

編號：CCMP95-RD-011

葛根芩連湯對 methotrexate 與 valproic acid 藥品動力學之影響

李珮端
中國醫藥大學

摘要

葛根芩連湯由葛根、炙甘草、黃芩及黃連組成。Baicalin、baicalein、wogonin、puerarin、daidzin、daidzein 與 glycyrrhizin 為其主要成分。Methotrexate (MTX) 為一重要的免疫抑制劑。Valproic acid (VPA) 為一常用抗癲癇藥，但兩者之治療指數非常狹窄。本研究以大白鼠為模型，探討葛根芩連湯對 MTX、VPA 動力學之影響。

本計畫予大白鼠分別單獨口服單一劑量與多劑量之葛根芩連湯水煎劑，並分別併服 MTX、VPA，定時自心臟穿刺採血，血中濃度以螢光偏極免疫測定法定量。以 WINNONLIN 軟體之無室模型計算動力學參數，並以 ANOVA 統計組間差異。

研究結果顯示，併服單一劑量 2.0 g/kg 及 4.0 g/kg 葛根芩連湯時，MTX 血藥面積分別顯著增加了 80 % 及 54 %，其中 4.0 g/kg 劑量之大鼠死亡率達 3/6 (50%)。投予七個劑量 2.0 g/kg 葛根芩連湯後，MTX 之血藥面積顯著增加了 44 %。另一研究結果顯示，併服單一劑量 2.0 g/kg 及 4.0 g/kg 葛根芩連湯時，VPA 之血峰濃度分別顯著減少了 71 % 及 74 %；血藥面積分別顯著減少了 55 % 及 44 %。投予七個劑量 2.0 g/kg 葛根芩連湯後，則 VPA 的藥動學參數無顯著差異。因此為確保用藥療效與安全，服用 MTX 或 VPA 的病患須避免併服葛根芩連湯。

關鍵詞：葛根芩連湯, Methotrexate, Valproic acid

編號：CCMP95-RD-011

Effect of Gur-Gen Chin-Lien Tang on the pharmacokinetics of methotrexate and valproic acid

Pei-Dawn Lee Chao
China Medical University

ABSTRACT

Ger-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) is composed of Gergen, honey-processed licorice, Huangchin and Huanglien. The major constituents are baicalin, baicalein, wogonin, puerarin, daidzin, daidzein and glycyrrhizin. Methotrexate (MTX) is an important immunosuppressant with narrow therapeutic index. Valproic acid (VPA) is a common anti-epileptic with narrow therapeutic index. In this study, we attempted to investigate the effects of GGCLT on the pharmacokinetics of MTX and VPA in rats.

Rats were administered with MTX and VPA with and without GGCLT. The blood samples were collected via cardiopuncture and the concentrations of MTX and VPA were determined using FPIA method. The pharmacokinetic parameters were calculated using noncompartment model of WINNONLIN and compared statistically using ANOVA.

The results showed that coadministration of single dose (2.0 g/kg and 4.0 g/kg) of GGCLT significantly increased the AUC_{0-t} of MTX by 80 % and 54 % and a mortality of 3/6 (50%) at the dose of 4.0 g/kg. After seven doses of GGCLT, the AUC_{0-t} of MTX was significantly increased by 44 %. In another study, coadministration of single dose of GGCLT (2.0 g/kg and 4.0 g/kg) significantly decreased the C_{max} of VPA by 71 % and 74 %, AUC_{0-t} by 55 % and 44 %. However, after seven doses of GGCLT, the

AUC_{0-t} of VPA did not show significant change, indicating rather different interaction from single dose study. In conclusion, patients treated with MTX or VPA should avoid the concurrent use of GGCLT in order to ensure the efficacy and safety.

Keywords : Gur-Gen Chin-Lien Tang, Methotrexate, Valproic acid

一、前言

葛根芩連湯出於傷寒論，「太陽病，桂枝証，醫反下之，利遂不止，脈促者，表未解也；喘而汗出者，葛根黃芩黃連湯主之」，本方由葛根（15 g）、炙甘草（6 g）、黃芩（9 g）及黃連（9 g）組成，具有清解表裡、瀉熱和中、止利之功效。中醫臨床上使用於太陽表邪內陷所致之腸熱下痢症¹。除傳統的治療功效外，另有文獻顯示，葛根芩連湯尚具有解熱^{2,3}、抗菌^{4,5}、抗缺氧⁶、改善化療放療後之腸瀉^{7,8}與降血糖^{9,10}等生物活性。因此不論從傳統或現代醫學角度觀之，葛根芩連湯為一極重要的之方劑。

在過去幾年中，本研究小組分別完成了單味中藥黃芩中 baicalin、baicalein 及 wogonin¹¹⁻¹³、葛根中 puerarin、daidzin 及 daidzein¹⁴ 與甘草中 glycyrrhizin^{15,16} 等成分之代謝動力學研究，結果發現，前述多酚成分幾無以原形分子出現於體循環，而主要以結合態代謝物 sulfates、glucuronides 等型式存在於體循環中。此些結合態代謝物之極性增高、水溶性佳，且於生理 pH 下多以解離態存在。甘草中之 glycyrrhizin 口服後，glycyrrhetic acid 為其主要代謝物，兩者於生理 pH 下亦以解離態存在。依據藥物吸收理論，離子型藥物油溶性差，必須依賴 transporters 進出細胞。最近的研究顯示 sulfates 及 glucuronides 等結合態之體內轉運、外排與 MRP2、MRP3 (multidrug resistance proteins) 等運送蛋白有關¹⁷。

西藥 methotrexate (MTX) 臨床上廣泛的應用於類風濕關節炎、牛皮癬、抗癌、氣喘、移植病人等，但治療指數非常狹窄，是抗癌藥中必需進行^{18,19} 中濃度監測的唯一藥物。其不良反應包括胃炎、肝硬化及中樞系統副作用如頭痛、疲倦、抑鬱²⁰⁻²²。因此任何改變其吸收、代謝或排泄的因素都會對 MTX 的臨床療效或安全造成影響。MTX 的動力學行為，主要依賴膽道及腎臟排除，約有 85% 以原形藥經腎臟排出，其腎臟排出機轉包括腎小球過濾、主動分泌及再吸收等，具非線性動力學特徵。MTX 為一 bicarboxylic acid，pKa 為 3.76、4.83，於體內 pH 環境下幾全以解離態存在，其負離子之主動分泌與進出細胞，都是會飽和之過程²³。近年研究顯示 MTX 之轉運、外排與 MRP 1、MRP 2、MRP 3 與 MRP 4 等運送蛋白有關^{23,24}。

去年在中醫藥委員會補助下，已完成富含多酚中藥大黃、黃芩、葛根²⁵ 與 MTX 之交互作用研究。結果顯示此三種中藥皆明顯增高 MTX 之血中濃度與毒性，甚至造成大鼠死亡，推論中藥中藥多酚抑制

MTX 之轉運、外排，導致不良反應。另外很有趣的是，黃芩、大黃對 MTX 的 AUC 之影響有劑量依存性，1 g/kg 的影響明顯大於 2 g/kg。因此本計畫探討單劑量及多劑量的葛根芩連湯對 MTX 動力學的影響，同時進一步利用吞噬細胞活性分析評估其對 MTX 藥效之影響。

Valproic acid (VPA) 為一常用抗癲癇藥，但治療指數非常狹窄，是必需進行血中濃度監測的藥物。口服後迅速吸收，血峰時間為 1~3 小時²⁷，於人體之生可用率為 96%~100%，半衰期為 13~18 小時²⁸，大鼠則為 2.5 小時。VPA 之 pKa 為 4.56，於生理 pH 環境下幾全以解離態存在，70~90%與血中白蛋白結合。VPA 可快速進入腦中，其進出與 transporter 有關。近年研究顯示 VPA 之體內轉運、外排與 MRP 1 與 MRP 2 等運送蛋白有關²⁹。VPA 於人體內主要為肝臟所代謝，產生 14 種代謝物，葡萄糖醛酸結合態代謝物為其主要代謝物之一²⁹，僅少量以原型由尿液排除。VPA 之葡萄糖醛酸結合態代謝物應為 MRP2 之良好受質，亦可能與中藥多酚之結合態代謝物競爭 MRPs。本計畫探討單劑量及多劑量的葛根芩連湯對 VPA 動力學的影響。

貳、材料與方法

一、藥材之採購及基原鑑定

採購各組成藥材，經五官及顯微組織學鑑定，確認其基原並建檔，作為本研究之材料。

二、葛根芩連湯之製備與指標成分之定量分析

(一) 葛根芩連湯水煎劑之製備

依傷寒論組成比例 (5:2:3:3)，分別稱取葛根、炙甘草、黃芩及黃連共 300 g，加入 6000 mL 二次水，浸泡約 30 分鐘後，於瓦斯爐上加熱至沸騰，沸騰後轉小火繼續加熱至體積減至 3000 mL 以下，以紗布趁熱過濾，取濾液後，再繼續加熱至體積減至 600 mL 以下，加適量二次水定量至 600 mL，俟後進行定量分析。

(二) 水煎劑中指標成分之定量

取經二次水稀釋 20 倍的水煎劑 3 mL，加甲醇 7 mL 振盪混合，離心 15 min (9,860 g) 去沉澱，取上清液 180 μ L，加入 20 μ L 之內標準甲醇溶液 (amylparaben, 100.0 μ g/mL) 混合後，離心 15 min (9,860 g) 兩次，取上清液 20 μ L 注入 HPLC 分析。將上述溶液以各成分 (baicalin、baicalein、wogonin、puerarin、berberine、palmatine、coptisine 及 glycyrrhizin) 與內部標準品之波峰面積比值，代入檢量線之方程式，求出各成分之含量。

(三) 檢量線之繪製

分別精確稱取 baicalin、baicalein、wogonin、puerarin、berberine、palmatine、coptisine 及 glycyrrhizin 1.0 mg，以甲醇溶之，並定容至 1.0 mL 為貯存溶液。取適量之各成分之貯存溶液，混合振盪均勻後，使混合標準溶液中 baicalin 濃度為 400.0、200.0、100.0、50.0、25.0、12.5 μ g/mL，baicalein 濃度為 20.0、10.0、5.0、2.5、1.3、0.6 μ g/mL，wogonin 濃度為 10.0、5.0、2.5、1.3、0.6、0.3 μ g/mL，puerarin 濃度為 40.0、20.0、10.0、5.0、2.5、1.25 μ g/mL，berberine 濃度為 160.0、80.0、40.0、20.0、10.0、5.0 μ g/mL，palmatine 濃度為 80.0、40.0、20.0、10.0、5.0、2.5 μ g/mL，coptisine 濃度為 40.0、20.0、10.0、5.0、2.5、1.25 μ g/mL，glycyrrhizin 濃度為 80.0、40.0、20.0、10.0、5.0、2.5 μ g/mL。取混合標準溶液 180 μ L，加入 20 μ L 之內標準甲醇溶液 (amylparaben, 100.0 μ g/mL) 後，其中 20 μ L 經 HPLC 分析後，所得之標準品與內標準之波峰面積比值，與其各標準品之濃度進行直線迴歸，求得各成分之檢

量線方程式。

(三) 分析系統及方法之確效

評估方法之精密度 (precision)、準確度 (accuracy) 及靈敏度 (sensitivity) 等。

1. 精密度 (Precision)

不同濃度之指標成分標準溶液，於同日內晨、午、晚及連續三日之異日間各進行一次層析，然後將所得波峰面積比值代入各成份的迴歸直線方程式，求得每次的實驗濃度值，再分別求其平均值 (mean)、標準偏差 (standard deviation, S.D.) 及變異係數 (coefficient of variation, C.V.)。

2. 靈敏度 (Sensitivity)

將指標成分標準品濃度一再稀釋，直至其波峰與雜訊之比值為 3 時之濃度為其偵測極限 (LOD, Limit of detection)。

3. 準確度 (Accuracy)

三次同日內及三次異日間實驗所得平均濃度與理論濃度間之相對誤差 (relative error) 表示之。

(四) HPLC 分析條件 (Fig. 1)

層析管：Apollo C18, 5 μm (4.6 \times 250 mm)

移動相：A：0.1% H_3PO_4 B： CH_3CN (梯度沖提)

(0 min 88:12, 10 min 88:12, 12 min 79:21, 33 min 79:21, 43 min 72:28, 54 min 57:43, 59 min 53:47, 60 min 30:70, 65 min 30:70, 70 min 88:12, 75 min 88:12)

流速：1.0 mL/min

檢測波長：250 nm

內標準：amylparaben (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

三、葛根芩連湯規格化指紋圖譜之建立

將前項製備之水煎劑，分別以不同比例之移動相溶媒與不同之 UV 吸收波長偵測，以建立具代表性之化學成分指紋圖譜。供後續實驗製備規格化檢品之用。

四、動物及給藥

(1) 單一劑量給藥

Sprague-Dawley 大鼠，體重介於 325~530 g。實驗前禁食 12 小時，採隨機方式將大鼠分組，每組至少六隻，一組先口服給予中藥方劑水

煎劑，30 分鐘後口服給予 MTX (5.0 mg/kg) 或 VPA (200.0 mg/kg)，另一組先口服給予等體積的水，30 分鐘後口服給予 MTX (5.0 mg/kg) 或 VPA (200.0 mg/kg)。MTX 採平行設計給藥，VPA 採交叉設計給藥。經過至少二週之 washout，各種水煎劑皆給予 2.0 g/kg 及 4.0 g/kg 兩種劑量。口服方式係以胃管給藥。

(2) 多劑量給藥

Sprague-Dawley 大鼠，採隨機方式將大鼠分組，每組至少六隻，一組先口服給予中藥方劑水煎劑一天三次，第三天早晨口服給予中藥方劑水煎劑，30 分鐘後口服給予 MTX (5.0 mg/kg) 或 VPA (200.0 mg/kg)。另一組先口服給予等體積的水一天三次，第三天早晨口服給予水，30 分鐘後口服給予 MTX (5.0 mg/kg) 或 VPA (200.0 mg/kg)。MTX 採平行設計給藥，VPA 採交叉設計給藥。經過至少二週之 washout，葛根芩連湯之劑量為 2.0 g/kg。

五、採血

大白鼠於給藥後適當時間，由心臟穿刺採血，每次採血量為 0.5 mL。貯存於 -20 °C 俟後分析。MTX 的採血時間點為 15、30、60、120、240、480、720、1440、2160、2880、3600 及 4320 分鐘；VPA 的採血時間點為 5、30、60、120、240、480、720、1440、1920 及 2880 分鐘。

六、血清中 MTX、VA 濃度之定量

本計畫利用 TDx Analyzer，以臨床使用的 FPIA (Fluorescence Polarization Immunoassay) 方法定量血清中 MTX、VPA 之濃度。MTX 定量範圍為 0-1.00 $\mu\text{mol/L}$ 。偵測極限為 0.02 $\mu\text{mol/L}$ 。VPA 定量範圍為 0-150.0 $\mu\text{g/mL}$ ，偵測極限為 0.7 $\mu\text{g/mL}$ 。

七、數據處理及統計分析

利用 WINNONLIN 程式之無室模式計算藥動學參數，以 ANOVA 及 Scheffe's test 比較組間藥動學參數之差異。

八、吞噬細胞活性分析

有關 MTX 之交互作用組，每組大鼠於給藥後七天採血 0.3 mL，根據廠商操作手冊以 PHAGOTEST kit (ORPEGEN Pharma, Heiderberg, Germany) 檢測全血之吞噬細胞活性。將以 heparin 處理之全血檢品，

置於冰上 10 分鐘，並避免血液沾黏至試管壁。加入菌液，振盪後試驗組檢品置於 37°C 水浴中培養 10 分鐘，控制組檢品則置於冰上 10 分鐘。將所有檢品置於冰上，以終止吞噬作用之反應。加入預冷之 Quenching Solution，振盪後離心；加入 Washing Solution，振盪後離心，將上清液丟棄（重覆二次）。之後加入一倍的 Lysing Solution，室溫下培養 20 分鐘，離心，將上清液丟棄。分析前加入 DNA Staining Solution，於 60 分鐘內以流式細胞分析儀分析。

參、結果

本研究以大白鼠為模型，利用平行試驗，探討兩種劑量葛根芩連湯水煎劑對 MTX 動力學之影響；另外利用交叉試驗，探討對 VPA 動力學之影響。

葛根芩連湯中 puerarin、coptisine、baicalin、palmatine、berberine、baicalein、glycyrrhizin 及 wogonin 之含量利用 HPLC 方法分析，採用梯度沖提的方式，針對八種成分進行定量分析，層析圖如 Fig. 1 所示。以各標準品與內標準之波峰面積比值為 Y 軸，各標準品之濃度為 X 軸進行直線迴歸，求得各成分之檢量線方程式及相關係數，如 Table 1 所示，結果顯示皆有良好線性關係。分析方法之精密度及準確度，如 Table 2~9 所示。各成分之同日內和異日間之變異係數及相對誤差分別小於皆可接受，確效結果顯示本分析系統之精密度及準確度良好。此外，puerarin、coptisine、baicalin、palmatine、berberine、baicalein、glycyrrhizin 及 wogonin 之可定量極限 (LOQ) 分別為 1.25、1.25、12.5、2.5、5、0.6、2.5 及 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，可偵測極限 (LOD) 分別為 0.01、0.01、0.01、0.01、0.01、0.01、0.04 及 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。各成分之定量結果，如 Table 10 所示，分別為 0.05、0.10、0.49、0.11、0.36、0.02、0.04 及 0.01 $\mu\text{mol}/\text{g}$ 。

當於 MTX 給藥前 30 分鐘，併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg 及 4.0 g/kg) 或等體積的水時，血清中 MTX 之濃度及血藥經時變化圖如 Table 11~14 及 Fig. 2 所示；單服 MTX 的平均血藥面積為 $144.9 \pm 45.6 \mu\text{mol}\cdot\text{min}/\text{L}$ 、平均滯留時間為 $936.5 \pm 183.5 \text{ min}$ 。併服葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg 及 4.0 g/kg) 之平均血藥面積分別為 260.9 ± 62.0 及 $222.5 \pm 61.4 \mu\text{mol}\cdot\text{min}/\text{L}$ ；平均滯留時間分別為 1353.2 ± 485.2 及 $1228.0 \pm 291.6 \text{ min}$ 。而併服七個劑量葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg) 後，血清中 MTX 之濃度及血藥經時變化圖如 Table 15~16 及 Fig. 3 所示，併服後平均血藥面積為 $208.6 \pm 35.4 \mu\text{mol}\cdot\text{min}/\text{L}$ ，平均滯留時間為 $1543.4 \pm 291.1 \text{ min}$ 。

比較三組動力學參數顯示，併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑 2.0 g/kg 及 4.0 g/kg 時，MTX 之血藥面積分別顯著增加了 80% 及 54%；滯留時間分別增加了 44% 及 31%。另外，併服七個劑量葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg) 時，MTX 之血藥面積及滯留時間分別顯著增加了 44% 及 65%。

當於 VPA 給藥前 30 分鐘，併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg 及 4.0 g/kg) 或等體積的水時，血清中 VPA 之濃度及血藥經時變化圖如 Table 17~20 及 Fig. 4 所示，單服 VPA 的平均最高血中濃度 $322.1 \pm 205.9 \mu\text{g/mL}$ ，平均血藥面積為 $62263.2 \pm 21341.9 \mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ 、平均滯留時間為 $394.9 \pm 173.7 \text{ min}$ ；併服 2.0 及 4.0 g/kg 葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg) 後之平均最高血中濃度分別為 94.3 ± 38.9 及 $85.0 \pm 36.7 \mu\text{g/mL}$ ；平均血藥面積分別為 27732.0 ± 3067.5 及 $35158.3 \pm 3052.9 \mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ ；平均滯留時間分別為 $812.3 \pm 80.4 \text{ min}$ 及 $805.5 \pm 131.3 \text{ min}$ 。另外，併服七個劑量葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg) 後，血清中 VPA 之濃度及血藥經時變化圖如 Table 21~23 及 Fig. 5 所示，單服 VPA 的平均最高血中濃度 $250.9 \pm 71.7 \mu\text{g/mL}$ ，平均血藥面積為 $47273.3 \pm 16802.5 \mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ 、平均滯留時間為 $294.5 \pm 121.6 \text{ min}$ ；併服七個劑量葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg) 後之平均血藥面積為 $48950.5 \pm 21920.2 \mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ 及平均滯留時間為 $289.6 \pm 86.4 \text{ min}$ 。

比較組間動力學參數顯示，併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg 及 4.0 g/kg)，VPA 之血藥面積分別顯著減少了 71 % 及 74 %；平均滯留時間分別顯著增加了 55 % 及 44 %。當併服七個劑量葛根芩連湯水煎劑後，VPA 之血藥面積及滯留時間則無顯著差異。

吞噬細胞活性分析的結果顯示，併服單一劑量之葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg) 後，MTX 的免疫抑制作用在給藥一週後其抑制效果如 Table 24 所示。單服 MTX 之吞噬細胞活性為 762.6 ± 95.4 ；而併服 2.0 g/kg 葛根芩連湯之吞噬細胞活性為 473.0 ± 309.0 ，顯示併服葛根芩連湯水煎劑對 MTX 的免疫抑制活性有增加的作用。

肆、討論

本研究結果顯示，MTX 併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑時，無論是 2.0 g/kg 或 4.0 g/kg，血藥面積皆顯著增加，而併服七個劑量葛根芩連湯水煎劑後，血藥面積及滯留時間亦皆顯著增加。在併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑時，2.0 g/kg 劑量之死亡率為 1/6 (18%)；4.0 g/kg 劑量之死亡率為 3/6 (50%)，而在併服七個劑量葛根芩連湯水煎劑 (2.0 g/kg) 時，大鼠則無死亡發生。

根據許多研究指出 MTX 是 OATs 與 MRPs 之受質^{23,24,32-34}。本研究室先前的研究結果顯示，葛根芩連湯中之多酚成分於體內多以 sulfates 及 glucuronides 存在，sulfates 及 glucuronides 等代謝物與 MTX 之化學結構於生理 pH 下皆形成陰離子，在體內除彼此競爭 MRPs 外，應也可能競爭 OATs。因此 MTX 併服富含多酚的葛根芩連湯時，可能因競爭 OATs 或 MRPs，使 MTX 之排除減緩，造成 MTX 的血藥面積增加且滯留於體內的時間延長。另有研究指出，低濃度 MTX 的長時間滯留比高濃度 MTX 的毒性更高，因為 MTX 與 MRPs 親合力低，當 MTX 以低濃度存在時，polyglutamyl synthase 與 MTX 之結合大於 MRPs，而有利於 MTX-(Glu)_n 代謝物之產生。MTX-(Glu)_n 不是 MRPs 之受質，無法由細胞內外排，因此毒性頗強。因此當葛根芩連湯與 MTX 併用時，可能會因其多酚結合態代謝物與 MTX 競爭 OATs 或 MRPs 而使 MTX 之排除減緩，導致 MTX 滯留於體內的時間延長，造成代謝物 MTX-(Glu)_n 增多，而毒性增強³⁶⁻³⁸，應可解釋大鼠死亡率之提高。

當 VPA 併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑時，無論是 2.0 g/kg 或 4.0 g/kg，皆使血峰濃度及血藥面積顯著降低，由血藥經時變化圖顯示，VPA 的吸收顯著受到抑制。然而當先服七個劑量葛根芩連湯水煎劑後再服 VPA 時，血中動力學反而無明顯差異。VPA 的分子量為 144；pKa 為 4.56，在胃腸道中 VPA 應有部分以未解離態存在，因此其吸收的方式可能透過細胞間隙 (paracellular penetration)、被動擴散 (passive diffusion) 及載體轉運 (carrier-mediated transport) 等方式。併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑時，造成 VPA 的吸收及血中濃度降低，可能是因為葛根芩連湯中的成分如甘草酸於腸胃道的水解物甘草次酸，爭搶了 VPA 吸收的轉運載體。至於多劑量的葛根芩連湯給藥後，反而無交互作用，推測服用多次劑量的葛根芩連湯可能誘導了 transporter 的表現，

近代研究顯示 VPA 之體內轉運、外排與 MRP 1 與 MRP 2 等運送蛋白有關²⁹。當併服單一劑量葛根芩連湯水煎劑時，可能因葛根芩連湯中多酚成分的 sulfates 及 glucuronides 等結合態代謝物與 VPA 競爭轉運載體。然而，根據最近的研究報導指出 VPA 之體內轉運、外排與 P-gp、MRP 1、MRP 2 無關³⁵。因此，有關 VPA 於腸道之吸收可能有某些其他的 transporters 參與其中，尚待進一步的機轉研究。本研究結果可提供臨床用藥參考，建議服用 MTX 或 VPA 之病患，應避免併服葛根芩連湯水煎劑，以免影響其療效與安全。

伍、結論與建議

1. 大鼠併服葛根芩連湯水煎劑與 MTX 時，導致口服 MTX 之血藥面積顯著提高，滯留時間增加，甚至造成死亡。
2. 大鼠併服葛根芩連湯水煎劑與 VPA 時，導致口服 VPA 之血峰濃度及血藥面積顯著降低，滯留時間顯著增加。
3. 建議病患若有服用 MTX 或 VPA 時，應避免同時服用葛根芩連湯，以免影響療效或安全。

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 CCMP95-RD-011 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此致謝！

陸、參考文獻

1. 馮泳，申惠鵬，方劑學，中醫古籍出版社，北京，pp83-4，2003。
2. 楊衛星，葛根芩連湯在兒科熱病中的應用，安徽中醫臨床雜誌，13:139-141，2001。
3. 王孝仙，黃芩湯、白頭翁湯、葛根芩連湯對腸道菌株抑菌作用的實驗觀察，中國中醫基礎醫學雜誌，7:42-4，2001。
4. 夏中偉，李應超，葛根芩連湯與部分抗生素的抗菌活性及配伍影響，寧波醫學，7:113，1995

5. 李在分，葛根芩連湯抗缺氧作用，遼寧中醫雜誌，6:37, 1987。
6. 李學章，周廣印，葛根芩連湯治療放射性直腸炎，山東中醫雜誌，16:551-，1997。
7. 陳斌等，葛根芩連湯治療化療後泄瀉，四川中醫，3:32-33，1991。
8. 潘競鏘，韓超，劉惠純，葛根芩連湯降血糖作用的實驗研究，中國新藥雜誌，9:167-70，2000。
9. 周艷，潭海榮，潘競鏘，蕭柳英，呂彩雲，葛根芩連湯對第二型糖尿病大鼠的降血糖抗氧化作用，中國新醫藥，2:17-18，2003。
10. Cinati J, Morgenstern B, Bauer G, Chandra P, Rabenau H, Doerr HW. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus *Lancet*. 2003; 361: 2045-6.
11. Lai MY, Hou YC, Hsiu SL, Chen CC, and Chao PDL. Relative flavone bioavailability of *Scutellariae Radix* between traditional decoction and commercial powder preparation in humans *J Food Drug Anal* 2002; 10:75-80.
12. Lai MY, Hsiu SL, Chen CC, Hou YC and Chao PDL. Urinary pharmacokinetics of baicalin, wogonin and their glycosides after oral administration of *Scutellariae Radix* in humans. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 79-83.
13. Lai MY, Hsiu SL, Hou YC, Yang CY, and Chao PDL. Comparison of Metabolic Pharmacokinetics of Baicalin and Baicalein in Rats. *J Pharm Pharmacol* 2003; 55: 199-209.
14. Chiang HM, Yeh YR, Chao PDL, Hsiu SL, Hou YC, Chi YC and Wen KC. Metabolic pharmacokinetics of isoflavones in the roots of *Pueraria lobata* in rats. *Mid Taiwan J of Medicine* 2005; 10:57-64.
15. Ching H, Hsiu SL, Hou YC, Chen CC, and Chao PDL. Comparison of pharmacokinetics between glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in rabbits. *J Food Drug Anal* 2001; 9: 67-71.
16. Ching H, Hou YC, Hsiu SL, Tsai SY and Chao PDL. Influence of honey on the gastrointestinal metabolism and disposition of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in rabbits. *Biol. Pharm Bull* 2001; 25:87-91.
17. Kruh GD, Zeng H, Rea PA, Liu G, Chen ZS, Lee K, Belinsky MG. MRP subfamily transporters and resistance to anticancer agents. *J Bioenerg Biomembr* 2001; 33:493-501.

18. McKendry RJ. The remarkable spectrum of methotrexate toxicities. *Rheum Dis Clin North Am* 1997; 23: 939-54.
19. Fraser AG. Methotrexate: first-line or second-line immunomodulator?. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 225-31.
20. Schwab M, Klotz U. Pharmacokinetic considerations in the treatment of inflammatory bowel disease. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40: 723-51.
21. Bannwarth B, Pehourcq F, Schaefferbeke T, Dehais J. Clinical pharmacokinetics of low-dose pulse methotrexate in rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 194-210.
22. Furst DE. Practical clinical pharmacology and drug interactions of low-dose methotrexate therapy in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1995; 34 Suppl 2:20-5.
23. Zeng H, Chen ZS, Belinsky MG, Rea PA, Kruh GD. Transport of methotrexate (MTX) and folates by multidrug resistance protein (MRP) 3 and MRP1: effect of polyglutamylation on MTX transport. *Cancer Res* 2001; 61: 7225-32.
24. Chen ZS, Lee K, Walther S, Raftogianis RB, Kuwano M, Zeng H, Kruh GD. Analysis of methotrexate and folate transport by multidrug resistance protein 4 (ABCC4): MRP4 is a component of the methotrexate efflux system. *Cancer Res* 2002; 62: 3144-50.
25. Chiang H.M., Fang S.H., Wen K.C., Hsiu S.L., Tsai S.Y., Hou Y.C., Chi Y.C. and Chao P.D.L.. Life - threatening interaction between the root extract of *Pueraria lobata* and methotrexate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 209(3):263-8.
26. Kusuhara H, Sugiyama Y. Role of transporters in the tissue-selective distribution and elimination of drugs: transporters in the liver, small intestine, brain and kidney. *J Control Release* 2002; 78: 43-54.
27. Davis R, Peters DH, McTavish D. Valproic acid. A reappraisal of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. *Drugs* 1994; 47: 332-372.
28. Ketter TA, Frye MA, Cora-Locatelli G, Kimbrell TA, Post RM. Metabolism and excretion of mood stabilizers and new anticonvulsants. *Cell Mol Neurobiol* 1999; 19: 511-532.
29. Gibbs JP, Adeyeye MC, Yang Z, Shen DD. Valproic acid uptake by bovine brain microvessel endothelial cells: role of active efflux

- transport. *Epilepsy Res* 2004; 58:53-66.
30. Ballatori N, Hammond C L, Cunningham J B, Krance S M, Marchan R. Molecular mechanisms of reduced glutathione transport: role of the MRP/CFTR/ABCC and OATP/SLC21A families of membrane proteins. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 204: 238-255.
 31. Sweet D H. Organic anion transporter (Slc22a) family members as mediators of toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 204: 198-215.
 32. Elaine ML, Roger GD, Susan PCC. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 204: 216-237.
 33. Lauretta MSC, Chan SL, Barry HH. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *Eur J Pharm Sci* 2004; 21: 25-51.
 34. Mizuno N, Niwa T, Yotsumoto Y, Sugiyama Y. Impact of Drug Transporter Studies on Drug Discovery and Development. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 425-461.
 35. Steffen B, Maren F, Carlos LT, Heidrun P and Wolfgang L. Valproic acid is not a substrate for P-glycoprotein or multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2 in a number of in vitro and in vivo transport assays. *J Pharmacol Exp Ther* 2006. (Fast Forward)
 36. Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10 edition, The McGraw Hill, New York, USA, 2001.
 37. Genestier L, Paillot R, Quemeneur L, Izeradjene K, Revillard JP. Mechanisms of action of methotrexate. *Immunopharmacol.* 2000, 47(2-3): 247-257.
 38. Sczesny F, Hempel G, Boos J, Blaschke G. Capillary electrophoretic drug monitoring of methotrexate and leucovorin and their metabolites. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998, 718(1): 177-185.

捌、圖與表

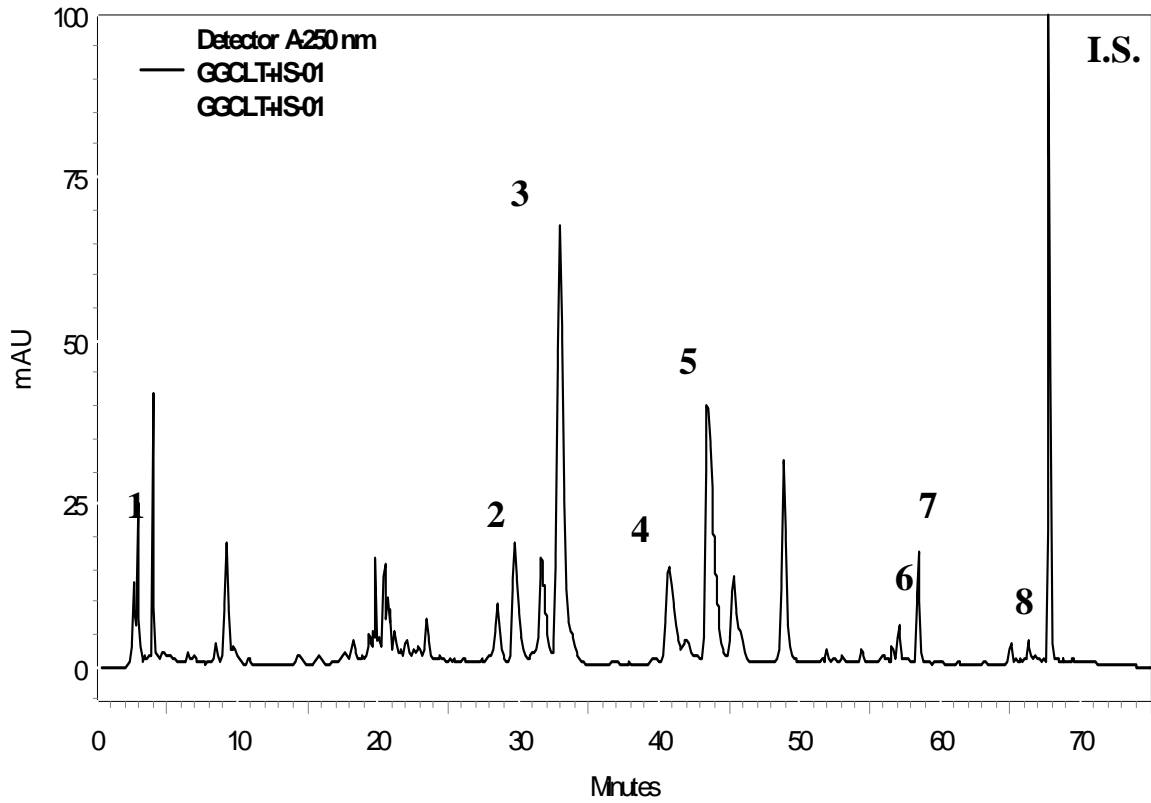


Fig. 1. HPLC chromatogram of GGCLT decoction

1: puerarin, 2: coptisine, 3: baicalin, 4: palmatine, 5: berberine, 6: baicalein, 7: glycyrrhizin, 8: wogonin, I.S.: amyIparaben

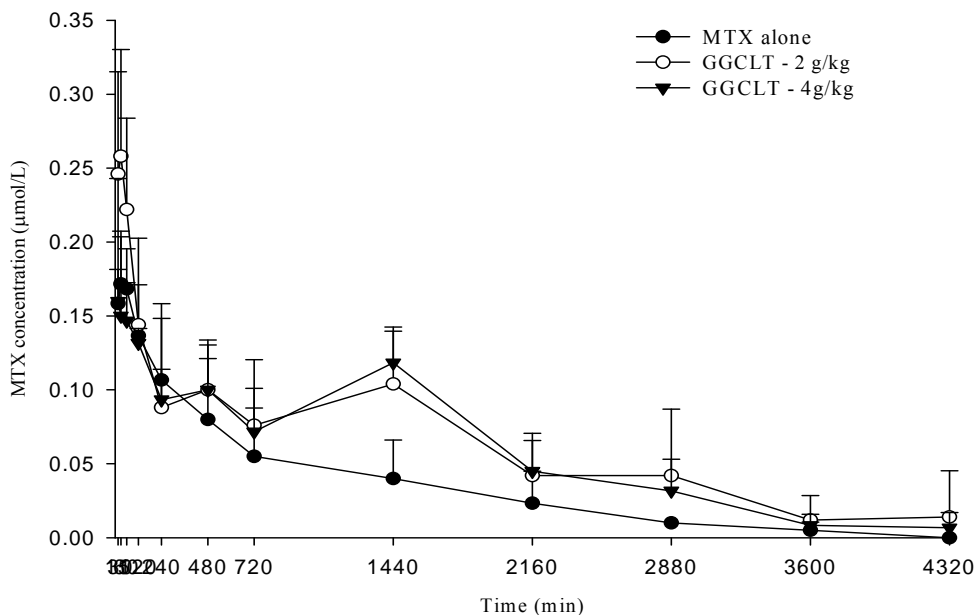


Fig. 2. Mean (\pm S.D.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 2.0 g/kg (○) and 4.0 g/kg (▼) of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT)

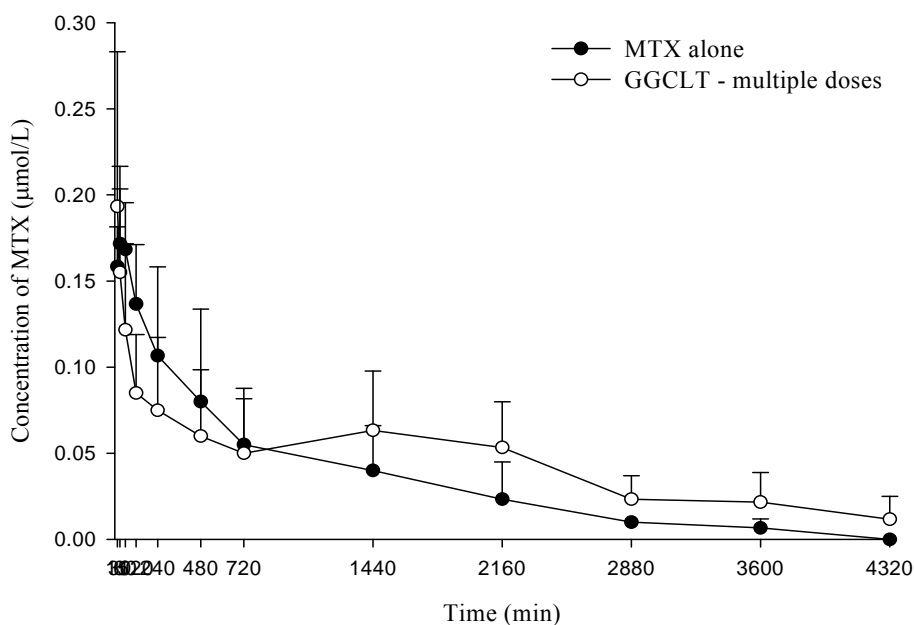


Fig. 3. Mean (\pm S.D.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and after 7 doses of 2.0 g/kg (○) of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) in six rats

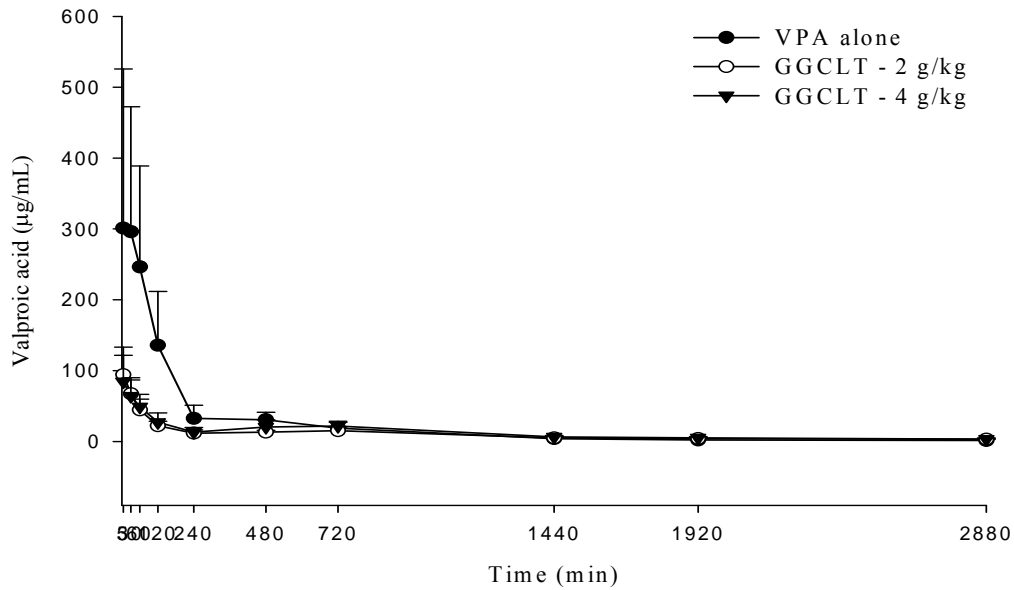


Fig. 4. Mean (\pm S.D.) serum concentration-time profiles of VPA after oral administration of VPA alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 2.0 g/kg (○) and 4.0 g/kg (▼) of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT)

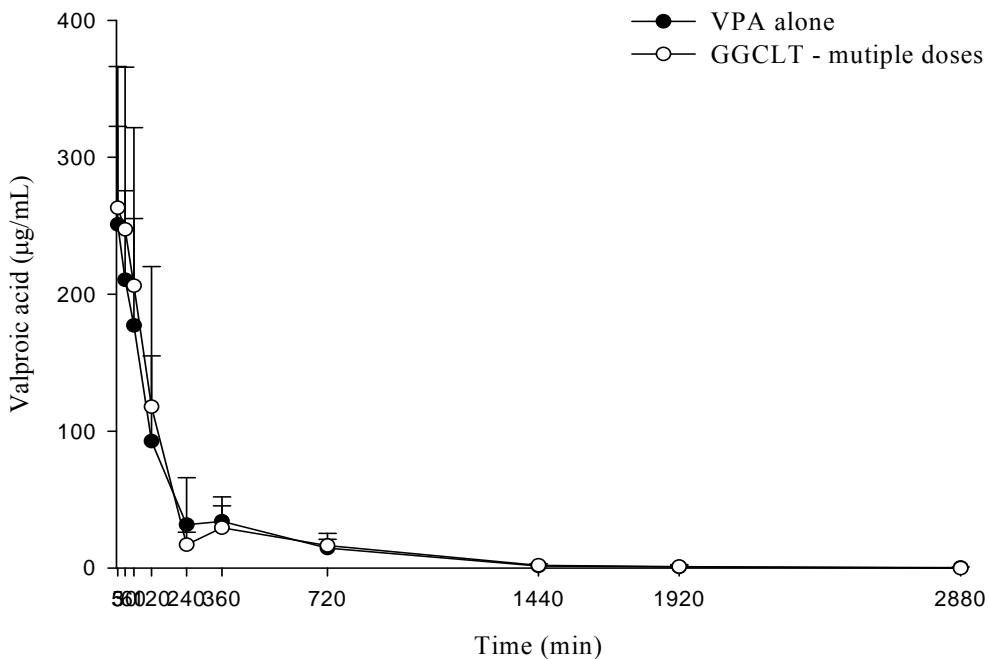


Fig. 5. Mean (\pm S.D.) serum concentration-time profiles of VPA after oral administration of VPA alone (200.0 mg/kg) (●) and at 7 doses of 2.0 g/kg (○) of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) in six rats

Table 1 The regression equations, concentration ranges and correlation coefficients of various constituents of GGCLT

Constituents	Regression equations	Conc. range (µg/mL)	r
Puerarin	Y=0.049X-0.033	1.3 ~ 40.0	0.9998
Copsitine	Y=0.050X-0.063	1.3 ~ 40.0	0.9995
Balcalin	Y=0.025X+0.085	12.5 ~ 400.0	0.9999
Palmatine	Y=0.049X-0.097	2.5 ~ 80.0	0.9997
Berberine	Y=0.042X-0.109	5.0 ~ 160.0	0.9997
Baicalein	Y=0.053X-0.003	0.6 ~ 20.0	0.9999
Glycyrrhizin	Y=0.014X+0.012	2.5 ~ 80.0	0.9999
Wogonin	Y=0.043X+0.004	0.3 ~ 10.0	0.9999

Table 2 Intraday and interday analytical precision and accuracy of puerarin in MeOH

Conc (µg/mL)	Intraday			Interday		
	Precision Mean ± S.D.	(C.V.%)	Accuracy (%)	Precision Mean ± S.D.	(C.V.%)	Accuracy (%)
40.0	39.9 ± 0.4	1.1	-0.2	39.5 ± 0.3	0.8	-1.2
20.0	20.3 ± 1.0	5.0	1.3	21.3 ± 0.7	3.2	6.7
10.0	9.7 ± 0.1	1.3	-2.5	9.5 ± 0.2	2.2	-5.3
5.0	5.1 ± 0.5	10.3	2.6	4.6 ± 0.4	9.4	-7.1
2.5	2.5 ± 0.1	2.5	0.6	2.6 ± 0.1	3.0	5.2
1.3	1.2 ± 0.04	3.8	-5.4	1.2 ± 0.03	2.3	-6.9

n=3

Table 3 Intraday and interday analytical precision and accuracy of coptisine in MeOH

Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)
40.0	39.7 \pm 0.1	0.2	-0.8	39.4 \pm 0.3	0.9	-1.5
20.0	20.9 \pm 0.3	1.6	4.4	21.3 \pm 0.8	3.7	6.4
10.0	9.8 \pm 0.4	3.9	-1.8	10.3 \pm 0.5	4.9	2.8
5.0	4.4 \pm 0.0 ₃	0.7	-12.8	4.2 \pm 0.2	5.2	-15.0
2.5	2.4 \pm 0.2	6.4	-3.8	2.1 \pm 0.2	10.9	-17.5

n=3

Table 4 Intraday and interday analytical precision and accuracy of baicalin in MeOH

Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)
400.0	400.7 \pm 1.5	0.4	0.2	400.2 \pm 3.2	0.8	0.1
200.0	198.6 \pm 3.9	1.9	-0.7	203.4 \pm 8.3	4.1	1.7
100.0	98.7 \pm 1.0	1.0	-1.3	90.4 \pm 6.7	7.4	-9.6
50.0	52.1 \pm 2.0	3.9	4.2	52.2 \pm 2.5	4.9	4.3
25.0	27.3 \pm 0.6	2.2	9.3	26.4 \pm 2.0	7.6	5.6
12.5	10.1 \pm 0.6	5.7	-19.5	14.9 \pm 1.0	6.8	18.9

n=3

Table 5 Intraday and interday analytical precision and accuracy of palmatine in MeOH

Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)
80.0	79.9 \pm 0.5	0.4	-0.1	79.0 \pm 0.3	0.3	-1.3
40.0	40.2 \pm 0.3	2.7	0.6	41.9 \pm 0.5	1.1	4.7
20.0	19.8 \pm 0.1	5.8	-1.1	21.1 \pm 0.7	3.4	5.7
10.0	10.0 \pm 0.5	5.0	-0.2	9.0 \pm 0.6	6.8	-10.3
5.0	4.9 \pm 0.2	3.9	-2.5	4.1 \pm 0.3	6.6	-18.7
2.5	2.7 \pm 0.0 ₁	0.5	7.8	2.5 \pm 0.1	2.3	-0.2

n=3

Table 6 Intraday and interday analytical precision and accuracy of berberine in MeOH

Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)
160.0	159.3 \pm 0.8	0.5	-0.4	158.3 \pm 0.8	0.5	-1.1
80.0	81.2 \pm 2.2	2.7	1.5	83.6 \pm 0.8	1.0	4.5
40.0	40.5 \pm 2.0	4.9	1.3	40.5 \pm 2.3	5.7	1.1
20.0	19.9 \pm 0.9	4.6	-0.7	18.8 \pm 1.5	8.1	-6.2
10.0	9.0 \pm 0.4	4.1	-9.8	8.7 \pm 0.8	9.1	-12.8
5.0	5.0 \pm 0.3	5.2	1.0	5.1 \pm 0.2	3.1	2.9

n=3

Table 7 Intraday and interday analytical precision and accuracy of baicalein in MeOH

Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)
20.0	20.0 \pm 0.4	0.4	0.1	20.0 \pm 0.1	0.7	-0.2
10.0	10.0 \pm 0.2	1.9	-0.2	10.2 \pm 0.4	4.0	1.7
5.0	4.9 \pm 0.1	2.3	-1.4	4.8 \pm 0.3	5.4	-4.2
2.5	2.5 \pm 0.1	4.0	-0.1	2.5 \pm 0.1	4.0	-0.1
1.3	1.3 \pm 0.1	6.4	5.0	1.4 \pm 0.1	5.8	8.9
0.6	0.6 \pm 0.0 ₄	6.6	0.8	0.6 \pm 0.0 ₀	0.4	-4.8

n=3

Table 8 Intraday and interday analytical precision and accuracy of glycyrrhizin in MeOH

Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)
80.0	80.6 \pm 0.5	0.7	0.8	79.9 \pm 0.2	0.2	-0.1
40.0	38.5 \pm 1.2	3.1	-3.8	40.3 \pm 0.5	1.3	0.7
20.0	20.4 \pm 0.2	1.1	2.0	19.9 \pm 0.5	2.7	-0.6
10.0	10.0 \pm 0.6	6.5	-0.1	10.0 \pm 0.1	0.8	0.0 ₀
5.0	5.4 \pm 0.2	4.3	8.8	5.2 \pm 0.4	7.9	3.3
2.5	2.6 \pm 0.1	3.6	2.3	2.3 \pm 0.1	2.3	-8.3

n=3

Table 9 Intraday and interday analytical precision and accuracy of wogonin in MeOH

Conc ($\mu\text{g/mL}$)	Intraday			Interday		
	Precision		Accuracy	Precision		Accuracy
	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)	Mean \pm S.D.	(C.V.%)	(%)
10.0	10.1 \pm 0.1	0.8	0.6	10.0 \pm 0.0 ₁	0.1	-0.2
5.0	4.9 \pm 0.2	3.4	-2.2	5.0 \pm 0.0 ₄	0.8	0.8
2.5	2.4 \pm 0.2	6.9	-3.0	2.5 \pm 0.1	3.1	1.2
1.3	1.3 \pm 0.1	8.7	2.4	1.2 \pm 0.0 ₃	2.4	-5.3
0.6	0.7 \pm 0.0 ₄	5.3	9.6	0.6 \pm 0.0 ₃	5.2	4.0
0.3	0.3 \pm 0.0 ₂	5.9	9.3	0.3 \pm 0.0 ₁	4.5	-2.1

n=3

Table 10 The contents (μmoL) of various

constituents in the decoction of GGCLT

Constituents	decoction ($\mu\text{moL/g}$)
Puerarin	0.05
Copsitine	0.10
Balcalin	0.49
Palmatine	0.11
Berberine	0.36
Baicalein	0.02
Glycyrrhizin	0.04
Wogonin	0.01

Table 11 The serum concentrations ($\mu\text{mol/L}$) of MTX in six rats after administration of MTX (5.0 mg/kg) alone

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
15	0.17	0.18	0.12	0.18	0.15	0.15	0.16 \pm 0.02
30	0.19	0.20	0.14	0.15	0.14	0.21	0.17 \pm 0.03
60	0.21	0.17	0.15	0.18	0.13	0.17	0.17 \pm 0.03
120	0.10	0.11	0.17	0.18	0.11	0.15	0.14 \pm 0.03
240	0.04	0.10	0.14	0.18	0.06	0.12	0.11 \pm 0.05
480	0.11	0.03	0.15	0.05	0.02	0.12	0.08 \pm 0.05
720	0.08	0.02	0.10	0.03	0.03	0.07	0.06 \pm 0.03
1440	0.06	0.02	0.04	0.01	0.08	0.03	0.04 \pm 0.03
2160	0.06	0.01	0.04	0.01	0.01	0.01	0.02 \pm 0.02
2880	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01 \pm 0.00
3600	0.01	0.01	0.01	ND	ND	ND	0.01 \pm 0.00 ₅
4320	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.0 \pm 0.0

ND : not detected

Table 12 The serum concentrations ($\mu\text{mol/L}$) of MTX in six rats after coadministration of MTX (5.0 mg/kg) and 2.0 g/kg Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT)

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
15	0.34	0.20	0.30	0.20	0.19	0.14	0.25 \pm 0.07
30	0.30	0.34	0.28	0.16	0.21	0.12	0.26 \pm 0.07
60	0.23	0.28	0.26	0.12	0.22	0.10	0.22 \pm 0.06
120	0.10	0.13	0.20	0.08	0.21	0.07	0.14 \pm 0.06
240	0.05	0.08	0.12	0.09	0.10	0.07	0.09 \pm 0.03
480	0.09	0.07	0.12	0.10	0.12	0.10	0.10 \pm 0.02
720	0.05	0.10	0.10	0.05	0.08	0.04	0.08 \pm 0.03
1440	0.09	0.07	0.15	0.14	0.07	0.12	0.10 \pm 0.04
2160	0.08	0.04	0.02	0.06	0.01	0.10	0.04 \pm 0.03
2880	0.1	0.01	0.02	0.08	ND	0.04	0.04 \pm 0.04
3600	0.01	ND	0.01	0.04	ND	0.04	0.01 \pm 0.02
4320	ND	ND	ND	0.07	ND	0.01	0.01 \pm 0.03

ND : not detected

Table 13 The serum concentrations ($\mu\text{mol/L}$) of MTX in six rats after coadministration of MTX (5.0 mg/kg) and 4.0 g/kg Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT)

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
15	0.12	0.24	0.16	0.02	0.18	0.24	0.16 \pm 0.08
30	0.13	0.20	0.14	0.05	0.18	0.20	0.15 \pm 0.06
60	0.13	0.15	0.14	0.11	0.17	0.18	0.15 \pm 0.03
120	0.13	0.12	0.13	0.15	0.13	0.13	0.13 \pm 0.01
240	0.08	0.09	0.08	0.20	0.07	0.04	0.09 \pm 0.06
480	0.10	0.11	0.06	0.15	0.08	0.10	0.10 \pm 0.03
720	0.02	0.13	0.02	0.12	0.05	0.09	0.07 \pm 0.05
1440	0.12	0.16	0.11	0.11	0.10	0.11	0.12 \pm 0.02
2160	0.04	0.04	0.06	0.07	0.05	0.01	0.05 \pm 0.02
2880	ND	0.03	0.06	0.05	0.03	0.02	0.03 \pm 0.02
3600	ND	0.01	ND	0.02	0.01	0.01	0.01 \pm 0.01
4320	ND	ND	0.02	0.02	ND	ND	0.01 \pm 0.01

ND : not detected

Table 14 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 2.0 g/kg and 4.0 g/kg of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) for six rats in each group

Parameter	MTX alone	MTX + GGCLT (2.0 g/kg)	MTX + GGCLT (4.0 g/kg)
	n=6	n=6	n=6
C_{max} ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.2 \pm 0.0 ₂	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0 ₄
AUC ₀₋₄₃₂₀ ($\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$)	144.9 \pm 45.6 ^a	260.9 \pm 62.0 ^b	222.5 \pm 61.4 ^b
MRT (min)	936.5 \pm 183.5	1353.2 \pm 485.2	1228.0 \pm 291.6

Data expressed as mean \pm S.D.

Values are mean \pm S.D. Means in a row without a common superscript differ.

P < 0.05

Table 15 The serum concentrations ($\mu\text{mol/L}$) of MTX (5.0 mg/kg) and after 7 doses of 2.0 g/kg of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) in six rats

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
15	0.29	0.18	0.32	0.12	0.13	0.12	0.19 \pm 0.09
30	0.22	0.18	0.21	0.11	0.15	0.06	0.16 \pm 0.06
60	0.17	0.16	0.13	0.07	0.15	0.05	0.12 \pm 0.05
120	0.09	0.13	0.05	0.04	0.10	0.10	0.09 \pm 0.03
240	0.12	0.13	0.05	0.02	0.07	0.06	0.08 \pm 0.04
480	0.12	0.09	0.06	0.04	0.02	0.03	0.06 \pm 0.04
720	0.09	0.05	0.08	0.05	0.01	0.02	0.05 \pm 0.03
1440	0.03	0.04	0.12	0.05	0.09	0.05	0.06 \pm 0.03
2160	0.04	0.06	0.08	0.05	0.08	0.01	0.05 \pm 0.03
2880	0.03	0.03	0.02	0.04	0.02	ND	0.02 \pm 0.01
3600	0.03	0.01	0.04	0.04	0.01	ND	0.02 \pm 0.02
4320	0.02	ND	0.02	0.03	ND	ND	0.01 \pm 0.01

ND : not detected

Table 16 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and after 7 doses of 2.0 g/kg of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) in six rats

Parameter	MTX alone	MTX + GGCLT (2.0 g/kg) 7 doses
C_{\max} ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.2 \pm 0.0 ₂	0.2 \pm 0.1
AUC ₀₋₄₃₂₀ ($\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$)	144.9 \pm 45.6 ^a	208.6 \pm 35.4 ^b
MRT (min)	936.5 \pm 183.5 ^a	1543.4 \pm 291.1 ^b

Data expressed as mean \pm S.D.

Values are mean \pm S.D. Means in a row without a common superscript differ.

$P < 0.05$

Table 17 The serum concentrations ($\mu\text{g/mL}$) of VPA in six rats after oral administration of VPA alone (200.0 mg/kg)

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
5	71.0	114.5	530.0	150.7	343.6	597.2	301.2 \pm 224.6
30	98.8	97.2	485.0	308.5	287.3	499.3	296.0 \pm 176.5
60	84.8	80.6	417.2	297.2	226.9	371.9	246.4 \pm 142.5
120	62.8	63.6	229.4	183.3	77.6	198.4	135.9 \pm 76.0
240	11.6	49.4	51.3	11.1	28.0	45.2	32.8 \pm 18.5
480	16.4	37.6	30.3	45.4	33.7	20.6	30.7 \pm 10.7
720	7.4	27.2	14.7	29.9	24.6	9.9	19.0 \pm 9.5
1440	4.5	2.2	1.9	8.2	6.1	2.3	4.2 \pm 2.6
1920	4.0	ND	0.9	4.1	2.5	1.7	2.2 \pm 1.7
2880	4.1	ND	0.9	1.5	1.1	1.8	1.6 \pm 1.4

ND : not detected

Table 18 The serum concentrations ($\mu\text{g/mL}$) of VPA in six rats after coadministration of VPA (200.0 mg/kg) and 2.0 g/kg Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT)

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
5	115.4	79.0	44.0	82.2	86.4	158.8	94.3 \pm 38.9
30	80.2	57.1	37.4	62.6	63.0	104.4	67.4 \pm 22.7
60	51.8	42.0	27.5	39.5	35.4	71.3	44.6 \pm 15.3
120	21.9	28.8	15.9	21.5	15.2	31.0	22.4 \pm 6.5
240	10.5	8.0	11.9	11.5	8.2	21.1	11.9 \pm 4.8
480	16.4	15.5	10.8	11.5	10.6	14.9	13.3 \pm 2.6
720	10.6	11.1	24.5	13.3	18.5	13.6	15.3 \pm 5.3
1440	3.7	2.1	8.2	4.3	7.5	4.7	5.1 \pm 2.3
1920	3.8	6.1	6.5	2.2	3.1	3.1	4.1 \pm 1.7
2880	5.9	3.7	0.3	3.7	2.7	3.3	3.3 \pm 1.8

Table 19 The serum concentrations ($\mu\text{g/mL}$) of VPA in six rats after coadministration of VPA (200.0 mg/kg) and 4.0 g/kg Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT)

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
5	83.8	48.4	58.9	86.1	75.8	154.1	84.5 \pm 37.1
30	68.1	33.7	54.6	79.9	51.5	97.8	64.3 \pm 22.7
60	52.9	24.4	62.1	63.0	29.3	62.5	49.0 \pm 17.7
120	23.8	16.4	50.9	28.5	14.2	30.0	27.3 \pm 13.2
240	12.4	7.3	25.9	9.1	10.7	14.0	13.2 \pm 6.6
480	9.2	6.4	29.6	23.9	30.2	23.8	20.5 \pm 10.3
720	22.5	31.5	16.2	19.7	21.0	19.9	21.8 \pm 5.2
1440	6.4	6.5	4.1	9.8	7.1	5.7	6.6 \pm 1.9
1920	3.3	6.4	3.5	8.2	5.8	3.0	5.0 \pm 2.1
2880	2.9	3.5	2.0	4.7	3.2	3.8	3.4 \pm 0.9

Table 20 Pharmacokinetic parameters of VPA after oral administration of VPA alone (200.0 mg/kg) and coadministration with 2.0 g/kg and 4.0 g/kg of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) in six rats

Parameter	VPA alone	VPA + GGCLT (2.0 g/kg)	VPA + GGCLT (4.0 g/kg)
C_{\max} ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	332.1 \pm 205.9 ^a	94.3 \pm 38.9 ^b	85.0 \pm 36.7 ^b
AUC_{0-2880} ($\mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{mL}^{-1}$)	62263.2 \pm 21341.9 ^a	27732.0 \pm 3067.5 ^b	35158.3 \pm 3052.9 ^b
MRT (min)	394.9 \pm 173.7 ^a	812.3 \pm 80.4 ^b	805.5 \pm 131.3 ^b

Data expressed as mean \pm S.D.

Values are mean \pm S.D. Means in a row without a common superscript differ.
 $P < 0.05$

Table 21 The serum concentrations ($\mu\text{g/mL}$) of VPA in six rats after administration of VPA (200.0 mg/kg)

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
5	270.7	235.0	184.7	377.5	254.8	183.0	250.9 \pm 71.7
30	207.1	201.3	175.2	337.0	191.0	151.1	210.4 \pm 65.2
60	171.0	150.1	170.9	329.1	132.2	110.0	177.2 \pm 78.0
120	95.2	81.3	127.1	193.2	27.8	31.5	92.7 \pm 62.3
240	29.9	16.4	100.6	18.0	13.4	11.7	31.7 \pm 34.3
480	52.0	38.5	57.0	22.4	13.3	21.3	34.1 \pm 17.9
720	32.8	18.1	18.2	6.0	4.1	8.3	14.6 \pm 10.8
1440	3.4	3.3	0.1	ND	0.6	1.7	1.5 \pm 1.5
1920	ND	4.0	0.1	0.1	ND	1.3	0.9 \pm 1.6
2880	ND	1.16	ND	ND	ND	0.85	0.3 \pm 0.5

ND : not detected

Table 22 The serum concentrations ($\mu\text{g/mL}$) of VPA after oral administration of VPA (200.0 mg/kg) and at 7 doses of 2.0 g/kg Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) in six rats

Time (min)	Rats						Mean \pm S.D.
	1	2	3	4	5	6	
5	397.7	191.6	361.5	125.2	227.9	274.3	263.0 \pm 103.2
30	411.3	185.3	367.5	111.8	166.0	241.7	247.2 \pm 118.5
60	359.2	151.2	339.5	95.9	107.0	183.9	206.1 \pm 115.5
120	251.9	88.8	241.4	47.1	18.9	58.2	117.7 \pm 102.4
240	14.2	9.3	34.6	16.0	17.2	11.7	17.1 \pm 9.0
480	37.3	21.2	58.7	21.8	21.3	16.3	29.4 \pm 16.0
720	20.4	14.5	18.7	20.7	8.6	15.9	16.5 \pm 4.6
1440	1.5	3.8	ND	2.9	1.2	2.4	2.0 \pm 1.3
1920	1.4	1.0	ND	0.4	1.8	2.0	1.1 \pm 0.8
2880	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0 \pm 0

ND : not detected

Table 23 Pharmacokinetic parameters of VPA after oral administration of VPA alone (200.0 mg/kg) and after 7 doses of 2.0 g/kg of Gur-Gen Chin-Lien Tang (GGCLT) after in six rats

Parameter	VPA alone	VPA + GGCLT (2.0 g/kg) 7 doses
C_{\max} ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	250.9 \pm 71.7	266.3 \pm 108.0
AUC ₀₋₂₈₈₀ ($\mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{mL}^{-1}$)	47273.28 \pm 16802.5	48950.5 \pm 21920.2
MRT (min)	294.5 \pm 121.6	289.6 \pm 86.4

Data expressed as mean \pm S.D.

Table 24 The activities of phagocytes

Rats	MTX alone	MTX + GGCLT (2.0 g/kg)
1	857.1	805.7
2	830.0	665.2
3	700.8	232.4
4	662.5	188.6
Mean	762.6 \pm 95.4	473.0 \pm 309.0

