

編號：CCMP95-TP-027

# 中西藥併用之利基或風險探索(I)－藥物併服時間之影響

李珮端

中國醫藥大學

## 摘 要

Methotrexate (MTX) 為一重要的免疫抑制劑與抗癌藥，臨床上用於類風濕關節炎、牛皮癬與抗癌等，但其治療指數狹窄。本研究室過去的研究成果顯示，同時併服富含多酚的中藥，如大黃、黃芩、三黃瀉心湯與葛根芩連湯等皆顯著增加 MTX 的全身暴露及滯留時間，並導致大白鼠死亡率提高。一般於臨床藥物諮詢時，醫療人員常教導病人於服用西藥 2 小時後，再服用中藥，而此一併服方式對 MTX 是否安全，亟須探討。

本計畫以大白鼠單獨口服 MTX 及於 MTX 給藥後 1.5 小時、3.0 小時分別給予大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯水煎劑，大白鼠定時自心臟穿刺採血，血中 MTX 濃度以螢光偏極免疫法分析，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，口服 MTX 後，於 1.5 及 3 小時併服大黃時，MTX 平均滯留時間皆顯著延長；於 3 小時併服黃芩時，MTX 平均滯留時間顯著延長；於 1.5 小時併服三黃瀉心湯時，MTX 血藥面積及平均滯留時間皆顯著延長，於 3 小時併服三黃瀉心湯時，MTX 平均滯留時間顯著延長。於 1.5 及 3 小時併服葛根芩連湯時，MTX 平均滯留時間亦顯著延長。此些中藥於 1.5 或 3 小時併服有大鼠死亡的案例發生。另外，交互作用較嚴重的中藥併服組大鼠之腎臟、肝臟、腸道組織切片顯示，並無異常現象。因此為確保用藥安全，服用 MTX 的病患須避免併服大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯。

關鍵詞：大黃、黃芩、三黃瀉心湯、葛根芩連湯、交互作用

# **The Benefit or Risk of Concurrent Use with Chinese Herb and Western Medicine - Effect of Timing of Dosing**

Pei-Dawn Lee Chao  
China Medical University

## **ABSTRACT**

Methotrexate (MTX) is an important immunosuppressant with narrow therapeutic index. The transport of MTX was associated with MRP 1, 2, 3, 4 and OAT 1, 2, 3, 4. Our previous studies indicated that concomitant coadministration of polyphenol-rich herbs including Da-Huang (DH), Huang-Chin (HC), San-Huang-Shei-Shin Tang (SHSST) and Ger-Gen-Chin-Lien Tang (GGCLT) resulted in significant increase of systemic exposure and mean residence time of MTX, which led to increased mortality of rats. In general practice of drug information consultation, the patients are suggested to take Chinese medicine at 2 hour after western medicine. Whether this suggestion of combined therapy is safe for MTX await study.

This project administered MTX alone and coadministered Chinese herbs including DH, HC, SHSST and GGCLT at 1.5 h and 3 h after MTX dosing. The blood samples were collected via cardiopuncture and the concentrations of MTX were determined by FPIA method. The pharmacokinetic parameters were calculated using noncompartment model of WINNONLIN and compared statistically using ANOVA.

The results showed that coadministration of DH at 1.5 h and 3 h, HC at 3 h, SHSST at 1.5 and 3 h, GGCLT at 1.5 and 3 h after MTX dosing, significantly increased the MRT of MTX. However, histological observation indicated that kidney, liver and intestine slices showed no abnormality. In conclusion, the coadministration of DH, HC, SHSST and GGCLT at 3 h after MTX dosing significantly affected the pharmacokinetics of MTX and led to increased mortality. We suggest patients treated with MTX should avoid the use of DH, HC, SHSST and GGCLT after MTX dosing in order to ensure the safety.

Keywords: Da-Huang, Huang-Chin, San-Huang-Shei-Shin Tang, Ger-Gen-Chin-Lien Tang

## 壹、前言

Methotrexate (MTX) 為臨床上重要的免疫抑制劑，廣泛的應用於抗癌及治療類風濕關節炎、牛皮癬、氣喘、器官移植病人等，但其治療指數非常狹窄，是抗癌藥中必需進行血中濃度監測的唯一藥物<sup>1,2</sup>。MTX 臨床上不良反應包括胃炎、肝硬化及中樞系統副作用如頭痛、疲倦、憂鬱等。任何改變其吸收、分佈、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 的動力學主要依賴腎臟及膽道排除，約有 85 % 以原形經腎臟排出，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<sup>3-5</sup>。MTX 的化學結構為一 bicarboxylic acid，pKa 為 3.76、4.83，於血中生理 pH 環境下幾乎全以陰離子形式之解離態存在，而近年研究顯示 MTX 於體內之轉運、外排與 MRP1, 2, 3, 4 及 OAT1, 2, 3, 4 等運送蛋白有關<sup>6-11</sup>。

過去幾年中，本研究小組在中醫藥委員會支持下分別完成了大黃、黃芩、葛根<sup>12</sup>及方劑葛根芩連湯與 MTX 之交互作用研究，結果顯示此三種單味中藥及葛根芩連湯皆明顯增高 MTX 之全身暴露及滯留時間，甚至造成大白鼠死亡。另外很特別的是，大黃、黃芩對 MTX 的 AUC 之影響具有劑量依存性，1 g/kg 劑量所造成交互作用之程度不亞於 2 g/kg。葛根芩連湯之結果亦顯示，低劑量所造成的交互作用不亞於高劑量。此等中藥低劑量併服時，顯著抑制排除，而高劑量併服時，既抑制排除且降低吸收，因此若於 MTX 口服後 1.5 小時或 3 小時給予高劑量中藥，對 MTX 吸收之抑制減低，那麼對於 MTX 動力學的影響如何，值得另行評估。

於臨床藥物諮詢時，醫療人員常建議病人於服用西藥 2 小時後，再服用中藥。如此併服方式，對於中藥與 MTX 併服的案例是否安全，值得探究。因此在上年度的研究基礎下，本計畫繼以大白鼠為試驗模型，探討口服 MTX 後 1.5 小時及 3.0 小時分別併服大黃、黃芩、三黃瀉心湯、葛根芩連湯水煎劑對 MTX 動力學之影響。

## 貳、材料與方法

### 一、藥材之採購及基原鑑定

採購三黃瀉心湯、葛根芩連湯中各組成藥材，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。三黃瀉心湯之組成為大黃、黃芩、黃連(2:1:1)。葛根芩連湯之組成為葛根、黃芩、黃連、炙甘草 (5:3:3:2)。

### 二、各項水煎劑之製備與指標成分之定量

#### (一)大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯水煎劑之製備

分別稱取適量之藥材，加入體積為藥材量 20 倍的二次水，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原來的 10 倍體積，以紗布趁熱過濾，取濾液後，再繼續加熱至體積減至原來的 5 倍體積以下，加適量水至所須體積，俟後進行定量分析。

#### (二)各項水煎劑中指標成分之定量

##### 1. 大黃

取 3 mL 大黃水煎劑加甲醇 7 mL 振盪混合，離心 15min (10,000 g)去沉澱，取上清液 100  $\mu$ L，加入等體積內標準甲醇溶液(2-methylanthraquinone, 5.0  $\mu$ g/mL)混合後，離心 15min (10,000 g)兩次，取上清液 20  $\mu$ L 注入 HPLC 分析。將上述溶液以各成分 (aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol) 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。

##### 2. 黃芩

取 3 mL 的水煎劑加甲醇 7 mL 振盪混合，離心 10min (10,000 g)去沉澱，取上清液稀釋 30 倍及 150 倍，取 100  $\mu$ L，加入 100  $\mu$ L 之內標準甲醇溶液(ethyl paraben, 20.0  $\mu$ g/mL)混合後，離心 10min (10,000 g)兩次，取上清液 20  $\mu$ L 注入 HPLC 分析。將上述溶液以各成分 (baicalin、baicalein、wogonin) 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。

##### 3. 三黃瀉心湯

取三黃瀉心湯水煎劑檢品 300  $\mu$ L，加甲醇 700  $\mu$ L 振盪混合，經 10,000 g 高速離心 15 分鐘，取上清液 200  $\mu$ L，再以甲醇 700  $\mu$ L 稀釋，取 100  $\mu$ L 稀釋液，用氮氣吹乾，加入  $\beta$ -glucosidase 溶液 (溶於 pH 5.0 之緩衝溶液，50 units/mL)，以振盪器充分混合均勻後，置於 37°C 之恆溫水槽反應 3 小時；反應後加入內標準溶液(2-methylanthraquinone, 10.0  $\mu$ g /mL in methanol) 300  $\mu$ L、甲醇溶液 300  $\mu$ L，混合均勻後，高速離心 (10,000 g) 5 分鐘，取上清液 50  $\mu$ L 注入 HPLC 分析。

## 4. 葛根芩連湯

取經水稀釋 20 倍的水煎劑 3 mL，加甲醇 7 mL 振盪混合，離心 15min (10,000 g) 去沉澱，取上清液 180  $\mu$ L，加入 20  $\mu$ L 之內標準甲醇溶液(amyl paraben, 100.0  $\mu$ g/mL)混合後，離心 15min (10,000 g) 兩次，取上清液 20  $\mu$ 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) HPLC分析條件

## 1. 大黃

層析管：Apollo C18, 5  $\mu$ m (4.6  $\times$  250mm)

移動相：A：0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> B：CH<sub>3</sub>CN

A/B：50/50 (0min), 50/50 (10min), 15/85 (15min), 15/85 (20min),  
50/50 (25min)

流速：1.0 mL/min

檢測波長：250 nm

內標準：2-methylanthraquinone (5.0  $\mu$ g/mL)

## 2. 黃芩

層析管：Apollo C18, 5  $\mu$ m (4.6  $\times$  250 mm)

移動相：A：0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> B：CH<sub>3</sub>CN

A/B：73/27 (0min), 73/27 (11min), 55/45 (13min), 55/45 (23min),  
30/70 (26min), 30/70 (30min), 73/27 (35min), 73/27 (40min)

流速：1.0 mL/min

檢測波長：270 nm

內標準：ethyl paraben (20.0  $\mu$ g/mL)

## 3. 三黃瀉心湯

層析管：Apollo C18, 5  $\mu$ m (4.6  $\times$  250 mm)

移動相：A：0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> B：CH<sub>3</sub>CN

A/B：77/23 (0min), 77/23 (10min), 80/20 (15min), 80/20 (25min),  
78/22 (30min), 78/22 (45min), 62/38 (50min), 62/38 (60min),  
30/70 (65min), 30/70 (95min), 77/23 (100min)

流速：1.0 mL/min (0-68min), 0.2 mL/min (68-70min),

1.0 mL/min (78-100min)

檢測波長：250 nm

內標準：2-methylanthraquinone (10.0  $\mu$ g/mL)

## 4. 葛根芩連湯

層析管：Apollo C18, 5  $\mu$ m (4.6  $\times$  250 mm)

移動相：A：0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> B：CH<sub>3</sub>CN

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

流速 : 1.0 mL/min

檢測波長 : 250 nm

內標準 : amyl paraben (100.0  $\mu\text{g/mL}$ )

### 三、動物及給藥

Sprague-Dawley 大鼠，體重介於 340 ~ 460 g。實驗前禁食 12 小時，每組至少五隻，其中一組為控制組單服 MTX (5.0 mg/kg；此產品之包裝為 25 mg/mL，由荷蘭 Pharmachemie B.V. 藥廠製造，台灣由民橋企業股份有限公司代理)，其餘為併服中藥組，口服給予 MTX (5.0 mg/kg) 之後 1.5 小時及 3.0 小時分別口服四種中藥水煎劑，每種水煎劑均給予兩種劑量。大黃、黃芩劑量為 1.0 g/kg 及 2.0 g/kg，三黃瀉心湯、葛根芩連湯劑量為 2.0 g/kg 及 4.0 g/kg。口服方式係以胃管給藥。給藥設計方面，因過去的結果顯示，此些中藥與 MTX 併服後 6-10 天會有大鼠死亡，因此本計畫採平行設計，並於實驗全程約兩星期期間皆持續觀察大鼠的健康狀況。

### 四、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。採血時間點為 MTX 給藥前及給藥後 15、30、60、120、240、480、720、1440、2160、2880 及 3600 分鐘。

### 五、血清中 MTX 濃度之分析

利用 TDx Analyzer，以臨床使用的 FPIA (Fluorescence Polarization Immunoassay) 方法定量血清中 MTX 之濃度。定量範圍為 0.00-1.00  $\mu\text{mol/L}$ 。偵測極限為 0.02  $\mu\text{mol/L}$ 。

### 六、腎臟及小腸組織切片

大白鼠於併服中藥後第六天犧牲以摘取腎臟及小腸，用冰的生理食鹽水清洗，去除腎臟及小腸被膜後，經 10% 中性福馬林溶液固定，以石蠟包埋製作切片，使用 Periodic acid Schiff's stain (PAS) 染色，以觀察腎臟及小腸組織型態。

### 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 比較藥動學參數之組間差異。

## 參、結果

各項中藥水煎劑中之指標成分利用 HPLC 方法進行定量分析，定量方法皆參考本研究室先前所開發之條件<sup>14-17</sup>，層析圖如 Fig.1~4。各項水煎劑指標成分之定量結果，如 Table 1~4 所示。

各項中藥於不同時間併服，對 MTX 動力學影響之結果分述於下：

### 一、大黃與 MTX 併服

#### (一)大黃劑量 1 g/kg

##### 1. 同時併服

$AUC_{0-t}$  顯著增加 83 %， $AUC_{720-3600}$  顯著增加 149 %，MRT 顯著延長 61 %。

##### 2. 1.5 小時後併服

$AUC_{720-3600}$  顯著增加 99 %，MRT 顯著延長 78 %。

##### 3. 3.0 小時後併服

$AUC_{720-3600}$  顯著增加 91 %，MRT 顯著延長 71 %。

#### (二)大黃劑量 2 g/kg

##### 1. 同時併服

$C_{max}$  顯著降低 50 %， $AUC_{0-t}$  顯著增加 86 %， $AUC_{720-3600}$  顯著增加 167 %，MRT 顯著延長 77 %。

##### 2. 1.5 小時後併服

$AUC_{0-720}$  顯著減少 42 %。

##### 3. 3.0 小時後併服

$AUC_{0-720}$  顯著減少 49 %，MRT 顯著延長 64 %。

### 二、黃芩與 MTX 併服

#### (一)黃芩劑量 1 g/kg

##### 1. 同時併服

藥動學參數皆未達顯著差異。

##### 2. 1.5 小時後併服

藥動學參數皆未達顯著差異。

##### 3. 3.0 小時後併服

MRT 顯著延長 48 %。

#### (二)黃芩劑量 2 g/kg

##### 1. 同時併服

$AUC_{0-t}$  顯著增加 75 %， $AUC_{720-3600}$  顯著增加 136 %。

##### 2. 1.5 小時後併服

藥動學參數皆未達顯著差異。

### 3. 3.0 小時後併服

AUC<sub>720-3600</sub> 顯著增加 116 %，MRT 顯著延長 65 %。

## 三、三黃瀉心湯與 MTX 併服

### (一) 三黃瀉心湯劑量 2 g/kg

#### 1. 1.5 小時後併服

AUC<sub>720-3600</sub> 顯著增加 121 %，MRT 顯著延長 59 %。

#### 2. 3.0 小時後併服

藥動學參數皆未達顯著差異。

### (二) 三黃瀉心湯劑量 4 g/kg

#### 1. 1.5 小時後併服

AUC<sub>0-3600</sub> 顯著增加 55 %，AUC<sub>720-3600</sub> 顯著增加 132 %，MRT 顯著延長 55 %。

#### 2. 3.0 小時後併服

AUC<sub>720-3600</sub> 顯著增加 100 %，MRT 顯著延長 60 %。

## 四、葛根芩連湯與 MTX 併服

### (一) 葛根芩連湯劑量 2 g/kg

#### 1. 1.5 小時後併服

MRT 顯著延長 51 %。

#### 2. 3.0 小時後併服

MRT 顯著延長 44 %。

### (二) 葛根芩連湯劑量 4 g/kg

#### 1. 1.5 小時後併服

MRT 顯著延長 38 %。

#### 2. 3.0 小時後併服

MRT 顯著延長 74 %。

比較各組大鼠之死亡率顯示，單服 MTX 組大鼠全數存活。於 1.5 小時後併服大黃水煎劑 1 g/kg 組，死亡率為 17 % (1/6)，在給藥後第 7 天死亡。於 1.5 及 3 小時後併服黃芩水煎劑 2 g/kg 組，死亡率皆為 17 % (1/6)，分別在給藥後第 12 天及第 8 天死亡。於 1.5 小時後併服葛根芩連湯水煎劑 2 g/kg 組，死亡率為 50 % (3/6)，分別在給藥後第 7 天、第 10 天及第 14 天死亡。於 1.5 及 3 小時後併服三黃瀉心湯 2 g/kg 及 4 g/kg 組，皆無死亡發生。

另外，交互作用較嚴重的中藥併服組大鼠之腎臟、肝臟、腸道組織切片顯示，並無異常現象。



## 肆、討論

本研究結果顯示，同時併服大黃 1 g/kg 時，MTX 之血藥面積及平均滯留時間皆顯著增加。於 1.5 及 3 小時併服大黃 1 g/kg 時，排除期的血藥面積 ( $AUC_{720-3600}$ ) 及平均滯留時間 (MRT) 皆顯著增加，顯示 1.5 及 3 小時後併服皆顯著抑制 MTX 之排除；同時併服大黃 2 g/kg 時，MTX 之血藥面積及平均滯留時間皆顯著增加，然而於 1.5 及 3 小時併服大黃 2 g/kg 時，血藥面積無顯著差異，而早期曝露的血藥面積 ( $AUC_{0-720}$ ) 卻顯著減少，顯示 1.5 及 3 小時後併服大黃 2 g/kg 皆顯著降低 MTX 之吸收。3 小時併服時，MTX 之平均滯留時間顯著增加。然而 1.5 小時併服時平均滯留時間雖有延長的趨勢，但未達顯著差異。根據大鼠單服 MTX 之動力學結果顯示，MTX 於體內之平均滯留時間約 15 小時，因此當於 3 小時併服大黃時，對 MTX 排除之抑制仍相當顯著。但於 1.5 小時併服大黃時，因對 MTX 吸收的抑制程度比 3 小時後併服時大，導致其對 MTX 動力學之整體影響未如 3 小時併服顯著。

同時併服黃芩 1 g/kg 時，MTX 之血藥面積及平均滯留時間皆未達顯著差異。3 小時後併服組之 MTX 平均滯留時間顯著增加，然而於 1.5 小時後併服時，血藥面積及平均滯留時間皆未達顯著差異，顯示 3 小時後併服明顯抑制 MTX 之排除。同時併服黃芩 2 g/kg 時，MTX 之血藥面積顯著增加。3 小時後併服時，排除期血藥面積 ( $AUC_{720-3600}$ ) 及平均滯留時間皆顯著增加，然而於 1.5 小時後併服黃芩，血藥面積及平均滯留時間均未達顯著差異，顯示 3 小時後併服顯著抑制 MTX 之排除，可能因為 1.5 小時後併服黃芩時，對 MTX 吸收的抑制程度比 3 小時併服大。此現象與併服大黃的結果一致，兩者皆顯示 3 小時後併服對 MTX 動力學的整體影響較 1.5 小時併服顯著。

併服三黃瀉心湯 2 g/kg 時，1.5 小時後併服組之排除期血藥面積 ( $AUC_{720-3600}$ ) 及平均滯留時間 (MRT) 皆顯著增加，顯示 1.5 小時後併服顯著抑制 MTX 之排除。3 小時後併服組之血藥面積及平均滯留時間均未達顯著差異。併服三黃瀉心湯 4 g/kg 時，1.5 小時併服組及 3 小時併服組之排除期血藥面積及平均滯留時間皆顯著增加，顯示不論 1.5 或 3 小時後併服皆顯著抑制 MTX 之排除。本研究室先前的研究結果顯示，同時併服三黃瀉心湯 2 g/kg 或 4 g/kg 時，MTX 之血藥面積及平均滯留時間均顯著增加，但因先前實驗所用的 MTX 為不同的市場品，因此本報告未將同時併服組之數據納入討論。

併服葛根芩連湯 2 g/kg 及 4 g/kg 時，1.5 小時併服組及 3 小時併服組之平均滯留時間皆顯著增加，而血藥面積雖有增加的趨勢，但未達顯著差異，

顯示不論 1.5 或 3 小時後併服皆抑制 MTX 之排除。

根據許多研究指出，MTX 是 OATs 與 MRPs 之受質<sup>6-11</sup>。本研究室先前的代謝動力學研究結果顯示，大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯中之多酚成分於體內多以 sulfates 及 glucuronides 等代謝物存在，sulfates、glucuronides 與 MTX 之化學結構於生理 pH 下皆為陰離子形態，在體內除彼此競爭 MRPs 外，也可能競爭 OATs。因此 MTX 併服富含多酚的大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯時，可能因多酚代謝物與 MTX 競爭 OATs 或 MRPs，使 MTX 之轉運、排除受到影響，造成 MTX 的動力學行為改變，這應可解釋其平均滯留時間的延長。此外，本研究結果顯示，單服 MTX 之大鼠全數存活，而於口服 MTX 後併服大黃、黃芩、葛根芩連湯水煎劑時，大鼠之死亡率比單服 MTX 之對照組高，顯示口服 MTX 後併服此些中藥有增加 MTX 毒性之現象。另有研究指出，MTX 低濃度的長時間曝露比高濃度的毒性更高<sup>18-20</sup>，因為 MTX 與 MRPs 親和力低，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)<sub>n</sub> 代謝物之產生。MTX-(Glu)<sub>n</sub> 不是 MRPs 之受質，無法由細胞內外排，導致毒性高。因此大黃、黃芩及葛根芩連湯與 MTX 併服所造成的大鼠死亡，應與 MTX 滯留於體內的時間延長有關。

綜合以上結果顯示，大鼠口服 MTX 後，於 1.5 及 3 小時後併服大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯時，皆使 MTX 於大鼠體內的平均滯留時間延長。顯示於口服 MTX 後 3 小時服用此些中藥，仍對 MTX 的動力學有明顯影響。本研究結果可提供臨床用藥參考，建議服用 MTX 之病患，於給藥後仍應避免併服大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯，避免影響用藥安全。

## 伍、結論與建議

- 一、大鼠於口服 MTX 1.5 及 3 小時後併服大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯時，皆使 MTX 於體內的平均滯留時間延長，甚至有大鼠死亡之案例，顯示於口服 MTX 後 3 小時服用此些中藥，仍對 MTX 的動力學及毒性有明顯影響。
- 二、本研究結果可提供臨床用藥參考，建議服用 MTX 之病患，於服藥後應避免併服大黃、黃芩、三黃瀉心湯及葛根芩連湯，以免影響用藥安全。

## 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-TP-027 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. McKendry RJ. The remarkable spectrum of methotrexate toxicities. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*. 23: 939-54, 1997
2. Fraser AG. Methotrexate: first-line or second-line immunomodulator? *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 15: 225-31, 2003
3. Schwab M, Klotz U. Pharmacokinetic considerations in the treatment of inflammatory bowel disease. *Clinical Pharmacokinetics*. 40: 723-51, 2001.
4. Bannwarth B, Pehourcq F, Schaeffer T, Dehais J. Clinical pharmacokinetics of low-dose pulse methotrexate in rheumatoid arthritis. *Clinical Pharmacokinetics*. 30: 194-210, 1996
5. Furst DE. Practical clinical pharmacology and drug interactions of low-dose methotrexate therapy in rheumatoid arthritis. *British Journal of Rheumatology*. 34 Suppl 2:20-5, 1995
6. 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* 61: 7225-32.
7. 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*. 62: 3144-50, 2002.
8. Cha SH, Sekine T, Fukushima JI, Kanai Y, Kobayashi Y, Goya T, Endou H., Identification and characterization of human organic anion transporter 3 expressing predominantly in the kidney, *Mol Pharmacol*. 59:1277-86, 2001.
9. Takeda M, Khamdang S, Narikawa S, Kimura H, Hosoyamada M, Cha SH, Sekine T, Endou H., Characterization of methotrexate transport and its drug interactions with human organic anion transporters, *J Pharmacol Exp Ther*. 302: 666-71, 2002.
10. Sun W, Wu RR, van Poelje PD, Erion MD, Isolation of a family of organic anion transporters from human liver and kidney, *Biochem Biophys Res Commun*. 4; 283:417-22. 2001
11. Takeda M, Khamdang S, Narikawa S, Kimura H, Hosoyamada M, Cha SH, Sekine T, Endou H, Characterization of methotrexate transport and its drug

- interactions with human organic anion transporters, *J Pharmacol Exp Ther.* 302:666-71, 2002.
12. Chiang HM, Fang SH, Wen KC, Hsiu SL, Tsai SY, Hou YC, Chi Y. and Chao PDL, Life - threatening interaction between the root extract of *Pueraria lobata* and methotrexate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 209, 263-268, 2005.
  13. 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. *Journal of Controlled Release* 78: 43–54, 2002.
  14. 張珮樺，2003，中國醫藥大學 藥物化學所，碩士論文。
  15. 賴妙英，2002，中國醫藥大學 中國藥學所，博士論文。
  16. 謝佩勳，2005，中國醫藥大學 中國藥學所，碩士論文。
  17. 李珮端，2006，中醫藥委員會，95CCMP-RD-011。
  18. Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10 edition, The McGraw Hill, New York, USA, 2001.
  19. Genestier L, Paillot R, Quemeneur L, Izeradjene K, Revillard JP. Mechanisms of action of methotrexate. *Immunopharmacol.* 47:247-257, 2000.
  20. 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.* 718: 177-185, 1998.

柒、圖、表

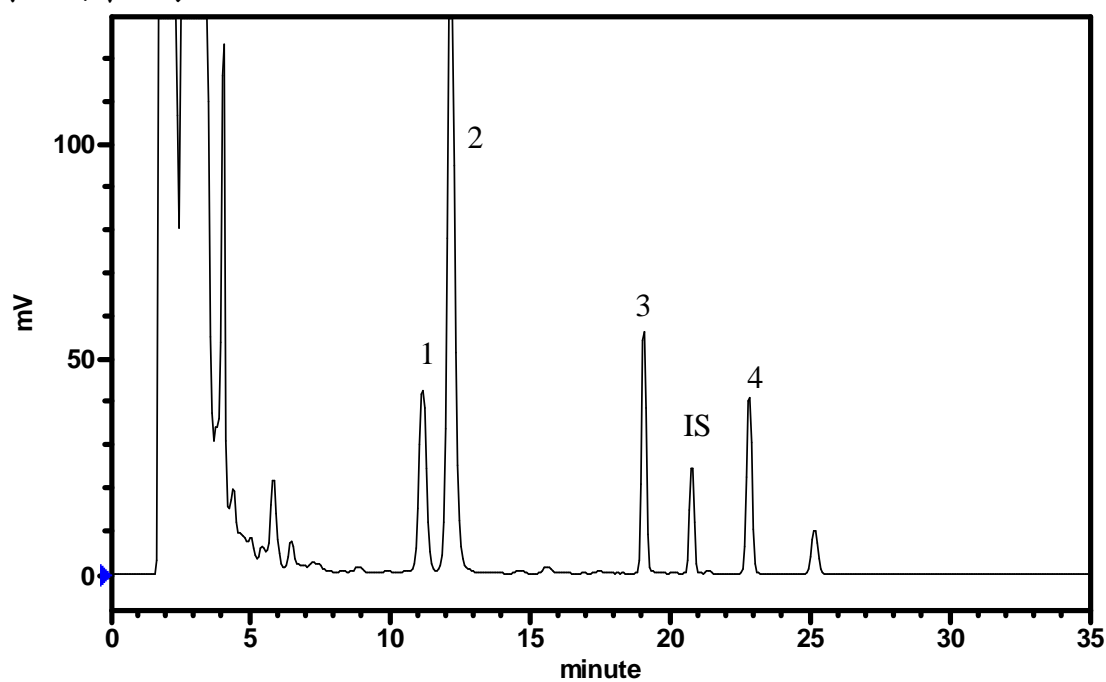


Fig 1 HPLC chromatogram of DH decoction

1: aloe-emodin, 2: rhein, 3: emodin, 4:chrysophanol, IS: 2-methylantraquinone

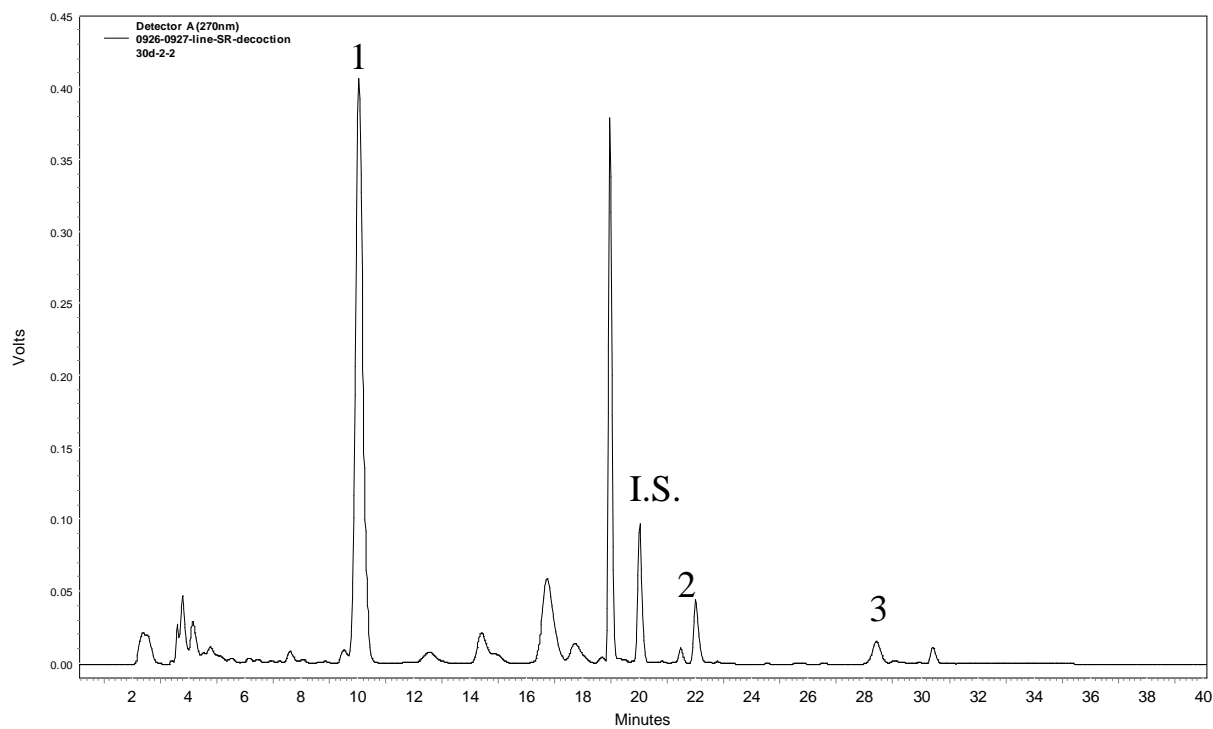


Fig 2 HPLC chromatogram of HC decoction

1: baicalin, 2: baicalein, 3: wogonin, I.S.: ethyl paraben

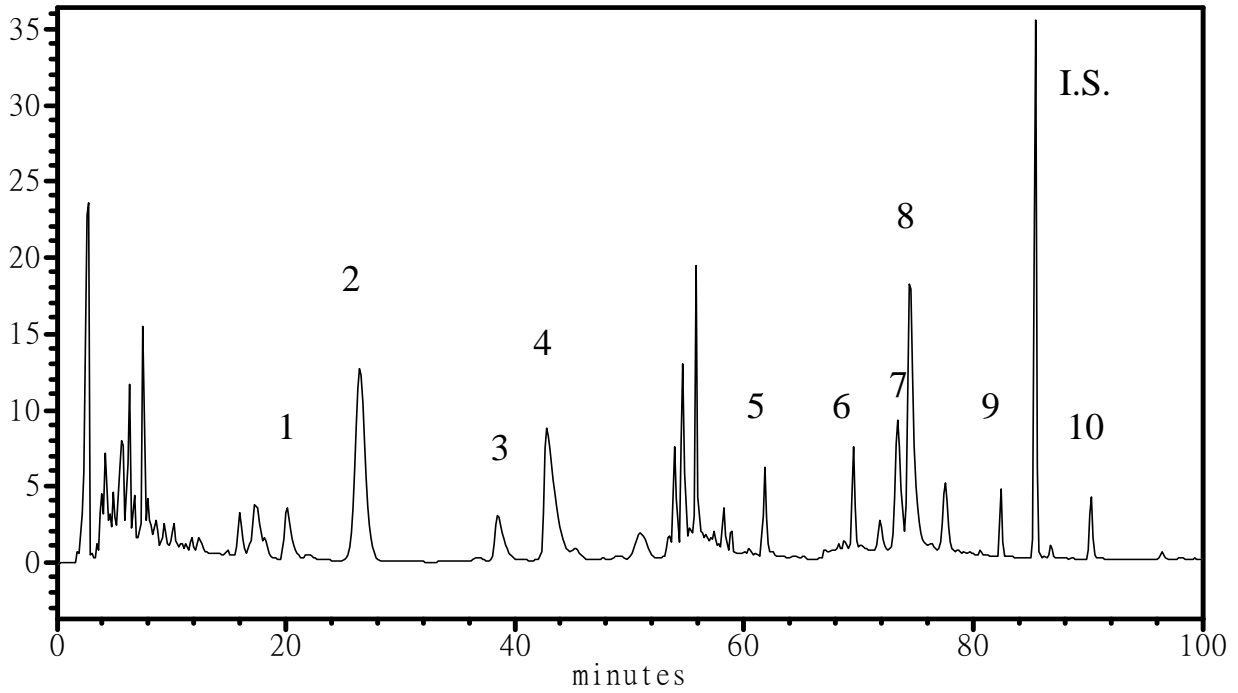


Fig 3 HPLC chromatogram of SHSST decoction

1. coptisine, 2. baicalin, 3. palmatine, 4. berberine, 5. baicalein, 6. aloe-emodin, 7. wogonin, 8. rhein, 9. emodin, 10. chrysophanol, I.S.: 2-methylantraquinone

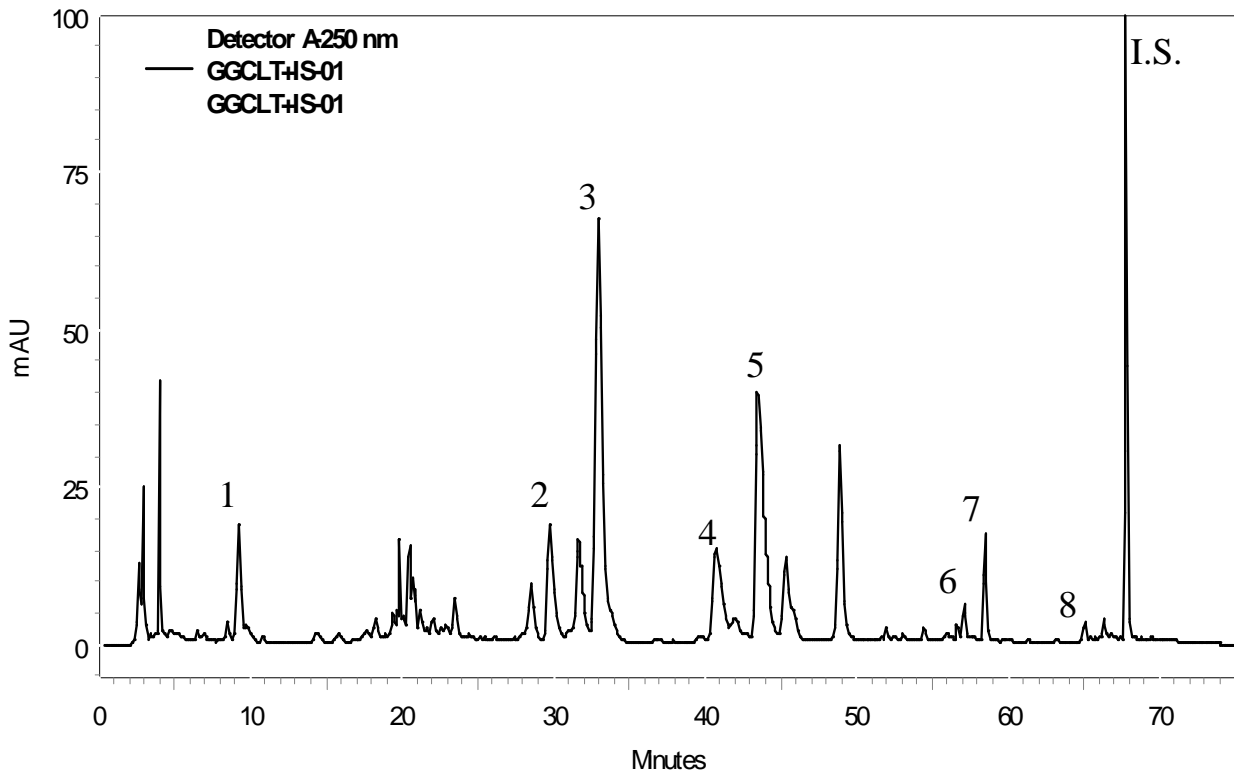


Fig 4 HPLC chromatogram of GGCLT decoction

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

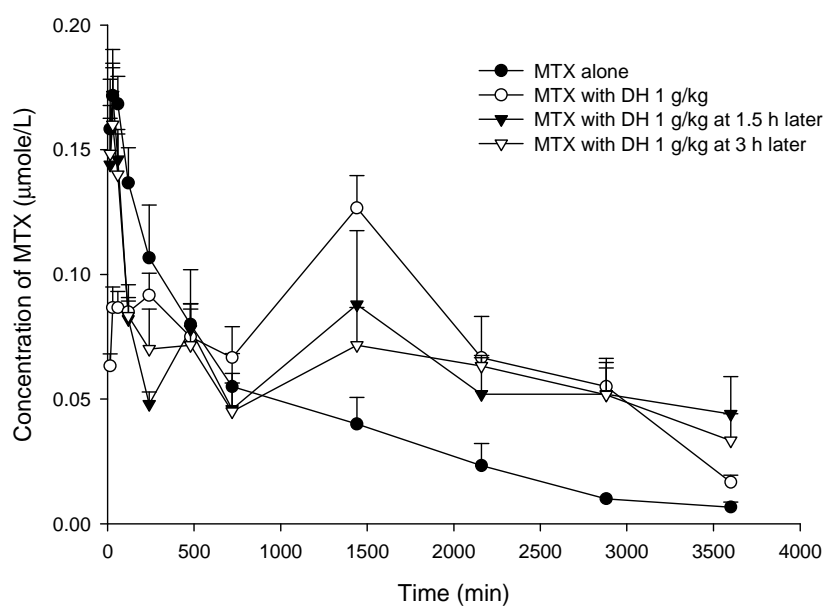


Fig 5 Mean ( $\pm$ S.E.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 1 g/kg of DH concomitantly (○), at 1.5 h (▼) and 3.0 h (▽) later

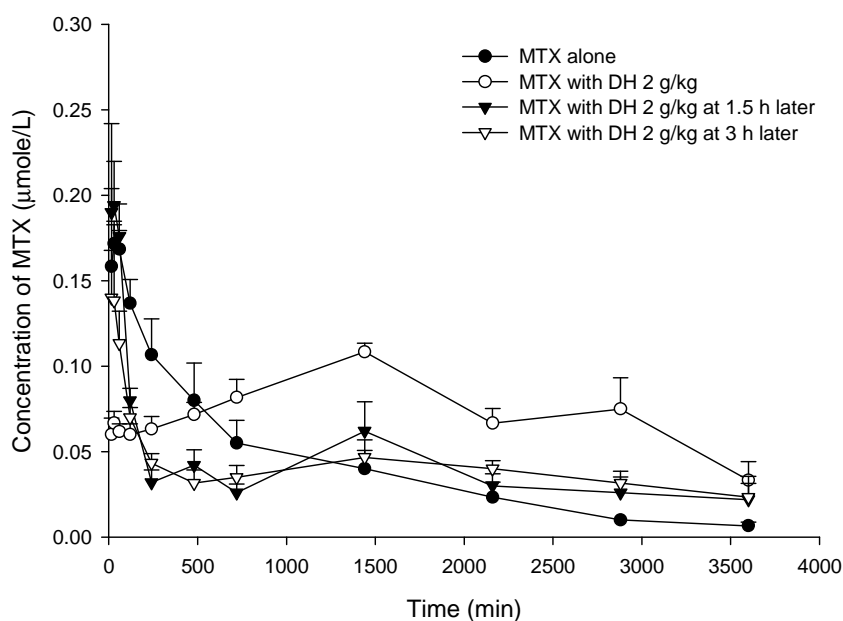


Fig 6 Mean ( $\pm$ S.E.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 2 g/kg of DH concomitantly (○), at 1.5 h (▼) and 3.0 h (▽) later



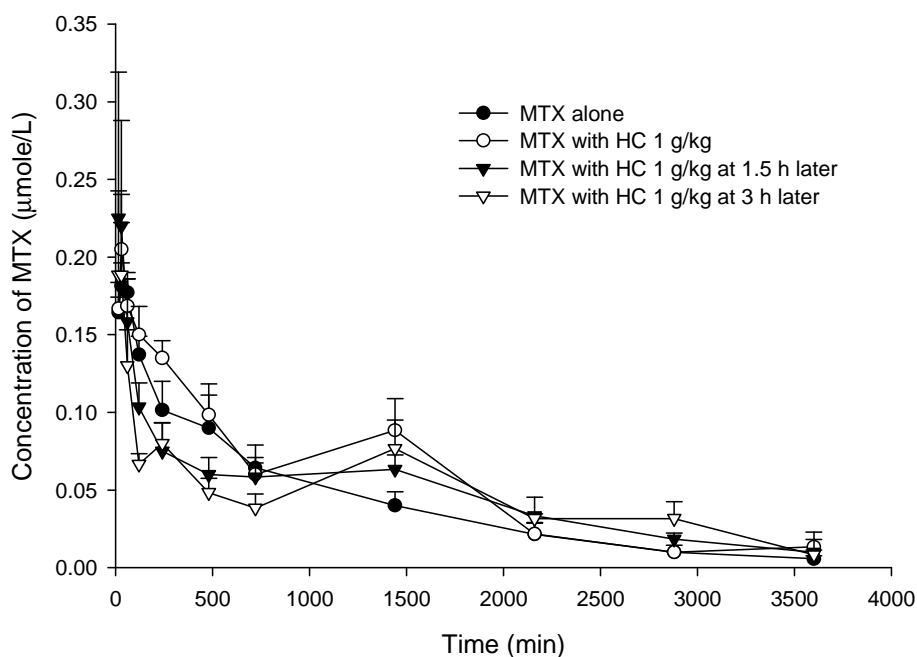


Fig 7 Mean ( $\pm$ S.E.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 1 g/kg of HC concomitantly (○), at 1.5 h (▼) and 3.0 h (▽) later.

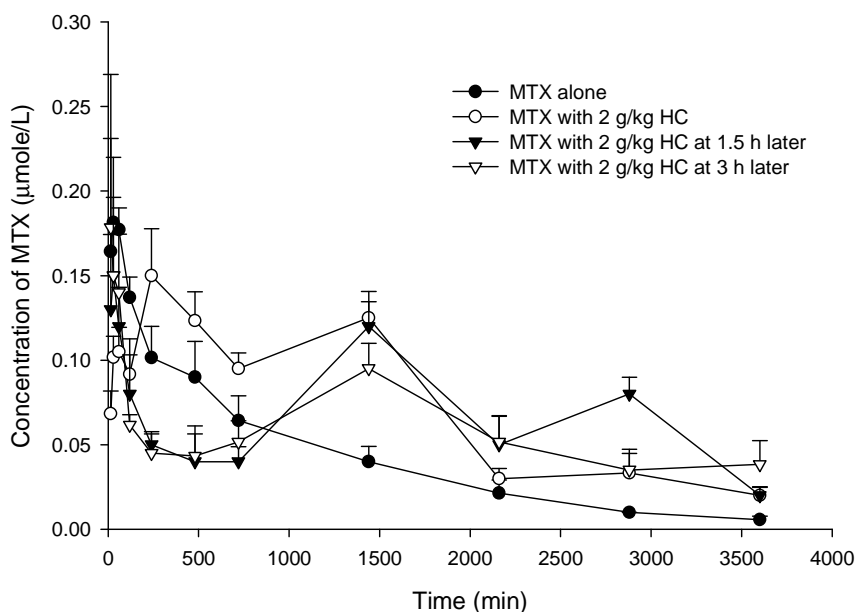


Fig 8 Mean ( $\pm$ S.E.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 2 g/kg of HC concomitantly (○), at 1.5 h (▼) and 3.0 h (▽) later.

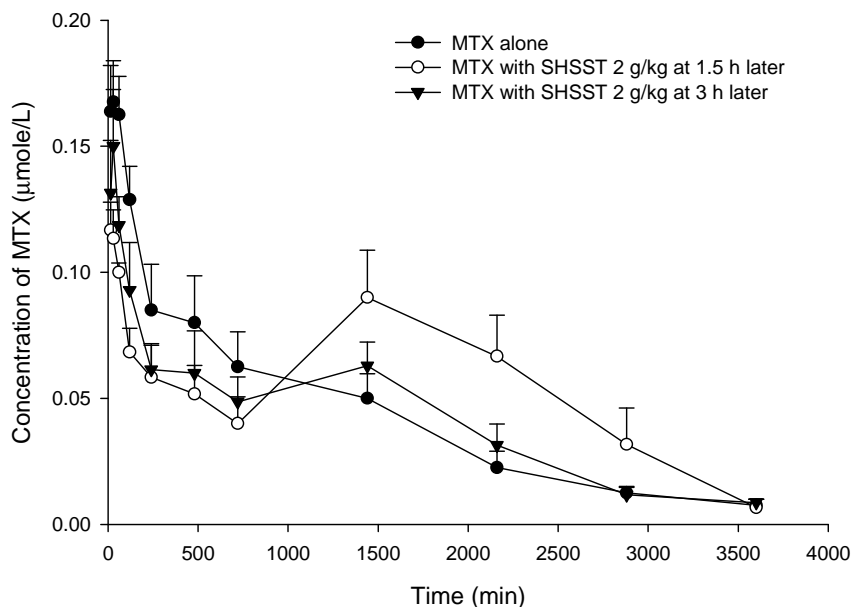


Fig 9 Mean ( $\pm$ S.E.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 2 g/kg of SHSST at 1.5 h (○) and 3.0 h (▼) later.

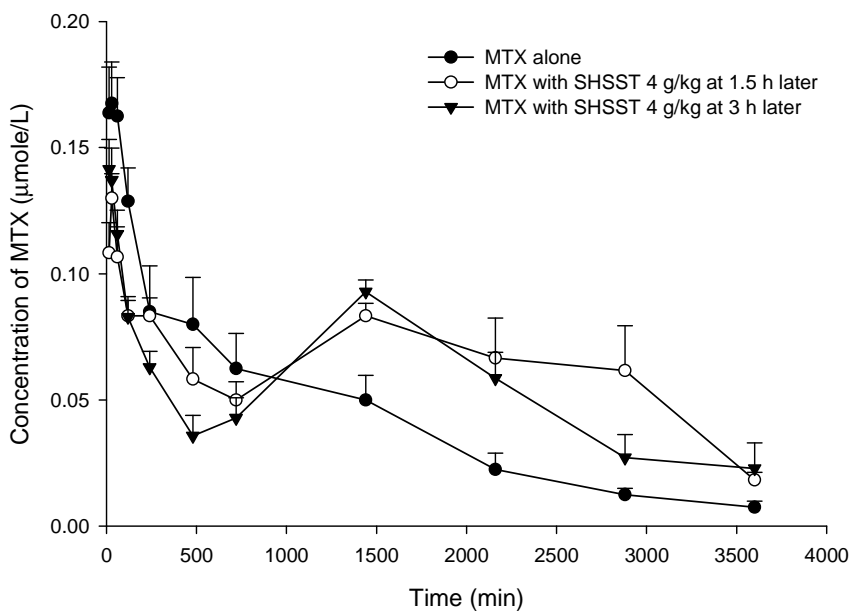


Fig 10 Mean ( $\pm$ S.E.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 4 g/kg of SHSST at 1.5 h (○) and 3.0 h (▼) later.

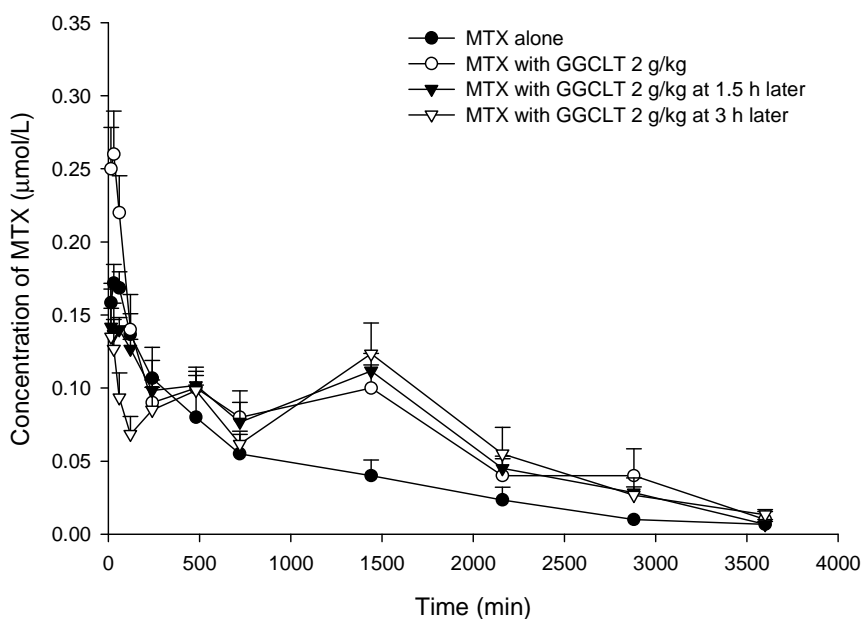


Fig 11 Mean ( $\pm$ S.E.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 2 g/kg of GGCLT concomitantly (○), at 1.5 h (▼) and 3.0 h (▽) later.

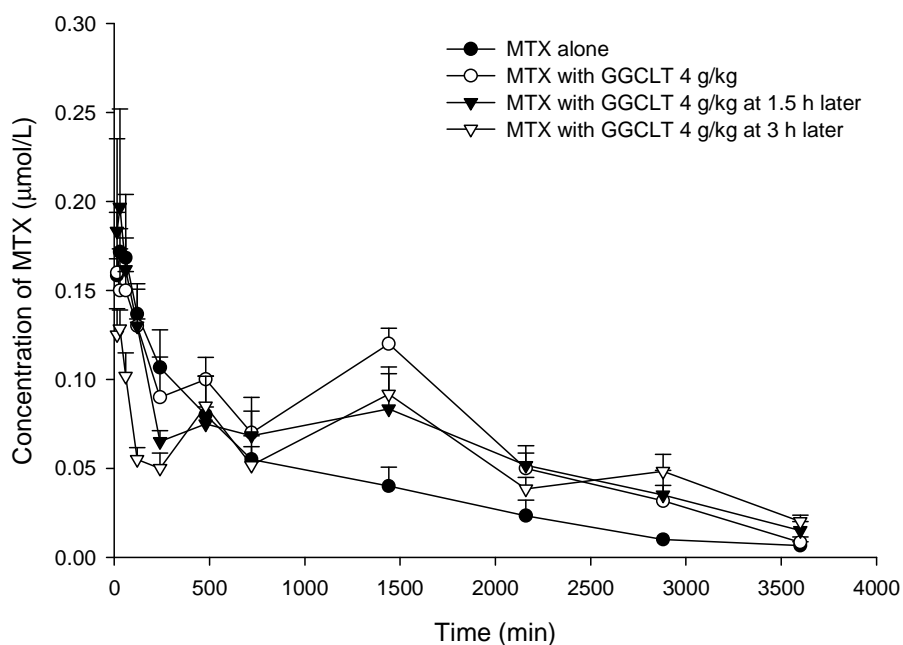


Fig 12 Mean ( $\pm$ S.E.) serum concentration-time profiles of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) (●) and coadministration with 4 g/kg of GGCLT concomitantly (○), at 1.5 h (▼) and 3.0 h (▽) later.

Table 1 The contents ( $\mu\text{mol}$ ) of various constituents in DH decoction based on the weight of crude drug

Constituents	Contents ( $\mu\text{mol/g}$ )
Aloe-emodin	0.6
Rhein	7.0
Emodin	0.5
Chrysophanol	1.2

Table 2 The contents ( $\mu\text{mol}$ ) of various constituents in HC decoction based on the weight of crude drug

Constituents	Contents ( $\mu\text{mol/g}$ )
Balcalin	125.4
Baicalein	11.4
Wogonin	3.6

Table 3 The contents ( $\mu\text{mol}$ ) of various constituents in SHSST decoction based on the weight of crude drug

Constituents	Contents ( $\mu\text{mol/g}$ )
Baicalin	20.0
Baicalein	1.2
Aloe-emodin	2.4
Wogonin	5.8
Rhein	9.2
Emodin	1.2

Table 4 The contents ( $\mu\text{mol}$ ) of various constituents in GGCLT decoction based on the weight of crude drug

Constituents	Contents ( $\mu\text{mol/g}$ )
Puerarin	6.3
Copsitine	26.1
Balcalin	140.3
Palmatine	26.1
Berberine	52.2
Baicalein	26.1
Glycyrrhizin	11.7
Wogonin	5.2

Table 5 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 1 g/kg of DH concomitantly (n=6), at 1.5 h (n=5) and 3.0 h (n=6) later

Parameter	MTX alone	MTX + DH	MTX + DH at 1.5 h later	MTX + DH at 3 h later
$C_{\max}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.1 \pm 0.0_1$	$0.2 \pm 0.0_2$	$0.2 \pm 0.0_2$
$AUC_{0-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$144.9 \pm 18.6^a$	$265.8 \pm 21.0^b$ (83 %)	$222.8 \pm 21.4^{ab}$	$217.4 \pm 19.5^{ab}$
$AUC_{0-720}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$71.1 \pm 9.0$	$56.9 \pm 4.3$	$52.9 \pm 4.6$	$54.8 \pm 8.2$
$AUC_{720-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$93.6 \pm 18.7^a$	$232.8 \pm 19.0^b$ (149 %)	$186.5 \pm 21.0^b$ (99 %)	$179.0 \pm 19.0^b$ (91 %)
$MRT_{0-3600}$ (min)	$936.5 \pm 74.9^a$	$1502.9 \pm 84.0^b$ (61 %)	$1668.0 \pm 145.2^b$ (78 %)	$1601.0 \pm 51.9^b$ (71 %)

Data expressed as mean±S.E.

Means in a row without a common superscript differ.  $P < 0.05$

Table 6 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 2 g/kg of DH concomitantly (n=6), at 1.5 h (n=5) and 3.0 h (n=6) later

Parameter	MTX alone	MTX + DH	MTX + DH at 1.5 h later	MTX + DH at 3 h later
$C_{\max}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.2 \pm 0.0_1^{ab}$	$0.1 \pm 0.0_1^a$ (-50 %)	$0.2 \pm 0.0_4^b$	$0.2 \pm 0.0_1^{ab}$
$AUC_{0-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$144.9 \pm 18.6^a$	$269.2 \pm 19.0^b$ (86 %)	$140.7 \pm 26.2^a$	$140.0 \pm 16.0^a$
$AUC_{0-720}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$71.1 \pm 9.0^a$	$49.0 \pm 4.3^{ab}$	$41.3 \pm 3.6^b$ (-42 %)	$36.2 \pm 3.9^b$ (-49 %)
$AUC_{720-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$93.6 \pm 18.7^a$	$249.6 \pm 18.0^b$ (167 %)	$108.7 \pm 26.0^a$	$116.4 \pm 16^a$
$MRT_{0-3600}$ (min)	$936.5 \pm 74.9^a$	$1657.2 \pm 102.0^b$ (77 %)	$1383.7 \pm 157.3^{ab}$	$1534.2 \pm 107.0^b$ (64 %)

Data expressed as mean±S.E.

Means in a row without a common superscript differ.  $P < 0.05$

Table 7 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 1 g/kg of HC concomitantly (n=6), at 1.5 h (n=6) and 3 h (n=6) later

Parameter	MTX alone	MTX + HC	MTX + HC at 1.5 h later	MTX + HC at 3 h later
$C_{max}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.2 \pm 0.0_2$	$0.3 \pm 0.1$	$0.2 \pm 0.1$
$AUC_{0-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$149.5 \pm 17.1$	$194.3 \pm 22.7$	$164.1 \pm 18.7$	$165.9 \pm 29.5$
$AUC_{0-240}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$33.0 \pm 2.1^{ab}$	$36.3 \pm 3.0^a$	$29.3 \pm 3.6^{ab}$	$23.7 \pm 3.0^b$
$AUC_{0-720}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$74.4 \pm 8.3^{ab}$	$83.3 \pm 6.6^a$	$59.7 \pm 5.9^{ab}$	$49.5 \pm 6.2^b$
$AUC_{720-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$75.1 \pm 13.3$	$111.0 \pm 22.6$	$104.4 \pm 14.9$	$116.4 \pm 24.4$
$MRT_{0-3600}$ (min)	$898.8 \pm 78.3^a$	$947.9 \pm 145.6^{ab}$	$1150.1 \pm 98.0^{ab}$	$1334.2 \pm 81.6^b$ (48 %)

Data expressed as mean $\pm$ S.E.

Means in a row without a common superscript differ. <0.05

Table 8 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 2 g/kg of HC concomitantly (n=6), at 1.5 h (n=6) and 3.0 h (n=6) later

Parameter	MTX alone	MTX + HC	MTX + HC at 1.5 h later	MTX + HC at 3 h later
$C_{max}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.3 \pm 0.1$	$0.2 \pm 0.1$
$AUC_{0-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$149.1 \pm 17.1^a$	$261.3 \pm 12.3^b$ (75 %)	$215.3 \pm 27.5^{ab}$	$204.6 \pm 19.8^{ab}$
$AUC_{0-240}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$33.0 \pm 2.1$	$25.3 \pm 3.7$	$30.0 \pm 6.3$	$20.6 \pm 4.1$
$AUC_{0-720}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$74.4 \pm 8.3^{ab}$	$84.3 \pm 10.4^a$	$66.5 \pm 9.1^{ab}$ $P = 0.09$	$42.6 \pm 9.1^b$
$AUC_{720-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$75.1 \pm 13.3^a$	$177.0 \pm 20.1^b$ (136 %)	$148.8 \pm 24.6^{ab}$	$162.0 \pm 27.6^b$ (116 %)
$MRT_{0-3600}$ (min)	$898.8 \pm 78.3^a$	$1225.8 \pm 114.8^{ab}$	$1280.5 \pm 120.5^{ab}$	$1482.9 \pm 233.3^b$ (65 %)

Data expressed as mean $\pm$ S.E.

Means in a row without a common superscript differ. <0.05

Table 9 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 2 g/kg of SHSST at 1.5 h (n=6) and 3.0 h (n=6) later

Parameter	MTX alone	MTX + SHSST at 1.5 h later	MTX + SHSST at 3 h later
$C_{\max}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.1 \pm 0.0_1$	$0.1 \pm 0.0_2$
$AUC_{0-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$147.6 \pm 19.0$	$214.0 \pm 29.1$	$153.2 \pm 15.8$
$AUC_{0-720}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$71.4 \pm 9.7$	$45.5 \pm 5.7$	$51.8 \pm 7.7$
$AUC_{720-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$76.2 \pm 14.6^a$	$168.5 \pm 28.4^b$ (121 %)	$101.4 \pm 14.7^{ab}$
$MRT_{0-3600}$ (min)	$900.1 \pm 74.7^a$	$1429.3 \pm 121.0^b$ (59 %)	$1188.9 \pm 83.6^{ab}$

Data expressed as mean $\pm$ S.E.

Means in a row without a common superscript differ.  $P < 0.05$

Table 10 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 4 g/kg of SHSST at 1.5 h (n=6) and 3.0 h (n=6) later

Parameter	MTX alone	MTX + SHSST at 1.5 h later	MTX + SHSST at 3 h later
$C_{\max}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.2 \pm 0.0_1$
$AUC_{0-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$147.6 \pm 19.0^a$	$228.9 \pm 21.3^b$ (55%)	$193.6 \pm 11.7^{ab}$
$AUC_{0-720}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$71.4 \pm 9.7$	$51.9 \pm 3.8$	$40.9 \pm 4.3$
$AUC_{720-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$76.2 \pm 14.6^a$	$177.0 \pm 20.5^b$ (132 %)	$152.7 \pm 11.0^b$ (100 %)
$MRT_{0-3600}$ (min)	$900.1 \pm 74.7^a$	$1395.3 \pm 152.4^b$ (55 %)	$1439.5 \pm 93.7^b$ (60 %)

Data expressed as mean $\pm$ S.E.

Means in a row without a common superscript differ.  $P < 0.05$

Table 11 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 2 g/kg of GGCLT at 1.5 h (n=6) and 3.0 h (n=6) later

Parameter	MTX alone	MTX + GGCLT at 1.5 h later	MTX + GGCLT at 3 h later
$C_{max}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.2 \pm 0.0_4$	$0.2 \pm 0.0_2$
$AUC_{0-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$144.9 \pm 18.6^a$	$201.1 \pm 35.1^b$ P=0.07	$236.1 \pm 33.3^{ab}$
$AUC_{0-720}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$71.1 \pm 9.0^a$	$43.9 \pm 18.7^a$	$61.5 \pm 6.5^{ab}$
$AUC_{720-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$75.0 \pm 14.7^a$	$157.2 \pm 15.7^{ab}$	$174.6 \pm 29.0^b$ P=0.06
$MRT_{0-3600}$ (min)	$936.5 \pm 74.9^a$	$1410.7 \pm 157.5^b$ (51 %)	$1351.8 \pm 57.9^b$ (44 %)

Data expressed as mean $\pm$ S.E.

Means in a row without a common superscript differ. P<0.05

Table 12 Pharmacokinetic parameters of MTX after oral administration of MTX alone (5.0 mg/kg) and coadministration with 4 g/kg of GGCLT at 1.5 h (n=6) and 3.0 h (n=6) later

Parameter	MTX alone	MTX + GGCLT at 1.5 h later	MTX + GGCLT at 3 h later
$C_{max}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$0.2 \pm 0.0_1$	$0.2 \pm 0.0_4$	$0.20 \pm 0.0_1$
$AUC_{0-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$144.9 \pm 18.6^a$	$216.4 \pm 38.0^{ab}$	$204.1 \pm 24.7^{ab}$
$AUC_{0-720}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$71.1 \pm 9.0^a$	$64.0 \pm 2.9^{ab}$	$49.9 \pm 5.7^a$
$AUC_{720-3600}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$75.0 \pm 14.7^a$	$152.4 \pm 35.7^{ab}$	$154.2 \pm 19.8^{ab}$
$MRT_{0-3600}$ (min)	$936.5 \pm 74.9^a$	$1287.9 \pm 180.1^b$ (38 %)	$1626.1 \pm 134.7^b$ (74 %)

Data expressed as mean $\pm$ S.E.

Means in a row without a common superscript differ. P<0.05



Table 13 Mortality of rats following coadministration with DH decoction

Treatments	Dose	Mortality
MTX alone		0 %
Concurrent administration	1 g/kg	0 %
	2 g/kg	0 %
at 1.5 h after MTX dosing	1 g/kg	0 %
	2 g/kg	0 %
at 3 h after MTX dosing	1 g/kg	17 % (1/6)
	2 g/kg	0 %

Table 14 Mortality of rats following coadministration with HC decoction

Treatments	Dose	Mortality
MTX alone		0 %
Concurrent administration	1 g/kg	0 %
	2 g/kg	0 %
at 1.5 h after MTX dosing	1 g/kg	0 %
	2 g/kg	17 % (1/6)
at 3 h after MTX dosing	1 g/kg	0 %
	2 g/kg	17 % (1/6)

Table 15 Mortality of rats following coadministration with SHSST decoction

Treatments	Dose	Mortality
MTX alone		0 %
Concurrent administration	2 g/kg	0 %
	4 g/kg	0 %
at 1.5 h after MTX dosing	2 g/kg	0 %
	4 g/kg	0 %
at 3 h after MTX dosing	2 g/kg	0 %
	4 g/kg	0 %

Table 16 Mortality of rats following coadministration with GGCLT decoction

Treatments	Dose	Mortality
MTX alone		0 %
Concurrent administration	2 g/kg	17 % (1/6)
	4 g/kg	50 % (3/6)
at 1.5 h after MTX dosing	2 g/kg	50 % (3/6)
	4 g/kg	0 %
at 3 h after MTX dosing	2 g/kg	0 %
	4 g/kg	0 %

