

尿嘧啶在家兔體內之藥物動力學研究

第一章 緒言

尿嘧啶是人體核酸的主要構成成分，而在近年來也被許多的中草藥中發現含有尿嘧啶，並且以尿嘧啶為基本結構而衍生出來的許多化合物，如：5-氟尿嘧啶等都發現具有治療的功能；因此值得我們在研究上的發展。所以許多藥用植物也就被漸漸的受到重視。

我們都知道，藥用及保健植物對人類健康極為重要，而我國的傳統醫學用藥大部分也均以植物性藥物為主，歷經數千年而不衰，為我國醫藥文化重要資源，值得加以發揚光大。國科會在一九九七年開始推動的農業生技國家型科技計畫中，關於藥用及保健植物的部分，將在台灣已有若干研究基礎的藥用及保健植物。

俗話說：藥補不如食補。在現今的社會中，公共衛生的進步，醫療技術水準的提昇及經濟的發展，使得國民平均年齡逐年增加。經濟富裕的結果，使得大家對於自己的健康越來越重視，導致許多的保健食品紛紛出籠，而這些保健食品，不外乎都是一些中草藥或是天然植物的產品，這些產品的效用當然也就逐漸的引起大家的興趣，也受到國家各個機構的重視；進而自民國 87 年就開始著手研究一些保健食品的研究。

有鑒於我國國人感染肝炎的人數有日漸增加的趨勢，所以開發保護肝臟的保健食品是勢在必行的，所以我國自 1999 年開始實施「健

康食品管理法」，衛生署也陸續公佈了多種健康食品功能評估辦法，其中就包括了「護肝功能」，使健康食品的開發有跡可循。

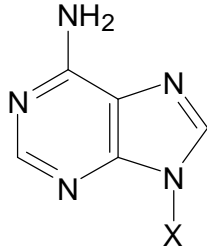
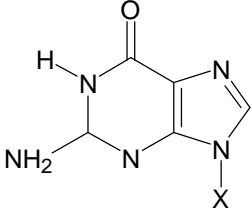
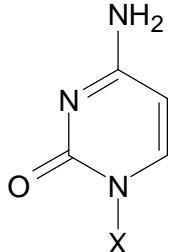
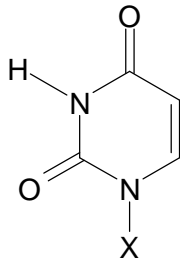
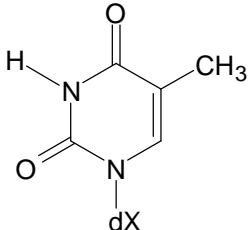
在一些珍貴的中草藥，例如被民間普遍使用當作保健食品的靈芝和金線連，都含有尿嘧啶的成分；而尿嘧啶被發現有保肝的功能。因此，在本研究中對尿嘧啶(Uracil)此一成分，進行血中濃度之定量法研究及在動物(家兔)之藥物動力學之研究，希望探討尿嘧啶在生體內的動態。

第二章 總論

第一節 尿嘧啶的介紹⁽¹⁾

核酸是生物體內的高分子化合物，包括 DNA 和 RNA 兩大類。而核酸經水解後可得到很多核苷酸(Nucleotides)，因此核苷酸是核酸的基本單位。所以可知核酸就是由很多單核苷酸聚合形成的多聚核苷酸；核苷酸可被水解產生核苷和磷酸，核苷還可再進一步水解，產生五碳糖和含氮的鹼基。

核苷酸中的鹼基均為含氮雜環化合物，它們分別屬於嘌呤衍生物和嘧啶衍生物。核苷酸中的嘌呤(purine)衍生物主要是鳥嘌呤(guanine,G)和腺嘌呤(adenine,A)；嘧啶(pyrimidine)衍生物主要是胞嘧啶(cytosine,C)、尿嘧啶(uracil,U)和胸腺嘧啶(thymine,T)。在 DNA 和 RNA 都含有鳥嘌呤(G)、腺嘌呤(A)和胞嘧啶(C)；胸腺嘧啶(T)一般而言只存在於 DNA 中，不存在於 RNA 中；而尿嘧啶(U)只存在於 RNA 中，但不存在於 DNA 中。而大部分的嘌呤及嘧啶均以核苷酸的形式存在於細胞中，其結構與名稱列於下表：

鹼基的結構式 (Base Formula)	鹽基(Base) X=H	核苷 (Nucleotide) X=核糖或 deoxyribose	核苷酸 (Nucleotide)，其 中 x=核糖磷酸根 (ribose phosphate)
	Adenine(A)	Adenosine	Adenosine monophosphate (AMP)
	Guanine(G)	Guanosine	Guanosine monophosphate (GMP)
	Cytosine(C)	Cytidine	Cytidine monophosphate (CMP)
	Uracil(U)	Uridine	Uridine monophosphate (UMP)
	Thymine(T)	Thymidine	Thymidine monophosphate (TMP)

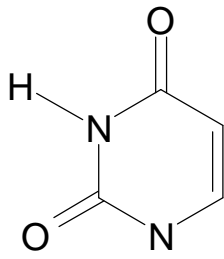
一般來說，由各個鹼基所組成的核苷酸會參與完成多樣化的生理功能反應，例如蛋白質及胺基酸的合成、細胞之間的訊息傳遞。以 Uracil 的衍生物為例：Uracil diphosphate-糖(UDP-sugar)的衍生物參與糖的表異構反應，例如葡萄糖 1-磷酸根(glucose 1-phosphate)和半乳糖 1-磷酸根(glucose 1-phosphate)的交互轉變。UDP-葡萄糖(UDP-glucose)是肝醣和葡萄糖雙糖生物合成時的葡萄糖提供者，而其他的 UDP-sugars 則在糖蛋白(glycoprotein)和蛋白多醣(proteoglycan)的寡糖生物合成中，作為糖的提供者。另外，UDP-葡萄糖醛酸(UDP-glucuronic acid)是在形成尿液中的膽紅素或是 Aspirin 等藥物的葡萄糖醛酸結合物的結合反應中，扮演一個醣苷酸(glycosidic acid)的提供者。

而核苷酸是一種多功能的酸，單核苷酸的第一個磷酸根 pK 值約為 1.0，第二個磷酸根的 pK 值約為 6.2，在這樣的情形下，會使的核苷酸在正常的生理 pH 值下帶負電。相反的，核苷、游離的 purine base 或游離的 Pyrimidine bases 在正常的生理 pH 值下不帶電。然而，在 pH 值 2 或 2 以下時，它們可以當作質子的提供者或是接受者。

在 pH 值 7.0 時所有的核苷酸都會吸收波長接近 260 nm 的光，因此，核苷酸和核酸的濃度常常會以“在 260 nm 下的 OD 值”的方式來表示。因此，隨著 pH 值變化的光譜可以有效的幫助確認各個核苷酸。而紫外光是一種有效的誘導突變的物質，這也是因為存在於 DNA 中的核苷酸之吸收紫外光的能力所造成。

由於胞嘧啶和尿嘧啶的結構相似，而胞嘧啶只存在 DNA 中，尿嘧啶只存在 RNA 中；當 DNA 分子不斷的受到體內物理和化學壓力的作用，或是經由氧氣、紫外線、烷化試劑或是放射線的破壞，都會引起 DNA 序列的改變。而 DNA 變化的結果，一般會形成嘧啶二聚體、鹼基的烷基化或是鹼基的脫氨作用，例如：胞嘧啶會因為自發性的脫氨作用而形成尿嘧啶；而造成自發性或是誘導性的 DNA 變化，而造成 DNA 的序列改變，而導致基因的突變，對細胞造成很大的傷害。

A. 分子式與分子量

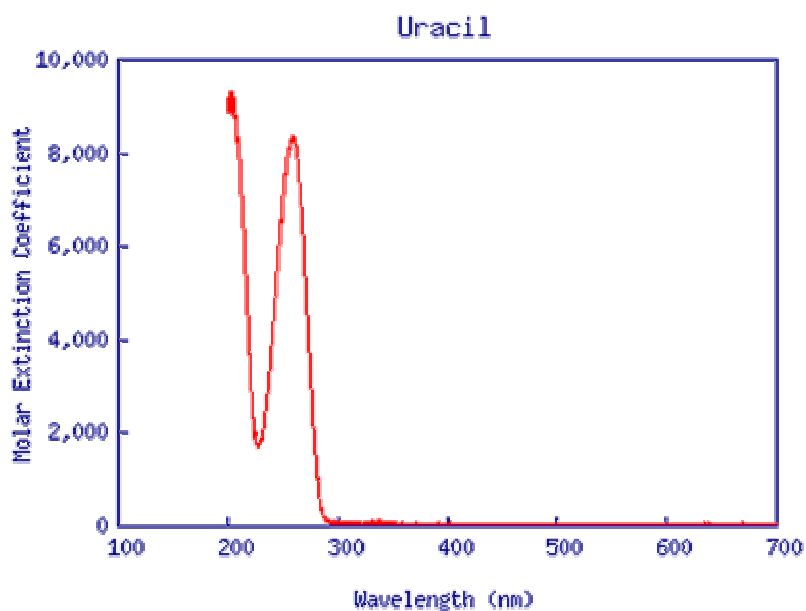


分子式為 $C_4H_4N_2O_2$ 分子量為 112.09

B. 理化性質

1. 針狀結晶
2. 熔點 $335\text{ }^\circ\text{C}$
3. 可溶於熱水，微溶於冷水
4. 難溶於醇、醚，可溶於氨水或其他鹼性溶液
5. 尿嘧啶有四個酸性位置，分別是 N1、N3、C5、C6，其彎度分別為 329.0 、 342.6 、 376.1 、 $361.5\text{ kcal mol}^{-1}$ 。(2)
6. UV 最大吸收波長大約為 $260\sim 270\text{ nm}$

如下圖：



C. 嘧啶的代謝⁽¹⁾

Pyrimidine 代謝後的最終產物十分容易的溶於水中，例如有 CO_2 、 NH_3 、 β -alanine、 β -aminoisobutyrate。在白血病中， β -aminoisobutyrate 的排泄量增加，而暴露在 X-光照射下的人體也有相同的情形，這是由於 DNA 破壞增加的緣故。

既然，Pyrimidine 代謝後的最終產物十分容易的溶於水中，則因為 pyrimidine 過量所造成臨床上可判斷的疾病甚少。在下表，列出遺傳性嘧啶代謝異常及相關酵素異常疾病的整理：

臨床疾病	酶的缺陷	疾病特徵	遺傳型態
β -氨基異丁酸尿症 (β -aminoisobutyric aciduria)	轉胺酶 (Transaminase)	無症狀：常見於亞洲人	體染色體隱性
第一型乳清酸尿症 (Orotic aciduria, type I)	1. 乳清酸磷酸核糖轉移酶(Orotate phosphoribosyltransferase) 2. 乳清酸核苷脫羧酶(Orotidylate decarboxylase)	乳清酸結晶尿症，發育不良，巨母紅血球性貧血免疫不全症。	體染色體隱性
第二型乳清酸尿症 (Orotic aciduria, type II)	乳清酸核苷脫羧酶 (Orotidylate decarboxylase)	乳清酸核苷尿症和乳清酸尿症，巨母紅血球性貧血免疫不全症。	體染色體隱性
鳥胺酸轉胺基甲醯酶缺乏症 (Ornithine transcarbamoylase deficiency)	鳥胺酸轉胺基甲醯酶	蛋白質耐受性缺乏、肝腦病變和輕微的乳清酸尿。	X性聯隱性

D. 具有尿嘧啶成分的植物

現在對於保健植物的使用率逐漸增加，對於保健植物的成分也逐漸重視，所以在成分的研究上也受到各個研究學者的注意；在近年的研究中發現有許多的植物含有尿嘧啶成分，以下做一些介紹。

臨床上對腫瘤有抑制作用且有強的抗菌作用的栝樓 (*Trichosanthes kirilowii* Maxim.) 植物中⁽³⁾，利用反覆矽膠柱層析分離純化後分離得到 12 個化合物；而尿嘧啶為其中一個成分。在野生真菌紅菇 (*Russula ochroleuca* (Pers.) Fr) 的子實體中，首次經過光譜法和化學法鑑定後分離得到 11 個化合物，其中尿嘧啶則為其中之一成分⁽⁴⁾。從具有抗細菌、真菌活性的頭孢黴素屬 AL031 真菌菌絲體中分離得到 5 個化合物⁽⁵⁾，通過理化常數測定和波譜分析鑑定它們的結構後確定尿嘧啶為其成分。在利用多種層析技術，從苦瓜果實的純抽提物中，分得 5 個化合物。而在根據 2D-NMR 在內的各種光譜數據分別鑑定出尿嘧啶為苦瓜果實的化學成分之一⁽⁶⁾。另外在臨床上用於抗病毒、抗真菌、治療各種搔癢症的中藥蛇床子 *Cnidium monnieri* (L.) Cusson. 果實水抽提物的活性成分研究中發現，可以得到 9 個化合物，尿嘧啶為首次從該植物中獲得的成分⁽⁷⁾。從四川江油附子 (*Aconitum carmichaeli* Debx.) 水溶性部分⁽⁸⁾，首次分離得到一種單體，經元素分析、光譜鑑定等數據分析顯示證明為尿嘧啶。具有清熱解毒，臨床上對病毒性肝炎有作用的十字花科植物菘藍 (*Isatis tinctoria* L.) 根中分離鑑定得到 10 種化合物，其中尿嘧啶及其他 5 種成分為首次從板藍根中得到的化合物⁽⁹⁾。

素有「仙草」、「瑞草」、「吉祥茸」之稱的靈芝，屬於真菌門下的靈芝屬，中國藥典古籍【神農本草經】將靈芝列為上品，視其為滋補強壯、扶正固本、延年益壽及鬆弛身心的珍貴藥材；也被鑑定出其成分中含有尿嘧啶⁽¹⁰⁾。

台灣金線連的成分研究結果發現⁽¹¹⁾：(1) 台灣金線連正己烷粗抽物分離得到六個化合物，包括有 pheophytin A、linoleic acid、trans-

β -carotene、2-methoxy-4-vinylphenol、4-vinylphenol 和 lutein。(2) 台灣金線連乙酸乙酯粗抽物分離得到五個化合物，包括有 pheophytin A、phytosterols、uracil、phenophytin B 和 anoectolide A。(3) 台灣金線連甲醇粗抽物分離可以得到四個化合物，包括有 phytosterols、anoectolide A、anoectolide B 和 ethyl β -D-glucopyranoside。

第二節 尿嘧啶的藥理作用

尿嘧啶是人體核酸的成分，所以可以用於生物化學研究上。對核苷酸或蛋白質缺乏而喪失的免疫功能，補充尿嘧啶可恢復免疫功能⁽¹²⁾。韓公羽⁽⁸⁾等從四川江附子(*Aconitum carmichaeli* Debx.)水溶性部分中分離得到尿嘧啶，並對蟾蜍離體心臟用 50 μ mol/L 實驗後，發現尿嘧啶具有增強心肌收縮力和加強血管收縮作用；且作用時間會隨著劑量增加而增加，且不會影響心率。與合成的尿嘧啶對照下，發現兩者的作用一致；且都不影響心率，故認為尿嘧啶是一種新型的強心成分。另外尿嘧啶能降低實驗性肌強直性小鼠的血清醛縮酶素⁽¹³⁾。由於進行性營養不良的患者，血中的血清醛縮酶濃度會上升，而尿嘧啶可是其濃度下降；所以尿嘧啶可以被用來治療進行性肌營養不良及萎縮性肌肉強直⁽¹⁴⁾。

在保護肝臟的研究方面顯示，尿嘧啶對四氯化碳引起的肝臟損傷有保護作用⁽¹⁵⁾。尿嘧啶對 allyl alcohol 和 D-galactosamine 所誘導的肝臟損傷有保護作用⁽¹⁶⁾。

人工化學合成的 pyrimidines 及他們的類似物，已廣泛的使用在臨床醫學和醫學的研究上。通常，他們會利用核苷酸當作核酸的前驅物的角色，以及細胞若要分裂，其 DNA 必先複製的這個事實來應用。例如：5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)和 5-碘去氧尿嘧啶(5-iododeoxyuridine)分別作為 thymine 和 thymidine 的類似物。其中，5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)可用來治療癌症⁽¹⁾；5-碘去氧尿嘧啶(5-iododeoxyuridine)在治療因為眼角膜感染疱疹病毒而引起的疱疹角膜炎的方面有效。⁽¹⁾

臨床上用口服尿嘧啶治療乳清酸尿症。尿嘧啶經磷酸化可生成 UMP，抑制 CPS (Carbamoyl phosphate) II 活性，從而抑制嘧啶核苷酸的從頭合成。

以尿嘧啶為基本結構衍生出來的藥物或是化合物，也都具有各種不同的臨床用途：methyluracil；實驗上及臨床上都顯示 10%的

methyluracil 軟膏可以有效的使用在治療輕度或是中度的 Temporomandibular pain syndrome (TMPDS)⁽¹⁷⁾。Eniluracil 是一個有效的，且不可逆轉的 dihydropyrimidine dehydrogenase 的去活性者，dihydropyrimidine dehydrogenase 這個酵素是 5-fluorouracil 的主要催化酵素。而使用 5-fluorouracil 與 Eniluracil 合併治療時，可以增加 5-fluorouracil 的血漿半衰期、血漿濃度及其生體可用率⁽¹⁸⁾。N-1 alkyl substituted pyrimidines 的合成及抗病毒的活性已經被確定，此類化合物包括有 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-5-vinyluracil、1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)-1-butyl]5-vinyluracil，這些化合物被發現對於 TK(+)HSV-1 及 TK(-)HSV-1 有活性⁽¹⁹⁾。在 Ftorafur(UFT) 加上低劑量的口服葉酸和 Uracil，可以降低大腸結腸炎在治療上的毒性⁽²⁰⁾。3-(4-aryl-piperazin-1-ylalkyl)-uracils 可以用來當作具有尿道選擇性(uroselective)的 α -1A receptors 的 antagonists，用來治療尿道跟攝護腺的疾病⁽²¹⁾。

尿嘧啶本身並沒有抗癌的作用，為了生化調節使 Fluorouracil 活化物分解代謝受到抑制，所以以 Fluorouracil : Uracil=4 : 1 的比例使 Fluorouracil 在腫瘤組織內的濃度增加。

N3-Phenacyl-N1-substituted uracils 3a-q 的合成是由 N1-position of N3-phenacyluracil 2 得到，兩者安眠跟鎮靜活性已經被證實⁽²²⁾。各種 Uracil 取代的衍生物，可以用來有效的抑制

poly(ADP-ribose)polymerase-1 (PARP-1)⁽²³⁾。CX-659S

((S)-6-amino-5-(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxamido)-3-methyl-1-phenyl-2,4(1H,3H)-pyrimidinedione)，是一個新開發出來的 diaminouracil 衍生物；在急性發炎的老鼠體內發現，具有非常良好的抗氧化作用。在老鼠腦的體外試驗上顯示，可以有效的對抗氫氧自由基及 peroxynitrite，而進一步的抑制老鼠腦中脂質過氧化反應⁽²⁴⁾。有幾個 N-phenylhomophthalimide 衍生物被發現與抑制 thymidine phosphorylase/ platelet-derived endothelial cell growth factor (TP/PD-ECGF)有關；而 5-nitouracil 就屬於其中的一種⁽²⁵⁾。

6-carboxyuracil，又稱為乳酸清、維他命 B13；是一種活性化合物(active compound)，出現於數種天然產物中，特別是乳品、肝臟與酵母裡。它是嘧啶代謝過程的中間產物，也是核酸嘧啶鹼基生物合成的前驅物，在蛋白質的新陳代謝上扮演重要的角色。由於它會直接被肝臟吸收，轉化成 cytosine 或尿嘧啶(uracil)，而成為建構核酸的一種成分，並能補償嘧啶成分的損失，因而能使受損的肝實質(liver parenchyma)以較快的速度再生，所謂的肝實質就是指負責滿足肝臟功能的細胞；而可以提高肝臟機能，抑制脂肪肝和肝壞死。另外在心臟的方面研究發現，可以保護梗塞的心臟以對抗局部缺血的壓力。

第三節 尿嘧啶的藥物動力學研究概況

Uracil 的藥物動力學研究很少。據江芙美⁽²⁶⁾的研究報告，大鼠經靜脈注射尿嘧啶後，血清中的尿嘧啶濃度符合二室體模式，發現尿嘧啶的排除半衰期為 155.98 ± 12.48 分鐘。口服後，尿嘧啶的生體可用率為 41.07 %。

第四節 尿嘧啶的定量法

定量分析中藥材及製劑中所含的尿嘧啶，其定量方法有高效液相層析法(High Performance Liquid Chromatography)、分光光度法、氣相層析法，其中以高效液相層析法所需的檢品少，準確性高，操作方便，是目前測定藥品含量常用的方法。

由於家兔血漿中尿嘧啶的定量法尚未有人發表，因此進行尿嘧啶在家兔體內藥物動力學的研究。本研究將探討一種專一性且靈敏度高的定量分析方法。對於藥材中的尿嘧啶，曾經有學者發表過的定量法整理如下表：

表 1. HPLC 定量法之文獻整理

作者	層析管柱	血漿檢品前處理	移動相	檢測波長(nm)	流速 (mL/min)
Lawrence K. House 等 ⁽²⁷⁾	μBondapak C ₁₈	無	20 mM acetic acid with 1%ACN	275	0.9
H. Kazoka ⁽²⁸⁾	Zorbax SB-C ₁₈	無	2.4%(v/v) water in ethyl acetate	Photodiode array detector(λ=254 nm)	1.0
Madhu B. Garg 等 ⁽²⁹⁾	C ₁₈ Spherisorb ODS2	Isopropranol-ethyl acetate(15:85, v/v) 萃取法	0.01 M KH ₂ PO ₄	257	0.6
E. Gamelin 等 ⁽³⁰⁾	C ₁₈ Spherisorb ODS2	Isopropranol-ethyl acetate(15:85, v/v) 萃取法	0.01 M phosphate buffer (pH=3.0)	260	1.3

黃紅兵等 ⁽³¹⁾	ODS C ₁₈ column	Isopropanol-ethyl acetate(15:85, v/v) 萃取法	0.01mol.L ⁻¹ KH ₂ PO ₄ -H ₃ PO ₄ 緩衝液 (pH=3.0)	204	0.5
江芙美 ⁽²⁶⁾	Mightysil-RP-18GP	Acetonitrile	Methanol:0.1% 磷酸水=1:99	270	1.0

第五節 研究動機與目的

1. 研究動機

最近幾年來人們發現大部份的化學合成藥劑都有副作用，且其使用也都有侷限性，所以開始朝向使用保健食品來維護自己的健康；而各種的台灣民間植物就漸漸的被發展及研究。Uracil 在許多植物存在，近來發現有保肝作用，但藥物動力學的研究很少，所以進行本項實驗。

本實驗是以尿嘧啶(Uracil)在家兔體內進行藥物動力學及生體可用率研究。經由給藥後的血漿中濃度，進行藥物動力學分析以了解體內變化過程及做生體可用率的評估。

希望藉著本實驗所得到藥物動力學參數，可以為將來不管是藥理學或是臨床上的應用，提供有用的資訊及參考。

2. 研究目的

A. 建立尿嘧啶在血漿檢品中定量之高效液相層析方法

尋找一個簡單、快速、靈敏度高且具有專一性的高效液相層析法可測定血漿檢品中尿嘧啶的含量。以應用在家兔體內的藥物動力學研究。

B. 尿嘧啶之藥物動力學研究

探討家兔在經由靜脈注射及口服給藥後，在家兔體內的藥物動力學特性。經定量後得到血中濃度的變化，再進行藥物動力學相關模式的評估，而求得一連串的藥物動力學參數，以評估其在家兔體內隨時間變化及吸收、分佈、排除等動態過程。

C. 尿嘧啶之生體可用率研究

在經由靜脈及口服給予尿嘧啶後，分析得到的藥物動力學參數，利用這些藥物動力學參數來了解尿嘧啶口服給藥的吸收情形；藉由充分了解這些結果之後，可以在未來在製劑學與相關藥物動力學研究做為參考的依據。

第三章 實驗材料及方法

第一節 實驗材料

1. 藥品及試劑

尿嘧啶 (Uracil)	美國 Sigma Chemical Co.
四氫尿嘧啶 (4-Cholruracil)	美國 Sigma Chemical Co.
肝素鈉 (Heparin Sodium)	Novo Industrlal Co. 5000 I.U/mL
醋酸 (Acetic acid)	Merck Co.
甲醇 (Methanol)	Merck Co.
乙腈 (Acetonitrile)	Merck Co.
氫氧化鈉 (Sodium hydroxide)	德國 R.D.H. Co.
異丙醇	Merck Co.
乙酸乙酯 (Ethyl Acetate)	Merck Co.
藥用酒精 (Ethanol)	台灣菸酒公賣局
生理食鹽水	信東化學工業公司
氮氣	源吉氮氣

※使用於高效液相層析儀之試劑均為 HPLC 級

2. 儀器及材料

A. 高效液相層析儀之裝備

幫浦(Pump):	Jasco Model PU-980
偵測器(Detector):	Jasco Model UV-970 Intelligent UV/VIS
積分儀(Integrator):	Scientific InformLation Service CorporationIntegrator
自動取樣機(Auto Sampler):	Jasco Model AS-851

印表機(Printer): Hewell Packard LaserJet 1200 series
層析管(Column): Merck LiChrospHer 100 RP-18e column
(250x4mm)(5 μ m)
保護管柱(Pre-column): Merck LichrospHer 100 RP-18
Endcapped (5 μ m)

B. 實驗室裝備

電子天平: Sartorius Type 1801
減壓抽氣機: Eyela, Aspirator A-2S, Tokyo, Rikak Co.
微量移液管(Micropipette):
Socorex Transferpette: 1-10 μ l
20-200 μ l
100-1000 μ l
試管振盪器: Maxi Mix II Thermolyne Type 37600 Mixer
高速離心機: Hettich Zentrigen D-7200 Tuttlingen ,
Germany(5000rpm)
酸鹼測定儀(PH meter): Suntex Microprocessor pH meter
Model-2200
純水製造裝置: RiOs, TK-5/ZROS6016Y, Millipore Co.
and Milli-Q, FM-I2OD/ZMQS600, Millipore Co.
超音波振盪器: BRANSON 5510, BRANSON ULTRASONIC
Co., USA
吹氣濃縮裝置: Organomation Associates INC. Model No.112.

C.動物實驗所用器材

胃管(內徑1.5mm)：季勗儀器公司

針筒過濾器0.22 μ m：PRO-X™(Lida)

注射針及針筒：Terumo Co.Tokyo,Japan

1mL Syringe 25_G x 5/8"(0.5x16mm)

2.5mL Syringe 24_G x 1"(0.55x25mm)

10mL Syringe 22_G x 1 1/2"(0.70x38mm)

靜脈置留針及針塞：Terumo Co.Tokyo,Janan

IV Catheter 22_G x 1"

Injection Plug,0.2mL

家兔固定器：信德儀器公司

張口器、棉花、3M膠帶、計時器

3. 溶液製備

(1)尿嘧啶的標準溶液 (Uracil stock standard solution)

精稱尿嘧啶標準品 2 mg 置入一個 20 mL 的定量瓶中，添加純水至刻度，即得濃度 100 μ g/mL 之尿嘧啶標準溶液。使用時再以純水稀釋成所需濃度之標準溶液。

(2)內部標準品(internal standard solution)

精稱 4-氯尿嘧啶(4-chlorouracil) 3.75 mg 置於 100 mL 定量瓶中，先加入適量純水使之溶解，再加入純水至刻度，可得濃度為 37.5 μ g/mL 4-氯尿嘧啶之標準溶液。

(3) 肝素鈉溶液(Heparin sodium solution)

精取肝素鈉注射液(5,000 IU/mL) 2.5 mL加於500 mL生理食鹽水中，即得25 IU./mL抗凝血肝素鈉溶液。

(4) 尿嘧啶口服溶液

精稱所需的尿嘧啶後，再加入純水混合即得所需之口服溶液。

(5) 尿嘧啶靜脈注射液(Uracil solution for intravenous injection)

精稱所需的尿嘧啶後，再加入純水混合，再經 0.22 μm 過濾薄膜過濾除菌即得。

第二節 實驗方法

1.尿嘧啶在血漿檢品中的 HPLC 定量方法

A. HPLC 分析條件

層析管(Column)	Merck LiChrospHer 100 RP-18e column (250x4mm) endcapped,(5 μ m)
保護管柱(Pre-column)	Merck LichrospHer 100 RP-18 Endcapped (5 μ m)
檢測波長	UV 270 nm
流速	0.6 mL/min
注入量	100 μ L
分析時間	22 分鐘
移動相	MeOH : ACN : 0.1% acetic acid/water =3 :0.5 : 96.5 (用磷酸調 pH=2.8)
內部標準品	4-氯尿嘧啶(4-Chlorouracil)

B. 血漿檢品之前處理

精確量取血漿檢品 180.0 μ L 置入試管中，加入 20 μ L 之內部標準品 4-氯尿嘧啶、及 20 μ L 之尿嘧啶，先加入 150 μ L NaOH 以試管震盪器振盪 30 秒充分混合後，再加入 600 μ L 異丙醇-乙酸乙酯(15 : 85, V/V)再以試管震盪器振盪 30 秒充分混合後使血漿蛋白沉澱。以 3500 rpm 離心 20 分鐘。吸取上清液 600 μ L 置於試管中，此步驟重複 3 次後以氮氣噴吹至乾，以 200 μ L 之純水溶解，接著以 HPLC 分析。

C. 檢量線之製作

精確量取血漿檢品 180.0 μL 置入試管中，加入 20 μL 之內部標準品 4-氯尿嘧啶、及 20 μL 之尿嘧啶，先加入 150 μL NaOH 以試管震盪器振盪 30 秒充分混合後，再加入 600 μL 異丙醇-乙酸乙酯(15:85, V/V)再以試管震盪器振盪 30 秒充分混合後使血漿蛋白沉澱。以 3500rpm 離心 20 分鐘。吸取上清液 600 μL 置於試管中，此步驟重複 3 次後以氮氣噴吹至乾，以 200 μL 之純水溶解，接著以 HPLC 分析。由圖譜所得之 尿嘧啶與 4-氯尿嘧啶 波峰之面積比與理論濃度作線性回歸以製作檢量線。

表 2. 尿嘧啶標準濃度血漿檢品溶液之製備

標準溶液濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	取量 (20 μL)	空白血漿體積 (μL)	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
800.00	20	180	80.00
100.00	20	180	10.00
50.00	20	180	5.00
25.00	20	180	25.0
6.25	20	180	0.63
3.13	20	180	0.31
1.56	20	180	0.16
0.78	20	180	0.078

D. 回收率試驗(Recovery)

尿嘧啶溶液分別添加在等體積的空白血漿和空白溶液(Methanol)中，目的在比較經血漿檢品之前處理步驟後檢出量之差異。實驗步驟如同校正曲線製作中對檢品的處理過程。回收率可由下列公式求得：

$$\text{Recovery}(\%) = \frac{\text{Plasma standrd peak area ratio}}{\text{Methanol standrd peak area ratio}} \times 100\%$$

E. 精確性(Accuracy)試驗

為了確認尿嘧啶定量方法的精確性，因此做同日內(Intraday)及間日內(Interday)的精確性比較。

1. 同日內試驗(Intraday test)

以不同濃度之含尿嘧啶標準濃度血漿檢品，分別於同一日的早上、中午、晚上各取 20 μL 濃度為 50、6.25、1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之含尿嘧啶標準液，加入 180 μL 之空白血漿中，震盪 30 秒混合均勻，即得濃度為 5、0.63、0.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之尿嘧啶血漿檢品(n=3)，計算各個校正濃度之平均值(Mean)、標準偏差(S.D.)、變異係數(C.V.)。

2. 間日內試驗(Interday test)

以不同濃度之含尿嘧啶標準濃度血漿檢品，分別於不同天的早上、中午、晚上各取 20 μL 濃度為 50、6.25、1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之含尿嘧啶標準液，加入 180 μL 之空白血漿中，震盪 30 秒混合均勻，即得濃度為 5、0.63、0.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之尿嘧啶血漿檢品(n=3)，計算各個校正濃度之平均值(Mean)、標準偏差(S.D.)、變異係數(C.V.)。

F. 靈敏度試驗(Sensitivity)

最低偵測極限試驗(Limit of Detection, LOD)，是不斷稀釋尿嘧啶至 3 種低濃度 390、195、97.5 ng/mL，以 HPLC 分析求得 3 組波峰高度數據與對照的 3 種低濃度做線性回歸，可得各組回歸方程式截距之標準偏差(σ)和總回歸方程式之斜率(S)，依 ICH 計算求得最低偵測極限 ($LOD=3.3x\sigma/s$) 與最低準確測量濃度 (Limit of Quantitation, $LOQ=10x\sigma/s$)，最後再將計算求得的 LOQ 依檢量線之製作，採標準血漿檢品製備方法分析之。

G. 安定性試驗

(1) -30°C 下尿嘧啶在家兔血漿中之安定性試驗

取 20 μL 濃度為 50、6.25、1.56 $\mu\text{g/mL}$ 之尿嘧啶標準液，加入 180 μL 之空白血漿中，震盪 30 秒以混合均勻，即得濃度為 5、0.63、0.16 $\mu\text{g/mL}$ 之尿嘧啶血漿檢品，將其分裝後置於 -30°C 的冷凍櫃中，於第 0、1、3、6、10、15、21 天分別取出 1 組檢品($n=3$)。解凍後，依血漿檢品之前處理方法處理後，以 HPLC 分析，並紀錄濃度變化之情形。

(2) 25°C 下尿嘧啶在家兔血漿中之安定性試驗

取 20 μL 濃度為 50、6.25、1.56 $\mu\text{g/mL}$ 之尿嘧啶標準液，加入 180 μL 之空白血漿中，震盪 30 秒以混合均勻，即得濃度為 5、0.63、0.16 $\mu\text{g/mL}$ 之尿嘧啶血漿檢品，將其分裝後置於室溫 25°C 下，於第 0、1、3、6、12、24、48 小時分別取出 1 組檢品 ($n=3$)。解凍後，依血漿檢品之前處理方法處理後，以 HPLC 分析，並紀錄濃度變化之情形。

2. 尿嘧啶(Uracil)在家兔體內之藥物動力學實驗

A. 實驗設計

取雄性家兔六隻，體重介於 1.7 至 3.1 公斤之間，每隻家兔以尿嘧啶標準溶液靜脈注射及口服投藥。實驗家兔之重量、給藥順序及劑量標示於表 3，每次給藥後至下次給藥，時間須相隔一週以上。

表 3. 實驗家兔之體重

※口服

Rabbit No.		NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6
給藥劑量 Weight (kg)	2 mg/kg	3.1	3.0	3.0	3.1	1.9	1.9
	10mg/kg	2.7	2.7	3.2	3.2	1.9	2.4
	100mg/kg	2.9	2.8	3.1	3.1	1.9	2.5

平均約為 2.69 ± 0.49 公斤

※靜脈注射

Rabbit No.		NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6
給藥劑量 Weight (kg)	2mg/kg	1.7	2.9	2.7	3.1	2.7	2.4
	10mg/kg	2.8	2.4	1.9	2.3	3.0	2.8
	100mg/kg	3.0	2.9	2.8	2.7	2.8	3.0

平均約為 2.66 ± 0.38 公斤

表 4. 實驗家兔給藥之劑量

尿嘧啶指 標成分溶 液	靜脈注射及口服		
	一倍	五倍	五十倍
	2 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg

B. 給藥法及檢品處理

(1) 靜脈注射給藥

實驗前家兔先秤重紀錄實際體重以便配製給藥劑量。實驗時將家兔關入限制籠內，再將兩耳之毛剔除，接著以燈泡照射兔耳使其兔耳血管擴張，再以酒精棉消毒並助血管擴張，隨即插入靜脈滯留針，將針塞 (Injection plug) 注滿肝素鈉溶液約 1 mL，以防靜脈滯留針內之血液凝固。

投藥前先抽取 1.5mL 之空白血液。靜脈注射給藥時由另一耳投藥，分別於投藥後 5、10、15、20、25、40、55、70、85、105、120、150、180、210、240 分鐘由靜脈滯留針之針塞抽取 1.5 mL 血液，置於真空採血管中，以 3500 rpm 轉速離心 20 分鐘後取出上層血漿，即保存於-30 °C 之冷凍櫃中。

(2) 口服給藥

實驗前家兔先秤重紀錄實際體重以便配製給藥劑量。實驗時將家兔關入限制籠內，再將兩耳之毛剔除，接著以燈泡照射兔耳使其兔耳血管擴張，再以酒精棉消毒並助血管擴張，隨即插入靜脈滯留針，將針塞 (Injection plug) 注滿肝素鈉溶液約 1 mL，以防靜脈滯留針內之血液凝固。

口服給藥前家兔至少禁食 24 小時，實驗期間亦不進食。以張口器將家兔之口張開後，以胃管插入給藥。採血點為給藥後之 15、30、45、60、75、90、105、120、150、180、240、300、360 分鐘由靜脈滯留針之針塞抽取 1.5 mL 血液，置於真空採血管中，以 3500rpm 轉速離心 20 分鐘後取出上層血漿，即保存於-30 °C 之冷凍櫃中。

D. 數據處理及統計方法

各種給藥法所取得的血漿檢品經 HPLC 法定量後，依據標準曲線換算尿嘧啶(Uracil)之血中濃度數據後，利用電腦程式 WINNONLIN 計算，分別利用配適後的非分室模式及非線性的藥物動力學理論來計算相關的藥物動力學參數。

第四章 結果與討論

1. 尿嘧啶在血漿檢品中之 HPLC 定量法

本研究的定量分析法，是將含指標成分標準品之血漿檢品，及使用標準品給藥後取得之血漿檢品，每 200 μL 血漿檢品中含有尿嘧啶及內部標準品 37.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 四氯尿嘧啶(4-Clorouracil)，再利用異丙醇-乙酸乙酯(15:85, V/V)進行去蛋白質處理，取上清液以氮氣吹至乙酸乙酯完全逸離後，以適當移動相溶解之；再注入 HPLC 分析。經過多次試驗與修正後，找出最適當的定量分析條件。圖 1.為空白血漿、標準濃度血漿檢品及家兔靜脈注射後血漿檢品之層析圖。

在層析圖中可以發現台灣金線連指標成分尿嘧啶波峰與內部標準品四氯尿嘧啶(4-Chlorouracil)波峰之間清晰且穩定，較無干擾性波峰，可見本方法的分離效果良好，有專一性。在本法中所製備的血漿檢品之檢量線尿嘧啶濃度範圍在 0.0078~80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之間，與 Peak Area Ratio 間其決定係數(R^2)亦達到 0.999 以上，顯示在此範圍內有良好的線性關係(圖 2.)。

本方法的偵測極限(Limit of Detection)，經逐步稀釋尿嘧啶在同一標準溶液分析後，其尿嘧啶的偵測極限值為 0.193 ng/mL 。在回收率方面($n=6$)，尿嘧啶平均可達到 95.14 % (表 5.)。以製備血漿檢品檢量線之標準液，取六次標準液獨立檢品測得指標成分之定量極限(Limit of quantitation)，尿嘧啶的最低濃度為 0.583 ng/mL 。於同日內(Intraday)及間日內(Interday)的精確性評估，尿嘧啶的變異係數(C.V.)皆低於 10 % (表 6~7)。

含有尿嘧啶成分之標準血漿檢品液，以三種濃度為 5.0、0.63、0.16

µg/mL 於 25°C 及 -30°C 下進行安定性試驗，結果如表 9~10 及圖 3~4 所示；尿嘧啶在 25°C 恆溫貯存 48 小時內及 -30°C 恆溫貯存 21 天內，經分析後兩者濃度無明顯下降，其安定性較佳。

由前述幾項分析確效試驗可知，本研究對於含尿嘧啶成分之血漿檢品所開發出的高效液相層析法，為一靈敏、簡便、再現性及精確性良好之定量分析法，可以供台灣金線連進行藥物動力學相關研究及臨床藥物監測之分析應用。

2. 尿嘧啶在家兔體內之藥物動力學

為了探討研究尿嘧啶在家兔體內的藥物動力學及在體內代謝的過程，利用標準品作為血漿中定量的指標成分，以便獲得藥物動力學之相關資訊。以三種不同劑量靜脈注射及口服給藥，經由試驗設計在家兔進行給藥研究。血漿檢品中指標成分濃度由前述開發之 HPLC 定量法，將分析所得之血漿中濃度數據，利用 WINNOLIN PROGRAM 以非室模式及非線性模式進行藥物動力學分析。

A. WINNOLIN PROGRAM 非室模式進行之藥物動力學分析

(1) 靜脈注射

六隻家兔分別經由耳靜脈注射給予劑量 2 mg/kg、10 mg/kg、100 mg/kg 的尿嘧啶後，經分析後所得的血漿中濃度經時變化數據，如表 11~13 與圖 5~7 所示。而家兔靜脈注射三種不同劑量的尿嘧啶 (Uracil) 後的平均血漿濃度值則列於表 14。

經過 WINNOLIN PROGRAM 進行曲線配適後，可以發現尿嘧啶在非室模式下，可以得到良好的結果。其所得之藥物動力學數據分別列於表 19~21。

a. 給藥劑量為 2 mg/kg 時

數據經 WINNOLIN 程式處理後，平均半衰期($t_{1/2}$)為 13.09 ± 2.45 min，平均穩定狀態分布體積(VD_{ss})為 0.41 ± 0.045 L；平均曲線下面積($AUC_{0-\infty}$)為 205.1 ± 44.71 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ 。Cmax 為 18.06 ± 5.156 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

b. 給藥劑量為 10 mg/kg 時

數據經 WINNOLIN 程式處理後，平均半衰期($t_{1/2}$)為 22.8 ± 1.36 min，平均穩定狀態分布體積(VD_{ss})為 0.393 ± 0.058 L；平均曲線下面積($AUC_{0-\infty}$)為 787.5 ± 125.6 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ 。Cmax 為 13505 ± 33.94 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

c. 給藥劑量為 100 mg/kg 時

數據經 WINNOLIN 程式處理後，平均半衰期($t_{1/2}$)為 33.04 ± 2.409 min，平均穩定狀態分布體積(VD_{ss})為 2.407 ± 0.107 L；平均曲線下面積($AUC_{0-\infty}$)為 6255 ± 324.8 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ 。Cmax 為 167.4 ± 6.876 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

(2) 口服給藥

六隻家兔分別經由口服給予劑量 2 mg/kg、10 mg/kg、100 mg/kg 的尿嘧啶後，經分析後所得的血漿中濃度經時變化數據，如表 15~17 與圖 8~10 所示。而家兔口服三種不同劑量的尿嘧啶(Uracil)後的平均血漿濃度值則列於表 18。

經過 WINNOLIN PROGRAM 進行曲線配適後，可以發現尿嘧啶在非室模式下，可以得到良好的結果。其所得之藥物動力學數據分別列於表 22~24。

a. 給藥劑量為 2 mg/kg 時

數據經 WINNOLIN 程式處理後，平均半衰期($t_{1/2}$)為 106.4 ± 15.99 min，平均穩定狀態分布體積(VD_{ss})為 4.046 ± 0.288 L；平均曲線下面積($AUC_{0-\infty}$)為 198.5 ± 31.23 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ 。且約在口服後 30 分中後達到最高血中濃度，其最高血中濃度為： 1.165 ± 0.299 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

b. 給藥劑量為 10 mg/kg 時

數據經 WINNOLIN 程式處理後，平均半衰期($t_{1/2}$)為 211.5 ± 76.17 min，平均穩定狀態分布體積(VD_{ss})為 95.72 ± 0.994 L；平均曲線下面積($AUC_{0-\infty}$)為 819.4 ± 169.8 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ 。且約在口服後 30 分中後達到最高血中濃度，其最高血中濃度為： 5.454 ± 1.138 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

c. 給藥劑量為 100 mg/kg 時

數據經 WINNOLIN 程式處理後，平均半衰期($t_{1/2}$)為 49.28 ± 5.174 min，平均穩定狀態分布體積(VD_{ss})為 2.417 ± 0.449 L；平均曲線下面積($AUC_{0-\infty}$)為 7975 ± 583.5 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ 。且約在口服後 35 分中後達到最高血中濃度，其最高血中濃度為： 64.1 ± 3.786 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

B. 以非線性(Nonlinear)模式進行之藥物動力學分析

有一些藥物的吸收、分佈、生體內轉變及排泄的過程，牽涉到酵素或是載媒系統，對於某些在治療水平給藥的藥物，這些特化的過程可能轉為飽和的狀態。因此這些藥物就被證實為屬於非線性的藥物動力學。

而顯示飽和動力學的藥物通常會表現出幾個特性：

- 1.藥物的排除不遵循簡單的一階次動力學，也就是說它的排除動力學是屬於非線性的。
- 2.由於一個酵素系統的飽和，排除半衰期會隨著劑量增加而增加。
- 3.AUC 與可用藥物的量不成正比關係。
- 4.一個藥物的代謝產物的組成可能受到劑量改變的影響。

造成非線性藥物動力學的因素很多，包括有下列幾個原因：腸壁中可飽和的輸送、可飽和的與血漿蛋白質結合、腎小管的重吸收、腎小管的主動分泌、尿液 pH 值改變、或是可飽和的代謝、代謝產物的抑制、腸肝再循環等等。

非線性的藥物動力學過程通常用 Michaelis-Menten 方程式來表達。本藥物尿嘧啶在給藥後的曲線圖顯示可能達到飽和的狀態，且符合非線性的特性，所以利用非線性的藥物動力學來討論。

六隻家兔分別經由耳靜脈注射給予劑量 2 mg/kg、10 mg/kg、100 mg/kg 的尿嘧啶後，經分析後所得的血漿中濃度經時變化數據，如表 11~13 與圖 5~7 所示。

六隻家兔分別經由口服給予劑量 2 mg/kg、10 mg/kg、100 mg/kg 的尿嘧啶後，經分析後所得的血漿中濃度經時變化數據，如表 15~17 與圖 8~10 所示。

在利用 Michaelis-Menten 方程式來估算尿嘧啶的非線性動力學參數後，其所得的藥物動力學參數列於表 25~30 整理如下：

(1)靜脈注射給藥

	2mg/kg	10mg/kg	100mg/kg
V _{max} ($\mu\text{g}/\text{mL per hr}$)	0.012 \pm 0.006	0.01 \pm 0.006	0.603 \pm 0.506
K _M ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	3.394 \pm 1.06	4.86 \pm 3.504	20.32 \pm 19.7

(2)口服給藥

	2mg/kg	10mg/kg	100mg/kg
V _{max} ($\mu\text{g}/\text{mL per hr}$)	0.004 \pm 0.003	0.013 \pm 0.009	0.205 \pm 0.278
K _M ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	1.888 \pm 1.533	5.707 \pm 3.415	12.11 \pm 13.69

江芙美對大鼠的口服 100 mg/kg 及 200 mg/kg 給藥後的藥物動力學參數以一室模式處理後分別為 $\text{AUC}=14971.15\pm 1753.27$ 和 $27089.64\pm 2276.42 \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ ， T_{max} 為 64.30 ± 4.90 和 60.31 ± 4.64 min， C_{max} 為 60.09 ± 3.41 和 $112.38\pm 4.46\mu\text{g}/\text{mL}$ 。而本實驗的結果與其比較後，發現大部分的參數差異甚大。

3.尿嘧啶在家兔體內的生體可用率

為了了解家兔體內口服尿嘧啶後的生體可用率，於是利用口服給藥後的平均曲線下面積(AUC_{0-∞})數據與靜脈注射後的平均曲線下面積(AUC_{0-∞})數據進行計算，公式如下：

$$\text{絕對生體可用率(F)} = \frac{\text{AUC}_{0-\infty\text{ORAL}} / \text{DOSE}_{\text{ORAL}}}{\text{AUC}_{0-\infty\text{I.V.}} / \text{DOSE}_{\text{I.V.}}}$$

經過上述公式計算絕對生體可用率，結果如表 31 所示：

尿嘧啶在家兔體內的口服 2 mg/kg、10 mg/kg 及 100 mg/kg 後計算所得絕對生體可用率分別為 98.5 %、103.4 %及 135.9 %。先前江芙美在大鼠研究得到的絕對生體可用率為 41.07 %。可能是實驗動物不同及抽血設計不同所造成差異。

第五章 結論

1.尿嘧啶在血漿檢品中之 HPLC 定量法

尿嘧啶利用 Merck LiChrospher 100 RP-18e column (250x4 mm) 層析管柱，以四氯尿嘧啶(4-chlorouracil)溶液為內部標準品，使用 UV 波長在 270nm 下偵測，分析後可得良好的分析效果。尿嘧啶的標準溶液濃度在 0.078125~80 µg/mL 之間，與 Peak area ratio 間有良好的線性關係($R^2=0.999$ 以上)。於同日內(Intraday)及間日內(Interday)所作的精確性評估，與定量極限試驗，其變異係數(C.V.)皆低於 10%，故本法足以應用於藥物動力學及相關的分析研究上。

2.尿嘧啶在口服及靜脈注射後之藥物動力學研究

尿嘧啶在口服及注射給藥後，在家兔體內的經時變化，經由血中藥物濃度及曲線圖的對照之下發現，尿嘧啶可能會在體內達到飽和的狀態，所以利用非線性的藥物動力學分析的結果顯示，在家兔體內，口服給藥及靜脈注射給藥後，其最大排除速率會隨著劑量增加而增加。

3.尿嘧啶在家兔體內之生體可用率

家兔經口服給予尿嘧啶之後經由血中藥物濃度測定及藥物動力學分析之結果，發現在家兔體內，尿嘧啶的生體可用率均達到 98.5%以上。

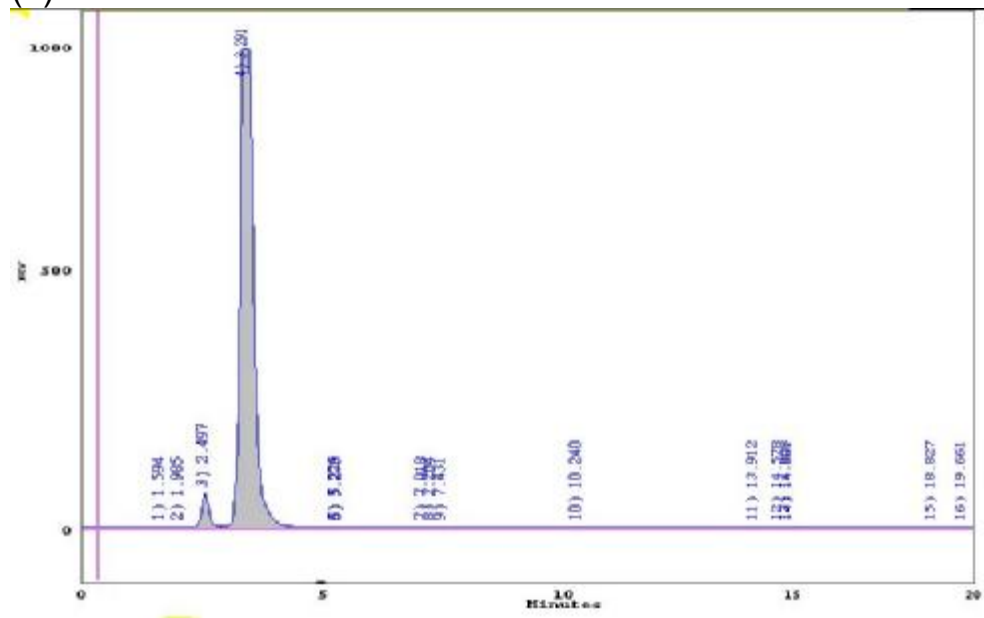
由以上的結果表示，尿嘧啶口服的吸收良好，所以在製劑學上，是一個好的參考，可以當作往後在研發劑型上的一個參考。

圖 1. 尿嘧啶在血漿中之高效液相層析圖

(1) 空白溶液

(2) 給藥後的尿嘧啶之定量層析圖

(1)



(2)

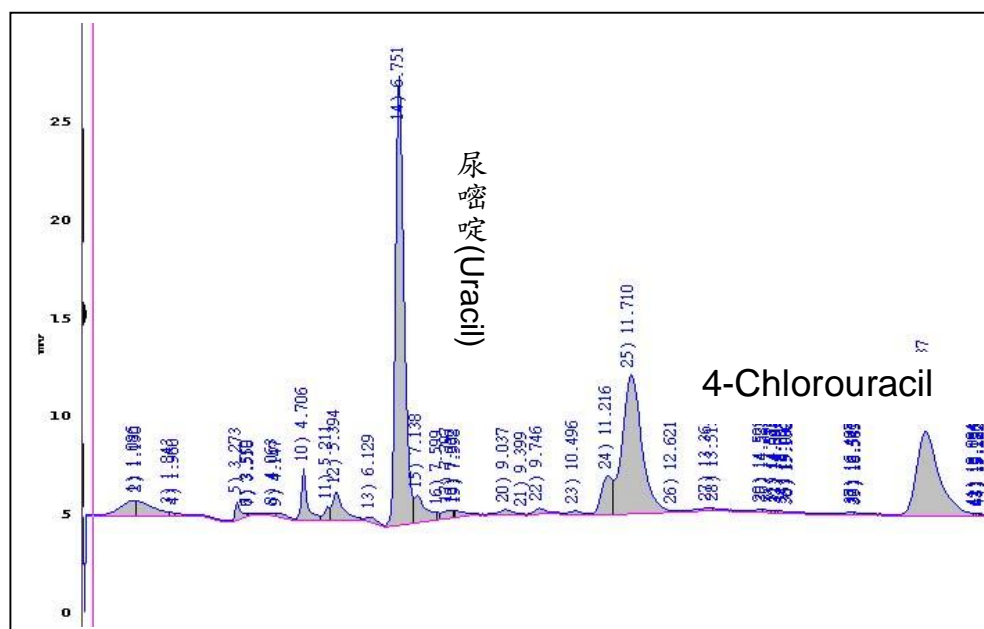


圖 2. 尿嘧啶(Uracil)之定量標準曲線(0.078125~80 µg/mL)

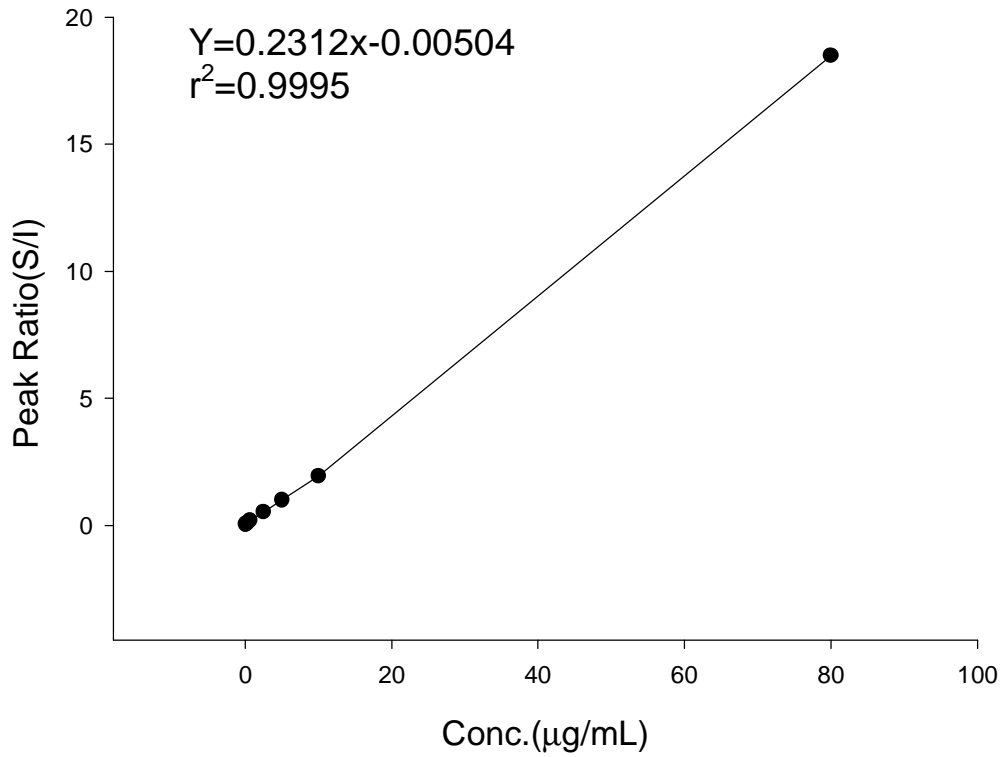


圖 3. 尿嘧啶(Uracil) 於 -30°C 下在家兔血漿中之安定性試驗

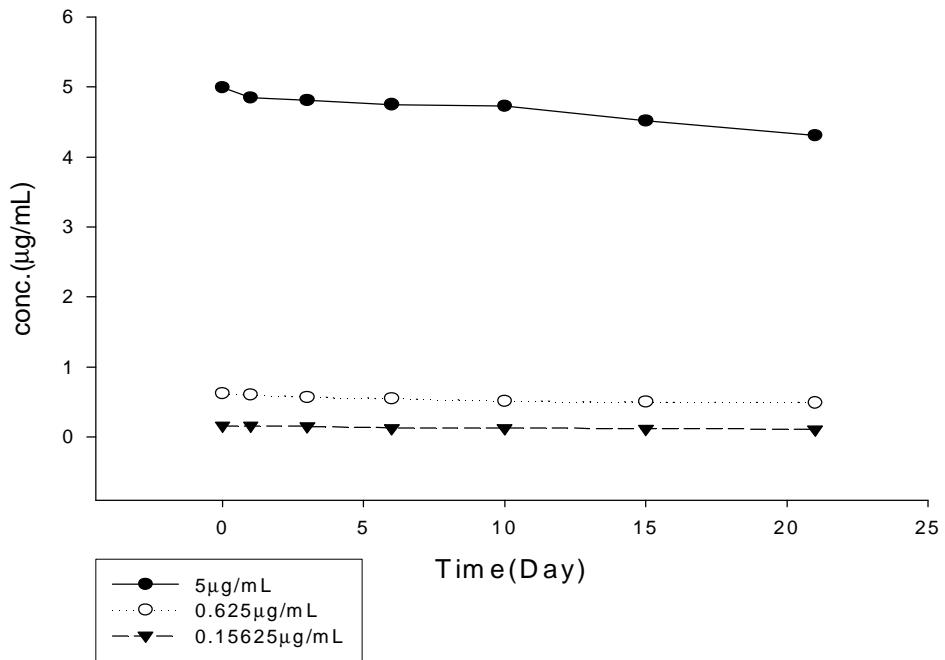


圖 4. 尿嘧啶(Uracil) 於 25°C 下在家兔血漿中之安定性試驗

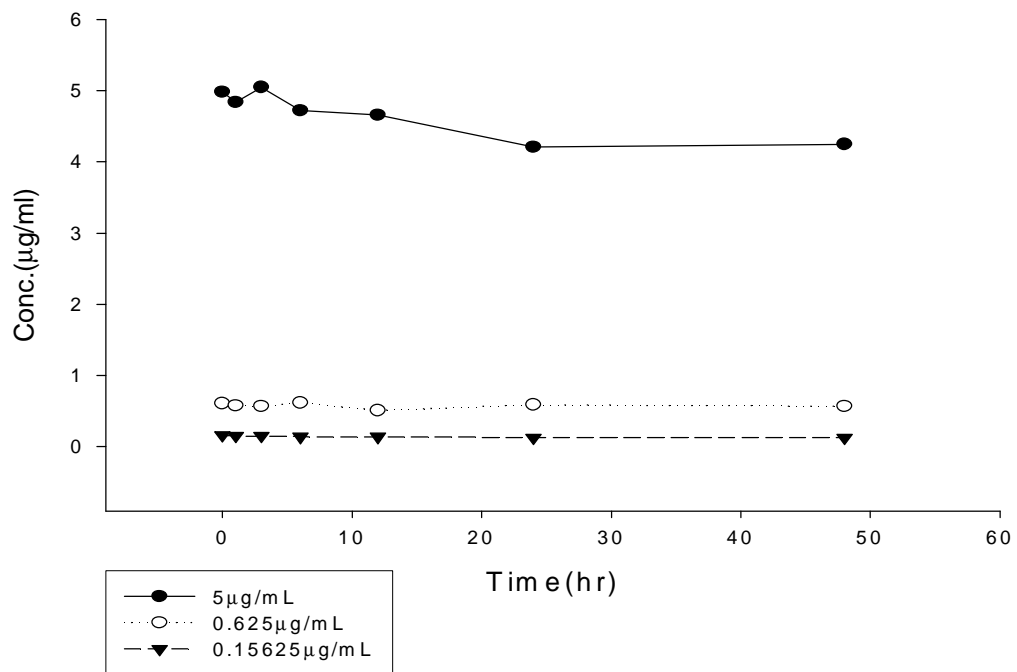


表 5. 尿嘧啶(Uracil)在家兔血漿中 HPLC 定量法之回收率試驗

Recovery Test(%) n=6	
Conc. (μ g/mL)	Uracil Recovery (%)
80.00	95.14 \pm 1.52
10.00	95.14 \pm 1.66
5.00	97.43 \pm 0.98
2.50	92.21 \pm 1.12
0.63	94.39 \pm 1.05
0.31	92.85 \pm 1.22
0.16	96.32 \pm 0.88
0.78	97.77 \pm 0.94

表 6. 尿嘧啶(Uracil)在家兔血漿中 HPLC 定量法之同日內(Interday) 試驗

conc (μ g/ml)	1	2	3	mean	sd	cv	error
	5.26	4.76	5.06				
5.00	4.94	4.90	4.90	5.06	0.22	4.38	1.2
	4.25	5.25	4.76				
	0.76	0.73	0.67				
0.63	0.65	0.66	0.66	0.69	0.05	0.69	10.4
	0.62	0.64	0.65				
	0.18	0.15	0.18				
0.16	0.16	0.16	0.19	0.17	0.02	8.93	8.8
	0.15	0.17	0.16				

表 7.尿嘧啶(Uracil)在家兔血漿中 HPLC 定量法之同日內(Intraday)試驗

Conc (ug/ml)						day					mean	sd	cv	error
			1			2			3					
	早	4.92	4.61	5.29	4.85	5.30	5.20	4.79	5.03	5.28				
5	中	4.84	5.29	4.82	4.81	5.25	4.91	5.23	5.06	5.30	4.99	0.24	4.72	0.2
	晚	5.21	4.64	4.86	4.91	4.75	4.96	4.82	4.55	5.07				
	早	0.62	0.63	0.62	0.63	0.59	0.68	0.63	0.59	0.68				
0.63	中	0.65	0.66	0.64	0.68	0.56	0.67	0.69	0.56	0.66	0.63	0.04	7.09	0.8
	晚	0.66	0.64	0.63	0.60	0.54	0.58	0.66	0.53	0.65				
	早	0.14	0.15	0.17	0.18	0.16	0.17	0.14	0.15	0.17				
0.16	中	0.15	0.15	0.15	0.16	0.14	0.13	0.15	0.15	0.14	0.15	0.01	7.40	4
	晚	0.14	0.15	0.16	0.13	0.14	0.14	0.13	0.13	0.14				

表 8. 尿嘧啶(Uracil)在家兔血漿中 HPLC 定量法的定量極限試驗
(Limit of Quantitation)

Uracil (ng/ml)	peak hight		
	A	B	C
390	0.792	0.84	0.72
195	0.41	0.5	0.38
97.5	0.23	0.26	0.24

總回歸方程式： $Y = 524X - 27$

取 A、B、C calibration 截距之標準偏差 $\sigma = 0.00306$

總回歸方程式之斜率 $S = 524$

依 ICH

$LOD = 3.3 * \sigma / s = 0.193 \text{ ng/ml}$

$LOQ = 10 * \sigma / s = 0.583 \text{ ng/ml}$

表 9. 尿嘧啶(Uracil) 於 25°C 下在家兔血漿中之安定性試驗

Time (hr)	µg/mL		
	5	0.625	0.15625
0	4.98	0.61	0.16
1	4.84	0.58	0.15
3	5.05	0.57	0.15
6	4.72	0.62	0.14
12	4.66	0.51	0.14
24	4.21	0.59	0.13
48	4.25	0.57	0.13
Mean	4.67	0.58	0.14
S.D.	0.33	0.04	0.01
C.V.	7.10	6.19	7.78
Error(%)	6.6	7.2	10.4

表 10. 尿嘧啶(Uracil) 於 -30°C 下在家兔血漿中之安定性試驗

Time (DAY)	µg/mL		
	5	0.625	0.15625
0	4.99	0.62	0.16
1	4.85	0.60	0.16
3	4.81	0.57	0.15
6	4.75	0.55	0.13
10	4.73	0.51	0.13
15	4.52	0.50	0.12
21	4.31	0.49	0.11
Mean	4.71	0.55	0.14
S.D.	0.23	0.05	0.02
C.V.	4.80	9.26	14.41
Error(%)	5.8	12	10.4

表 11. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (劑量 2 mg/kg)後的血漿中濃度值(µg/mL)

時間(分)	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	MEAN	S.D
5	5.614	9.391	8.665	11.224	8.774	7.886	8.592	1.842397
10	2.652	4.322	5.664	5.225	5.224	5.885	4.829	1.154642
15	2.231	3.640	4.332	4.554	4.556	5.332	4.108	1.180398
20	1.713	2.756	3.547	3.587	3.442	4.054	3.183	0.832405
25	1.596	2.500	2.336	2.988	3.021	2.958	2.567	0.554266
40	0.542	0.763	1.235	1.554	1.442	1.225	1.127	0.394357
55	0.506	0.691	0.885	1.201	1.112	1.055	0.908	0.267768
70	0.481	0.635	0.741	0.922	0.774	0.854	0.734	0.158332
85	0.439	0.571	0.668	0.744	0.644	0.547	0.602	0.106653
100	0.459	0.594	0.541	0.602	0.522	0.502	0.537	0.054913
115	0.427	0.567	0.521	0.587	0.501	0.488	0.515	0.057735
145	0.418	0.532	0.499	0.544	0.455	0.465	0.485	0.04836
175	0.367	0.488	0.422	0.498	0.466	0.404	0.441	0.051579
205	0.350	0.375	0.354	0.388	0.344	0.347	0.360	0.017634
235	0.347	0.360	0.334	0.377	0.387	0.365	0.362	0.019359

表 12. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil)(劑量 10 mg/kg)後的血漿中濃度值($\mu\text{g/mL}$)

時間(分)	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	MEAN	S.D
5	46.970	40.665	32.009	38.654	50.980	45.556	42.472	6.774096
10	14.590	9.888	10.852	16.554	16.560	13.557	13.667	2.820244
15	6.246	4.254	4.893	6.225	5.951	6.884	5.742	0.976634
20	4.245	3.554	3.601	4.124	4.336	4.665	4.088	0.434307
25	2.718	2.547	2.093	2.332	2.905	3.225	2.637	0.40533
40	2.553	2.336	1.998	2.044	2.740	2.541	2.369	0.298494
55	1.330	1.211	1.333	1.655	1.415	1.45	1.399	0.150176
70	0.661	0.754	0.629	0.622	0.733	0.754	0.692	0.061892
85	0.646	0.654	0.580	0.611	0.683	0.621	0.632	0.036262
100	0.467	0.332	0.439	0.488	0.481	0.445	0.442	0.057223
115	0.372	0.328	0.355	0.344	0.396	0.358	0.359	0.023326
145	0.368	0.298	0.304	0.265	0.367	0.342	0.324	0.041665
175	0.280	0.245	0.268	0.231	0.299	0.266	0.265	0.024303
205	0.270	0.266	0.259	0.211	0.276	0.232	0.252	0.025418
235	0.261	0.24	0.250	0.204	0.268	0.214	0.240	0.025708

表 13. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (劑量 100 mg/kg)後的血漿中濃度值($\mu\text{g/mL}$)

時間(分)	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	MEAN	S.D
5	133.244	130.254	126.223	120.555	124.336	132.554	127.861	5.004323
10	101.879	99.336	96.223	92.336	95.384	100.874	97.672	3.647621
15	97.758	94.851	91.475	87.665	85.254	98.547	92.592	5.415236
20	46.992	43.666	61.111	55.147	52.669	46.887	51.079	6.464482
25	45.123	52.336	58.097	53.112	51.478	52.447	52.099	4.152842
40	45.662	51.998	53.181	48.457	47.512	45.658	48.745	3.19055
55	40.625	47.665	44.713	45.157	45.987	44.654	44.800	2.332559
70	38.547	44.332	34.113	31.55	32.475	39.665	36.780	4.928988
85	29.559	25.665	20.981	18.457	19.558	28.954	23.862	4.851366
100	22.579	21.555	18.229	16.254	17.687	22.558	19.810	2.753812
115	15.349	13.554	10.080	9.588	11.578	16.241	12.732	2.759924
145	9.646	8.225	5.672	6.254	7.558	10.551	7.984	1.893688
175	3.674	3.541	3.674	3.512	4.032	3.254	3.614	0.255795
205	1.855	1.456	1.187	1.254	1.568	1.721	1.507	0.26084
235	1.090	1.055	1.110	1.058	1.254	1.233	1.133	0.087988

表 14. 家兔靜脈注射三種不同劑量的尿嘧啶(Uracil)後平均血漿濃度值(µg/mL)

時間(分) \ 給藥劑量	2 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg
5	8.592±1.84	42.472±6.77	127.861±5.00
10	4.829±1.15	13.667±2.82	97.672±3.65
15	4.108±1.18	5.742±0.98	92.592±5.41
20	3.183±0.83	4.088±0.43	51.079±6.46
25	2.567±0.55	2.637±0.41	52.099±4.15
40	1.127±0.39	2.369±0.30	48.745±3.20
55	0.908±0.26	1.399±0.15	44.800±2.33
70	0.734±0.16	0.692±0.06	36.780±4.93
85	0.602±0.11	0.632±0.04	23.862±4.85
100	0.537±0.05	0.442±0.06	19.810±2.75
115	0.515±0.06	0.359±0.02	12.732±2.76
145	0.485±0.05	0.324±0.04	7.984±1.89
175	0.441±0.05	0.265±0.02	3.614±0.26
205	0.360±0.02	0.252±0.03	1.507±0.26
235	0.362±0.02	0.240±0.03	1.133±0.09

表 15. 六隻家兔口服給予尿嘧啶(Uracil) (劑量 2 mg/kg)後的血漿中濃度值($\mu\text{g/mL}$)

時間(分)	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	MEAN	S.D
15	0.944	0.932	1.016	1.021	0.629	0.655	0.866	0.177671
30	1.355	1.422	1.293	1.354	0.769	0.798	1.165	0.298693
45	1.300	1.301	1.232	1.201	0.750	0.765	1.092	0.26149
60	1.110	1.210	1.095	1.088	0.656	0.644	0.967	0.24952
75	1.093	1.122	1.085	1.045	0.652	0.633	0.938	0.230488
90	1.075	1.054	1.044	1.035	0.567	0.588	0.894	0.245412
105	0.686	0.675	0.667	0.745	0.515	0.534	0.637	0.091391
120	0.624	0.631	0.587	0.622	0.481	0.472	0.569	0.073753
150	0.549	0.584	0.532	0.554	0.438	0.422	0.513	0.066833
180	0.527	0.524	0.516	0.521	0.392	0.357	0.473	0.077103
210	0.376	0.388	0.367	0.402	0.279	0.278	0.348	0.055366
240	0.299	0.311	0.292	0.301	0.278	0.268	0.291	0.015783
300	0.258	0.259	0.254	0.242	0.248	0.243	0.251	0.007356
360	0.247	0.221	0.247	0.238	0.245	0.239	0.240	0.009952

表 16. 六隻家兔口服給予尿嘧啶(Uracil) (劑量 10 mg/kg)後的血漿中濃度值($\mu\text{g/mL}$)

時間(分)	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	MEAN	S.D
15	3.630	3.752	4.272	4.112	3.043	3.544	3.725	0.437193
30	5.340	5.751	6.565	6.766	4.046	4.255	5.454	1.138245
45	5.000	5.124	6.456	6.321	3.868	3.955	5.120	1.110587
60	3.288	3.544	4.762	4.655	3.130	3.244	3.770	0.739758
75	1.729	1.765	3.005	3.125	2.925	2.814	2.561	0.638551
90	1.830	1.622	3.003	3.012	2.971	2.822	2.543	0.64026
105	1.277	1.344	1.636	2.244	1.503	1.852	1.643	0.359987
120	1.181	1.201	1.547	2.14	1.424	1.532	1.504	0.349238
150	0.925	0.933	1.278	1.522	1.224	1.325	1.201	0.233633
180	0.926	0.914	1.262	1.322	1.155	1.288	1.145	0.182781
210	0.822	0.842	1.181	1.201	1.084	1.155	1.048	0.171822
240	0.782	0.754	0.873	0.902	0.788	0.852	0.825	0.05866
300	0.675	0.644	0.760	0.755	0.666	0.722	0.704	0.048867
360	0.628	0.631	0.682	0.625	0.615	0.642	0.637	0.023599

表 17. 六隻家兔口服給予尿嘧啶(Uracil) (劑量 100 mg/kg)後的血漿中濃度值($\mu\text{g/mL}$)

時間(分)	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	MEAN	S.D
15	66.041	63.245	60.276	62.556	50.250	55.335	59.617	5.823753
30	69.873	62.335	63.177	65.332	58.414	62.125	63.543	3.825823
45	66.369	65.223	54.792	57.332	57.760	62.554	60.672	4.710034
60	55.602	52.447	45.659	47.665	45.626	46.774	48.962	4.11689
75	52.992	49.336	45.582	46.354	43.042	45.221	47.088	3.537576
90	51.424	47.521	44.562	43.552	37.657	40.254	44.162	4.94246
105	45.631	42.687	38.421	37.554	30.608	35.447	38.391	5.307025
120	32.422	30.987	34.366	32.558	29.560	30.558	31.742	1.717422
150	22.323	24.654	25.667	26.445	19.121	21.554	23.294	2.785497
180	17.854	16.842	18.489	17.665	9.933	12.554	15.556	3.481685
210	6.727	7.336	9.750	8.554	6.945	7.554	7.811	1.142565
240	4.408	4.024	4.839	4.752	4.229	5.651	4.651	0.578989
300	1.531	1.244	1.741	2.112	1.696	2.354	1.780	0.399385
360	1.024	1.123	1.077	1.154	0.790	1.225	1.066	0.1511

表 18. 家兔口服給藥三種不同劑量的尿嘧啶(Uracil)後平均血漿中濃度值($\mu\text{g/mL}$)

給藥劑量 時間(分)	2 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg
15	0.866±0.18	3.725±0.44	59.617±5.82
30	1.165±0.30	5.454±1.14	63.543±3.83
45	1.092±0.26	5.120±1.11	60.672±4.71
60	0.967±0.25	3.770±0.74	48.962±4.12
75	0.938±0.23	2.561±0.64	47.088±3.54
90	0.894±0.25	2.543±0.64	44.162±4.94
105	0.637±0.09	1.643±0.36	38.391±5.31
120	0.569±0.07	1.504±0.35	31.742±1.72
150	0.513±0.07	1.201±0.23	23.294±2.79
180	0.473±0.08	1.145±0.18	15.556±3.48
210	0.348±0.06	1.048±0.17	7.811±1.14
240	0.291±0.02	0.825±0.06	4.651±0.58
300	0.251±0.007	0.704±0.05	1.780±0.40
360	0.240±0.009	0.637±0.02	1.066±0.15

表 19. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (劑量 2 mg/kg)後之血漿中濃度值經 WINNOLIN 非室模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Tmax(min)	0	0	0	0	0	0	0	0
Cmax($\mu\text{g}/\text{mL}$)	14.13	24.23	17.33	24.11	16.9	11.66	18.06	5.156
K(min^{-1})	0.062	0.068	0.05	0.043	0.045	0.06	0.055	0.01
AUC _p ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)	116.4	191.8	187	224.8	193.2	183.7	182.8	35.72
t _{1/2} (min)	11.22	10.21	13.76	16.24	15.46	11.63	13.09	2.447
AUC _{TOTAL} ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)	125.2	203.1	211.5	261.2	225.4	204.3	205.1	44.71
V(L)	0.44	0.421	0.507	0.556	0.534	0.394	0.475	0.066
Cl(L/min)	0.027	0.029	0.026	0.024	0.024	0.024	0.025	0.002
MRT(min)	13.39	12.24	17.18	18.25	19.41	17.55	16.34	2.854
Vss(L)	0.364	0.35	0.439	0.433	0.465	0.412	0.41	0.045

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 20. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (劑量 10 mg/kg)後之血漿中濃度值經 WINNOLIN 非室模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Tmax(min)	0	0	0	0	0	0	0	0
Cmax($\mu\text{g}/\text{mL}$)	151.2	167.2	94.41	90.26	156.9	153.1	135.5	33.94
K(min^{-1})	0.032	0.028	0.03	0.031	0.031	0.031	0.031	0.002
AUC _p ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)	838.5	804.8	577.5	646.1	889	844.1	766.7	124.8
t _{1/2} (min)	21.54	25.23	23.53	22.06	22.34	22.11	22.8	1.36
AUC _{TOTAL} ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)	858.5	828.6	597.2	665.6	911	863.9	787.5	125.6
V(L)	1.014	1.054	1.114	1.1	1.061	1.034	1.063	0.038
Cl(L/min)	0.033	0.029	0.033	0.035	0.033	0.032	0.032	0.002
MRT(min)	11.11	11.25	13.84	13.77	11.31	11.38	12.11	1.314
Vss(L)	0.363	0.326	0.454	0.476	0.373	0.369	0.393	0.058

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 21. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (劑量 100 mg/kg)後之血漿中濃度值經 WINNOLIN 非室模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Tmax(min)	0	0	0	0	0	0	0	0
Cmax(µg/mL)	174.3	170.8	165.6	157.4	162.1	174.2	167.4	6.876
K(min ⁻¹)	0.023	0.023	0.02	0.02	0.019	0.022	0.021	0.002
AUC _p (µg · min/mL)	6388	6495	6096	5750	5924	6555	6201	328
t _{1/2} (min)	30.08	30.86	34.45	35.02	35.92	31.89	33.04	2.409
AUC _{TOTAL} (µg · min/mL)	6435	6542	6151	5804	5989	6612	6255	324.8
V(L)	2.023	1.974	2.262	2.438	2.336	2.088	2.187	0.186
Cl(L/min)	0.047	0.044	0.046	0.048	0.045	0.045	0.046	0.001
MRT(min)	54.74	53	49.56	49.97	52.59	55.11	52.49	2.33
Vss(L)	2.552	2.35	2.256	2.411	2.371	2.5	2.407	0.107

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 22. 六隻家兔口服尿嘧啶(Uracil) (劑量 2 mg/kg)後之血漿中濃度值經 WINNOLIN 非室模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Tmax(min)	30	30	30	30	30	30	30	0
Cmax($\mu\text{g}/\text{mL}$)	1.355	1.422	1.293	1.354	0.769	0.798	1.165	0.299
K(min^{-1})	0.007	0.007	0.007	0.007	0.005	0.006	0.007	9E-04
AUC _p ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)	165.4	169	161.6	164.6	108	107.4	146	29.77
t _{1/2} (min)	94.83	93.78	95.68	101.1	130.9	122	106.4	15.99
AUC _{TOTAL} ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)	216.8	221.5	212.3	223.3	160.7	156.3	198.5	31.23
Vss/F(L)	3.912	3.665	3.901	4.051	4.466	4.278	4.046	0.288
Cl/F(L/min)	0.029	0.027	0.028	0.028	0.024	0.024	0.027	0.002
MRT(min)	149.8	149.3	150.1	159	194	184.3	164.4	19.73

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 23. 六隻家兔口服尿嘧啶(Uracil) (劑量 10 mg/kg)後之血漿中濃度值經 WINNOLIN 非室模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Tmax(min)	30	30	30	30	30	30	30	0
Cmax(μg/mL)	5.34	5.751	6.565	6.766	4.046	4.255	5.454	1.138
K(min ⁻¹)	0.004	0.006	0.003	0.004	0.002	0.003	0.004	0.001
AUC _p (μg · min/mL)	425.8	438.6	574.2	605	442	467.5	492.2	77.28
t _{1/2} (min)	169.2	122	222.4	175.6	342.4	237.4	211.5	76.17
AUC _{TOTAL} (μg · min/mL)	626.4	586.8	953.2	909.2	977.4	863.1	819.4	169.8
V _{ss} /F(L)	10.52	8.101	10.77	8.915	9.602	9.525	9.572	0.994
Cl/F(L/min)	0.043	0.046	0.034	0.035	0.019	0.028	0.034	0.01
MRT(min)	194.8	151	256.2	206.8	423.1	298.3	255	96.85

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 24. 六隻家兔口服尿嘧啶(Uracil) (劑量 100 mg/kg)後之血漿中濃度值經 WINNOLIN 非室模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Tmax(min)	30	45	30	30	30	45	35	7.746
Cmax($\mu\text{g/mL}$)	69.87	65.22	63.18	65.33	58.41	62.55	64.1	3.786
K(min^{-1})	0.015	0.015	0.015	0.012	0.014	0.014	0.014	0.001
AUC _p ($\mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$)	8577	8193	8032	8093	6911	7585	7899	578.8
t _{1/2} (min)	45.21	45.55	46.48	58.77	48.26	51.41	49.28	5.174
AUC _{TOTAL} ($\mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$)	8643	8267	8104	8191	6966	7676	7975	583.5
V _{ss} /F(L)	2.189	2.226	2.565	3.209	1.899	2.416	2.417	0.449
Cl/F(L/min)	0.034	0.034	0.038	0.038	0.027	0.033	0.034	0.004
MRT(min)	90.64	92.12	97.19	97.27	91.4	95.98	94.1	3.041

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 25. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil)(劑量 2 mg/kg)後之血漿中濃度值經非線性模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Vm($\mu\text{g/mL per hr}$)	0.001	0.018	0.012	0.017	0.016	0.008	0.012	0.006
Km($\mu\text{g/mL}$)	1.511	4.051	4.448	4.009	3.329	3.015	3.394	1.06
K' (min^{-1})	0.00096	0.004502	0.002781	0.00431	0.004912	0.002736	0.003367	0.00149
半衰期 (min)	385.4	417	617	493.6	418.6	754.1	514.2833	144.0283

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 26. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (劑量 10 mg/kg)後之血漿中濃度值經非線性模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Vm($\mu\text{g/mL per hr}$)	0.007	0.007	0.003	0.007	0.014	0.02	0.01	0.006
Km($\mu\text{g/mL}$)	10.51	2.486	1.761	1.854	5.492	7.055	4.86	3.504
K' (min^{-1})	0.000678	0.002667	0.001425	0.003845	0.002551	0.002788	0.002326	0.001115
半衰期 (min)	4397.2	3150.3	5741.5	2943.9	2092.9	1383.5	3284.883	1577.509

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 27. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (劑量 100 mg/kg)後之血漿中濃度值經非線性模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Vm($\mu\text{g/mL per hr}$)	0.118	0.095	0.617	0.505	1.455	0.828	0.603	0.506
Km($\mu\text{g/mL}$)	2.459	0.672	16.34	14.6	49.93	37.93	20.32	19.7
K'(min^{-1})	0.048163	0.141819	0.037747	0.034596	0.029141	0.021831	0.052216	0.044767
半衰期 (min)	579	690.5	120.6	139.4	66.51	111.8	284.635	274.5281

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 28. 六隻家兔口服尿嘧啶(Uracil) (劑量 2 mg/kg)後之血漿中濃度值經非線性模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	MEAN	S.D
Vm($\mu\text{g/mL per hr}$)	0.001	0.004	0.003	0.007	0.0005	0.008	0.004	0.003
Km($\mu\text{g/mL}$)	3.497	1.237	0.703	2.048	0.01	3.832	1.887	1.424
K'(min^{-1})	0.000335	0.002838	0.004395	0.003589	0.050505	0.002189	0.010642	0.019578
半衰期 (min)	2071.3	244.2	157.6	193.1	13.7	316.5	499.4	776.6

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

表 29. 六隻家兔口服尿嘧啶(Uracil) (劑量 10mg/kg)後之血漿中濃度值經非線性模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Vm($\mu\text{g/mL per hr}$)	0.008	0.006	0.006	0.021	0.028	0.008	0.013	0.009
Km($\mu\text{g/mL}$)	3.584	3.386	3.797	7.974	11.70	3.792	5.707	3.415
K' (min^{-1})	0.00238	0.00196	0.00177	0.00265	0.00246	0.00237	0.002265	0.000334
半衰期 (min)	290.5	354.0	392.2	261.2	281.3	293.0	312.0	50.4

※ 各藥動學參數說明請參閱附錄一

※

表 30. 六隻家兔口服尿嘧啶(Uracil) (劑量 100 mg/kg)後之血漿中濃度值經非線性模式處理之相關藥動學參數

	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.
Vm($\mu\text{g/mL per hr}$)	0.605	0.516	0.017	0.008	0.078	0.007	0.205	0.278
Km($\mu\text{g/mL}$)	33.046	25.928	2.625	4.589	1.984	4.469	12.11	13.69
K' (min^{-1})	0.018	0.019	0.006	0.002	0.039	0.002	0.014	0.014
半衰期 (min)	37.8	34.7	105.6	406.2	17.5	411.8	168.9	188.3

※各藥動學參數說明請參閱附錄一

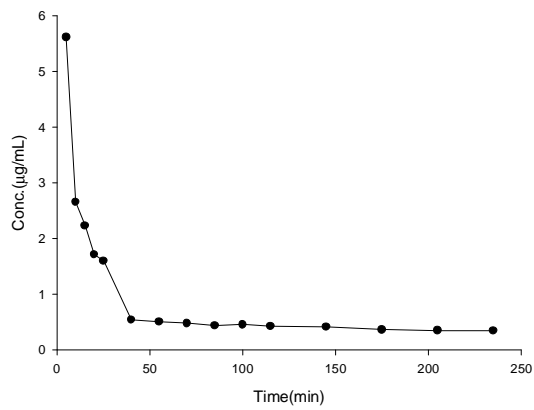
表 31. 六隻家兔口服尿嘧啶後之絕對生體可用率

F(%)	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	Mean	S.D.	C.V.(%)
2mg/kg	95	105.4	90.3	85.5	118.2	96.6	98.5	11.73	0.119
10mg/kg	75.7	62.9	97.7	98.2	169.4	116.6	103.4	37.41	0.362
100mg/kg	139	130.1	119	123	165.3	139	135.9	16.55	0.122

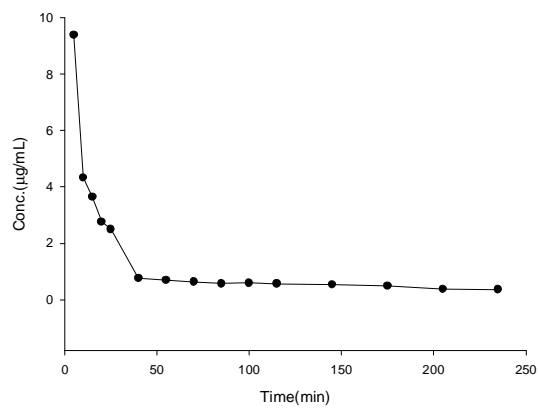
※生體可用率(F)計算公式請參閱附錄一

圖 5. 家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (2mg/kg)後之血漿中濃度-時間曲線圖

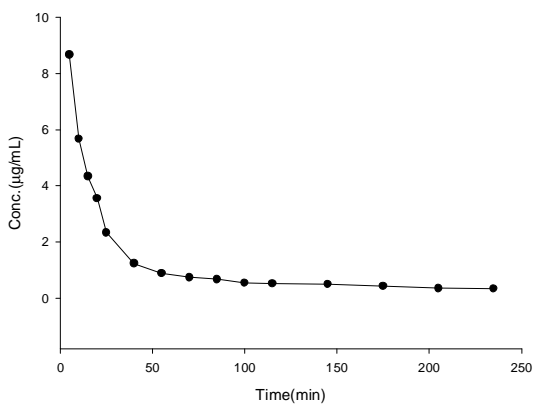
NO.1



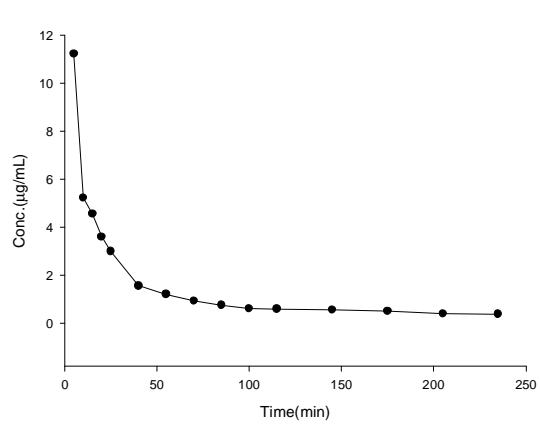
NO.2



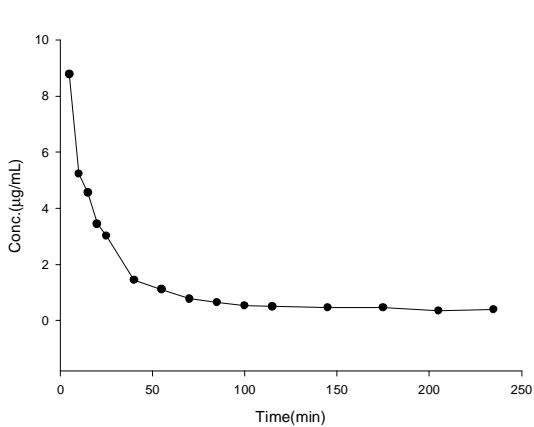
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

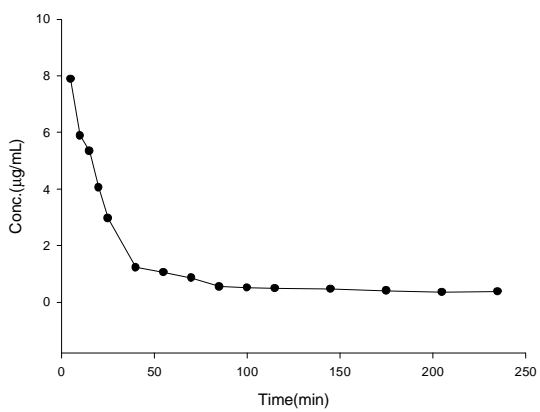
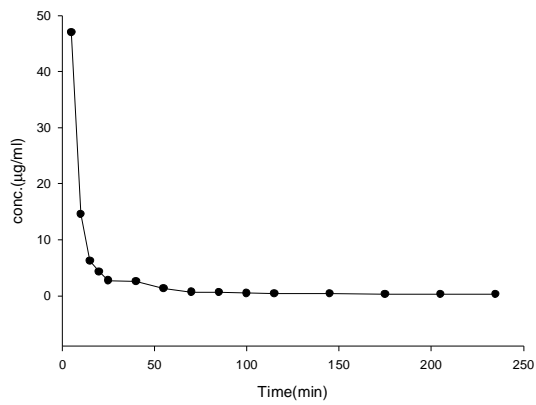
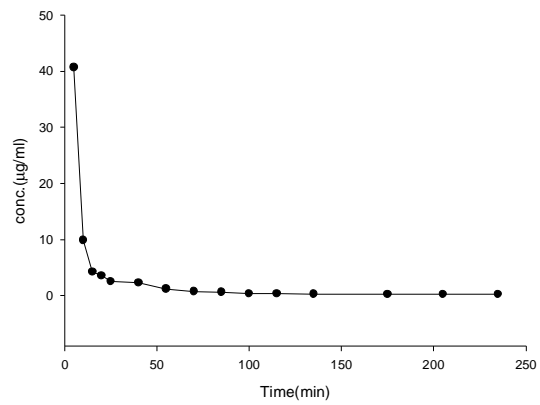


圖 6. 家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (10mg/kg)後之血漿中濃度-時間曲線圖

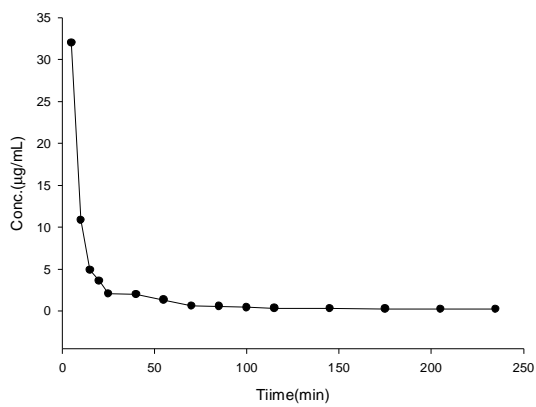
NO.1



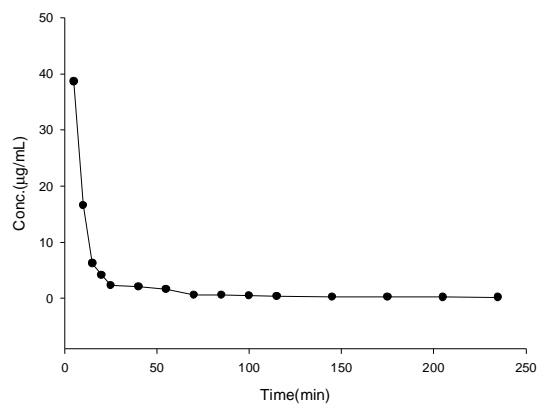
NO.2



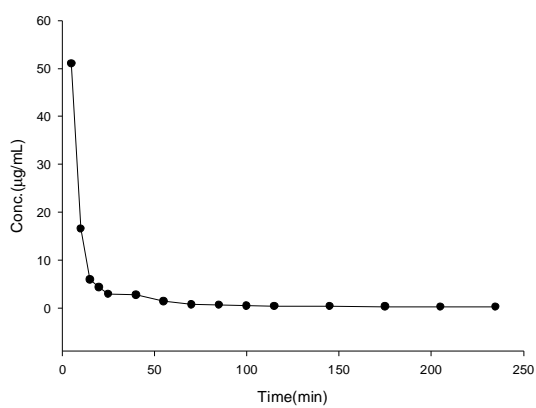
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

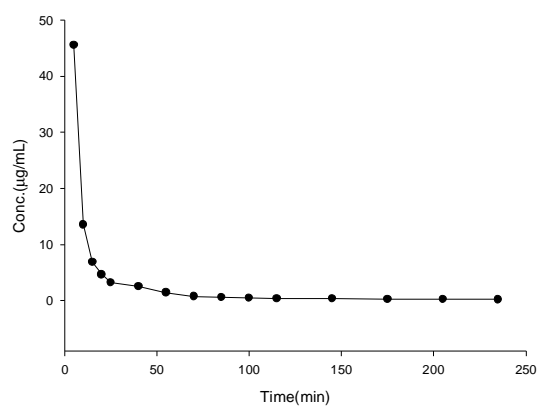
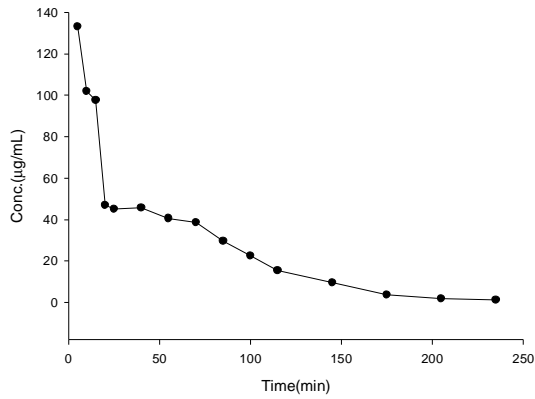
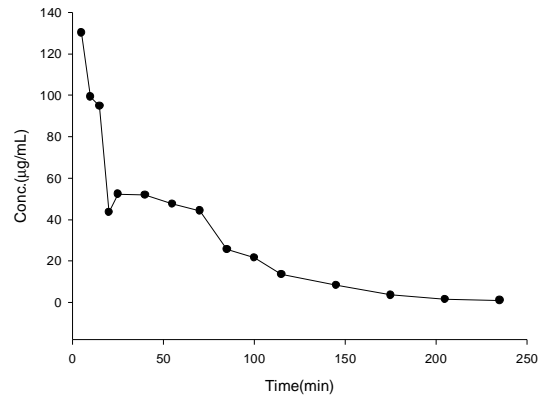


圖 7. 家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (100mg/kg)後之血漿中濃度-時間曲線圖

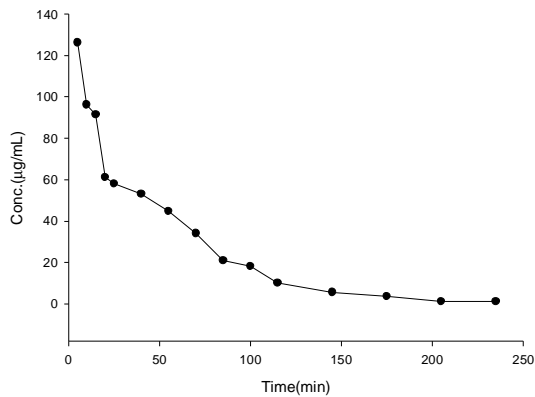
NO.1



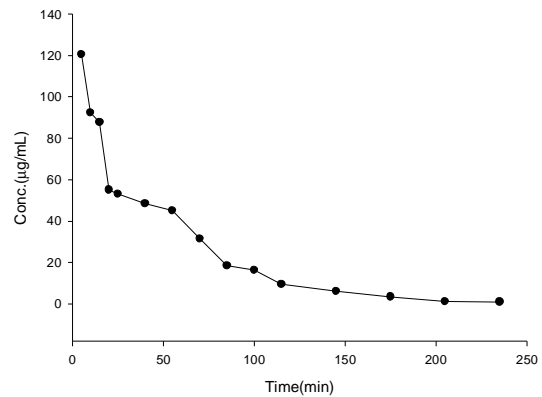
NO.2



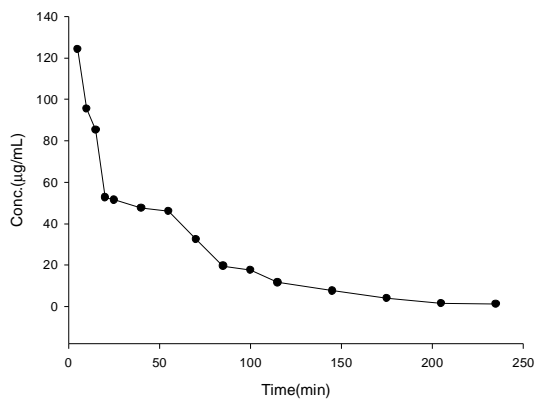
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

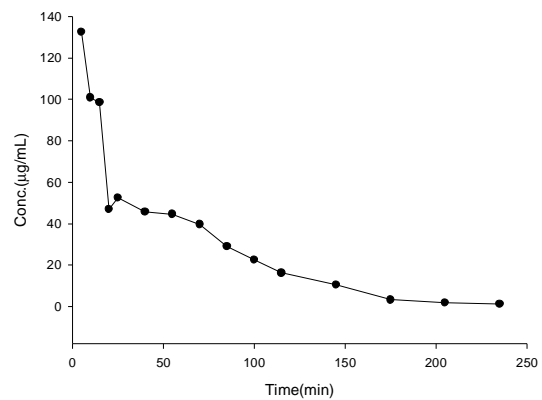
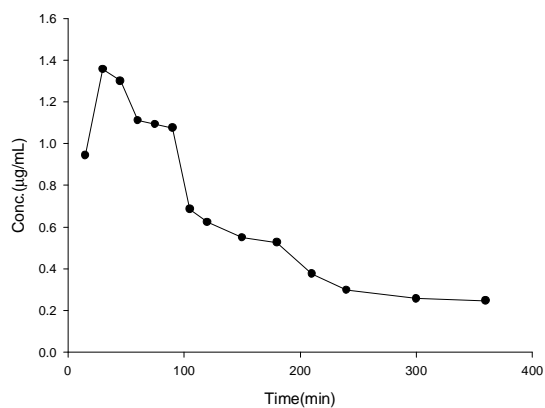
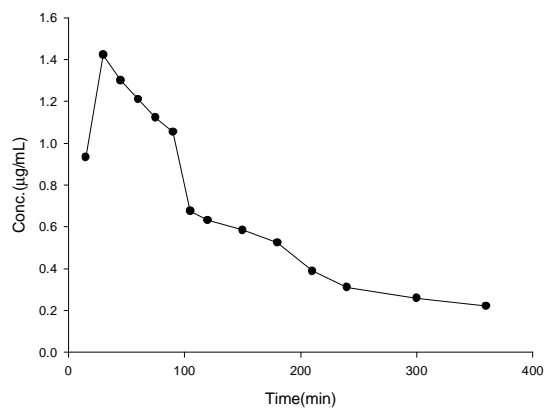


圖 8. 家兔口服尿嘧啶(Uracil) (2 mg/kg)後之血漿中濃度-時間曲線圖

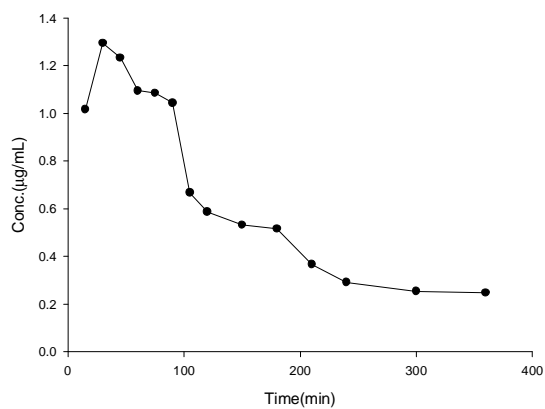
NO.1



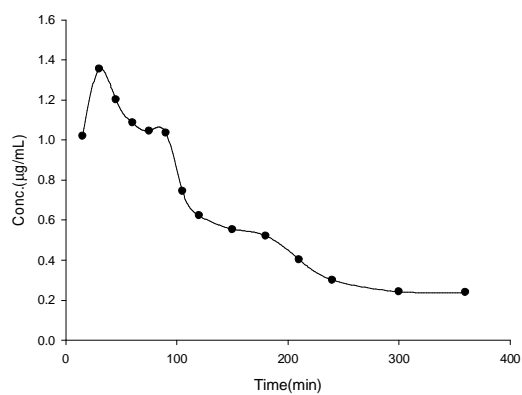
NO.2



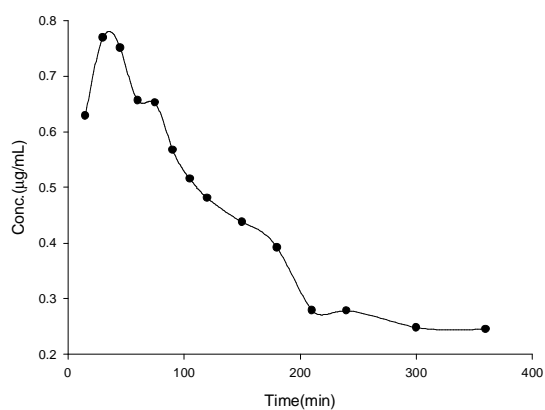
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

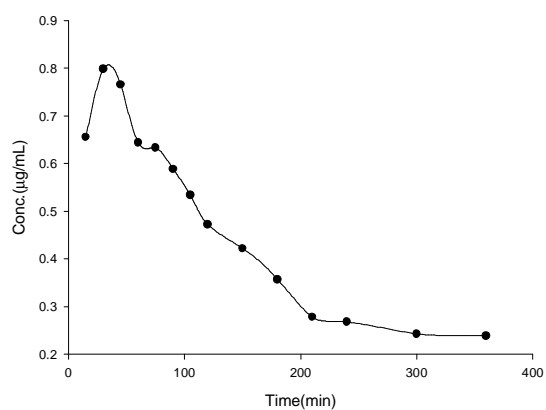
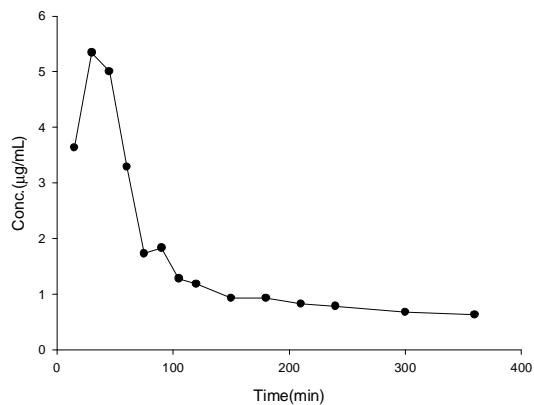
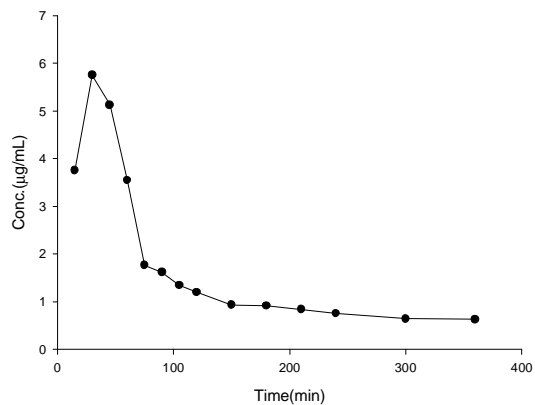


圖 9. 家兔口服給予尿嘧啶(Uracil) (10mg/kg)後之血漿中濃度-時間曲線圖

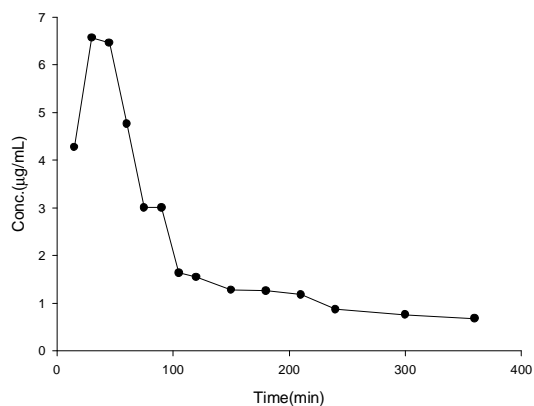
NO.1



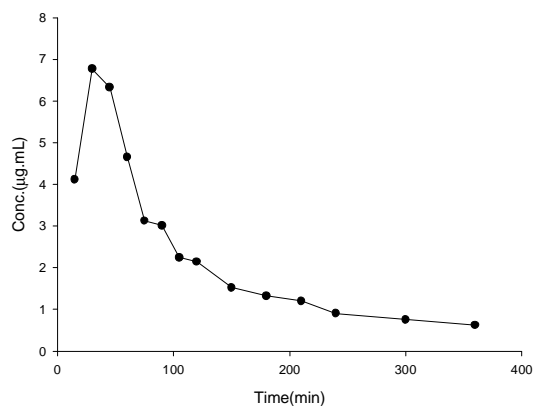
NO.2



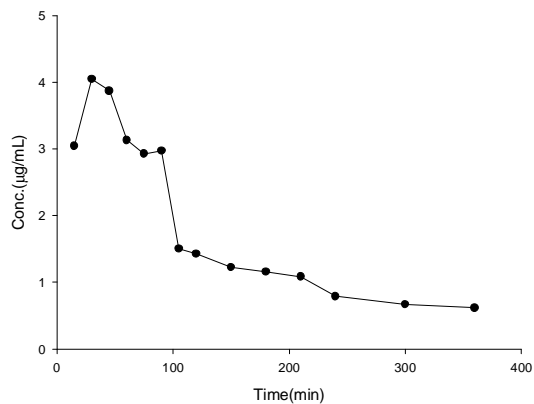
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

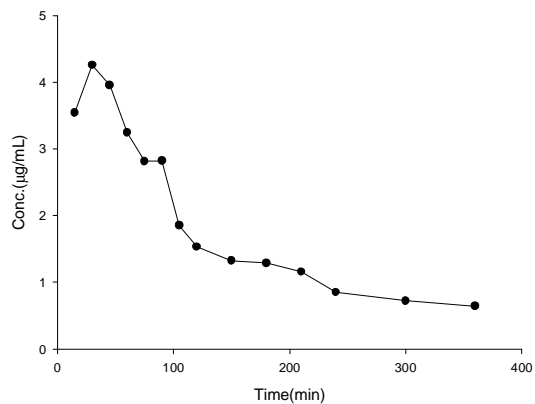
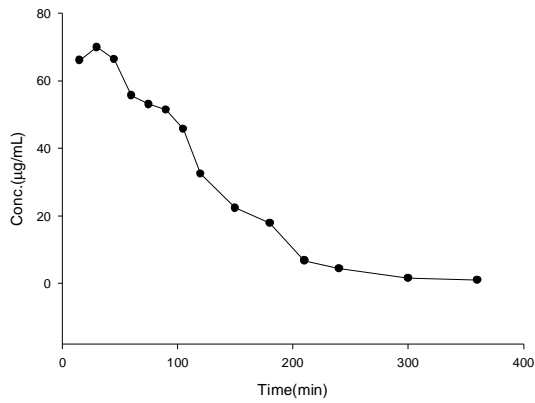
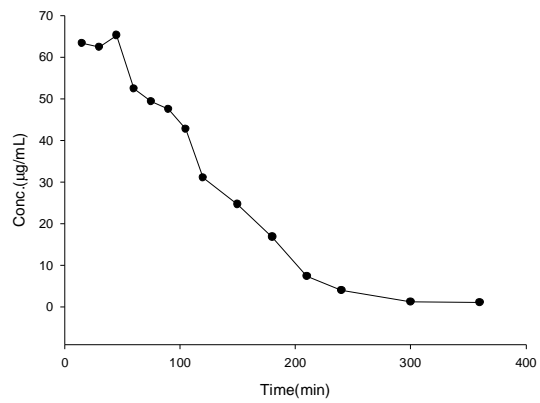


圖 10. 家兔口服給予尿嘧啶(Uracil) (100mg/kg)後之血漿中濃度-時間曲線圖

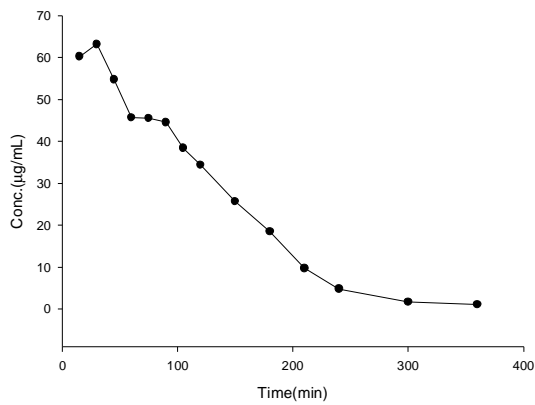
NO.1



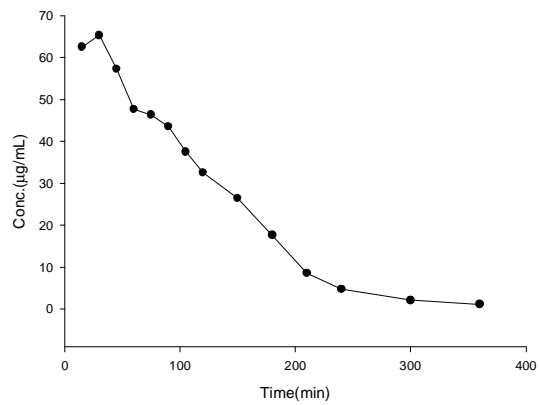
NO.2



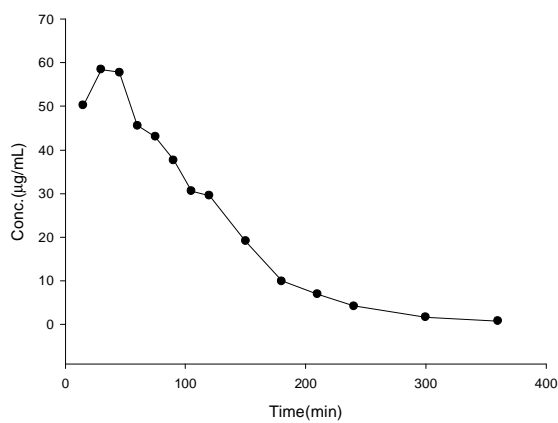
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

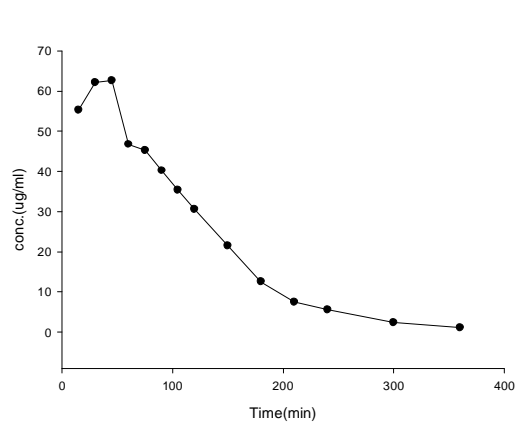
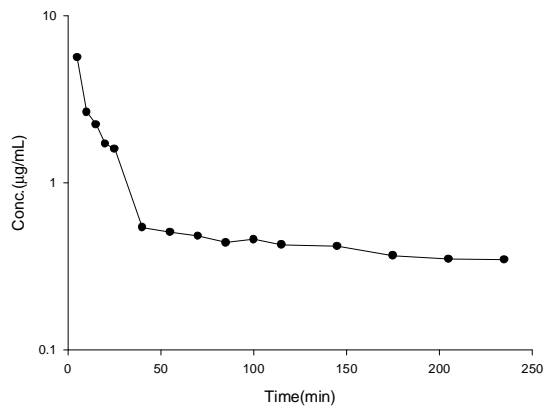
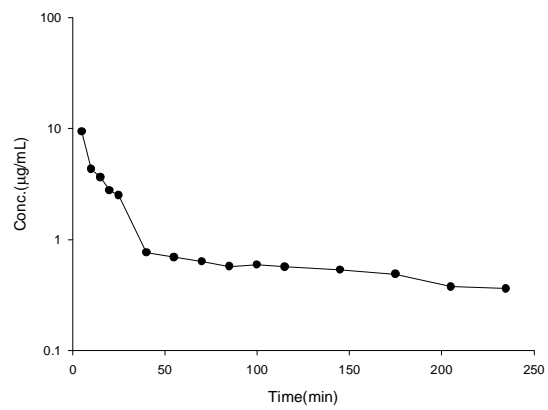


圖 11. 家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (2mg/kg)後之血漿中濃度對數-時間曲線圖

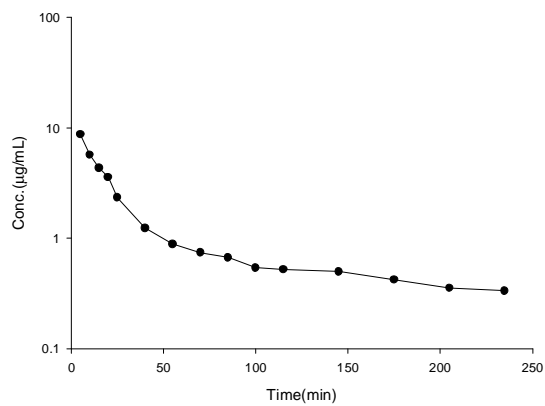
NO.1



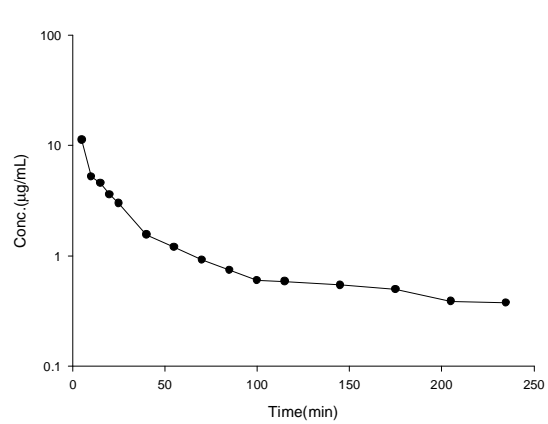
NO.2



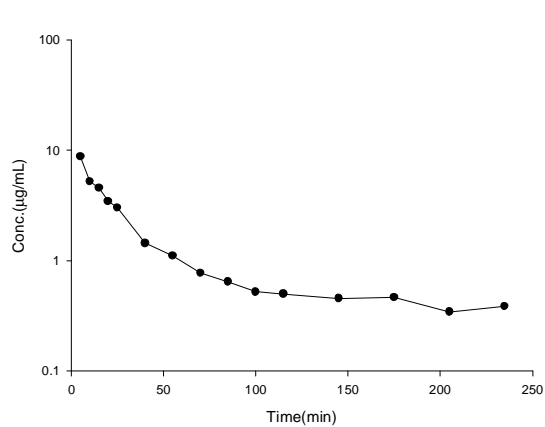
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

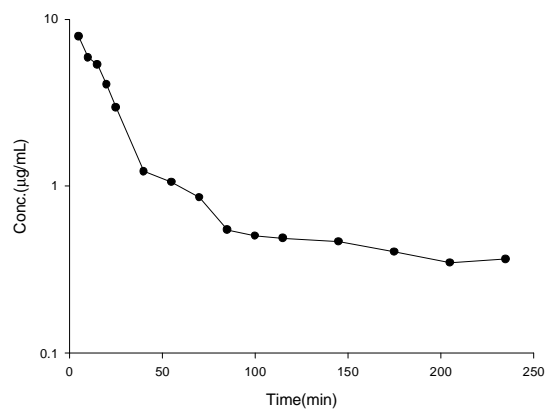
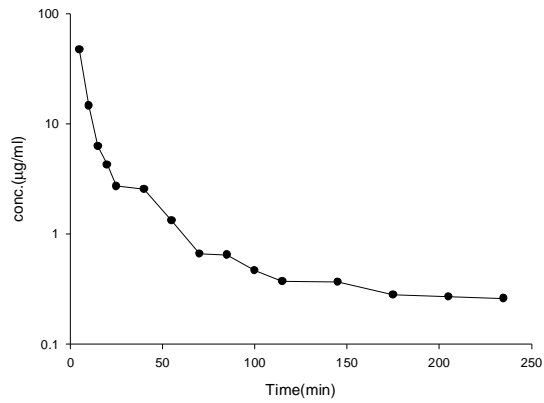
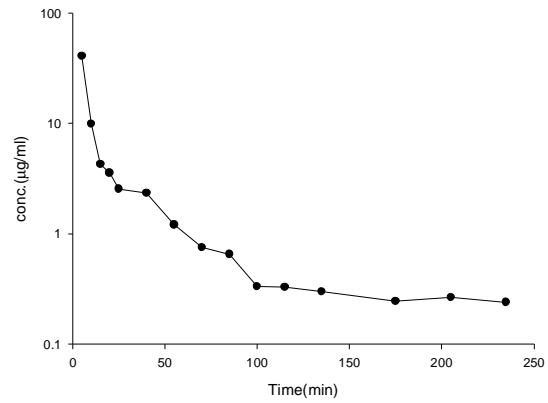


圖 12. 家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (10mg/kg)後之血漿中濃度對數-時間曲線圖

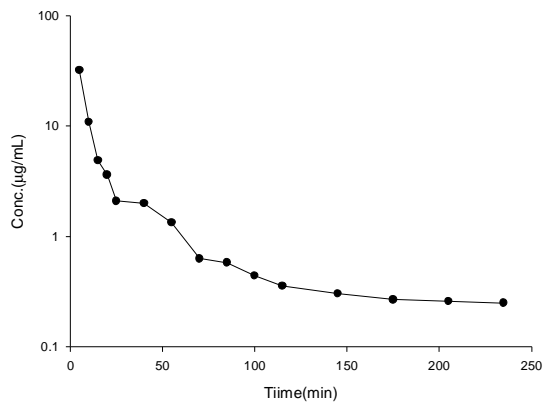
NO.1



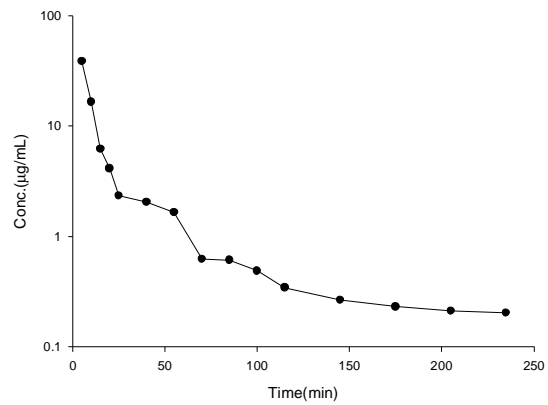
NO.2



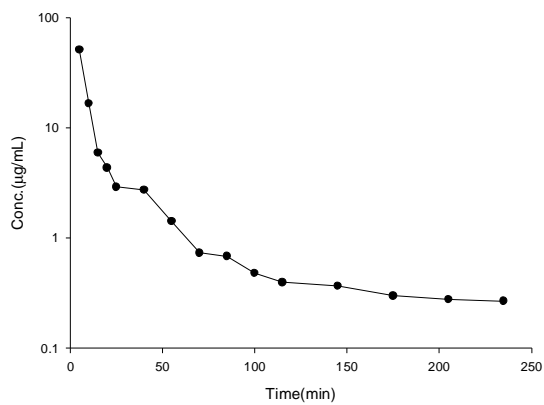
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

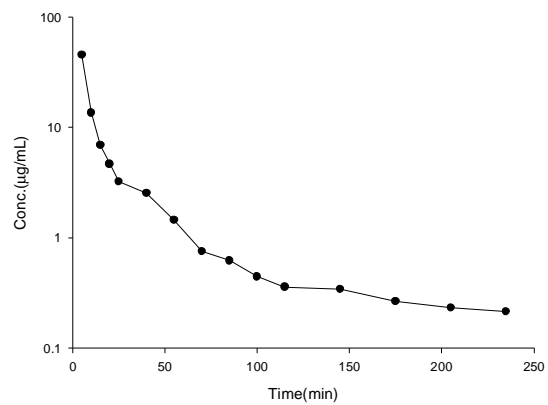
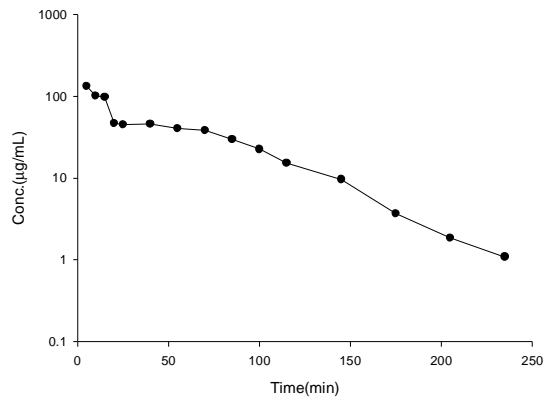
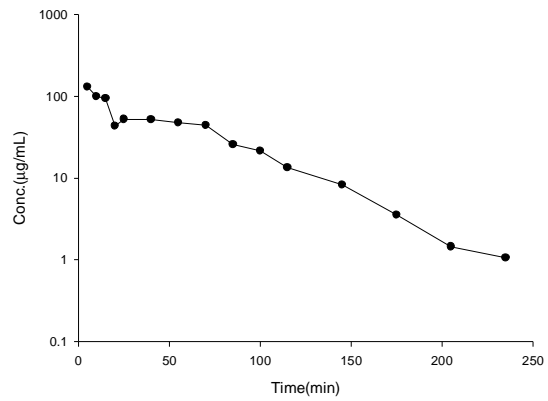


圖 13. 家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil) (100mg/kg)後之血漿中濃度對數-時間曲線圖

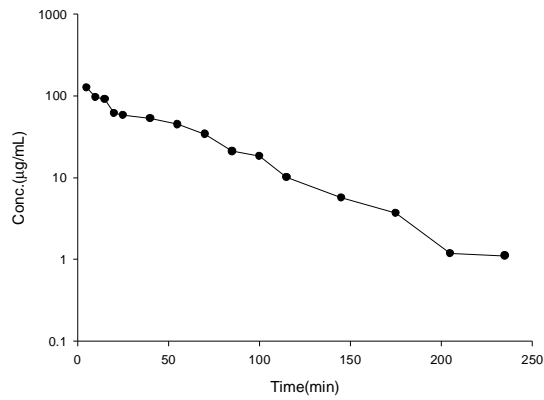
NO.1



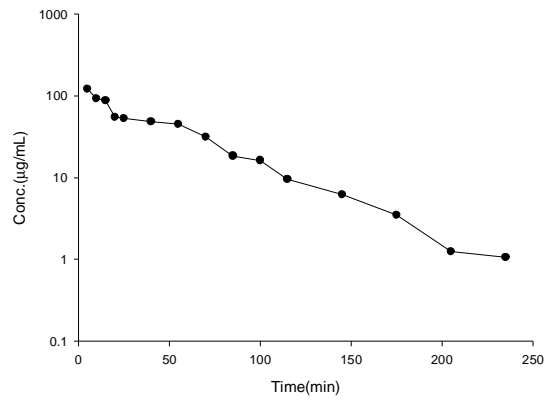
NO.2



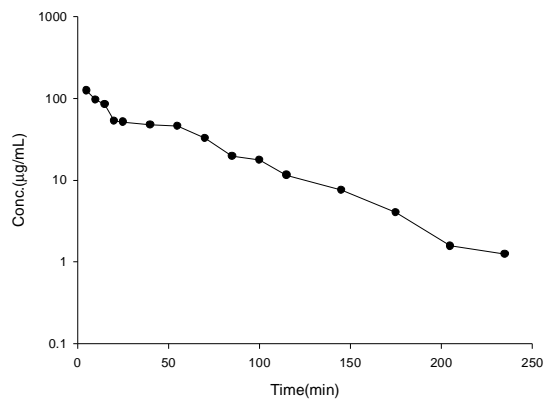
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

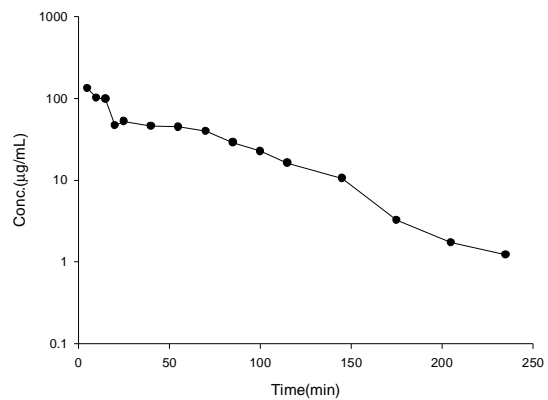
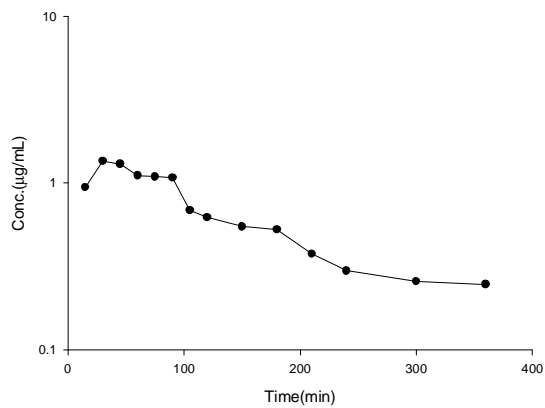
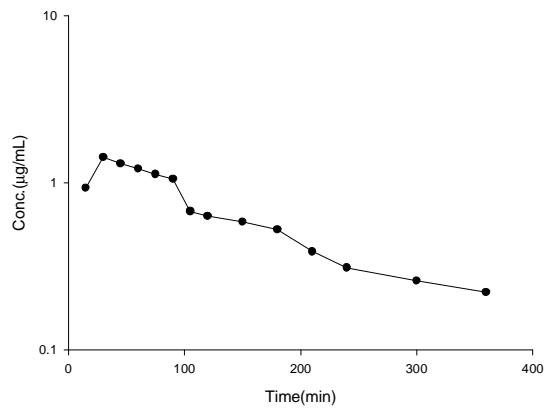


圖 14. 家兔口服給予尿嘧啶(Uracil) (2 mg/kg)後之血漿中濃度對數-時間曲線圖

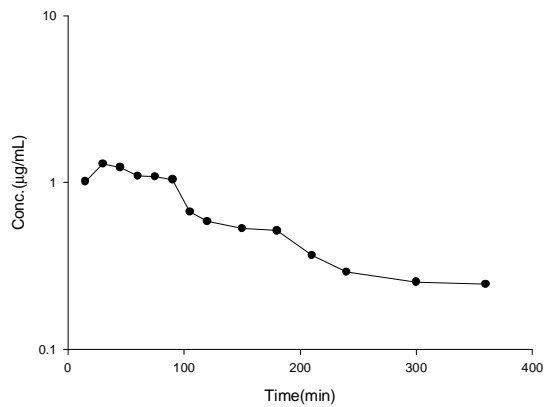
NO.1



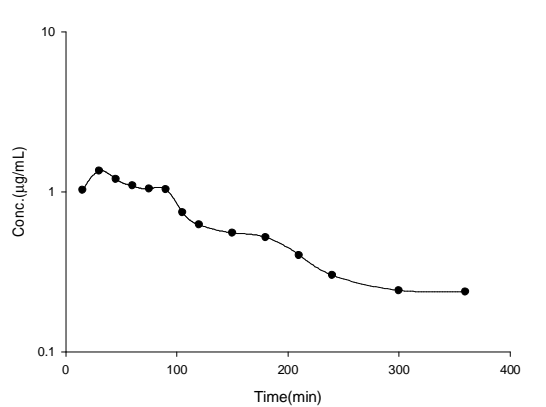
NO.2



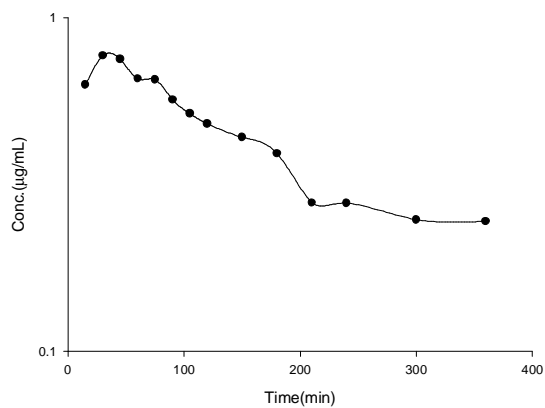
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

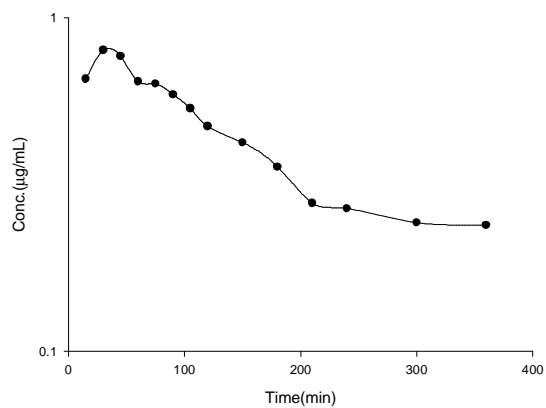
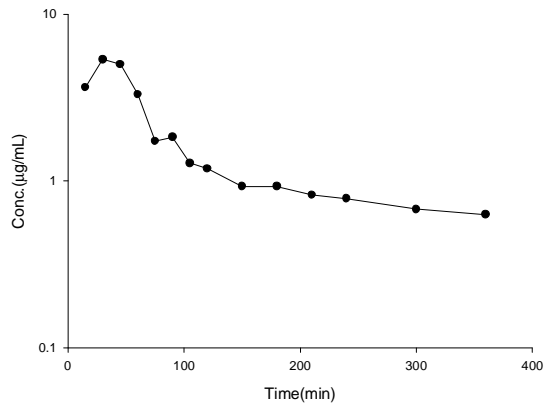
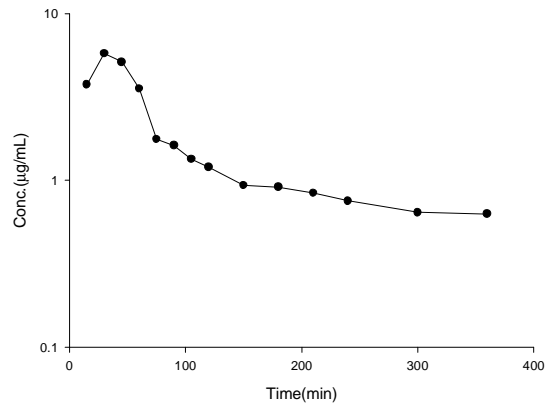


圖 15. 家兔口服給予尿嘧啶(Uracil) (10mg/kg)後之血漿中濃度對數-時間曲線圖

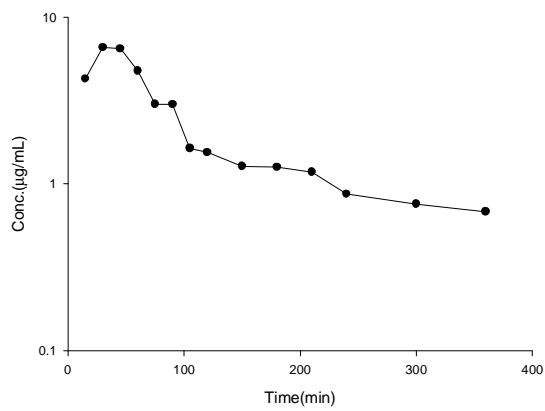
NO.1



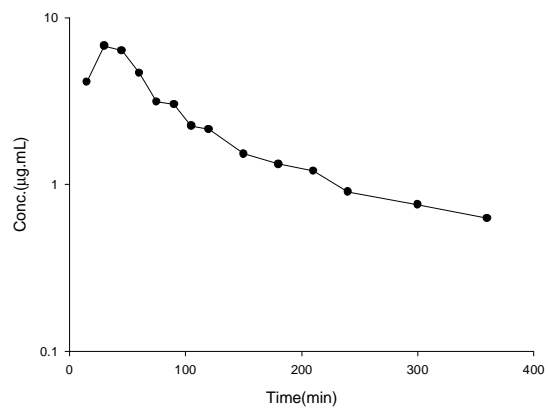
NO.2



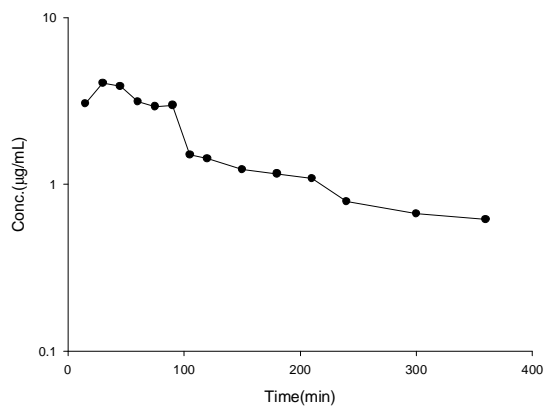
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

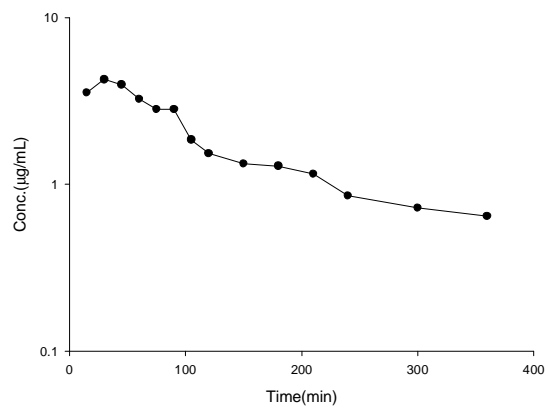
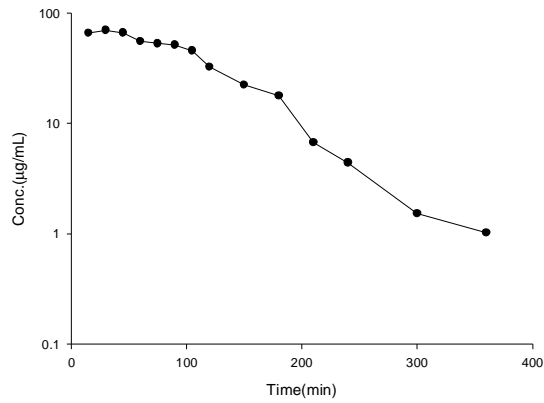
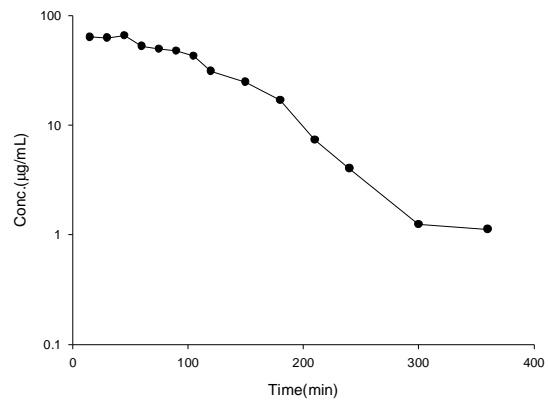


圖 16. 家兔口服給予尿嘧啶(Uracil) (100mg/kg)後之血漿中濃度對數-時間曲線圖

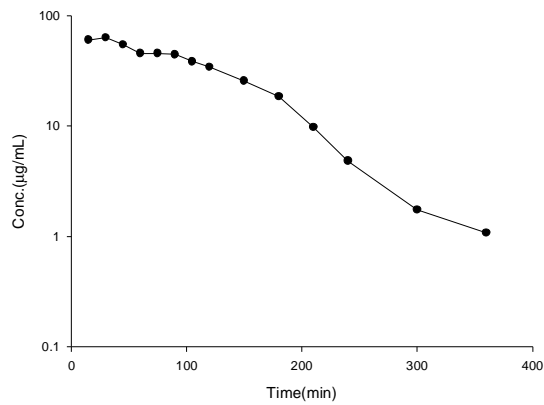
NO.1



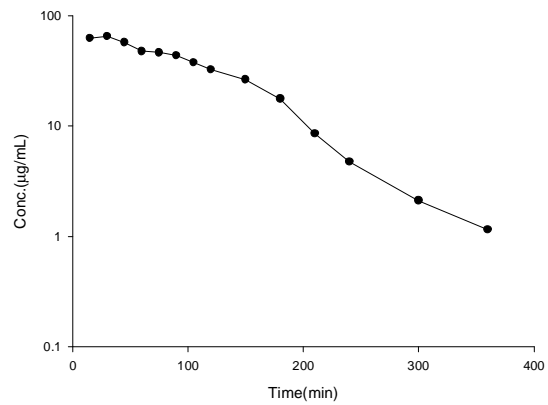
NO.2



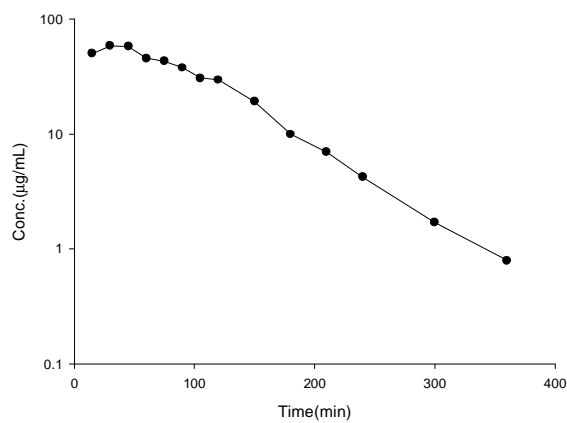
NO.3



NO.4



NO.5



NO.6

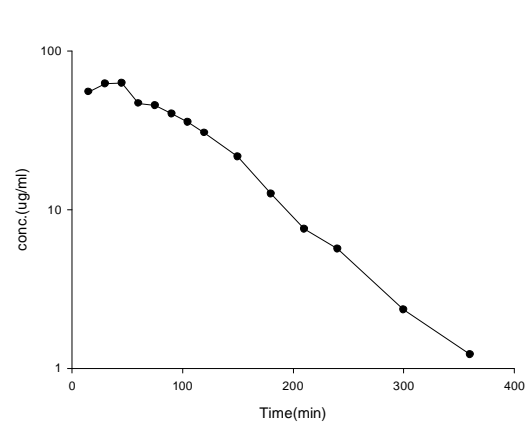


圖 17. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil)三種劑量後之平均血漿中濃度-時間曲線圖

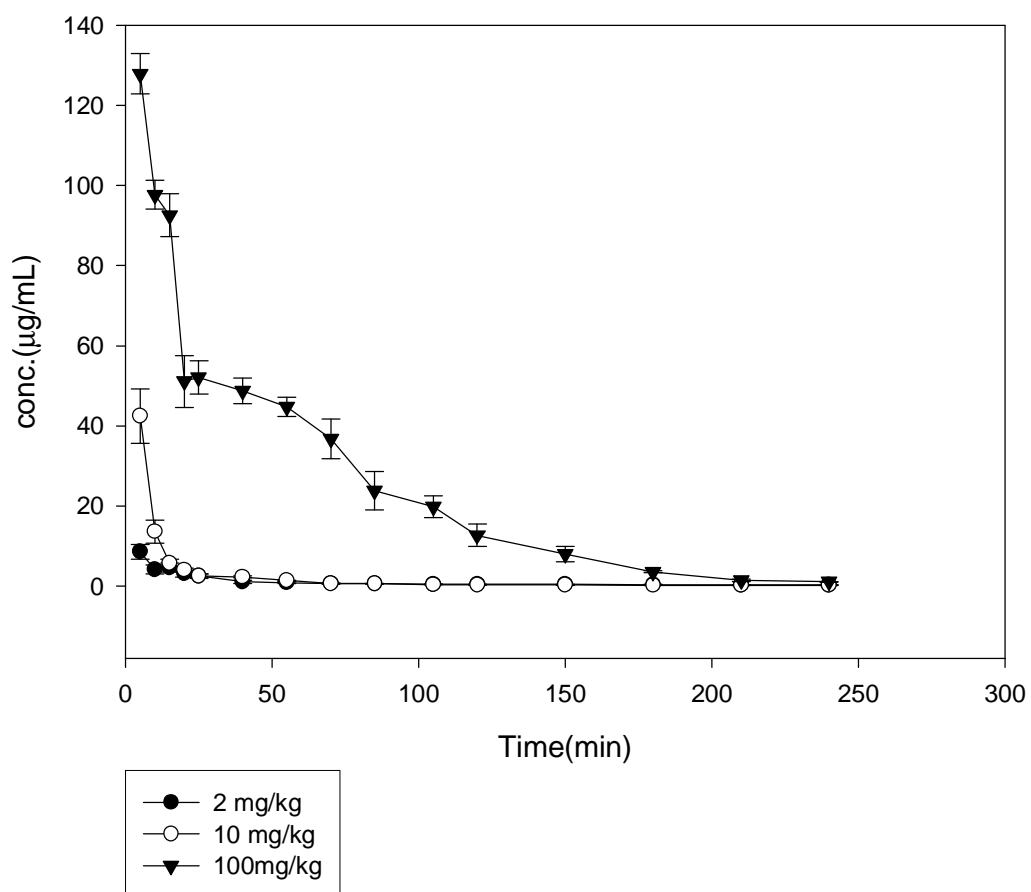


圖 18. 六隻家兔口服 Uracil 三種劑量後之平均血漿中濃度對數-時間曲線圖

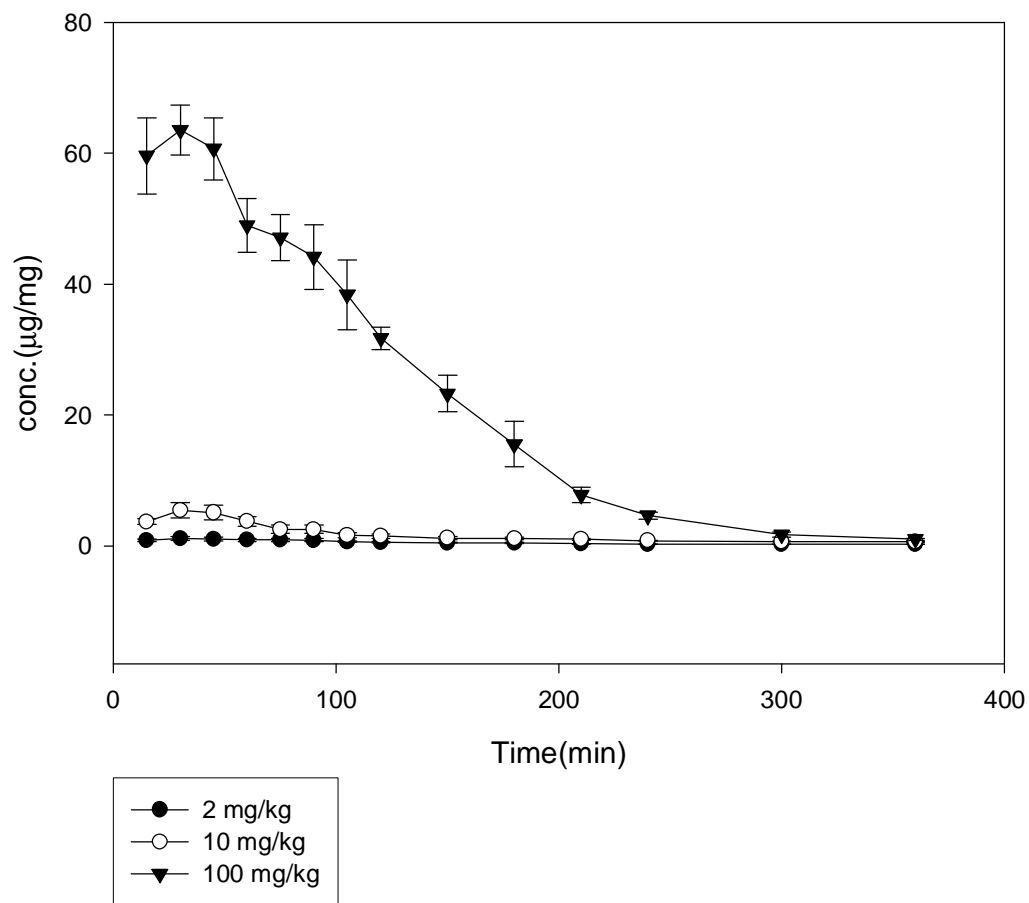


圖 19. 六隻家兔靜脈注射尿嘧啶(Uracil)三種劑量後之平均血漿中濃度對數-時間曲線圖

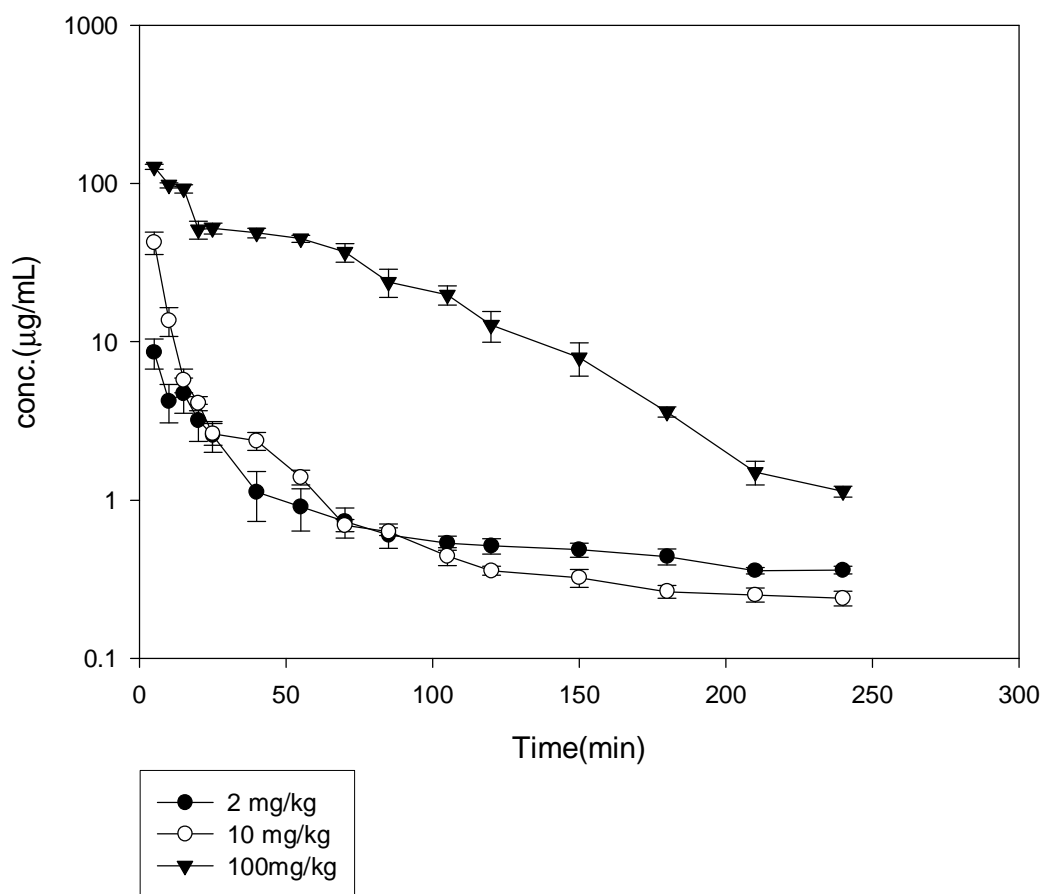
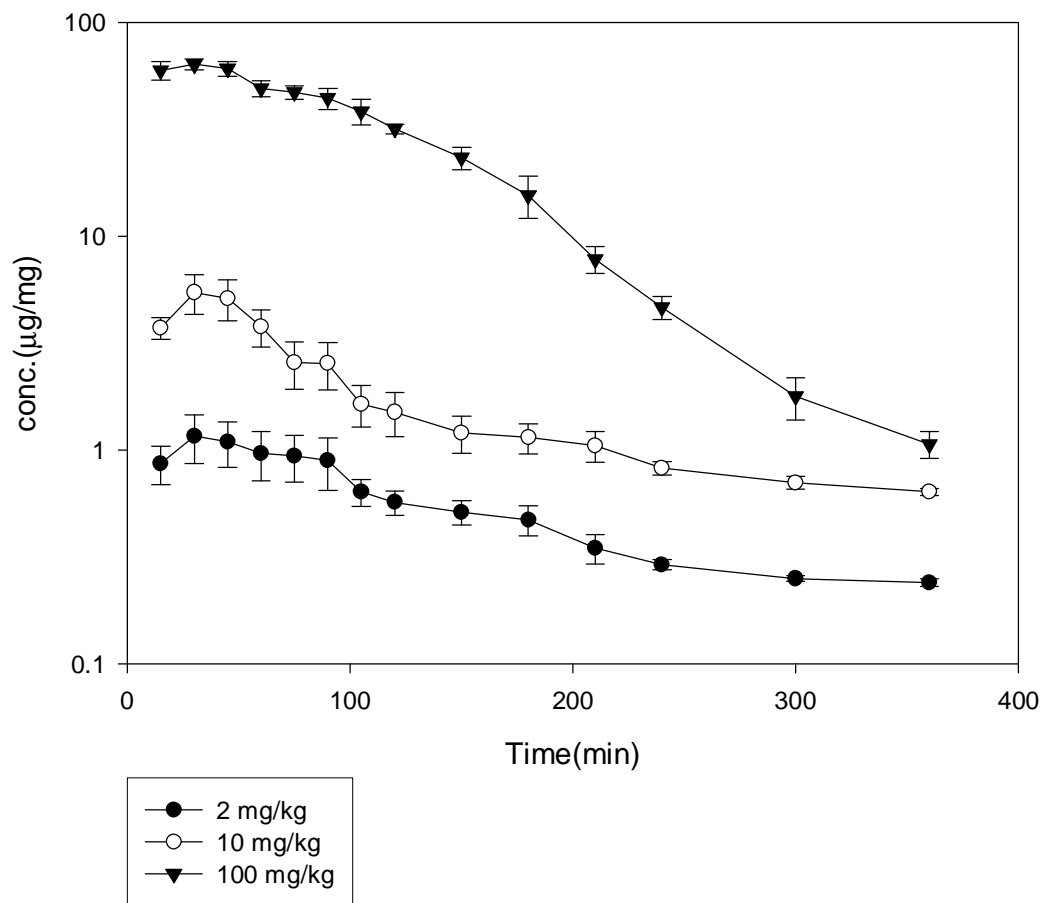


圖 20. 六隻家兔口服 Uracil 三種劑量後之平均血漿中濃度對數-時間曲線圖



參考文獻

1. Robert K. Murray, Daryl K. Granner, Peter A. Mayes, Victor W. Rodwell, *Harpers Biochemistry*, 1996, pp.359-385.
2. Mary Ann Kurinovich and Jeehiun K. Lee The Acidity of Uracil and Uracil Analogs in the Gas Phase: Four Surprisingly Acidic Sites and Biological Implications. *J Am Soc Mass Spectrom* 2002 ; 13 : 985-995
3. 時岩鵬, 姚慶強, 劉擁軍, 韋興光, 王保國, 樂楊, 栝樓化學成分的研究及其 α -波菜甾醇的含量測定(I), *中草藥*, 2002, 33 (1) : 14-16.
4. 楊帆, 沈平, 王一飛, 張仁延, 楊崇仁, 黃白紅菇的化學成分, *雲南植物研究*, 2001, 23 (3) : 373-380.
5. 畢韻梅, 汪漢卿, 陳遠騰, 謝金倫, 頭孢黴 AL031 真菌菌絲體化學成分研究(I), *中藥材*, 2001, 24(8) : 568-569.
6. 肖志豔, 陳迪華, 斯建勇, 苦瓜的化學成分研究, *中草藥*, 2000, 31 (8) : 571-573.
7. 向仁德, 張新勇, 韓英, 夏超, 殷學軍, 劉德祥, 黃國香, 王河川, 中藥蛇床子水提物活性成分的研究, *中草藥*, 1999, 30 (11) : 813-815.
8. 韓公羽, 樑華清, 廖耀中, 四川江油附子新的強心成分, *第二軍醫大學學報*, 1991, 12(1) : 10-13.
9. 遊鬆, 姚新生, 陳英傑, 中藥板藍根中活血有效成分的研究, *中藥通報*, 1988, 13 (2) : 31-32。
10. 苗敬芝, 靈芝有效成分的研究與檢測, *彭城職業大學學報*, 2002, 17(1) : 93-96.
11. 林宗輝, 臺灣蘭科植物—石斛、連珠石斛與臺灣金線蓮之化學成分及藥理活性研究, *中國醫藥學院博士論文*, 2000.
12. Kulkarni, S. G.; Harris, A. J.; Casciano, D. A.; Mehendale, H. M. Differential protooncogene expression in Sprague Dawley and Fischer 334 rats during 1,2- dichlorobenzene-induced hepatocellular regeneration. *Toxicology* 1999 , 139(1- 2) : 119-27.
13. 陳國良、陳曉清：河北省科學院微生物研究所。
14. 劉國柱：現代科學看靈芝。

15. Katajima, S.; Ogawa, N.; Ariyoshi, T. Protective effect of Trionyx carapax on CCl₄-induced hepatic injury is mediated by uracil. *Research Communications in Chemical Pathology & Pharmacology*. 1994, 84 (2) : 203-222.
16. Katajima, S.; Ogawa, N.; Ariyoshi, T. Effect of pretreatment of rats with uracil on liver injuries induced by D-galactosamine and allyl alcohol. *Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology*. 1994, 85 (1) : 14-20.
17. Gerasimeko, Mlu.; Vasileva, EV.; Kuvshinov, EV.; Barybin, VF.; Skovorodko, SN.; Filatova, EV.; Lazarenko, NN. Photophoresis of methyluracil ointment in the complex treatment of temporomandibular pain syndrome. *Voprosy Kurortologii, Fizioterapii I Lechebnoi Fizicheskoi Kultury*. 2002, (3) : 12-5.
18. Rothenberg, M.L.; Benedetti, J.K.; Macdonald, J.S.; Seay, T.E.; Neubauer, M.A.; George C.S. ;Tanaka, M.S.; Jr. Giguere ,J.K.; Pruitt Abbruzzese, J.L. Phase II trial of 5-fluorouracil plus eniluracil in patients with advanced pancreatic cancer : a Southwest Oncology Group study. *Annals of Oncology*, 2002,13 (10) : 1576-82.
19. Kumar, R.; Tyrrel, D.L. Novel 5-vinyl pyrimidine nucleosides with potene anti-hepatitis B virus activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry letters*, 2001,11 (22) : 2917-20.
20. Chakrapee , S. S.; Sinlarat, P.; Lohsiriwat, D.; Lert ,A. N.; Nimmanwudipong, T.; Srimuninnimit, V.; Vathanopl, V.; Arch, Y. P.; Boonch, W. Uracil with ftorafur and low dose oral folinic acid in advanced colorectal cancer. *Jouranl of the Medical Association of Thailand*, 2001,84 (8) : 1142-7.
21. Lopez, F.J.; Arias, L.; Chan, R.; Clarke, D.E.; Elworthy, T.R.; Ford, A.P. Synthesis, pharmacology and pharomcokinetics of 3-(4-aryl-piperazin-1-ylalkyl)-uracils as uroselective alpha A- antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2003,13 (11) : 1873-8.
22. Maruyama, T.; Kozai, S.; Shimizu, T.; Kimura, T.; Watanabe, K.;

- Yamamoto, I. Synthesis and hypnotic-sedative activities of N-substituted uracil on mice. *Nucleic Acids Research. Supplement*, 2003, (3):25-6.
23. Steinhagen, H.; Gerisch, M.; Mittendorf, J.; Schlemmer, K.H.; Albrecht, B. Substituted uracil derivatives as potent inhibitors of poly(ADP-ribose)polymerase-1 (PARP-1). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2002,12 (21):3187-90.
24. Goto, Y.; Watanabe, N.; Kogawa, N.; Tsuchiya, M.; Takahashi, O.; Uchi, H.; Furue, M.; Hayashi, H.; CX-659S: a novel daminouracil derivative that has antioxidative and acute anti-inflammatory activities. *European Journal of Pharmacology*, 2002, 438 (3):189-96.
25. Kita, T.; Takahashi, H.; Hashimoto, Y.; Thymidine phosphorylase inhibitors with a homophthalimide skeleton. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2001,24 (7):860-2.
26. 江芙美, 臺灣金線連成份-天麻素、天麻苷元及尿嘧啶之藥物動力學研究, 中國醫藥學院碩士論文, 2003.
27. Lawrence, K. House.; Jacqueline, Ramirez; Mark, J. R. Simultaneous determination of 5-fluorouracil and uracil by high-performance liquid chromatography using four serial columns. *Journal of Chromatography B*, 1998 (720) : 245-250.
28. H. Kazoka. Determination of uracil in 5-fluorouracil substance by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 2003 (994) : 221-225.
29. Madhu, B.G.; Jade, C. S.; Jennette, A. S.; Stephen, P. A. Simple liquid chromatographic method for determination of uracil and dihydrouracil plasma levels : a potential pretreatment predictor of 5-fluorouracil toxicity. *Journal of Chromatography B*, 2002 (774) : 223-230.
30. E.Gamelin, M.Boisdron-Celle, A.Turcant, F. Larra, P.Allain, J. Robert. Rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic analysis of halogenopyrimidines in plasma. *Journal of Chromatography B*,1997 (695) : 409-416.
31. 黃紅兵, 黃民, 李蘇, 廖海, 于更生, 姜文奇, 內源性尿嘧啶和二

氫尿嘧啶的簡易高效液相色譜測定法,中國臨床藥理學雜誌,
2001 (72) ; 290-294.

附錄一

各表所列藥物動力學參數

非分室體模式(Non-compartment Model)

AUC_{total} ：血中藥物濃度對時間曲線，時間從 0 到無限大的曲線下面積($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)

AUC_{part} ：血中藥物濃度對時間曲線，時間從 0 到最後抽血點的曲線下面積($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)

MRT：藥物的平均滯留時間(min)

CL：藥物的清除率(L/min)

LAMBDA-Z(λ -Z)：藥物的末端排除速率常數(min^{-1})

$T_{1/2}$ ：藥物的末端排除速率(min)

V_D ：體內藥物分布達穩定狀態的分布體積(L)

相關公式：非分室模式

$$AUC = \int_0^{\infty} Cp dt$$

$$AUC = \int_0^{\infty} tx Cp dt / \int_0^{\infty} C_{\infty} dt = AUMC / AUC$$

非線性動力學參數

V_{max} ：體內最大代謝速率 ($\mu\text{g/mL per hr}$)

K_M ：體內藥物的 Michaelis-Menten 常數

相關公式

以血中藥物濃度變化速率求 K_M 與 V_{max}

$$\frac{1}{(\Delta C / \Delta t)} = \frac{K_M}{V_m \cdot C_m} + \frac{1}{V_m}$$

$1/(\Delta C / \Delta t)$ 對 $1/C_m$ 作圖，得一條直線，其斜率為 K_M/V_m 、截距為 $1/V_m$

生體可用率計算公式

$$\text{絕對生體可用率}(F) = \frac{AUC_{0-\infty ORAL} / DOSE_{ORAL}}{AUC_{0-\infty I.V.} / DOSE_{I.V.}}$$