

編號：CCMP96-RD-041

常用中西藥同時併用之交互作用風險評估 (2-1)

胡幼圃
國防醫學院

摘 要

研究目的：

針對人體主要第一相及第二相代謝酵素CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9, CYP3A4及UGT2B7有顯著抑制作用的常用濃縮中藥（如蒼耳散、正骨紫金丹、甘露飲及清心蓮子飲）進行動物試驗，確認其產生交互作用的風險。96年為本計畫第一年，執行主要範圍為CYP3A4及UGT2B7之部份。

研究方法：

1. 單一劑量常用濃縮中藥併服經CYP3A4代謝模式藥物(midazolam)之動物藥動試驗：控制組大鼠僅口服給予模式藥物midazolam 20mg/kg（藥品濃度5mg/ml），實驗組大鼠另外合併服用知柏地黃丸萃取液，給予大鼠知柏地黃丸的劑量為仿單標示人體平常服用劑量的5倍（0.33克/公斤體重）。控制組及實驗組於給藥後0, 2, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180與240分鐘自大白鼠尾靜脈取血0.3ml並加入適量之肝素(heparin)。
2. 單一劑量濃縮中藥併服經UGT2B7代謝模式藥物(nalbuphine)之動物藥動試驗：控制組大鼠僅口服給予模式藥物Nalbuphine 20mg/Kg（溶於Q水，20mg/mL），實驗組大鼠另外合併服用桑菊飲，給予桑菊飲的劑量為仿單標示人體平常服用劑量的5倍（0.17克/公斤體重）。控制組及實驗組於最後一次給藥後於0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12及24小時，自大白鼠尾靜脈取血 0.3 ml並加入適量之肝素(heparin)，以防止凝血，利用超高速離心將血漿分離後置於-80 °C冰箱冷凍。血液檢品的處理方法是採用串連質譜儀高層液相分析儀的分析方法探針藥物在大鼠體內隨時間的變化分析後，即可以WinNonlin分析探針藥物於大鼠體內的藥動學參數。
3. 大白鼠肝毒理組織切片觀察：動物試驗經餵食過中藥之大白鼠將進行大白鼠毒理組織切片觀察，以肝組織切片觀察其肝臟的變化以確認該中藥對肝

臟的影響。

結果與討論：

1. 大白鼠口服midazolam同時併服知柏地黃丸後會使midazolam在體內之吸收量(AUC_{total})顯著增加1.39倍($p < 0.005$)，由 50048 ± 8340 增加為 $69592 \pm 9945 \text{ min} \cdot \text{ng/mL}$ ；體內最高濃度(C_{max})也顯著升高1.36倍($p < 0.05$)，由 565 ± 133 增加為 $767 \pm 132 \text{ ng/mL}$ ；病理切片觀察發現，併服知柏地黃丸組HAI score(2.00 ± 0.00)有稍微上升，不過與控制組(1.50 ± 0.84)比較並未達顯著差異之程度。
2. 大白鼠口服nalbuphine同時併服桑菊飲後會使nalbuphine在體內之吸收量(AUC_{total})顯著增加2.90倍($p < 0.001$)，由 39 ± 12 增加為 $116 \pm 16 \text{ hr} \cdot \text{ng/mL}$ ；體內最高濃度(C_{max})也顯著升高3.31倍($p < 0.05$)，由 18.0 ± 7.4 增加為 $59.6 \pm 25.7 \text{ ng/mL}$ ；病理切片觀察發現，併服桑菊飲並不會有肝損傷發現，其HAI score(1.00 ± 1.10)與控制組(1.32 ± 0.82)比較並沒有顯著差異。由以上結果發現單劑知柏地黃丸及桑菊飲已明顯分別與midazolam及nalbuphine產生藥物-藥物交互作用，未來應再進一步以臨床試驗來確認。

關鍵詞：肝臟代謝酵素、中西藥交互作用、濃縮中藥

Number:CCMP96-RD-041

Chinese Medicines Affect the Activity of Hepatic Metabolic Enzymes(2-1)

Oliver Yoa-Pu Hu, Ph.D. National
Defense Medical Center

ABSTRACT

Aims:

To evaluate the drug-drug interaction between Chinese medicine and marketed drug. This project is help to clarify the safety of Chinese medicine and then help the people keeping from hepatic injury when using Chinese medicines and synthetic agents.

Methods:

1. SD rats PK study of single dose of midazolam and Zhi-bai-di-huang-wan (ZBDHW): 12 SD rats were randomly and equally divided into study and control group. 6 rats of study groups were orally given 20 mg/kg of midazolam and 0.33 mg/kg of ZBDHW and the other 6 SD rats were orally given 20 mg/kg of midazolam only. For both group, 0.3 ml of blood samples were taken from tail vein of rats at 2, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 and 240 minutes after dosing.
2. SD rats PK study of single dose of nalbuphine and Sang-ju-yin (SJY): 12 SD rats were randomly and equally divided into study and control group. 6 rats of study group were orally given 20 mg/kg of nalbuphine and 0.17 mg/kg of SJY and the other 6 SD rats of control group were orally given 20 mg/kg of nalbuphine only. For both group, 0.3 ml of blood samples were taken from tail vein of rats at 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 and 24 hours after dosing. All the blood samples were expressed into plasma and stored at -80oC before assayed with LC/MS/MS.
3. Pathological observations of liver slices were also conducted to confirm the effects of target Chinese medicine to liver tissues.

Results:

1. The extent of absorption (AUC_{total}) of midazolam in SD rats were significantly increased to 1.39 folds by ZBDHW (50048 ± 8340 vs. 69592 ± 9945 min*ng/mL, $p < 0.005$).The C_{max} of midazolam in SD rats were also significantly increased

- 1.36 folds (565 ± 133 vs. 767 ± 132 ng/mL, $p < 0.05$). No significant pathological observation was found between study and control groups.
2. The extent of absorption (AUC_{total}) of nalbuphine in SD rats were significantly increased to 2.90 folds by SJY (39 ± 12 vs. 116 ± 16 hr*ng/mL, $p < 0.001$). The C_{max} of nalbuphine in SD rats were also significantly increased 3.31 folds (18.0 ± 7.4 vs. 59.6 ± 25.7 ng/mL, $p < 0.05$). No significant pathological observation was found between study and control groups.

Conclusions:

Significant drug-drug interactions were found between Chinese and Western medicines.

Keywords: CYP450, UGT, drug-drug interaction

壹、前言

藥物對肝臟產生毒性主要會造成肝臟的血液流量的改變及肝細胞本身的損傷，而這些改變及損傷所造成的影響最主要的即是肝臟代謝功能的變化。而肝臟代謝功能的變化即直接可能造成毒性物質的累積、藥物—藥物交互作用的產生等等嚴重影響人體健康的後果，因此，無論中藥或西藥均應特別注意其對肝臟代謝功能之影響。

中藥於國人已有數千年的使用經驗，一般民眾無論是在養生或保健上均有使用的需求及習慣，因此，中西藥併用的機會實較西方社會高出許多。而中藥不同於西藥之處即在於其成份之複雜、作用之廣泛，即便與已有清楚藥物資訊的上市藥物併用亦難避免不良交互作用的發生，而且中藥對肝功能的影響測試未如西藥一樣已成例行要求的試驗。

腸肝的藥物代謝效應常常在口服吸收中扮演非常重要的角色，一個很顯著的例子即為葡萄柚汁反映在小腸及肝的藥物代謝酵素在人的體內的實驗，這個研究包含以葡萄柚汁當作一個選擇性小腸的CYP3A同功酶抑制劑¹⁻⁶，而使felodipine有較高的口服生體利用率。然而，在葡萄柚汁中負責酵素抑制的活性成份還沒有被真正的確認。這個例子證明：一杯葡萄柚汁就很有可能增加口服利用率，卻使我們更加憂心：國人常用之中藥亦非常可能傷害肝臟及影響人體代謝藥物的酵素進而與上市西藥產生嚴重的交互作用。因此，基於此想法，本計畫的目標即為評估以CYP2D6、CYP3A4、CYP2C9、CYP1A2及UGT2B7代謝活性影響之中藥為指標，進一步評估中西藥併服發生交互作用的風險。

Cytochrome P450 (CYP450)為藥物體內代謝以進行氧化還原反應之重要酵素，CYP450區分為多種亞型(subfamily)，廣泛分佈在肝臟、腸道及其他組織中⁷，以進行phase I reaction而利於代謝物排出體外，各種亞型及次亞型一般依據胺基酸序列相似度予以區分⁸，因此其酵素命名橫跨生物界各物種之間，包含動物、植物及微生物，Cytochrome P450中文譯名為『細胞色素P450』，Cytochrome乃指一群含三價鐵離子並附著於細胞內質網的酵素蛋白質，此含鐵蛋白結構及功能類似血紅素(hemoglobin)可負責電子轉移及能量釋放，一般稱之為heme-group或prosthetic group，CYP450則表示當一氧化碳結合於此酵素後，經可見光分光光譜儀檢測⁹，在波長450nm上具有最大吸光係數，因此定義為CYP450。

藥物經由各種給藥途徑吸收進入體內後，遵循動力學模式接續進行代謝及排除過程，藥物在體內的代謝方式主要分為一相反應(phase I

reaction)及二相反應(phase II reaction)，兩種機制皆可形成親水性代謝物，以利藥物排出體外。

混合功能單氧化酶(mixed function monooxygenase)是負責體內 phase I reaction 的主要酵素，而CYP450則是屬於此型酵素，也就是經由CYP450，CYP450 reductase，cytochrome b5等群組蛋白負責藥物的氧化還原及水解反應，而phase II reaction則主要為接合反應(conjugation)，可大致區分為六類，其中以glucuronidation、sulfation及glutathione conjugation三種最為常見。

Glucuronidation是體內最主要的phase II reaction，具有較高的催化容量(catalytic capacity)，意即當受質濃度增加時，代謝過程仍可維持一階次酵素動力學，glucuronidation的代謝過程是由醣蛋白酵素(UDP-glucuronosyltransferase, UGT)催化受質接上glucuronic acid以形成親水性代謝物，而此glucuronic acid則來自於一高能量中間體UDP-glucuronic acid (UDPGA)¹⁰，sulfation及glutathione conjugation則屬低催化容量的phase II reaction，當體內受質濃度偏高時，即可能產生酵素飽合現象，而遵循零階次酵素動力學。

1994年Shimada及Yamazaki等學者，為求瞭解細胞色素的含量比及種類分佈，而分離三十位日本人及高加索人的肝臟酵素，其研究發現雖然西方人細胞色素總體含量較東方人高，但人類肝臟細胞色素的含量比例並不隨人種及性別而有顯著差異¹¹，此研究也提供後續研究者對於藥物代謝及酵素專一性一個相當完整資訊，其中值得討論的是：各型細胞色素的含量以CYP3A所佔比例最高約為28.2%，這個結果同時也輔證過去一般認定體內藥物代謝主要經由CYP3A負責phase I代謝的定論，然而經由免疫化學分析法鑑定結果，CYP2C subfamily同時也佔整體CYP450酵素含量的18.2%，其含量比高居第二，僅次於CYP3A，其次分別是CYP1A2 (12.7%)、CYP2E1 (6.6%)、CYP2A6 (4.0%)、CYP2D6 (1.5%)及CYP2B6 (0.2%)；其中值得注意的是CYP2D6僅佔整體含量1.5%卻專一性的代謝約25%的臨床用藥，由以上分析，本計畫即選擇Phase I及Phase II中含量最多及代謝藥物最多的CYP2D6、CYP3A4、CYP2C9、CYP1A2及UGT2B7等代謝酵素來進行與中藥對經其代謝藥物的交互作用的評估。

今日國人使用中藥藥物治療疾病有明顯增加的趨勢，常常中藥與西藥之間產生嚴重交互作用而未發覺，如：金絲桃草(St. John's wort)常被使用於抗憂鬱症，對於輕度到中度的憂鬱症的治療效果，在德國是很多年的傳統藥草，在美國則以健康食品的膠囊或錠劑食品上市，然而已

有數個臨床報告指出使用金絲桃草的萃取物會與多種的處方藥物產生重要的交互作用¹²⁻¹⁹。在相關的仿單中亦增加此項交互作用的警語，主要是經由對腸道及肝臟CYP3A酵素的誘導效應，如：Cyclosporin, Protease inhibitor: indinavir, nevirapine, Oral contraceptives: ethinyloestradiol, Anticoagulants, Digoxin, Antidepressant: amitriptyline及Theophylline造成藥物交互作用，使得藥物療效降低¹²⁻¹⁹。

雖然我國傳統中草藥的使用已有數千年歷史，在【神農本草經】中記載：「藥有君臣佐使，以相宜攝合和」。所謂『君臣佐使』，即制方的法度，也就是中藥處方的準則。『君』乃指制方時，根據病變的主要症候選擇針對性的藥物為主藥；『臣』是指能輔助君藥加強療效的藥物；『佐』是既輔佐君藥，又幫助解決一些其它方面問題的藥物；而『使』乃指某種可以調和諸藥作用的藥物。

而中藥含有豐富的黃酮類，生物黃酮(Bioflavonoid, Flavonoid)這一類的物質，它們多存在於許多各種蔬果中，以花椰菜、胡蘿蔔、柑橘、黃豆、蘋果、蕃茄…等含量較高，黃酮類對於體內肝臟酵素及P-glycoprotein的影響，已經證實具有相當影響，實值得系統性探討其與西藥並用時可能產生的影響。因此，天然的中藥，即使是科學中藥亦是由植物或藥草研磨或萃取製成的；即使是單方的科學中藥，其中絕大部分均含有許多物質或成分（而非單一成分），目前已知已超過6500種Flavonoids經確認廣泛分佈於中藥植物中，誠如前所言，文獻已証實這些成分可經由抑制或促進負責藥物代謝的酵素，進而可能影響到其他西藥藥物吸收及代謝，以致常常造成了中西藥物交互作用(drug interaction)的可能及影響預期的藥物療效或造成毒性反應。

我們過去多年已進行了許多的中藥的研究，發現許多的中藥純成份的確能有效改變藥物吸收，其中包括可大幅促進acyclovir、piroxicam及buprenorphine等藥經皮吸收的中藥成份；另外，也發現許多可有效抑制或促進Phase I代謝酵素CYP1A、CYP3A、CYP2C9及Phase II代謝酵素UGT2B的中藥成份，而這些研究成果已成功獲得國內及國際共十項專利，另有四項專利正在申請中。本計畫將以二年時間，針對人體主要第一相及第二相代謝酵素CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9, CYP3A4及UGT2B7有顯著抑制作用的常用濃縮中藥(如蒼耳散、正骨紫金丹、甘露飲及清心蓮子飲)進行動物試驗，搭配5種主要經由CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9, CYP3A4及UGT2B7代謝之西藥（如theophylline, carvedilol, fluvastatin, midazolam及nalbuphine）短期及長期併服上述有顯著抑制作用之常用濃縮中藥再以LC/MS/MS檢測動物（大鼠或小鼠）體內藥物濃度即可進一

步確認產生交互作用的風險。經動物試驗確認後，選擇其中交互作用最顯著者再進行人體臨床試驗，以真正驗證及評估中西藥併用產生交互作用的風險，供中西醫政策上之參考。本計畫之完成將可替中醫藥委員會建立常用中藥對肝功能影響之基礎資料庫及中西藥合併使用，可能造成之影響之資料庫。

貳、材料與方法

一、儀器設備

(一) 液相層析串聯式質譜儀分析系統(LC/MS/MS)：

1. Shimadzu HPLC 液相層析系統：

Central controller x1 (SCL-10Avp)

Autosampler x1 (SIL- 10ADvp)

Pump----- x2 (LC- 10ADvp)

Column oven-----x1 (CTO-10ASvp)

2. Column: 3 μ m, 50 $\times$ 2.1 mm, Cyano reverse phase column (Hypersil)

3. (ABI API 3000)串聯式質譜儀

(二) 其他：

Sorvall[®] RT7 高速離心機

二、試藥

Nalbuphine 購自 Cerillant[™]; Midazolam, 1-OH-Midazolam購自 Sigm[®]

三、濃縮中藥

知柏地黃丸：莊松榮製藥，批號：EP329501

桑菊飲：莊松榮製藥，批號：EG614502

四、分析方法

(一) Midazolam及1-OH-midazolam分析

1. HPLC/MS/MS條件及設定

採用高效能液相層析質譜儀(Liquid Chromatography /Mass/ Mass LC/MS/MS, API 3000 triple-quadupole mass spectrometer equippe with an ionspray LC/MS interface)進行分析：

(1) 幫浦：LC-10 AD VP series Binary, Shimadzu, Japan.

(2) 自動注射器：SIL-10AD VP, Shimadzu, Jopan.

(3) 質譜：API 3000 LC/MS/MS with Analyst 1.4, Applied Biosystems.

(4) 管柱：Hypersil[®] C18, 3 μ m, 50 $\times$ 2.1mm, Thermo Scientific, U.S.A.

(5) 移動相：0.1% Formic acid in water: 0.1% Formic acid in MeOH
=45: 55 (v/v)

- (6) 流速：0.3 mL/min
- (7) 注射體積：10 μ L
- (8) 分析時間：5mins
- (9) Ionization mode:
ESI
- (10) Ion Spray Voltage (IS): 5.5 kV
- (11) Curtain Gas (CUR): 11
- (12) Nebulizer Gas(NEB): 10
- (13) Temperature (TEM): 375 $^{\circ}$ C
- (14) Collisionally Activated Dissociation (CAD): 8
- (15) Multiple reaction monitoring (MRM)
parameter
- (16) midazolam 母離子選擇為 326.3(m/z)，子離子選擇為 291.2(m/z); 1-OH-midazolam母離子選擇為342.1(m/z)，子離子選擇為 324.1(m/z)；內部標準品(internal standard) flunitrazepam母離子選擇為314 (m/z)，子離子選擇為268 (m/z)。

2. 試樣處理方法

檢品的處理步驟為，取50 μ L大鼠血漿，加入50 μ L之內部標準品(internal standard: Flunitrazepam 10 μ g/mL)及1ml的dichloromethane/ether(3:7, v/v)，震盪4分鐘後，以2900 $\times$ g離心五分鐘，將離心後之檢品置於-80 $^{\circ}$ C冰箱20分鐘，接著取出上清液，於50 $^{\circ}$ C下利用氮氣將檢品吹乾，並以3mL甲醇/ mini-Q水(1:1, v/v)溶解已乾燥之檢品，取50 μ L檢品以HPLC-MS/MS分析。

3. 校正曲線製作

取Midazolam stock solution 1mg/mL 20 μ L加入dilute solvent (plasma)，以序列稀釋作一組標準濃度依序為10000、8000、6000、4000、2000、1000、500、100、20ng/mL，再加入50 μ L內部標準品Flunitrazepam (10 μ g/mL)後以2900 $\times$ g離心5分鐘，取上清液注入LC/MS/MS，以midazolam及內部標準品的波峰面積比值

與其相對濃度作圖，計算標準檢量曲線，並以標準偏差(standard deviation, SD)、變異係數(%CV)及誤差(%error)來驗證分析方法的精確性及準確性，同時以線性迴歸係數來代表標準曲線之線性(linearity)關係，並確效同日間(Intra-day)及異日間(Inter-day)的

品管檢品。

取 1'-OH-midazolam stock solution 100 μ g/mL 50 μ L 加入 dilute solvent (plasma)，以序列稀釋作一組標準濃度依序為 25、250、500、1000、2000、3000、4000、5000 ng/mL，再加入 50 μ L 內

部標準品Flunitrazepam (10 μ g/mL)後以2900 $\times$ g離心5分鐘，取上清液注入LC/MS/MS，以1'-OH-midazolam及內部標準品的波峰面積比值與其相對濃度作圖，計算標準檢量曲線，並以標準偏差(standard deviation, SD)、變異係數(%CV)及誤差(%error)來驗證分析方法的精確性及準確性，同時以線性迴歸係數來代表標準曲線之線性(linearity)關係，並確效同日間(Intra-day)及異日間(Inter-day)的品管檢品。

五、單一劑量常用濃縮中藥(知柏地黃丸)併服經CYP3A4代謝模式藥物(midazolam)之動物藥動試驗

在進行動物實驗之前，大鼠(SD rat)須禁食一日，控制組大鼠僅口服給予模式藥物midazolam 20mg/kg (藥品濃度5mg/ml)，實驗組大鼠另外合併服用知柏地黃丸，給予大鼠知柏地黃丸的劑量為仿單標示人體平常服用劑量的5倍(0.33克/公斤體重)。控制組及實驗組於給藥後0, 2, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180與240分鐘自大白鼠尾靜脈取血0.3ml並加入適量之肝素(heparin)，以防止凝血，利用超高速離心將血漿分離後置於-80 $^{\circ}$ C冰箱冷藏。血液檢品的處理方法是採用串連質譜儀高層液相分析儀的分析方法，探針藥物(midazolam)及其經CYP3A4代謝物(1-OH-midazolam)在大鼠體內隨時間的變化分析後，即可以WinNonlin分析探針藥物於大鼠體內的藥動學參數，亦即模式藥物於大鼠體內的吸收、分佈、代謝及排除在併服或不併服中藥製劑之後的變化即可做一比較，由此即可確認中藥製劑與西藥併服所產生的交互作用。

六、單一劑量常用濃縮中藥(桑菊飲)併服經UGT2B7代謝模式藥物(nalbuphine)之動物藥動試驗

在進行動物實驗之前，大鼠(SD rat)須禁食一日，控制組大鼠僅口服給予模式藥物Nalbuphine 20mg/Kg (溶於Q水，20mg/mL)，實驗組大鼠另外合併服用桑菊飲(順天堂製藥)，給予桑菊飲的劑量為仿單標示人體平常服用劑量的5倍(0.17克/公斤體重)。控制組及實驗組於最後一次給藥後於0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12及24小時，自大白鼠尾靜脈取血0.3ml並加入適量之肝素(heparin)，以防止凝血，利用超高速離心將血漿分離後置於-80 $^{\circ}$ C冰箱冷凍。血液檢品的處理方法是採用串連質譜儀高層液相分析儀的分析方法模式藥物(nalbuphine)在大鼠體內隨時間的變化分析後，即可以WinNonlin分析探針藥物於大鼠體內的藥動學參數，亦即探針藥物於大鼠體內的吸收、分佈、代謝及排除在併服或

不併服中藥製劑之後的變化即可做一比較，由此即可確認中藥製劑對肝臟酵素的實際影響。

七、病理觀察

動物試驗經餵食過中藥之小白鼠將進行小白鼠毒理組織切片觀察，以肝組織切片觀察其肝臟的變化以確認該中藥對肝臟的影響。小白鼠在處理過後立刻犧牲，將以光學顯微鏡觀察之肝試樣以10%磷酸緩衝液緩衝之福馬林固定脫水，並以paraffin包埋，接著將包埋之試樣切成5 μ m厚之切片，再以hematoxylin, eosin及periodic acid Schiff染色後即可做病理觀察之用。另外，將以電子顯微鏡觀察之肝切片，先以cacodylate緩衝液(0.1M, pH7.4)清洗，再於20% aqueous osmium tetroxide固定1小時，接著以graded alcohol脫水並包埋於Spurr樹脂。包埋後之試樣再以鑽石刀切成超薄片，再以uranyl acetate與lead citrate染色，處理好之試樣將以transmission electron microscope (Hitachi 600, Hitachi Co., Japan)來做病理觀察，最後由病理醫師以Modified Histological Activity Index (Modified HAI)判讀評分，肝組織受損越嚴重，其HAI分數越高，分數範圍0-20分。

參、結果

一、Midazolam及1-OH-midazolam分析方法確效

(一) Midazolam

Midazolam於大白鼠血漿中測定之標準曲線濃度範圍為20~10000ng/mL。標準曲線異日間(n=6, 如圖一)之線性迴歸, r值為0.9997, 顯示本分析系統在所使用的濃度範圍內線性關係良好, 精密度(precision, CV)與準確度(accuracy, %error)皆在15%規定範圍之內, 如表一。

Midazolam的分析確效驗證, 包括LLOQ (20ng/mL)、LQC (50ng/mL)、Medium QC (5000ng/mL)、High QC (7000ng/mL)四種濃度, 其同日間(n=6)及異日間(n=6)之精密度(precision, CV)與準確度(accuracy, %error)皆在15%規定範圍之內, 如表二-1和表二-2。

(二) 1-OH-midazolam

1'-OH-midazolam於大白鼠血漿中測定之標準曲線濃度範圍為25~5000ng/mL。標準曲線異日間(n=6, 如圖二)之線性迴歸, r值為0.9999, 顯示本分析系統在所使用的濃度範圍內線性關係良好, 精密度(precision, CV)與準確度(accuracy, %error)皆在15%規定範圍之內, 如表三。

1'-OH-midazolam的分析確效驗證, 包括LLOQ (25ng/mL)、LQC (50ng/mL)、Medium QC (2500ng/mL)、High QC (3500ng/mL)四種濃度, 其同日間(n=6)及異日間(n=6)之精密度(precision, CV)與準確度(accuracy, %error)皆在15%規定範圍之內, 如表四-1和表四-2。由圖三可知1'-OH-midazolam與4-OH-midazolam分子量相同, 但經由LC-MS/MS可以將1'-OH-midazolam與4-OH-midazolam分離, 也確認本實驗所測得之1'-OH-midazolam濃度並非1'-OH-midazolam與4-OH-midazolam總和之濃度。

二、單一劑量常用濃縮中藥(知柏地黃丸)併服經CYP3A4代謝模式藥物(midazolam)之動物藥動試驗

Midazolam為強效安眠鎮靜劑, midazolam在體內主要是經由CYP3A4代謝為1-OH-midazolam, 故CYP3A4的活性對midazolam在體內的代謝預期會有顯著的影響。本計畫選擇midazolam為模式藥, 中藥則選擇在體外試驗對CYP3A4活性有顯著影響之知柏地黃丸(95年計畫成果)。如圖五及六所示, 當大白鼠口服midazolam, 同時給予單劑

量(0.33g/kg)知柏地黃丸後，大白鼠體內血漿之midazolam及其代謝物1-OH-midazolam濃度均會顯著升高，而由表六之midazolam動力學參數來看，midazolam體內最高濃度(C_{max})由控制組的 $1.35 \pm 0.25 \mu\text{g/mL}$ ，在單劑量服用知柏地黃丸後，顯著升高至 $2.21 \pm 0.74 \mu\text{g/mL}$ ($p < 0.05$)。代表體內吸收藥物的總量的 AUC_{total} ，則由控制組的 $114.8 \pm 35.6 \text{ min} \cdot \mu\text{g/mL}$ ，單劑量服用桑菊飲後，顯著升高至 $236.7 \pm 62.0 \text{ min} \cdot \mu\text{g/mL}$ ($p < 0.001$)，大幅增加吸收達2.06倍；而代表藥物代謝速度的排除半衰期($t_{1/2}$)，由控制組的 $57.1 \pm 16.0 \text{ min}$ ，單劑量服用知柏地黃丸後，減緩至 63.3 ± 13.3 但未達統計之顯著差異，知柏地黃丸顯然會增加大白鼠吸收midazolam的能力。另外，由表七來看，併服知柏地黃丸也使代謝物1-OH-midazolam的最高濃度(C_{max})由控制組的 $565 \pm 134 \text{ ng/mL}$ ，顯著升高至 $767 \pm 132 \text{ ng/mL}$ ($p < 0.05$)； AUC_{total} ，則由控制組的 $50.1 \pm 8.3 \text{ min} \cdot \mu\text{g/mL}$ ，顯著升高至 $69.6 \pm 9.9 \text{ min} \cdot \mu\text{g/mL}$ ($p < 0.005$)，增加達1.39倍。由此可知，人體併服midazolam及知柏地黃丸極可能會造成藥物交互作用，而產生危險。

三、單一劑量常用濃縮中藥(桑菊飲)併服經UGT2B7代謝模式藥物(nalbuphine)之動物藥動試驗

Nalbuphine為嗎啡類強效鎮痛劑，一般用於手術後止痛及癌症疼痛控制，與其他嗎啡類藥物相同的是其主要副作用為呼吸抑制。Nalbuphine在體內主要是經由UGT2B7代謝為nalbuphine-3-glucuronide，故UGT2B7的活性對nalbuphine在體內的代謝預期會有顯著的影響。本計畫選擇nalbuphine為模式藥，中藥則選擇對UGT2B7活性有顯著影響之桑菊飲（95年計畫成果）。如圖八所示，當大白鼠口服nalbuphine，同時給予單劑量(0.17g/kg)桑菊飲後，大白鼠體內血漿之nalbuphine濃度會顯著升高，而由表八之nalbuphine動力學參數來看，nalbuphine體內最高濃度(C_{max})由控制組的 $18 \pm 7 \text{ ng/mL}$ ，在單劑量服用桑菊飲後，顯著升高至 $60 \pm 26 \text{ ng/mL}$ ($p < 0.05$)。代表體內吸收藥物的總量的 AUC_{total} ，則由控制組的 $39.0 \pm 11.6 \text{ hr} \cdot \text{ng/mL}$ ，單劑量服用桑菊飲後，顯著升高至 $113.2 \pm 16.1 \text{ hr} \cdot \text{ng/mL}$ ($p < 0.001$)，大幅增加吸收達2.9倍；而代表藥物代謝速度的排除半衰期($t_{1/2}$)，由控制組的 $2.92 \pm 1.86 \text{ hr}$ ，單劑量服用桑菊飲後，減緩至 4.15 ± 3.02 但未達統計之顯著差異，桑菊飲顯然會增加大白鼠吸收nalbuphine的能力。由此可知，人體併服nalbuphine及桑菊飲極可能會造成藥物交互作用，而產生危險。

四、併服知柏地黃丸及midazolam對大白鼠肝臟組織之影響

以Modified Histological Activity Index (Modified HAI)判讀評分單獨給予midazolam之控制組及同時給予midazolam及單劑量知柏地黃丸之實驗組，其HAI score分別為 1.50 ± 0.84 及 2.00 ± 0.00 ，以Kruskal-Wallis test及Mann-Whitney test分析二組間之差異，結果發現兩組之HAI score沒有顯著差異。

另由圖九至十二之控制組的肝組織切片來看，無論是portal area (bile duct, portal vein, hepatic artery)或central vein (CV)，細胞之morphology均無異狀；而單劑量給予知柏地黃丸組之圖十三至十六來看，在central vein (CV)附近則發現有發炎細胞增多(圓圈標記處)現象。由以上觀察可知，併服midazolam及知柏地黃丸對大白鼠肝組織會有一些輕微的不顯著的傷害。

五、併服桑菊飲及nalbuphine對大白鼠肝臟組織之影響

以Modified Histological Activity Index (Modified HAI)判讀評分單獨給予nalbuphine之控制組及同時給予nalbuphine及單劑量桑菊飲之實驗組，其HAI score分別為 1.33 ± 0.82 及 1.00 ± 1.10 ，以Kruskal-Wallis test及Mann-Whitney test分析二組間之差異，結果發現兩組之HAI score沒有顯著差異。

另由圖十七至十九之控制組的肝組織切片來看，無論是portal area (bile duct, portal vein, hepatic artery)或central vein (CV)，細胞之morphology均無異狀；而單劑量給予桑菊飲組之圖二十至二十二來看，除在CV附近有極少發炎細胞被發現，基本上都跟控制組類似。由以上觀察可知，併服nalbuphine及桑菊飲對大白鼠肝組織並不會有顯著的傷害。

肆、討論

- 一、大鼠的肝臟代謝酵素基本雖與人體相似，但還是有不同的地方，大鼠代謝藥物的方式不盡與人體相同，因此，未來還是需要以臨床試驗做進一步確認本計畫所得到的結果。
- 二、肝臟代謝酵素一般均分佈在central vein附近較多，而在併服midazolam及知柏地黃丸後發現central vein附近有輕微發炎現象，顯然這是造成代謝酵素活性下降的可能原因。
- 三、併服nalbuphine及桑菊飲雖然對肝臟沒有顯著的影響，不過在腸胃道也有為數甚多的UGT2B7，故造成nalbuphine藥動性質改變的原因有可能是因為腸胃的UGT2B7活性受到影響所致。
- 四、本計畫今年根據去年計畫成果，挑選兩個在體外試驗中會顯著抑制代謝酵素活性的中藥來進行大鼠體內藥動試驗，結果發現這兩種中藥均會與西藥產生顯著的藥物－藥物交互作用，顯然體內體外試驗之相關性甚高，未來，體外試驗做為篩檢藥物-藥物交互作用是值得參考的工具。
- 五、在摘要及結果中所提及之對藥物藥動學參數有「顯著影響」，意指民眾若服用會「顯著影響」藥物藥動學參數之中藥後，同時併服其他藥物時即可能使藥物在體內的濃度產生不預期之變化，進而可能造成藥物失效或產生副作用的情形。

伍、結論與建議

- 一、本計畫今年根據去年計畫成果，挑選兩個在體外試驗中會顯著抑制代謝酵素活性的中藥來進行大鼠體內藥動試驗，結果發現這兩種中藥均會與西藥產生顯著的藥物-藥物交互作用，顯然體內體外試驗之相關性甚高，未來，體外試驗做為篩檢藥物－藥物交互作用是值得參考的工具，因此，建議應利用此一工具繼續大量且快速地篩檢已上市的中藥製劑，以進一步評估上市中藥用藥的風險。
- 二、知柏地黃丸及桑菊飲經本計畫之大白鼠體內藥動試驗，發現在併服midazolam或nalbuphine後會明顯產生藥物－藥物交互作用，未來應再進一步以臨床試驗來確認。
- 三、今年僅針對經CYP3A4及UGT2B7代謝之藥物進行體內試驗，明年應持續針對其他代謝酵素進行同樣的體內藥動試驗，以擴大了解各種代謝酵素所引起的藥物-藥物交互作用的可能。
- 四、未來中藥新藥上市前，也應測試其對主要肝臟代謝酵素的影響，以進一步評估其上市後用藥的風險。

誌謝

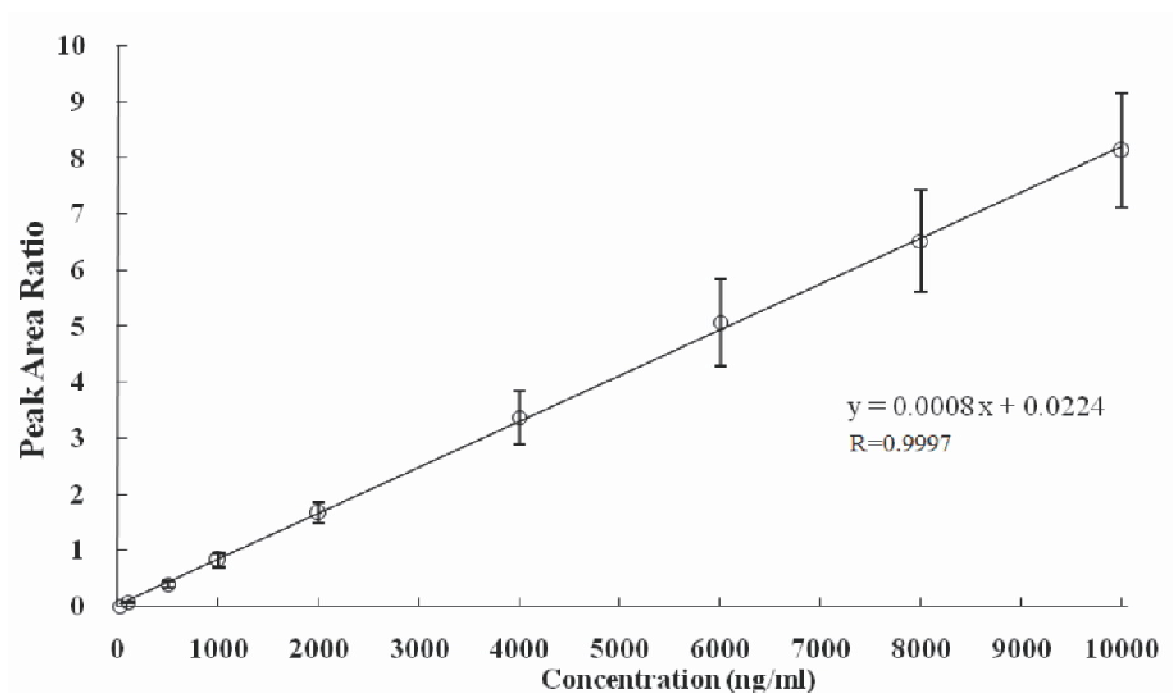
本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號CCMP96-RD-041提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

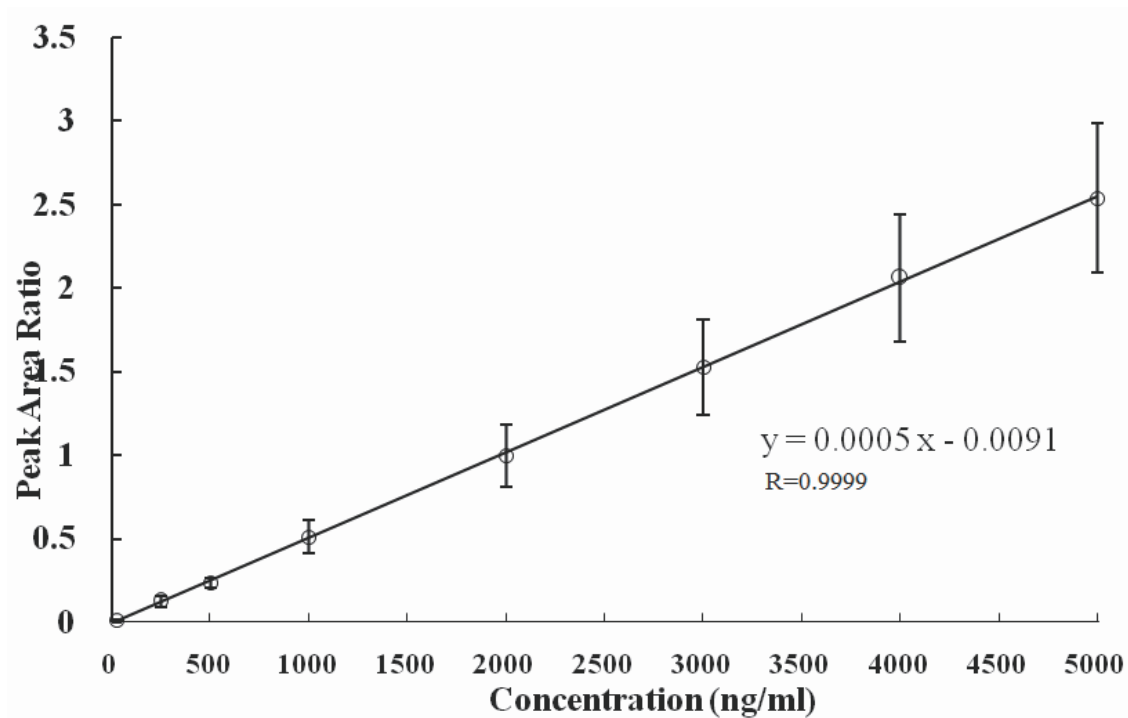
1. Regardh CG, Baamhielm C, Edgar B, Hoffman KJ. Pharmacokinetics and bio- transformanon of 1,4-dihydropyridine calcium antagonists. *Prog Drug Metab* 1990; **12**: 41-86.
2. Guengerich FP, Brian WR, Iwasaki M, Sari MA, Baarnhielm C, Berntsson P. Oxidation of dihydropyridine calcium channel blockers and analogues by human liver cytochrome P450111A4. *J Med Chem* 1991; **34**:1834-1844.
3. Bailey DG, Bend JR, Arnold JMO, Tran LT, Spence JD. Erythromycin-felodipine interaction: magnitude, mechanism, and comparison with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther* 1996; **60**: 25-33.
4. Kolars JC, Schmiedlin-Rem P, Schuetz JD, Fang C, Watkins PB. Identification of rifampicin-inducible P450III A4 (CYP3A4) in human small bowel enterocytes. *J Clin Invest* 1992; **90**: 1871-1878.
5. De Waziers I, Cugnenc PH, Yan CS, Leroux JP, Beaune PH. Cytochrome P450 isoenzymes, epoxide hydrolase and glutathione transferases in rat and human hepatic and extrahepatic tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; **253**: 287-294.
6. Lown KS, Bailey DG, Fontana RJ, *et al.* Grapefruit juice Increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. *J Clin Invest* 1997; **99**: 2545-2553.
7. Krishna D. and Klotz U., Extrahepatic metabolism of drugs in humans. *Clinical Pharmacokinetics* 1994; **26**: 144-160.
8. Slaughter R.L. and Edward D.J., Recent advances: the cytochrome P450 enzymes. *The Annals of Pharmacotherapy* 1995; **29**: 619-624.
9. Omura T. and Sato R., The carbon monoxide-binding pigment of liver micro- somes. *The Journal of Biological Chemistry* 1964; **239**: 2370-2378.
10. Radomska-Pandya A., Czernik P.J., Little J.M., Battaglia E., and Mackenzie P.I., Structure and functional studies of UDP-glucuronosyl-transferase. *Drug Metabolism Reviews* 1999; **31**: 817-899.
11. Shimada T., Yamazaki H., Mimura M., Inui Y. and Guengerich F.P., Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1994; **270**: 414-423.
12. Barnes J. Anderson LA. Phillipson JD. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of*

- Pharmacy & Pharmacology* 2001; **53**(5): 583-600.
13. Bergonzi MC. Bilia AR. Gallori S. Guerrini D. Vincieri FF. Variability in the content of the constituents of *Hypericum perforatum* L. and some commercial extracts. *Drug Development & Industrial Pharmacy* 2001; **27**(6): 491-7.
 14. John A. Brockmoller J. Bauer S. Maurer A. Langheinrich M. Roots I. Pharmacokinetic interaction of digoxin with an herbal extract from St John's wort (*Hypericum perforatum*). *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 1999; **66**(4): 338-45.
 15. Muller WE. Rolli M. Schafer C. Hafner U. Effects of hypericum extract (LI 160) in biochemical models of antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry* 1997; **30** Suppl 2: 102-7.
 16. Nebel A. Schneider BJ. Baker RK. Kroll DJ. Potential metabolic interaction between St. John's wort and theophylline. *Annals of Pharmacotherapy* 1999; **33**(4): 502.
 17. Piscitelli SC. Burstein AH. Chait D. Alfaro RM. Falloon J. Indinavir concentrations and St John's wort. erratum appears in *Lancet* 2001 Apr 14; 357(9263): 1210. *Lancet* 2000; **355**(9203): 547-8.
 18. Ruschitzka F. Meier PJ. Turina M. Luscher TF. Noll G. Acute heart transplant rejection due to Saint John's wort. *Lancet* 2000; **355**(9203): 548-9.
 19. Yue QY. Bergquist C. Gerden B. Safety of St John's wort (*Hypericum perforatum*). *Lancet* 2000; **355**(9203): 576-7.
 20. 林宜信：建立臺灣中藥用藥安全環境，衛生署中醫藥委員會，93年12月，台北，p.1-6。
 21. Gibson, G. and P. Skett, 1994, "Chapter 4: Factors affecting drug metabolism: internal factors," in *Introduction to drug metabolism*, London: Blackie Academic & Professional.
 22. Dierks EA, Stams KR, Lim HK, et al. A method for the simultaneous evaluation of the activities of seven major human drug-metabolizing cytochrome p450s using an in vitro cocktail of probe substrates and fast gradient liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Drug Meta & Dispos.* 2001; **29**(1): 23-29.

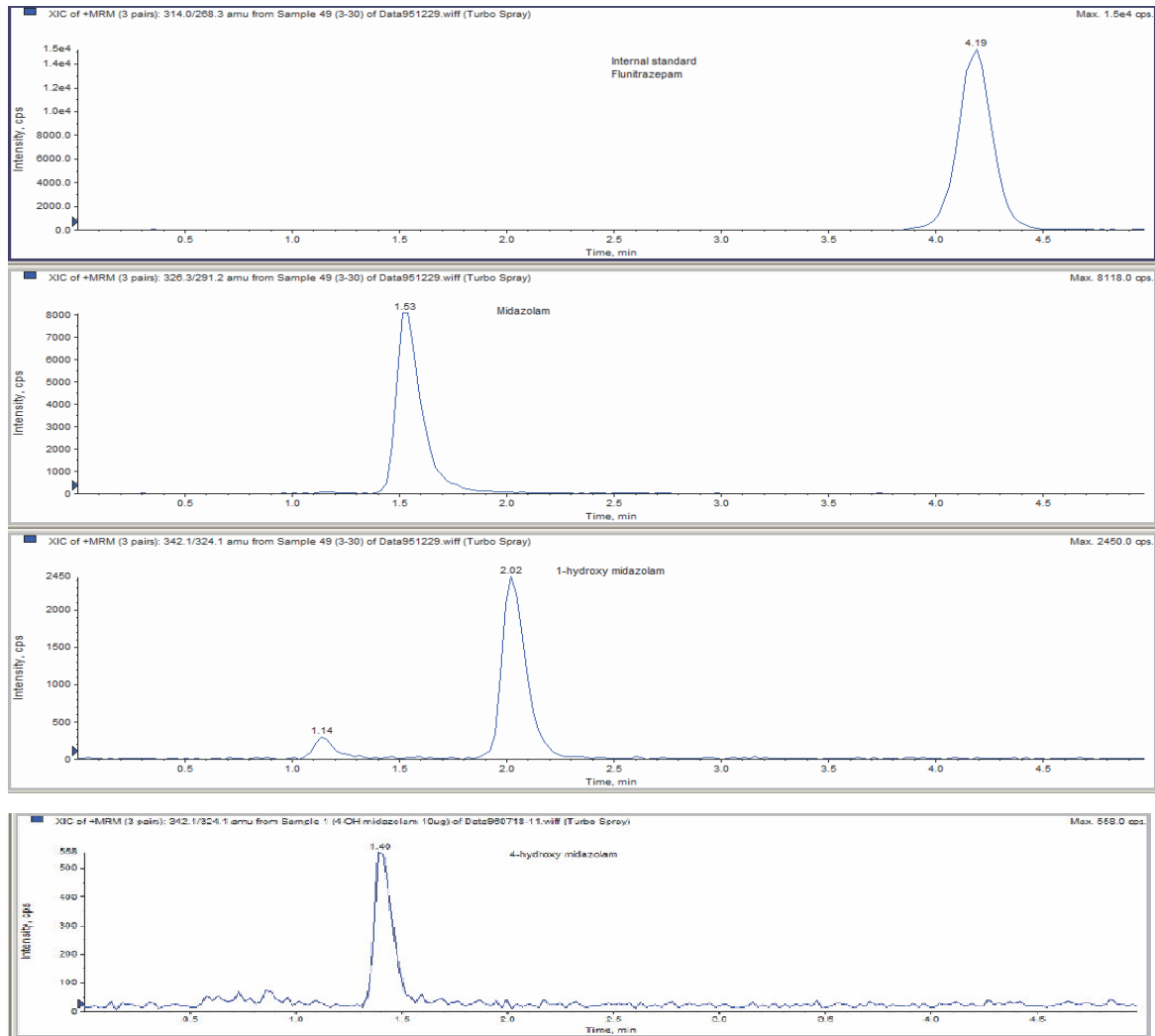
柒、圖、表



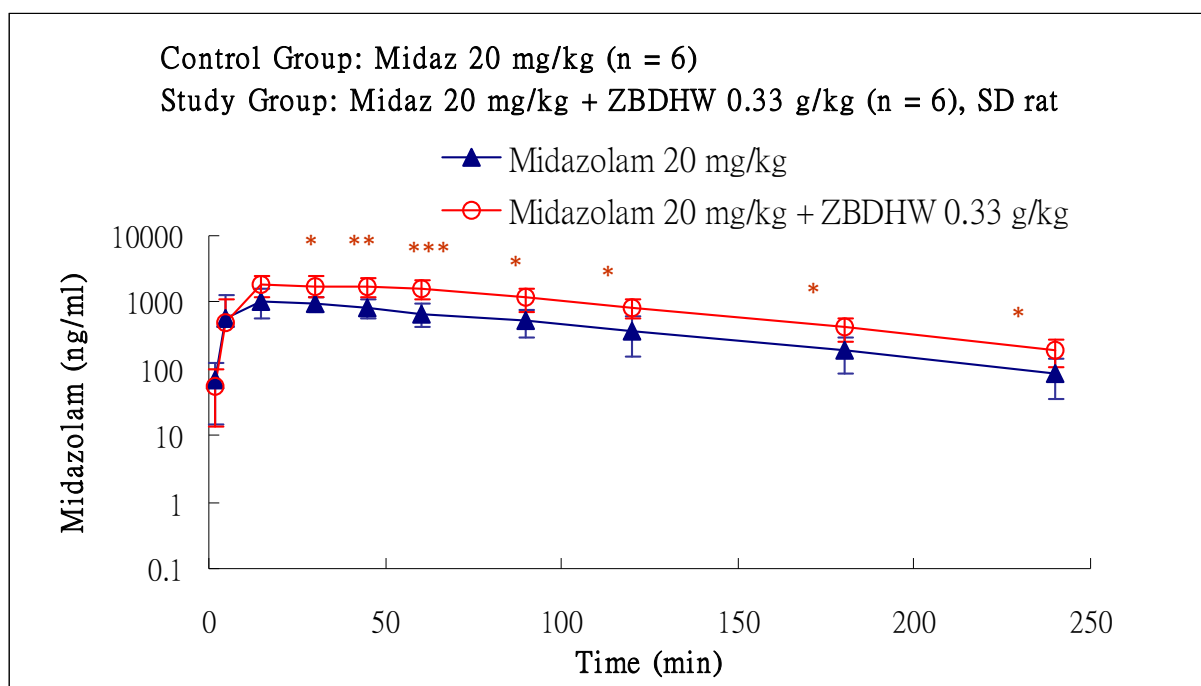
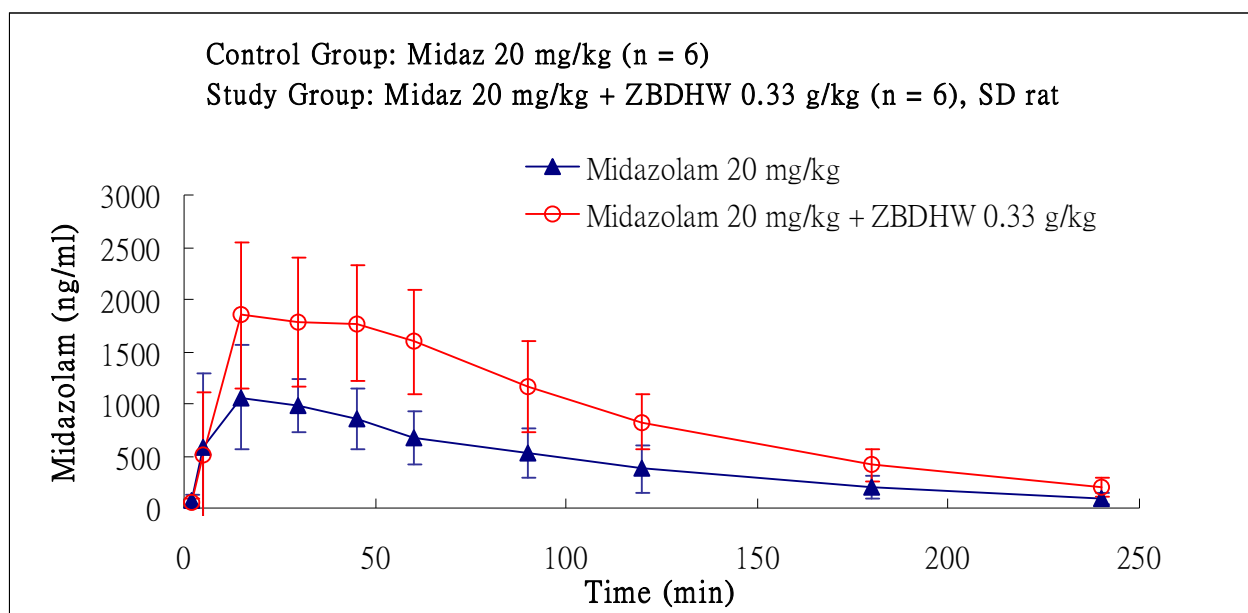
圖一 Midazolam於大鼠血漿中異日間之標準曲線(n=6)



圖二 1-OH-Midazolam於大鼠血漿中異日間之標準曲線(n=6)

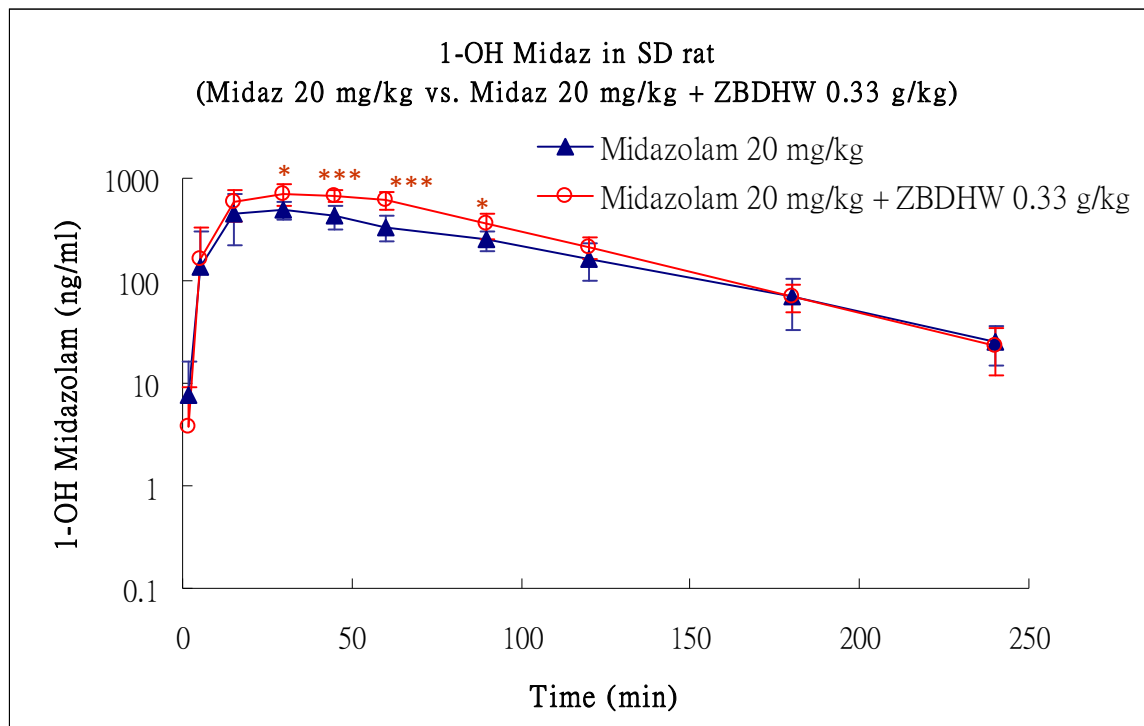
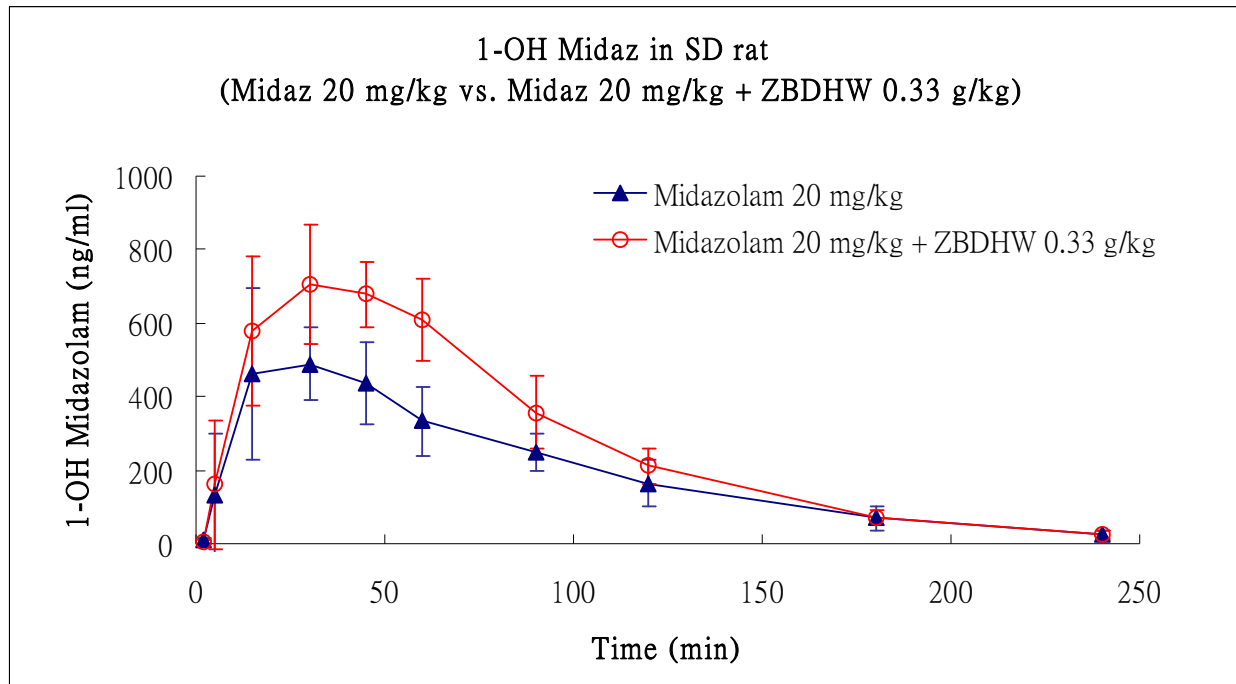


圖三 Midazolam、1'-OH-midazolam、4-OH-midazolam與內部標準品 Flunitrazepam於老鼠血漿之LC-MS/MS圖譜。



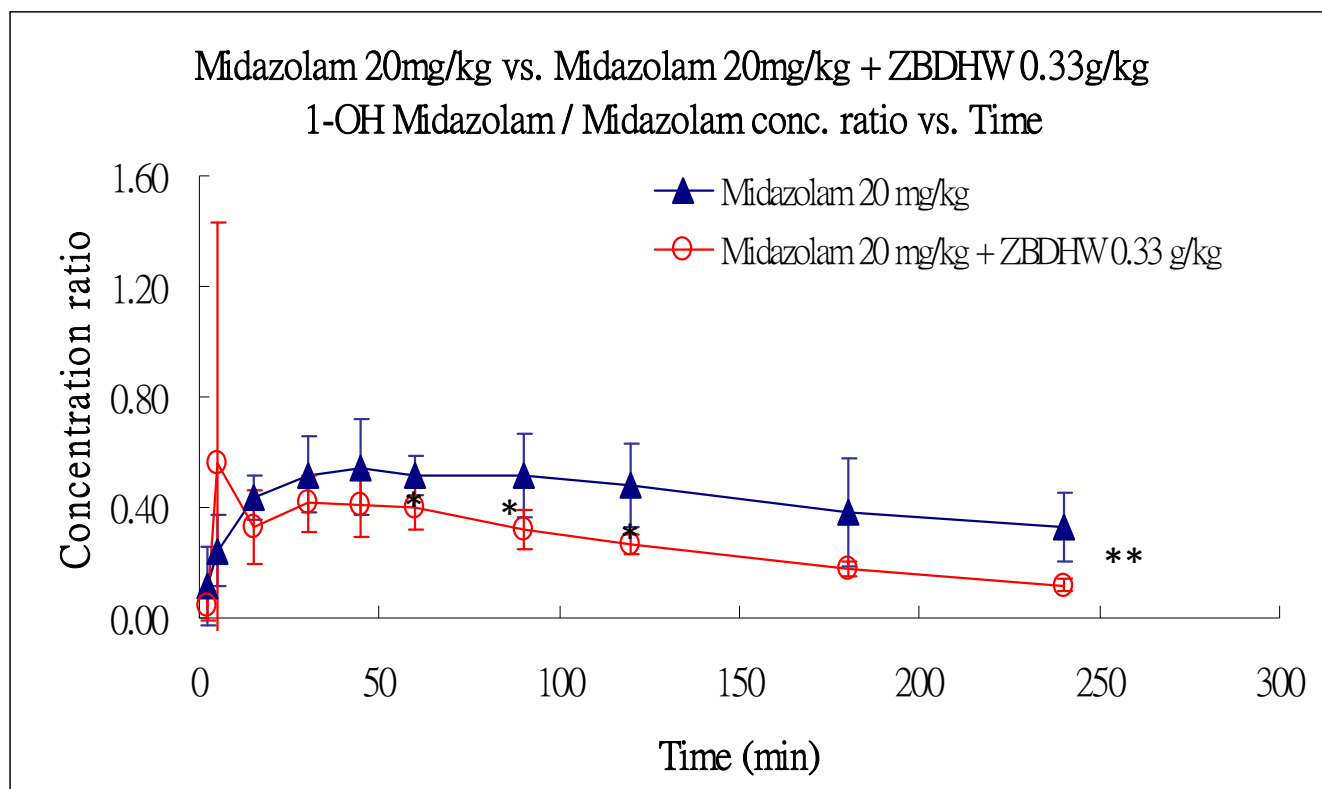
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.005$ (statistical analysis: t-test), Data: mean $\pm$ SD

圖五 大鼠口服midazolam併服或不併服知柏地黃丸對其midazolam血中濃度之影響（上圖為一般座標，下圖為半對數座標）

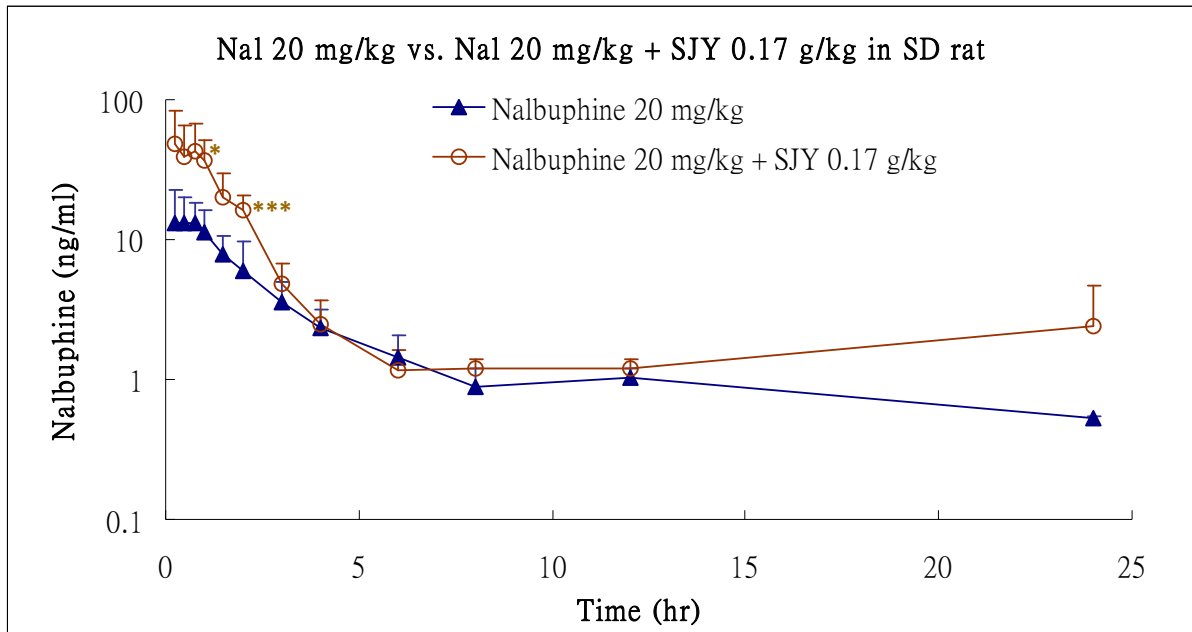
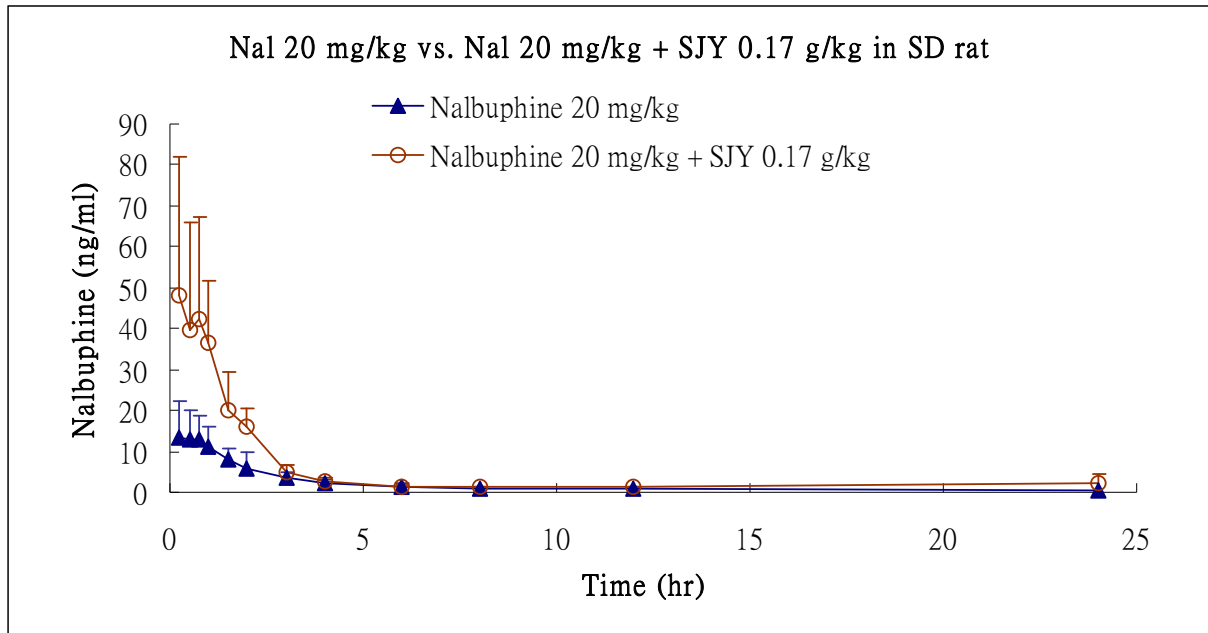


* $P < 0.05$, *** $P < 0.005$ (statistical analysis: t-test), Data: mean $\pm$ SD

圖六 大鼠口服midazolam併服或不併服知柏地黃丸對其代謝物1-OH-midazolam血中濃度之影響（上圖為一般座標，下圖為半對數座標）

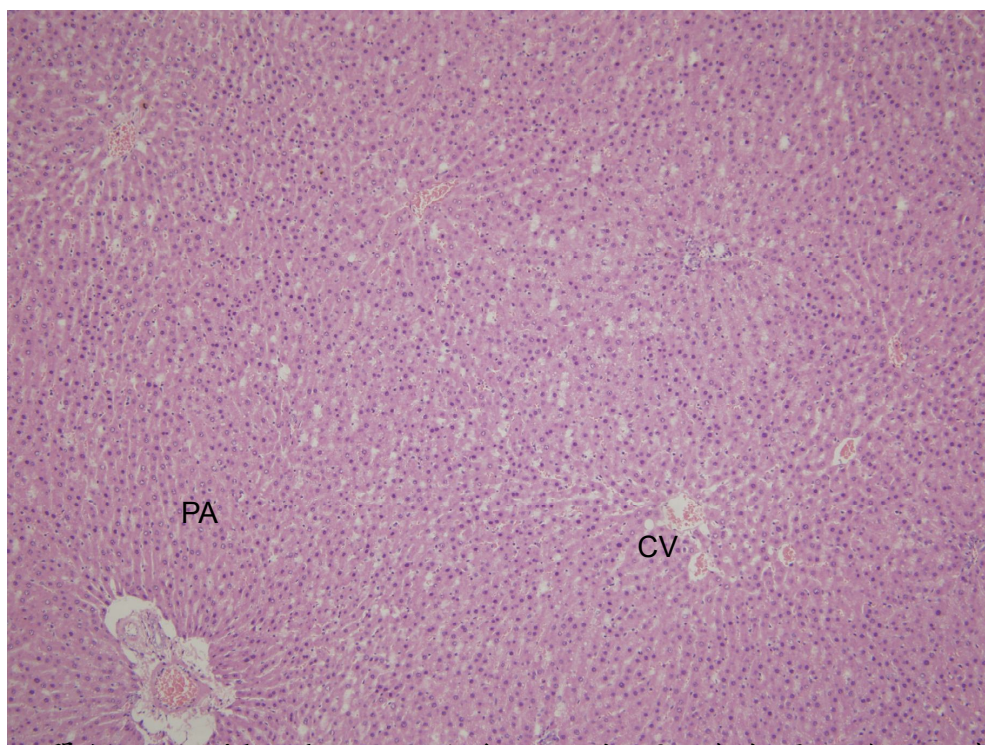


圖七 大鼠口服midazolam併服或不併服知柏地黃丸對其1-OH-midazolam/ midazolam (midazolam代謝比)之影響(* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

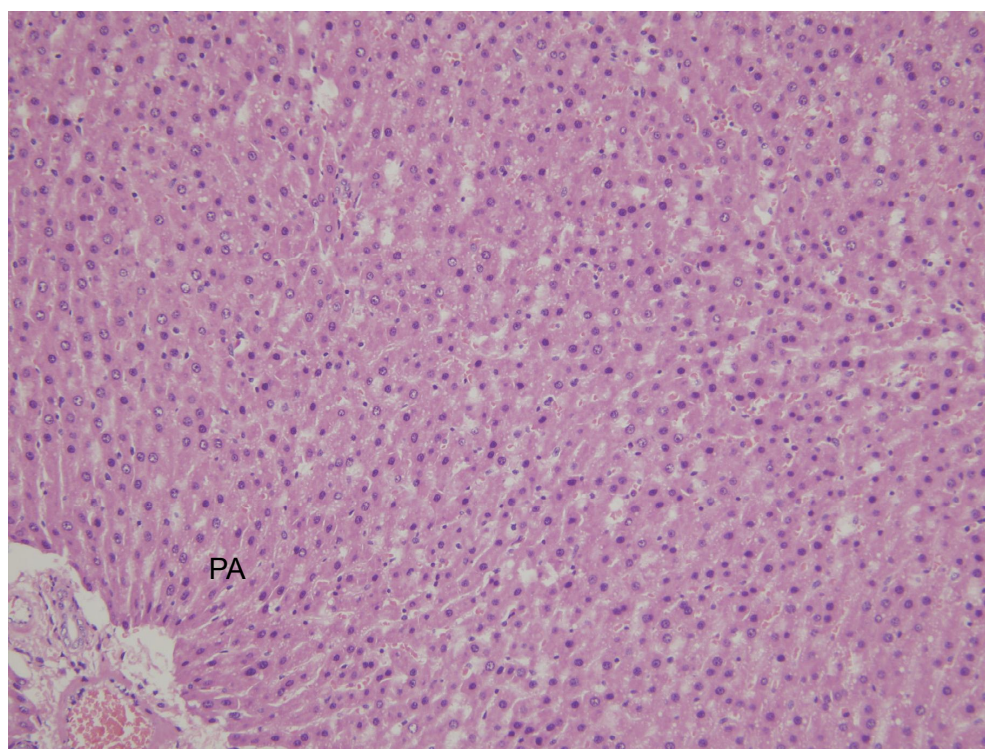


* $P < 0.05$, *** $P < 0.005$ (statistical analysis: t-test), Data: mean $\pm$ SD

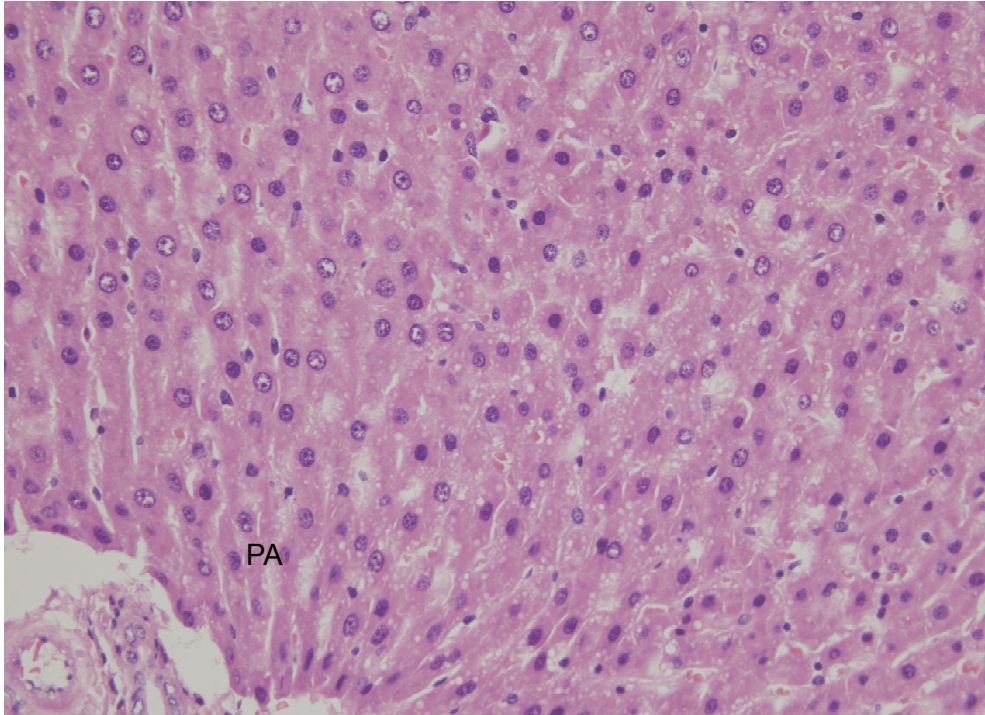
圖八 大鼠口服nalbuphine併服或不併服桑菊飲對其nalbuphine血中濃度之影響（上圖為一般座標，下圖為半對數座標）



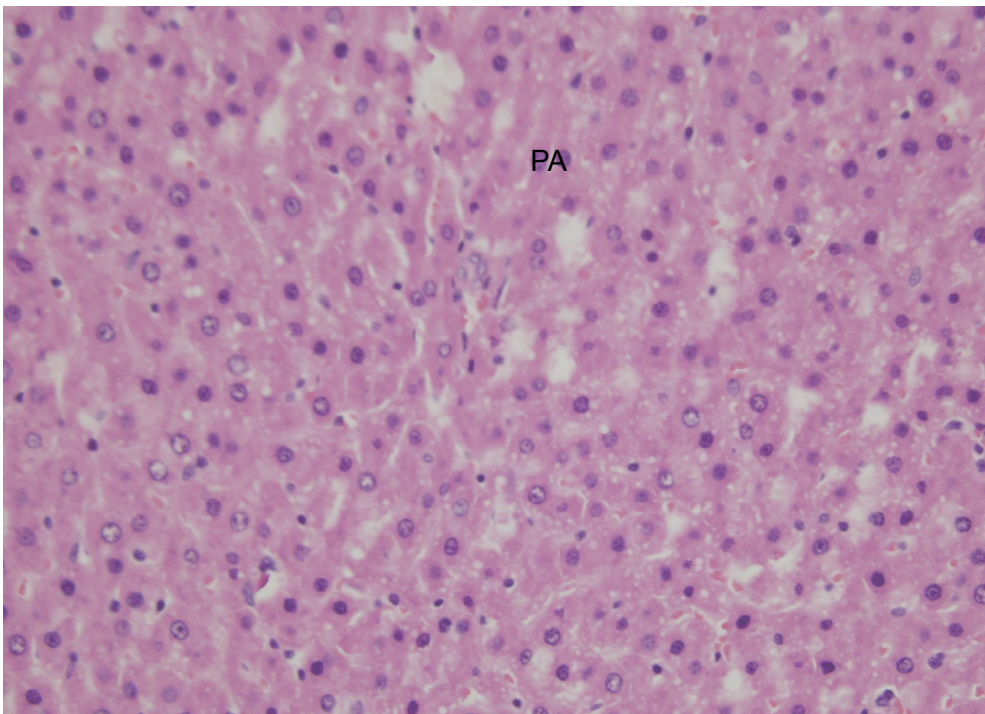
圖九 單獨服用midazolam之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率100倍； PA: portal area (bile duct, portal vein, hepatic artery); CV: central vein



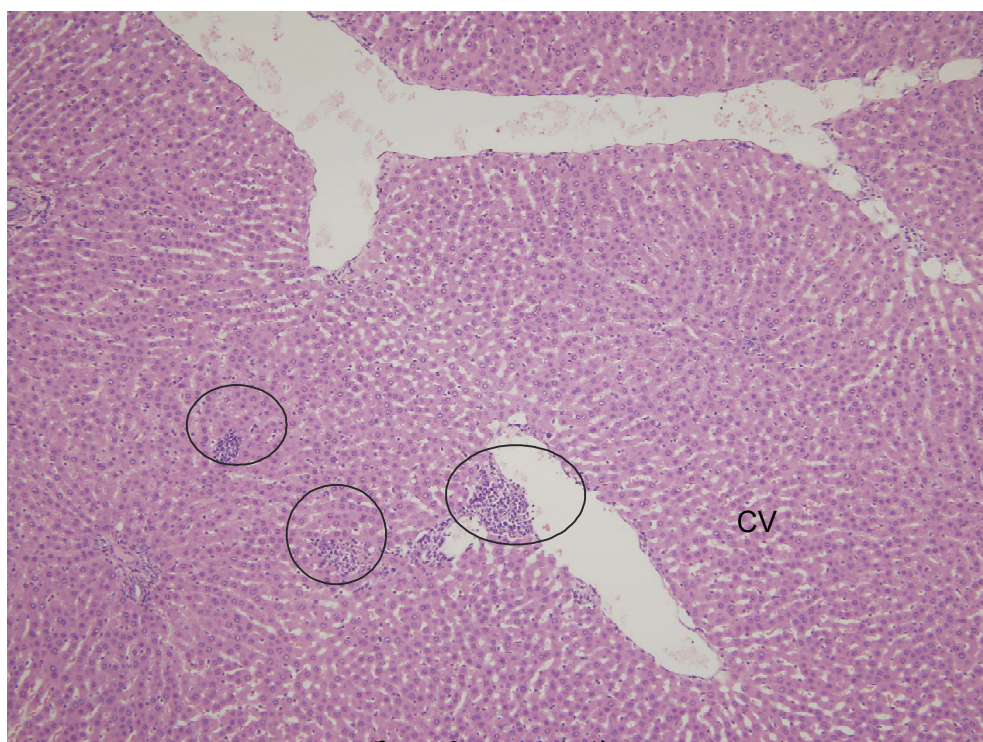
圖十 單獨服用midazolam之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率200倍； PA: portal area (bile duct, portal vein, hepatic artery); CV: central vein



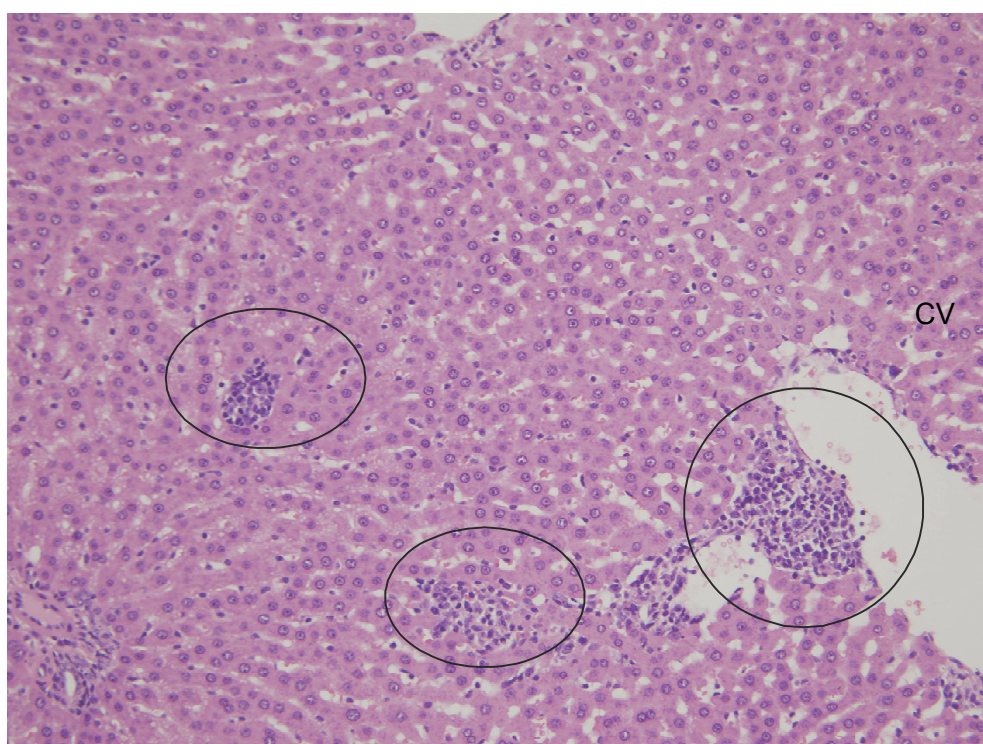
圖十一 單獨服用midazolam之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率400倍；PA: portal area



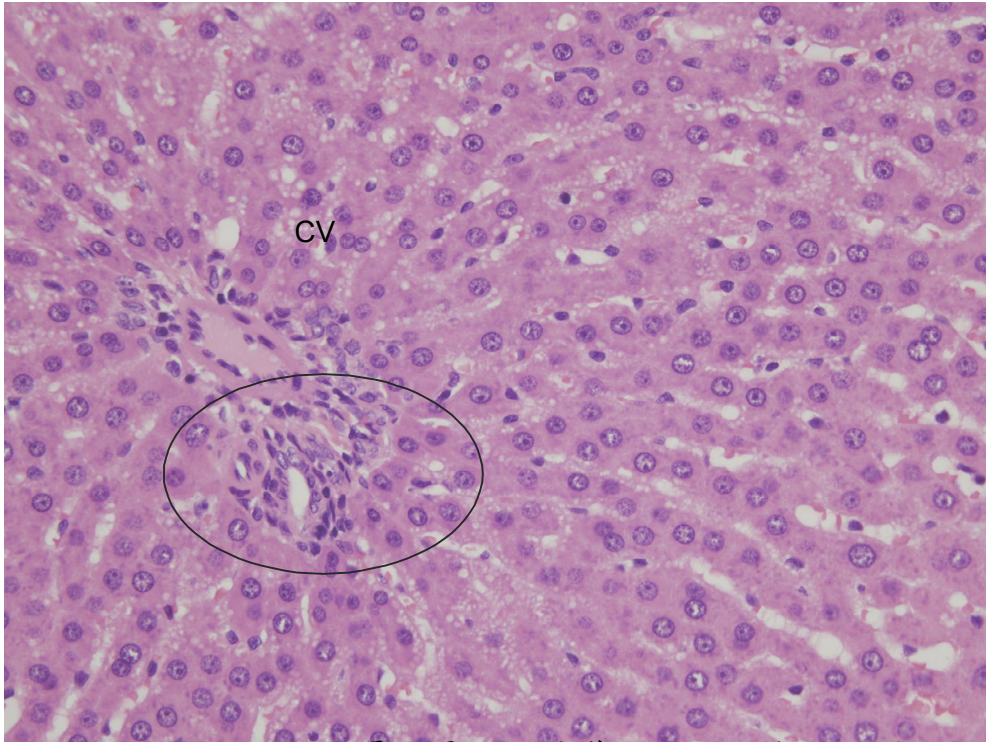
圖十二 單獨服用midazolam之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率400倍；PA: portal area



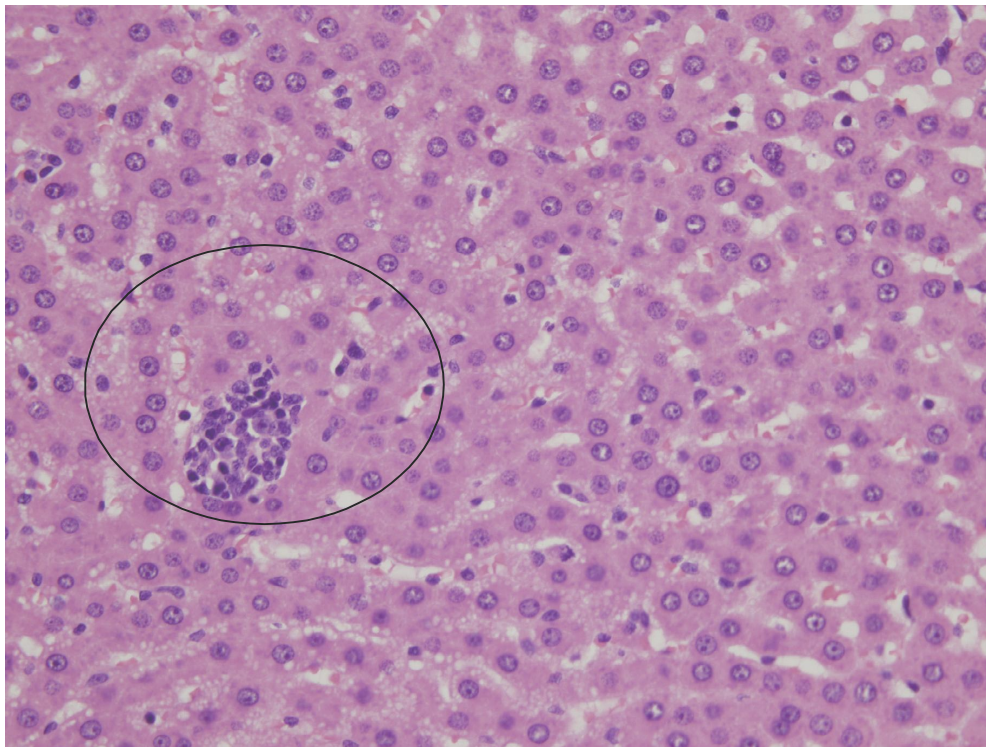
圖十三 服用midazolam及單劑量知柏地黃丸之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率100倍；CV: central vein；圓圈標記處明顯有發炎細胞之聚集



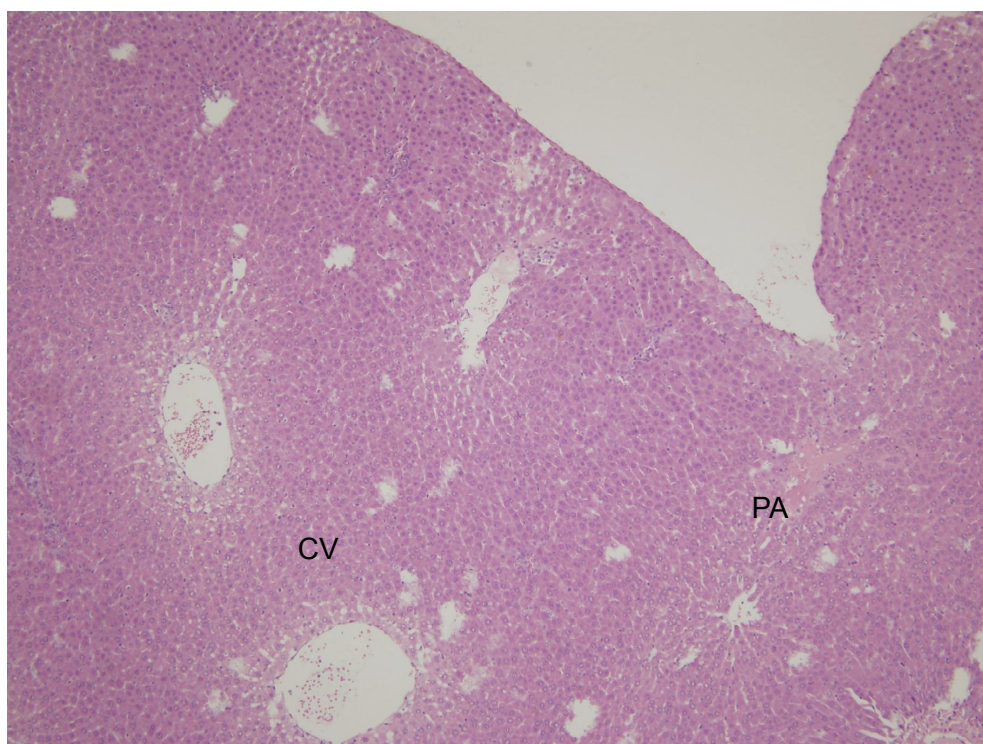
圖十四 服用midazolam及單劑量知柏地黃丸之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率200倍；CV: central vein；圓圈標記處明顯有發炎細胞之聚集



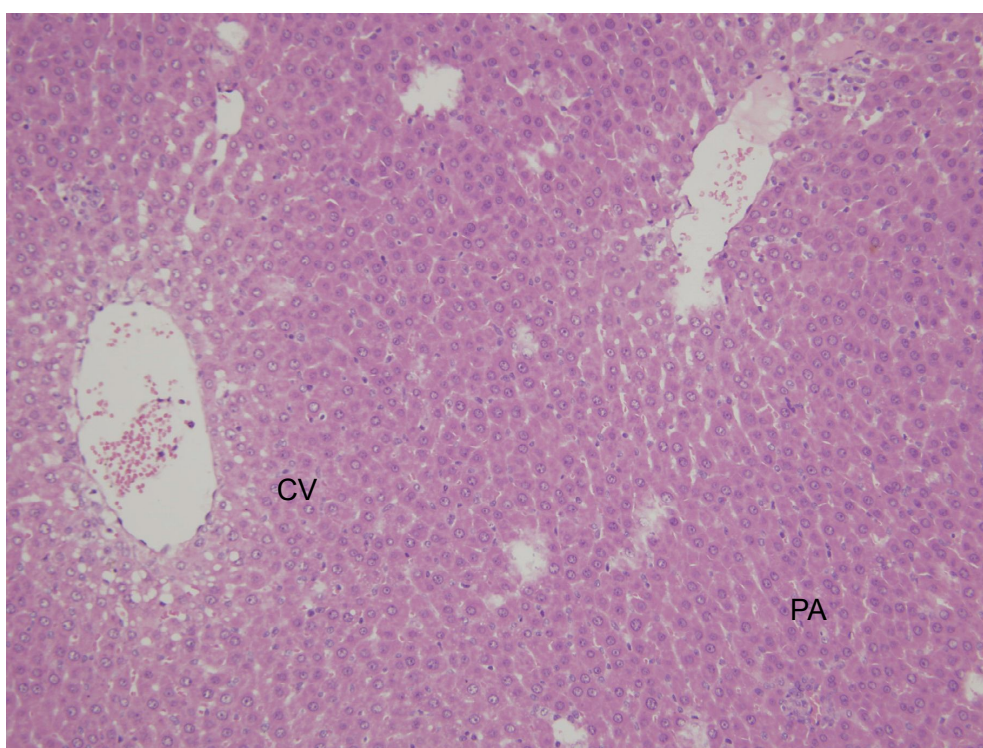
圖十五 服用midazolam及單劑量知柏地黃丸之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率400倍；CV: central vein；圓圈標記處明顯有發炎細胞之聚集



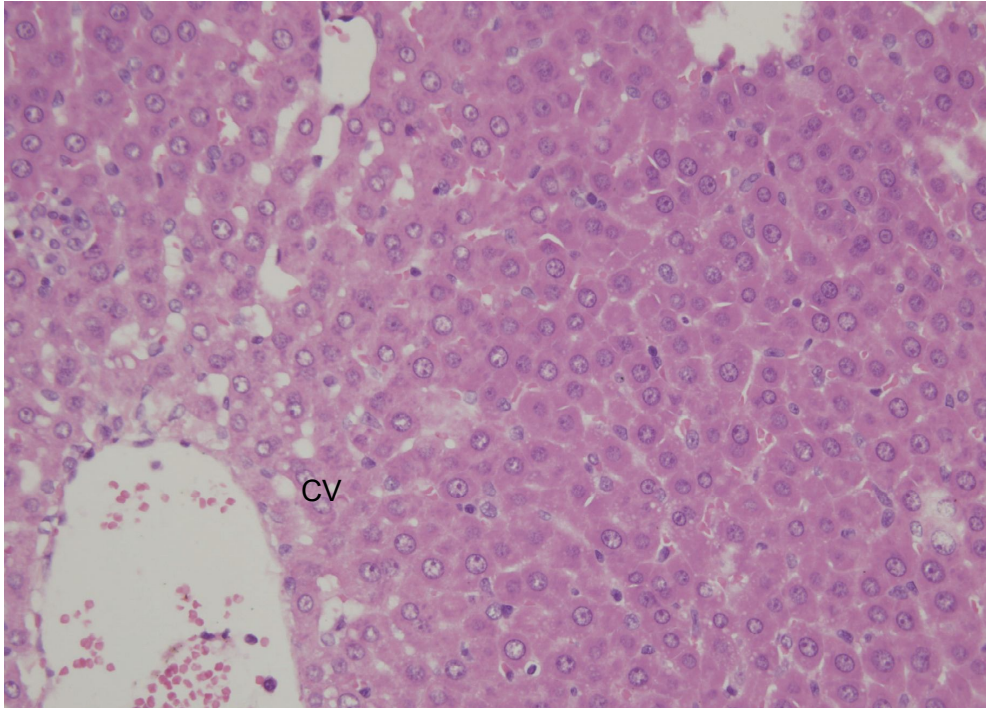
圖十六 服用midazolam及單劑量知柏地黃丸之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率400倍；圓圈標記處明顯有發炎細胞之聚集



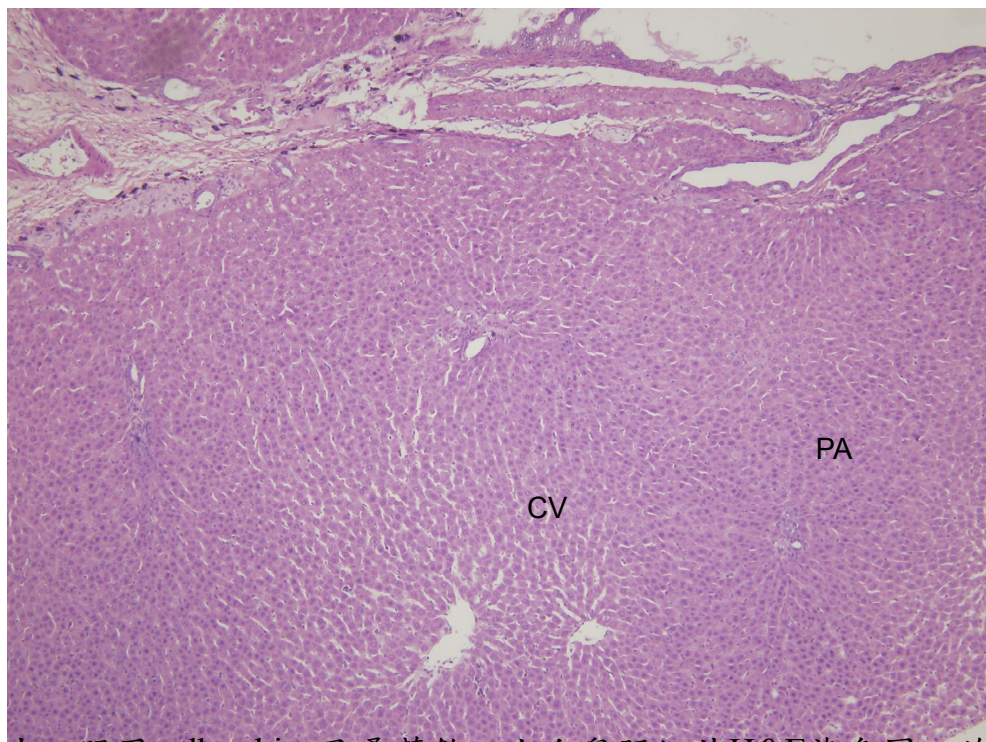
圖十七 單獨服用nalbuphine之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率100倍；CV: central vein; PA: portal area



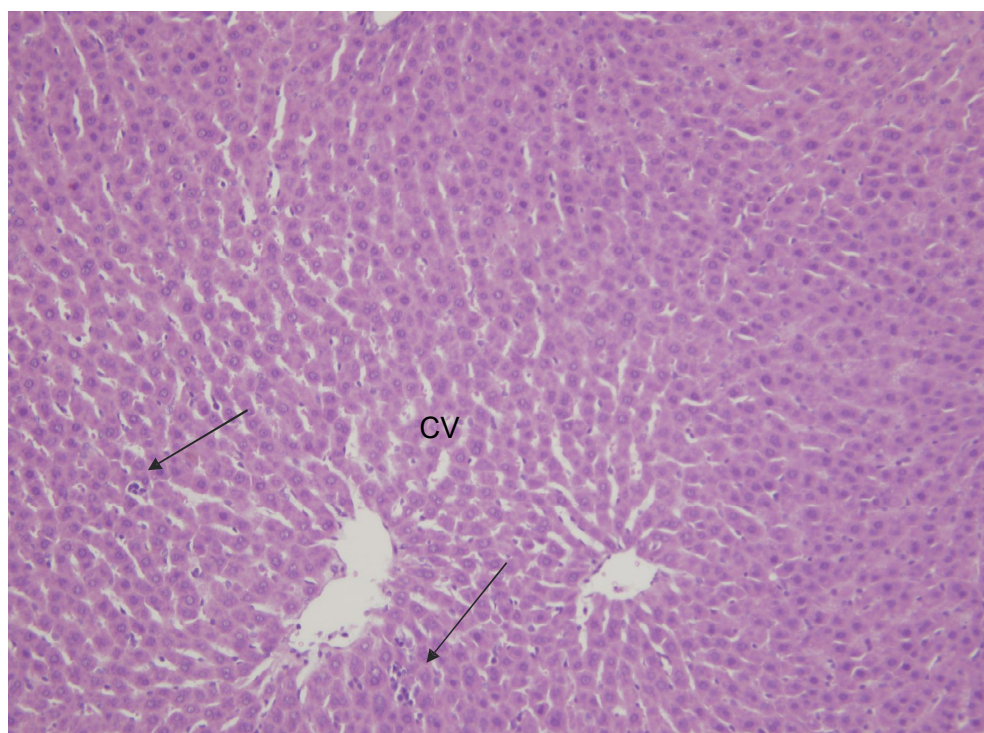
圖十八 單獨服用nalbuphine之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率200倍；CV: central vein; PA: portal area



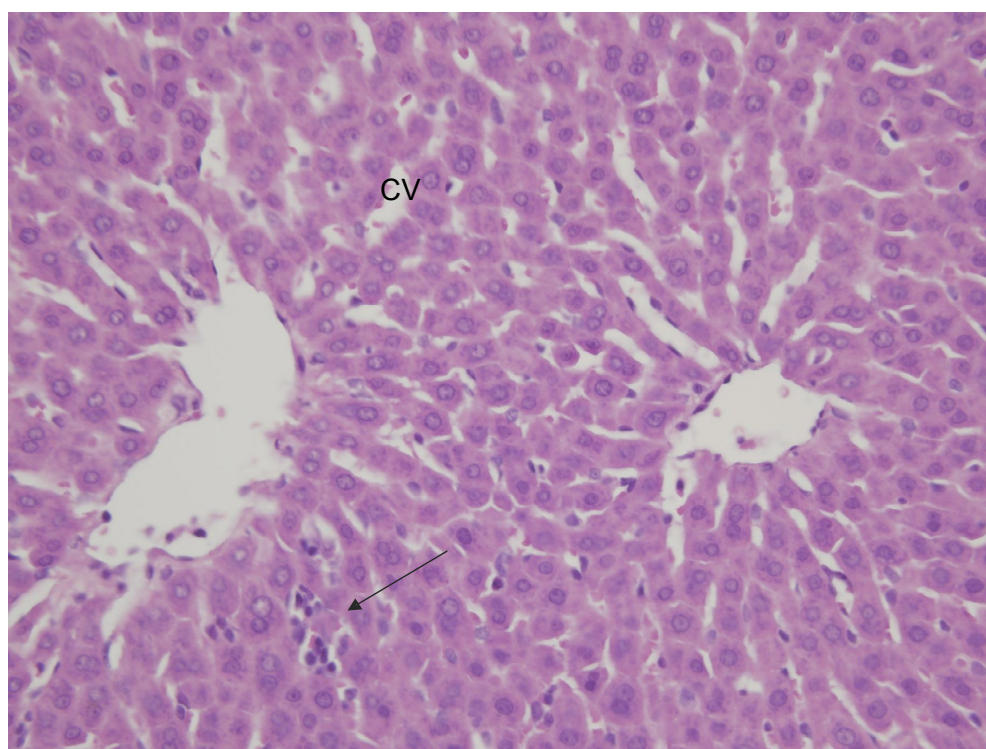
圖十九 單獨服用nalbuphine之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率400倍；CV: central vein



圖二十 服用nalbuphine及桑菊飲之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率100倍；CV: central vein; PA: portal area；無明顯發炎現象



圖二十一 服用nalbuphine及桑菊飲之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率200倍；CV: central vein；無明顯發炎現象



圖二十二 服用nalbuphine及桑菊飲之大白鼠肝切片H&E染色圖，放大倍率400倍；CV: central vein；無明顯發炎現象

表一、Midazolam於大鼠血漿中異日間之標準曲線數據(n=6)

Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	SD	CV (%)	Accuracy (%err)
	No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
20	20.1	20.5	20.6	20.2	19.7	20.0	20.2	0.3	1.7	0.9
100	98.1	87.0	85.8	94.6	108.7	101.2	95.9	8.7	9.1	-4.1
500	439.7	510.1	491.2	488.0	495.1	485.3	484.9	23.8	4.9	-3.0
1000	1058.9	978.3	947.4	969.2	1026.3	1057.1	1006.2	47.7	4.7	0.6
2000	2134.8	1975.7	2123.0	1968.0	1990.1	2049.2	2040.1	74.5	3.7	2.0
4000	4132.3	4249.7	3960.6	3983.2	4119.7	4141.6	4097.8	108.2	2.6	2.4
6000	5990.1	6160.9	6482.3	6612.5	5985.2	5778.5	6168.3	320.4	5.2	2.8
8000	7889.6	7802.2	8063.9	8032.0	7793.4	8029.0	7935.0	122.1	1.5	-0.8
10000	9888.5	10540.6	10429.0	10104.5	9172.7	9364.2	9916.6	556.1	5.6	-0.8

表二-1、Midazolam於大鼠血漿中同日間之品管檢品(QC sample)在LC-MS-MS分析確效驗證結果(n=6)

Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	S.D.	CV (%)	Accuracy (%err)
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
20	21.7	21.4	16.0	20.8	17.7	19.1	19.45	2.27	11.67	2.75
50	43.2	42.8	41.4	52.6	44.6	49.8	45.73	4.44	9.72	8.53
5000	4840	5130	4760	4810	4850	5120	4918.3	163.1	3.32	1.63
7000	6780	6450	6700	6830	6320	6720	6633.3	202.0	3.04	5.24

表二-2、Midazolam於大鼠血漿中異日間之品管檢品在LC-MS-MS分析確效驗證結果(n=6)

Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	SD	CV (%)	Accuracy (%err)
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
20	17.3	16.7	17.9	20.6	16.1	15.3	17.32	1.85	10.66	-13.42
50	49.3	38.3	48.4	45.6	45.1	41.6	44.72	4.16	9.30	-10.57
5000	4890	5160	5020	5080	4900	5140	5031.67	116.69	2.32	0.63
7000	6900	6790	6970	6360	7000	6540	6760.00	257.14	3.80	-3.43

表三、1'-OH-midazolam於大鼠血漿中異日間(Inter-day)之標準曲線數據
(n=6)

Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	SD	CV %	Accuracy (%err)
	No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
25	24.9	25.1	25.0	25.1	25.2	25.1	25.1	0.1	0.3	0.3
250	272.2	241.4	244.0	244.1	238.8	244.1	247.5	12.3	5.0	-1.0
500	421.3	485.7	502.5	478.6	478.4	478.6	474.2	27.5	5.8	-5.2
1000	1027.5	973.1	1040.6	1044.4	980.5	1044.4	1018.4	32.9	3.2	1.8
2000	2009.3	1977.8	1999.4	1960.1	1994.1	1960.1	1983.4	20.8	1.0	-0.8
3000	3057.0	3076.1	2977.0	3012.0	3085.7	3012.0	3036.7	42.8	1.4	1.2
4000	4105.2	4138.2	4002.5	4086.7	4201.1	4086.7	4103.4	65.6	1.6	2.6
5000	4965.2	5178.8	4921.9	5064.1	5126.4	5064.1	5053.4	96.3	1.9	1.1

表四-1、1'-OH-midazolam於大鼠血漿中同日間之品管檢品(QC sample)
在LC-MS-MS分析確效驗證結果(n=6)

Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	S.D.	CV (%)	Accuracy (%err)
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
25	29.6	29.5	25.8	26.6	26	25.6	27.2	1.9	6.9	8.7
50	45.6	49.5	48.1	51.7	48.4	56.0	49.9	3.6	7.2	-0.2
2500	2400	2550	2460	2390	2410	2520	2455.0	67.2	2.7	-1.8
3500	3540	3490	3670	3490	3440	3560	3531.7	79.9	2.3	0.9

表四-2、1'-OH-midazolam於大鼠血漿中異日間之品管檢品在LC-MS-MS
分析確效驗證結果(n=6)

Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	SD	CV (%)	Accuracy (%err)
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
25	22.9	22	26.4	28.4	25	22.5	24.5	2.5	10.3	-1.9
50	48.2	51	52.2	46.7	52.1	51.1	50.2	2.2	4.5	0.4
2500	2490	2410	2560	2380	2440	2470	2458.3	63.7	2.6	-1.7
3500	3710	3470	3700	3490	3610	3800	3630.0	131.0	3.6	3.7

表六、併服知柏地黃丸(ZBDHW)對大鼠口服midazolam之midazolam藥動參數影響

PK parameter	(A) Midazolam 20 mg/kg (n = 6)	(B) Midazolam 20 mg/kg + ZBDHW 0.33 g/kg (n = 6)	Ratio of B / A	P value (t-test)
k (1/min)	0.014 ± 0.003	0.011 ± 0.003	0.89	0.381
t _{1/2} (min)	57.09 ± 15.96	63.30 ± 13.34	1.11	0.482
T _{max} (min)	20.83 ± 14.29	22.50 ± 12.55	1.08	
C _{max} (ug/ml)	1.35 ± 0.25	2.21 ± 0.74 *	1.63	0.036
AUC _{0→t} (min*ug/ml)	107.18 ± 33.12	218.09 ± 62.55 **	2.03	0.006
AUC _{0→∞} (min*ug/ml)	114.77 ± 35.63	236.65 ± 61.97 ***	2.06	0.003
Vd/F (L/kg)	15.51 ± 6.19	8.23 ± 2.76 *	0.53	0.034
Cl/F (ml/min/kg)	187.61 ± 52.95	89.65 ± 24.82 ***	0.48	0.004
MRT (min)	92.81 ± 22.61	103.25 ± 16.20	1.11	0.382

*: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.005; Data = Mean ± SD

表七、併服知柏地黃丸(ZBDHW)對大鼠口服midazolam之代謝物1-OH-midazolam藥動參數影響

PK parameter	(A) Midazolam 20 mg/kg (n = 6)	(B) Midazolam 20 mg/kg + ZBDHW 0.33 g/kg (n = 6)	Ratio of B / A	P value (t-test)
k (1/min)	0.015 ± 0.005	0.018 ± 0.003	1.20	0.244
t _{1/2} (min)	49.46 ± 12.62	39.70 ± 7.05	0.80	0.138
T _{max} (min)	25.00 ± 15.49	32.50 ± 11.29	1.30	
C _{max} (ng/ml)	565.33 ± 133.50	767.33 ± 131.69 *	1.36	0.025
AUC _{0→t} (min*ug/ml)	46.97 ± 8.31	67.36 ± 9.42 ***	1.43	0.003
AUC _{0→∞} (min*ug/ml)	50.08 ± 8.34	69.59 ± 9.94 ***	1.39	0.005
MRT (min)	83.96 ± 15.31	75.32 ± 9.65	0.90	0.274

*: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.005; Data = Mean ± SD

表八、併服桑菊飲(SJY)對大鼠口服nalbuphine之nalbuphine藥動參數影響

PK parameter	(A) Nalbuphine 20 mg/kg (n = 11)	(B) Nalbuphine 20 mg/kg + SJY 0.17 g/kg (n = 5)	Ratio of B / A	P-value (t-test)
k (1/hr)	0.35 ± 0.21	0.29 ± 0.25	0.84	0.676
t_{1/2} (hr)	2.92 ± 1.86	4.15 ± 3.02	1.42	0.436
Tmax (hr)	0.48 ± 0.24	0.60 ± 0.34	1.26	
Cmax (ng/ml)	17.97 ± 7.45	59.56 ± 25.74 *	3.31	0.021
AUC_{0→t} (hr*ng/ml)	35.62 ± 11.48	103.93 ± 14.50 ***	2.92	< 0.001
AUC_{0→∞} (hr*ng/ml)	39.00 ± 11.63	113.19 ± 16.05 ***	2.90	< 0.001
Vd/F (L/kg)	2179.14 ± 1229.97	1041.55 ± 681.95 *	0.48	0.034
Cl/F (L/hr/kg)	578.46 ± 266.85	179.59 ± 25.72 ***	0.31	< 0.001
MRT (hr)	4.02 ± 2.39	7.08 ± 4.60	1.76	0.220

*: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.005; Data = Mean ± SD