobulin superfamily. *Blood*.

- 2000;96(5):1798-1807.
- Jarboe CH, Zirvi KA, Nicholson JA, Schmidt CM. Scopoletin an antispasmodic component of *Viburnum opulus* and *V. prunifolium*. *J. Med. Chem.* 1967; 10, 488-489.
- Jouve R, Puddu PE, Langlet , Guillen JC, Gautier T, Cano JP, Serradimigni A. Epoprostenol (PGI₂) prevents postischemic ventricular fibrillation and improves outcome in a canine model of sudden death. *J. Pharmacol.* 1985;16(2):139-157.
- Jurd L, Corse J, King AD, Bayne JH, Mihara K. Antimicrobial properties of 6,7-dihydroxy-, 7,8-dihydroxy-, 6-hydroxy- and 8-hydroxycoumarins. *Phytochemistry.* 1971; 10, 2971-2974.
- Kalman J, Geese A, Farkas T, Joo F, Telegdy G, Lajtha A. Dietary manipulation with high marine fish oil intake of fatty acid composition and arachidonic acid metabolism in rat cerebral microvessels. *Neurochem. Res.* 1992;17(2):167-172.
- Katzman RL, Kang AH, Beachey EH. Collagen-induced platelet aggregation: involvement of an active glycopeptide fragment (alpha1-CB5). *Science.* 1973;181(100):670-672.
- Kekki M, Julkunen RJ, Wahlstrom B. Distribution pharmacokinetics of warfarin in the rat, a non-linear multicompartement model. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1977;297(1)61-73.
- King EY, Joslin MA, Raudibaugh K, Pieniaszek HJ Jr, Benedek IH. Dose-dependent pharmacokinetics of warfarin in healthy volunteers. *Pharm. Res.* 1995;12(12)1874-1877.
- Kinlough-Rathbone RL, Chahil A, Packham MA, Reimers HJ, Mustard JF. Effect of ionophore A23, 187 on thrombin-degranulated washed rabbit platelets. *Thrombo. Res.* 1975;7(3):435-449.
- Kinlough-Rathbone RL, Packham MA, Reimers HJ, Cazenave JP, Mustard JF. Mechanisms of platelet shape change, aggregation, and release induced by collagen, thrombin, or A23,187. *J. Lab. Clin. Med.* 1977; 90(4):707-719.
- Kinlough-Rathbone RL, Reimers HJ, Mustard JF, Packham MA. Sodium arachidonate can induce platelet shape change and aggregation which are independent of the release reaction. *Science.* 1976;192(4243):1011-1012.
- Kleinbloesem CH, Brummelen P, Linde JA, Voogd PJ, Breimer DD. Nifedipine: kinetics and dynamics in healthy subjects. *Clinical*

- Pharmacology & Therapeutics. 1984;35(6):742-749.
- Komatsu H, Takehana Y, Hamano S, Ujiie A, Hiraku S. Beneficial effect of OKY-046, a selective thromboxane A₂ synthetase inhibitor, on experimental cerebral vasospasm. *Jap. J. Pharmacol.* 1986;41(3):381-391.
- Kroboth PD, Smith RB, Stoehr GP, Juhl RP. Pharmacodynamic evaluation of the benzodiazepine-oral contraceptive interaction. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1985;38(5):525-532.
- Kuhlmann J, Dohrmann M, Marcin S. Effects of quinidine on pharmacokinetics and pharmacodynamics of digitoxin achieving steady-state conditions. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1986;39(3):288-294.
- Kuzuya T, Hoshida S, Yamagishi M, Ohmori M, Inoue M, Kamada T, Tada M. Effect of OKY-046, a thromboxane A₂ synthetase inhibitor, on arachidonate-induced platelet aggregation: possible role of "prostaglandin H₂ steal" mechanism. *Jap. Circ. J.* 1986;50(11):1071-1078.
- Lapetina EG, Chandrabose KA, Cuatrecasas P. Ionophore A-23187- and thrombin-induced platelet aggregation: independence from cyclooxygenase products. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1978;75(2):818-822.
- Levy G. Kinetics of pharmacologic effects. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1966;7(3):362-372.
- Liu XQ, YE XL, Zhu HQ, Huang SK. Plasma bevantolol concentration and heart in rabbits. *Acta. Pharmacol. Sin.* 1993;14(3):200-202.
- Logan JL, Michael UF, Benson B. Dietary fish oil interferes with renal arachidonic acid metabolism in rats: correlations with renal physiology. *Metab. Clin. Exp.* 1992;41(4):382-389.
- Lui PW. Aspirin-like drugs, besides a cyclooxygenase inhibitor, what's more in the mode of analgesic action? *Acta Anaesthesiol. Sin.* 1996;34(2):i-ii.
- Matano Y, Okuyama T, Shibata S, Hoson M, Kawada T, Osada H, Noguchi T. studies on coumarins of a Chinese drug "qian-hu"; VII. Structure of new coumarin-glycosides of zi-hua qian-hu and effect of coumarin-glycosides on human platelet aggregation. *Plant. Med.* 1986; (2):135-138.
- Matsumoto Y, Ochi H, Aihara K, Inui J, Ikegami K. Effects of Y-20811, a

- thromboxane A₂ synthetase inhibitor, on experimentally induced coronary thrombosis in anesthetized dogs. *Eur. J. Pharmacol.* 1992;213(2):167-170.
- Mazurov AV, Leytin VL, Repin VS, Taube C, Forster W, Platelet prostanoids in interaction of platelets with collagen substrates. II. Effects of exogenous arachidonic acid, stable PG endoperoxides analogue, and aspirin. *Biomedica. Biochimica. Acta.* 1984;43(8-9):373-376.
- Miki I, Ishii A. Characterization of thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptors in porcine coronary artery--the inhibitory effect of a novel dibenzoxepin derivative, KW-3635. *Thromb. Haemos.* 1992;67(5):582-584.
- Milo G, Donald P. *Pharmacokinetics.* Marcel Dekker Co., Inc., New York 1982;pp.1-318.
- Momo K, Someya K, Tachiiri T, Mitsuoka Y, Nakamura K, Imai S, Ino T, Ohkubo H.
Effects of the new antiplatelet agent
2-methyl-3-(1,4,5,6-tetrahydropyridinyl)pyrazolo[1,5-a]pyridine on platelet aggregation and thrombosis in experimental animals. *Arzneim.-Forsch.* 1992;42(1):32-39.
- Moncada S, Korb R. Dipyridamole and other phosphodiesterase inhibitors act as antithrombotic agents by potentiating endogenous prostacyclin. *Lancet.* 1978;1(8077):1286-1289.
- Newland H, Nordoy A. Effect of large doses of warfarin sodium on haemostasis and on ADP-induced platelet aggregation in vivo in the rat. A survey of experimental thrombosis and coumarin anticoagulant therapy. *Cardiovas. Res.* 1967; 1(4):362-370.
- Nielsen CB, Bech JN, Pedersen EB. Effects of prostacyclin on renal haemodynamics, renal tubular function and vasoactive hormones in healthy humans. A placebo-controlled dose-response study. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1997;44(5):471-476.
- Nishikawa M, Komada F, Morita K, Deguchi K, Shirakawa S. Inhibition of platelet aggregation by the cAMP-phosphodiesterase inhibitor, cilostamide, may not be associated with activation of cAMP-dependent protein kinase. *Cell. Signal.* 1992;4(4):453-463.
- Nossel HL, Wilner GD, Drillings M. Inhibition of collagen-induced platelet aggregation by normal plasma. *J. Clin. Invest.*

- 1971;50(10):2168-2175.
- O'Brien JR, Heywood JB, Heady JA. The quantitation of platelet aggregation induced by four compounds: a study in relation to myocardial infarction. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 1966;16(3):752-67.
- Ohmuro S, Tsukada Y, Taga F, Ohkubo H, Uchida H. Protective effect of the new antiplatelet agent 2-methyl-3-(1,4,5,6-tetrahydronicotinoyl) pyrazolo[1,5-a]pyridine on myocardial damage due to coronary occlusion and reperfusion in rabbit. *Arzneim. -Forsch.* 1992;42(1):39-42.
- Ojewole JAO, Adesina SK. Cardiovascular and neuromuscular actions of scopoletin from fruit of tetrapleura tetraptera. *Plant. Med.* 1983; 49, 99-102.
- Ojewole JAO, Adesina SK. Mechanism of the hypotensive effect of scopoletin isolated from the fruit of tetrapleura tetraptera. *Plant. Med.* 1983a; 49, 46-50.
- Okada Y, Miyauchi N, Suzuki K, Kobayasho T, Tsutsui C, Mayuzumi K, Nishibe S, Okuyama T. Search for naturally occurring substances to prevent the complications of diabetes. II. Inhibitory effect of coumarin and flavonoid derivatives on bovine lens aldosereductase and rabbit platelet aggregation. *Chem. Pharm. Bull.* 1995; 43(8)1385-1387.
- Okumura T, Hasitz M, Jamieson GA. Platelet glyco-calicin. Interaction with thrombin and role as thrombin receptor of the platelet surface. *J Biol. Chem.* 1978;253(10):3435-3443.
- Packham MA, Guccione MA, Chang PL, Mustard JF. Platelet aggregation and release: effects of low concentrations of thrombin or collagen. *Am. J. Physiol.* 1973;225(1):38-47.
- Parmley W W, Chatterjee K. Cardiovascular pharmacology. Mosby-Year Europe, Ltd. London 1994; pp. 9.2-9.42.
- Patrignani P, Filabozzi P, Catella F, Pugliese F, Patrono C. Differential effects of dazoxiben, a selective thromboxane-synthase inhibitor, on platelet and renal prostaglandin-endoperoxide metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1984;228(2):472-477.
- Pistelli L, Bertoli A, Bilia AR, Morelli I. Minor constituents from *Bupleurum fruticosum* roots. *Phytochemistry* 1996; 41(6) 1579-1582.

- Poller L, Thomson JM, Priest CM. Coumarin therapy and platelet aggregation. *Br Med. J.* 1969; 1(642):474-476.
- Prokopenko RA, Mogilevich SE, Luik AI, Naydyenova IY, Batrak GN, Hawryluk BR, Degtiar VY. Effects of haloperidol and chlorpromazine on smooth muscle contractility, platelet aggregation and neuronal calcium current. *Gen. Physiol Biophys.* 1995;14(4):349-357.
- Prosdocimi M, Finesso M, Tessari F, Gorio A, Languino LR, de Gaetano G, Dejana E. Inhibition by AD6(8-monochloro-3-beta-diethylaminoethyl-4-methyl-7-ethoxycarbonyl methoxy coumarin) of platelet aggregation in dog stenosed coronary artery. *Thromb. Res.* 1985; 39(4):399-409.
- Puett D, Wasserman BK, Ford JD, Cunningham LW. Collagen-mediated platelet aggregation. Effects of collagen modification involving the protein and carbohydrate moieties. *J. Clin. Invest.* 1973;52(10):2495-2506.
- Ritschel WA, Hoffmann KA, Tan HS, Sanders PR. Pharmacokinetics of coumarin upon i.v. administration in man. *Arzneim.-Forsch.* 1976;26(7):1382-1387.
- Rowland M. et al. *Clinical pharmacokinetics: concepts and application.* 3rd ed. Philadelphia, Lea Fibiger 1995; 53-63. 340-366.
- Salam SR, Saxena R, Saraya AK. Effect of calcium channel blocker (diltiazem) on platelet aggregation. *Ind. J. Exp. Biol.* 1991;29(5):484-485.
- Salky N, Dugdale M. Platelet abnormalities in ischemic heart disease. *Am. J. Cardio.* 1973;32(5):612-617.
- Samama CM, Eyraud D, Rouby JJ. Inhibition of platelet aggregation by inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology.* 1995; 83(1):56-65.
- Satoh K, Yoshida H, Imaizumi TA, Koyama M, Hiramoto M, Takamatsu S. Pyrazolopyridine derivative acts as a novel cyclooxygenase inhibitor: antiplatelet effect in aged patients with ischemic stroke. *J. Am. Geria. Soc.* 1994;42(6):639-642.
- Sheiner LB, Stanski DR, Vozeh S, Miller RD, Ham J. Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics: application to d-tubocurarine. *Clin. Pharmacol. Therap.* 1979;25(3):358-371.

- Socini A, Petroni A, Colli S, Colombo C, Galli C. Effects of the coumarin derivative AD6 on platelet aggregation, platelet vessel wall interactions and 6 keto PGF1 alpha production in perfused aortas, in experimentally hypercholesterolaemic rabbits. *Pharmacol. Res. Commun.* 1982; 14(3):189-197.
- Suga K, Nishigauchi K, Kume N, Kishimoto K, Matsunaga N, Fujioka K, Zempo N, Kensuke E. The effects of new platelet inhibitory drug E-5510 on platelet deposition on aortic bifurcation grafts: assessment by indium-111-oxime labeled platelet imaging. *Clin. Nucl. Med.* 1998;23(6):365-369.
- Takada K, Levy G. Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants XLIV: Dose-dependent pharmacokinetics of warfarin in rats. *J. Pharm. Sci.* 1980;69(1)9-14.
- Tam SW, Detwiler TC. Binding of thrombin to human platelet plasma membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1978;543(2):194-201.
- Tanaka S, Ikeshiro Y, Tabata M, Konoshima M. Anti-nociceptive substances from the roots of *Angelica acutiloba*. *Arzneim.-Forsch.* 1977;27(11)2039-2045.
- Thaulow E, Dale J, Myhre E. Effects of a selective thromboxane synthetase inhibitor, dazoxiben, and of acetylsalicylic acid on myocardial ischemia in patients with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 1984;53(9):1255-1258.
- Tollefsen DM, Feagler JR, Majerus PW. The binding of thrombin to the surface of human platelets. *J. Biol. Chem.* 1974;249(8):2646-2651.
- Uotila P. Effect of sulfinpyrazone on the metabolism of arachidonic acid in isolated hamster lungs. *Pharmacology.* 1982;25(2):91-95.
- Vargaftic BB, Chignard M, Benveniste J. Present concepts on the mechanisms of platelet aggregation. *Biochem. Pharmacol.* 1981;30:263-271.
- Vargaftic BB, Zirinis P. Platelet aggregation induced by arachidonic acid is accompanied by release of potential inflammatory mediators distinct from PGE2 and PGF2. *Nature - New Biology.* 1973;244(134):114-116.
- Vargaftic BB. Carrageenan and thrombin trigger prostaglandin synthetase-independent aggregation of rabbit platelets: inhibition by phospholipase A2 inhibitors. *J. Pharm. Pharmacol.* 1977;29(4):222-228.

- Weber AA, Reimann S, Schror K. Specific inhibition of ADP-induced platelet aggregation by clopidogrel in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 1999;126(2):415-420.
- White GC 2d, Raynor ST. The effects of trifluoperazine, an inhibitor of calmodulin, on platelet function. *Thrombo. Res.* 1980;18(1-2):279-284.
- Willing PG. Pharmacokinetics processed and mathematics. Eds Keith BB, Maple Press Co., 1986; 1-240.
- Yoshioka M, Soga T, Mase K, Yasunaga K. Clinical and preclinical pharmacology of KC-764, a novel antiplatelet agent. *Nippon Rinsho - Jap J Clin. Med.* 1992;50(2):379-384.
- Zeng ED, Shaw DH Jr, Ogilvie RI. Kinetic disposition and hemodynamic effects of tetrandrine in anesthetized dogs. *J. Cardiovas. Pharmacology.* 1985; 7(6):1034-1039.
- Zucker MB, ADP- and collagen-induced platelet aggregation in vivo and in vitro. *Thromb. Diath. Haemorr. - Supplementum.* 1967;26:175-184.