

編號：CCMP95 -TP-029

# 臨床常用複方濃縮中藥製劑與西藥 於動物體內交互作用之研究- 短期及長期使用後之評估

鮑力恒 副教授  
國防醫學院藥學系

## 摘要

中草藥-藥物交互作用 (herbal-drug interaction) 近年來陸續被發現，許多中草藥與處方藥物會產生藥物交互作用，目前也有許多研究指出中草藥-藥物交互作用與細胞色素 P450 有關。本研究目的為探討中草藥影響 Cytochrome P-450 (CYP-450) 而可能發生的中草藥-西藥藥物交互作用，以供醫藥相關人員臨床實用上對於中西藥交互作用發生風險評估之參考，以期能減少可能因中西藥交互作用而產生的不良反應或副作用。人類肝臟首渡代謝 (hepatic first-pass metabolism) 主要是經由 Cytochrome P-450，其中一個亞型為 CYP 3A，CYP 3A 可代謝 50~60% 的治療藥物且為肝臟 CYP-450 中含量最多的酵素，本研究室已完成中醫醫院及藥廠複方濃縮中藥製劑使用量前二十四名的中藥對體外人肝微粒體酵素 (human liver microsomes) 之 CYP 3A4 活性篩選，利用 CYP3A4 專一性的受質 testosterone 與 CYP3A4 使用後反應生成 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 的變化來測定因服用複方濃縮中藥後而導致 CYP3A4 活性的改變程度。結果顯示辛夷清肺湯及甘露飲可抑制 CYP3A4 達 90% 以上，龍膽瀉肝湯、蒼耳散及半夏瀉心湯可抑制 CYP3A4 近 70%，知柏地黃丸、川芎茶調散、正骨紫金丹、加味逍遙散及小柴胡湯可抑制 CYP3A4 近 55%，經以上結果進一步做體內動物實驗，評估其可能之實際影響。

短期動物體內試驗選用 GMP 藥廠的濃縮中藥，將濃縮中藥口服給予大鼠 (一天三次，共七天) 後，於第八天口服給予 CYP3A 受質 Midazolam 進行藥物動力學之研究，以觀察該模式藥物之藥動學性質 (如 AUC, C<sub>max</sub>) 是否顯著地受到中藥的影響而存在中西藥交互作用之可能性，同時在完成藥動試驗的抽血後，取其肝及腸以 testosterone 進

行在肝及腸的 CYP3A 活性試驗。第二階段為口服給予七天複方濃縮中藥後，具有影響大鼠 CYP3A 活性的五種複方濃縮中藥，進一步做大鼠口服給予長期（一天三次，共十四天）複方濃縮中藥製劑後，於第十五天口服給予 CYP3A 受質 midazolam 進行藥物動力學之研究，以觀察該模式藥物之藥動學性質(如 AUC,  $C_{max}$ )是否顯著地受到中藥的影響而存在中西藥交互作用之可能性。

實驗結果顯示短期使用蒼耳散和龍膽瀉肝湯會使 Midazolam  $C_{max}$  及  $AUC_{0\rightarrow\infty}$  顯著上升 ( $P < 0.01$ )，知柏地黃丸會使 Midazolam  $Cl_{oral}$  顯著增加 ( $P < 0.05$ )；口服長期（一天三次，共十四天）使用加味逍遙散和知柏地黃丸會誘導 CYP3A 使 Midazolam  $C_{max}$  ( $P < 0.05$ ) 及  $AUC_{0\rightarrow\infty}$  ( $P < 0.01$ ) 顯著降低；半夏瀉心湯也會誘導 CYP3A 使 Midazolam  $C_{max}$  和  $AUC_{0\rightarrow\infty}$  ( $P < 0.01$ )。最後將口服給予短期複方濃縮中藥後，所得到之 Midazolam  $C_{max}$ 、 $AUC_{0\rightarrow\infty}$  和  $Cl_{oral}$  與肝及腸的活性分析結果做比較，結果顯示肝的 CYP3A 活性與 Midazolam  $C_{max}$ 、 $AUC_{0\rightarrow\infty}$  均有顯著的負相關 ( $P < 0.01$ )；與 Midazolam  $Cl_{oral}$  呈現顯著的正相關 ( $P < 0.01$ )。1'-OH-midazolam  $AUC_{0\rightarrow\infty}/midazolam AUC_{0\rightarrow\infty}$  與肝的 CYP3A 活性具有顯著的正相關 ( $P < 0.001$ )。

關鍵詞：中藥-西藥交互作用、人肝微粒體、動物實驗

編號：CCMP95 -TP-029

# **Short-term and long-term administration of concentrated compound Chinese herbal medicine-drug interaction studies in animal**

L.H., Pao  
National Defense Medical Center

## **ABSTRACT**

Chinese herbal medicines have been gaining public interest and acceptance worldwide. The increased usage of Chinese herbal medicine has raised an important clinical issue of drug interaction since they are frequently taken simultaneously with Western medicine. Many studies have shown that the complications may be caused by the synergistic interaction effects of herbal medicines and pharmaceutical drugs. Recently, some studies have indicated that herbal-drug interaction is related to cytochrome P450 (CYP). The purpose of this study is to evaluate the effects of Chinese herbal medicines on the activity of CYP3A4 and the possible herbal-drug interactions in rats.

Twenty-four concentrated compound Chinese herbal medicines were screened for the activity of CYP3A4 using human liver microsomes for *in vitro* study. The activity of CYP3A4 can be estimated by determining the 6 $\beta$ -hydroxytestosterone metabolized from testosterone, a model substrate of CYP3A4. The results showed that Xin-Yi-Qing-Fei-Tang and Gan-Lou-Yin could effectively inhibit CYP3A4 up to 90%; while Long-Daan-Shiah-Gan-Tang, Tsang-Eel-San and Bann-Shiah-Shieh-Shin-Tang could inhibit up to 70%. Among the 24 concentrated compound Chinese herbal medicines, Zhi-Bai-Di-Huang-Wan, Chuan-Xiong-Cha-Tiao-San, Zheng-Gu-Zi-Jin-Dan, Chia-Wei-Hsiao-Yao-San and Xiao-Chai-Hu-Tang could also have at least 55% of inhibition on CYP3A4.

These ten most potent Chinese herbal medicines were selected for their inhibition effect for further evaluation in *in vivo* study.

The *in vivo* study was performed by using midazolam as a specific CYP3A4 model substrate. Two stages of *in vivo* study were conducted, 7 days and 14 days experiment. Concentrated compound Chinese herbal medicines were orally administered to Sprague-Dawley (SD) rats followed by oral administration of midazolam on the 8<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> day to determine the possible herbal-drug interaction. The results for the 7 day *in vivo* experiment indicated that the  $C_{max}$  and  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  of midazolam significantly increased ( $p < 0.01$ ) when orally administered Tsang-Eel-San and Long-Daan-Shiah-Gan-Tang. Clearance ( $Cl_{oral}$ ) of midazolam also increased significantly ( $p < 0.05$ ) when administered Zhi-Bai-Di-Huang-Wan. For the 14 day study on the other hand, administration of Chia-Wei-Hsiao-Yao-San, Zhi-Bai-Di-Huang-Wan and Bann-Shiah-Shieh-Shin-Tang induced CYP3A4 causing significant decrease in  $C_{max}$  ( $p < 0.05$ ) and  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  of midazolam. The comparison between the two *in vivo* studies showed negative correlations except for the  $Cl_{oral}$ . Moreover,  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  of 1'-OH-midazolam, midazolam and the activity of CYP3A4 showed significant positive correlation ( $p < 0.001$ ).

Keywords 【至少三項】: CYP3A4 , *in vivo* study , herbal-drug interaction

## 壹、前言

此計畫主要目的是在於臨床常使用的濃縮中藥製劑與西藥交互作用資料平臺的建立，以供醫藥相關人員臨床實用上對於中西藥交互作用發生風險評估之參考，以期能減少可能因中西交互作用而產生的不良反應或副作用，以增進醫療資源的有效利用。在貴署補助下本實驗室已完成於人類肝微粒體(human liver microsomes)進行濃縮中藥製劑對最常引起臨床藥物交互作用的 CYP3A 酵素活性進行體外試驗評估，共完成臨床常用五十種單方及二十種複方濃縮中藥製劑可能交互作用的體外篩選評估。在此基礎下，此計劃預計於一年半內分階段完成於體外試驗結果排前十名具抑制 CYP3A 作用的複方濃縮中藥製劑的體內動物實驗，以進一步評估交互作用產生的影響。

近年來隨者科技的進步及中藥科學化的政策引領下，我國中藥科學化腳步一直持續穩健的成長，再加上全民健保制度對中藥的給付之促進下，我國各級醫院大部分均設有中醫部及中醫門診，各級醫院多半以濃縮中藥製劑為主。目前國內在全民健康保險醫療下及在目前國人的就醫習慣上，民眾常以同時服用中醫及西醫的藥物作為治療疾病方式，同時也因缺乏相關的交互作用資訊，中醫與西醫的疾病診治過程中，用藥安全上常常無法兼顧，此可能造成許多藥物不良反應或是中西藥物交互作用，造成病人用藥安全的顧慮。

臨床治療上因同時使用多種藥物、不同科別 / 醫院的醫生間開例不同處方、再加上民眾一般非處方藥物的自行使用及維他命，健康食品製劑，以及中草藥製劑的盛行更增加了藥物交互作用發生率及評估時的複雜性。特別是在最近幾年中，世界各地使用各式各樣的天然製備品有明顯增加的趨勢。越來越多的民眾利用這些天然製備品來做為保健及替代醫療使用。中草藥及類似療法 (Herb and homeopathic remedies) 由 1998 年資料顯示：在歐洲佔有 67 億美金的市場，而在美國亦有 40 億美金的市場，且有持續增加的趨勢。

而一般使用中草藥的反應，在美國有 18.4% 需經常服用藥物的人有同時服用至少一種中草藥產品或高劑量維他命。1539 位成年人中，34% 使用至少一種非傳統治療，其中 72% 並未告訴醫師自己正在服用中草藥<sup>1</sup>。在英國，面對面訪問調查於 6 家藥房及 6 家健康食品店的 690 位民眾，其中只有 25.4% 沒使用中草藥製劑，有 74.6% (515 位) 有使用過中草藥製劑 (336 位在藥房，179 位在健康食品店)；這使用 515 位使用過中草藥製劑者，有 62% 經常性的使用一種以上中草藥製劑，

另 38% 偶爾或不定期使用一種以上中草藥製劑。更重要的是當服用西藥或中草藥當發生嚴重不良反應時的反應並不相同<sup>2</sup>。特別是如果嚴重不良反應症狀解除後仍會繼續服用中草藥的比例較服用西藥高 8.5 倍。而諮詢醫師的比例也遠較諮詢藥師及其他相關人員來的低，這些都將不利於中藥-西藥交互作用的控制及追蹤。

對於一般民眾而言，認為中草藥是天然植物製備來的，不像一般西藥由化學物質組成，因此安全性較高且不易產生副作用。因此近年來，特別是歐美流行使用草藥製劑，一般是以健康食品或營養補充品方式販售。然而事實上，身體並不會區分進入體內是化學合成成分或天然中草藥之中的成分。藥進到人體內的物質於被視為外來成分，須先經過過濾及處理。

特別是今日國人使用中藥藥物治療疾病明顯增加的趨勢，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)以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<sup>3-11</sup>。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：ethinylloestradiol、Anticoagulants、Digoxin、Antidepressant：amitriptyline 及 Theophylline 造成藥物交互作用，使得藥物療效降低<sup>3-11</sup>。藥物-藥物交互作用可導致一藥物的失調而造成服藥者的死亡、使服藥者住院或延長住院期限及增加醫療成本<sup>12-14</sup>。1000 位經由急診住院的老年病患，其中 538 位是涉及 1087 項的藥物-藥物交互作用；其中 30 位因此產生嚴重不良反應<sup>15</sup>。近年在美國已上市藥物由市場上撤回原因中，主要也是以藥物-藥物交互作用為主。

中草藥的使用在古希臘、埃及、中國已有數千年歷史，曼陀羅(Mandrake, *Mandragora officinarum*)唯一多年生草藥，含有 atropine 及 scopolamine, 古時用於麻醉、鎮靜劑及止痛劑用。毒芹(Poison Hemlock, *Conium maculatum*)亦含有生物鹼，古希臘時代用來處決之用。毛地黃(foxglove, *Digitalis purpurea*)至今仍廣泛使用於治療心臟疾病。至今使用的抗癌藥物 tamoxifen 及 Taxol 均來自太平洋紫杉(Pacific yew, *Taxus brevifolia*)。然而中草藥製劑在大部分的國家，包括美國，均是將其歸類在食品或是營養補充品，因此在販售上並未像成藥或處方藥般受到

嚴格的規範，民眾可以輕易的根據自己的需求自行購買此類產品，而相對於這些天然製備品的應用日漸廣泛，這些中草藥製劑其相關的藥理、毒理、藥物動力學、安全性和藥物交互作用的評估資訊便顯得較為的缺乏，因此提供臨床中西藥物交互作用的判斷仍待建立。

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，又幫助解決一些其他方面問題的藥物；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<sup>16,17</sup>，即使是濃縮中藥製劑亦是由植物或藥草研磨或萃取製成的；即使是單方的濃縮中藥製劑，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，特別是細胞色素 CYP3A 的活性，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<sup>18,19</sup>。

我們研究室曾在衛生署經費支助下進行以中藥藥引改善低身體可用率藥物吸收之研究，此研究曾對 56 種中藥藥引純成分對 CYP3A 酵素活性進行研究，結果其中有許多成分對老鼠的腸及肝臟的 CYP3A 酵素活性有顯著的抑制作用，其中亦有部分成分會增加老鼠的腸及肝臟的 CYP3A 酵素活性。另一研究在國科會之助下進行中西藥交互作用機轉研究，針對金絲桃草與西藥交互作用的研究顯示，金絲桃草萃取物經由體外及體內研究顯示其萃取物對 CYP3A 酵素活性(腸及肝)有促進作用，然而其萃取物中的部份成分(純成分)，不論是在體內及體外試驗均對 CYP3A 酵素活性卻有抑制作用。此結果亦顯現出一中藥中所含的各個成分可能對 CYP3A 酵素活性有不同程度或相反的影響，因此，對於交互作用的評估，就實際應用而言，單方應以單方製劑(成品)為主，複方亦應以複方製劑當作一整體來研究，方能真實反

映出實際可能發生情形。

近年來政府致力於中藥之各項研究<sup>20-26</sup>而此計劃即是建立於貴署補助的研究成果基石上，由體外交互作用實驗中具有顯著影響藥物代謝酵素(CYP3A)活性的複方濃縮中藥製劑來進行體內動物實驗的評估，以進一步確認其交互作用的可能影響程度，以期建立中藥的使用資訊。此計劃預計完成於體外前十名具有抑制 CYP3A 藥物代謝活性的複方濃縮中藥製劑於大白鼠體內短期(5 天，一天三次)及經由十種短期動物試驗後產生抑制肝腸 CYP3A 活性排行前五名的複方濃縮中藥製劑進行長期(14 天，一天三次)使用後對藥物代謝影響，並同時測量服藥後大鼠腸及肝的 CYP3A 活性，以實際評估長期使用複方濃縮中藥製劑對藥物代謝的影響。

本計劃所使用的體內試驗之西藥模式藥物為 midazolam，此藥為美國 FDA 及歐洲 EUFEPS(The European Federation of Pharmaceutical Science)<sup>27</sup> 於藥物-藥物交互作用評估的指南所建議使用於體內實施測定 CYP3A 活性之模式藥物，且由文獻中可以明確知道其在動物實驗上應使用的劑量<sup>28,29</sup>。另有關濃縮中藥製劑應給予的劑量主要是以實際在臨床上的應用為主，因為要模擬人體之中藥對西藥主要代謝酵素交互作用，所以以人平均體重 70kg 為標準，複方濃縮中藥製劑以甘露飲每次服用 4g，一天三次為例： $4\text{ g}/70\text{ kg}=0.06\text{g/kg}=60\text{mg/kg}$ ；或是以腸肝體積來計算，以期於人之肝腸中藥物濃度與大鼠體內之肝腸中藥物濃度相同，同樣以甘露飲為例： $0.4\text{g}/2\text{L}(\text{人})=x\text{ g}/0.1\text{L}(\text{大白鼠})$ ， $x\text{ g}=0.02\text{g}/\text{rat}$ ，一隻大鼠體重約 300mg，所以可得  $0.07\text{g/kg}=70\text{mg/kg}$ 。故使用劑量應在 60~70mg/kg 之間的範圍。

## 貳、材料與方法

此計劃的執行是以中醫醫院及藥廠中藥方劑使用量排行前二十的複方濃縮中藥製劑中具有顯著抑制人的肝臟微粒體(human liver microsomes)的 CYP3A 酵素活性的前十名複方濃縮中藥製劑為對象。進行短期(5 天，一天三次)或長期(14 天，一天三次)給予動物進行研究，以評估濃縮中藥製劑在臨床使用上對西藥可能產生的中西藥交互作用，以期建立基本交互作用相關資料供臨床使用上的參考。

預計進行下列試驗：

1. 預計建立複方濃縮中藥製劑的體內交互作用的動物模式。



2. 建立服用複方濃縮中藥製劑後對肝腸 CYP3A 活性影響的測定方法。
3. 預計完成十種複方濃縮中藥製劑短期(5 天，一天三次)使用後對西藥主要代謝酵素於大白鼠的交互作用實驗。
4. 預計完成經由十種複方濃縮中藥製劑短期(5 天，一天三次)動物體內對 CYP3A 活性篩選後排名前五名之五種複方濃縮中藥製劑，進行長期(14 天，一天三次)中藥對西藥主要代謝酵素交互作用的評估。

(一) 大鼠肝臟及腸之微粒體的製備：

- 1.1 大鼠肝臟微粒體的製備：將新鮮取得的肝以冰冷之 1.15% KCl 清洗數次，將表面多餘的水分去除後秤重，加入四倍肝重體積的 1.15% KCl 溶液進行均質處理，所得之組織均質液經 12500 g 離心 20 分鐘，取上清液，移至超高速離心管後，在於 4°C 下以 100000 g 離心 2 小時，所得微粒體將其覆以 1.15% KCl 後均質，使其形成微粒體溶液，並保存於 -80°C 之冷凍櫃。
- 1.2 大鼠小腸微粒體之製備：取大鼠之小腸，並將之沖洗乾淨後剪開腸道，以玻片將腸黏膜刮下，加入適當體積的 1.15% KCl 溶液進行均質，其餘步驟同肝之處理步驟。

(二) 蛋白質含量測定：

為進一步確保試驗品質，須對大鼠肝微粒體蛋白質含量做分析確認，以利後續結果的一致性。蛋白質的含量多寡關係於酵素的活性測定，也就是說不同蛋白質含量的微粒體酵素將產生不同程度的藥物代謝，因此正確的蛋白質定量對於酵素活性的測定是必需的。

1. 蛋白質的含量測定乃依循 Lowry Method，以紫外光分光光度計測定吸光值對照標準品而決定蛋白質濃度，標準濃度以胎牛血清白蛋白為參考點
- 1.1. 胎牛血清白蛋白標準曲線【標準品操作過程如下】
  - 1.1.1 取 0.5 ml 胎牛血清白蛋白溶液 (100 mg/ml)，以冰冷的 49.5 ml 0.85 % 氯化鈉溶液稀釋 100 倍即成胎牛血清白蛋白儲備液 (stock solution, 1mg/ml)。
  - 1.1.2 自上述 stock 溶液配置一組標準濃度系列 (N=3) 如下表所列：  
胎牛血清白蛋白標準曲線各濃度配置表

No. (N=3)	Dilute protein standard (ml)	0.85% NaCl (ml)	Protein conc.( g/ml)
1	0	0.2	0
2	0.05	0.15	250
3	0.1	0.1	500
4	0.15	0.05	750
5	0.2	0	1000

1.1.3 各管檢品加入 2.2 ml Biuret 試劑(含 0.75 mmol/L Cupric sulfate, 94 mmole /L sodium hydroxide 及 tartrate, iodide carbonate 等), 混合均勻後室溫下靜置 10 分鐘, 接下來各管檢品加入 0.1 ml Folin 試劑(Ciocalten's phenol reagent), 混合均勻後室溫下靜置 30 分鐘, 最後反應形成紫藍色, 以紫外光分光光譜儀(波長 = 550 nm) 檢測各檢品吸光值【光譜測定過程不可超過 30 分鐘】。

1.1.4 將所測得之各標準品吸光值扣除背景吸光值對應各濃度繪製一標準曲線, 以作為檢品濃度測定之標準值。

1.2 肝臟微粒體酵素之蛋白質濃度測定方法流程如下所述：

1.2.1 將各批製備之微粒體酵素懸浮液以 0.85 % 氯化鈉溶液稀釋 50 倍, 倘若濃度太高可提稀釋倍數至 500 倍 (過程於冰上操作)。

1.2.2 取 0.2 ml 上述微粒體酵素稀釋液 (N=3), 空白組之微粒體酵素稀釋液則以 0.2 ml, 0.85 % 氯化鈉溶液取代。

1.2.3 後續反應過程如步驟 1.1.3, 檢品吸光值扣除背景吸光值, 內插標準曲線可得到檢品蛋白質濃度, 再乘以原來的稀釋倍數即得酵素蛋白濃度。

### (三) 濃縮中藥製劑的配製

以中醫醫院及藥廠中藥方劑使用量排行前二十的複方濃縮中藥製劑中具有顯著抑制人的肝臟微粒體(human liver microsomes)的 CYP3A 酵素活性的前十名複方濃縮中藥製劑為對象。因為要模擬人體之中藥對西藥主要代謝酵素交互作用, 所以以人平均體重 70kg 為標準, 複方濃縮中藥製劑以甘露飲每次服用 4g, 一天三次為例:  $4\text{ g}/70\text{ kg}=0.06\text{ g}/\text{kg}=60\text{ mg}/\text{kg}$ ; 或是以腸肝體積來計算, 以期於人之肝腸中藥物濃度與大鼠體內之肝腸中藥物濃度相同, 同樣以甘露飲為例:  $0.4\text{ g}/2\text{ L}=x\text{ g}/0.1\text{ L}$ ,  $x\text{ g}=0.02\text{ g}/\text{rat}$ , 一隻大鼠體重約 300mg, 所以可得

0.07g/kg=70mg/kg。故使用劑量應在 60~70mg/kg 之間的範圍。

(四) 服用中藥後大鼠腸及肝 CYP3A 活性的測定：

本研究方法為利用 CYP3A 專一性的受質 testosterone 與 CYP3A 使用後反應生成 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 的變化來測定因服用複方濃縮中藥製劑後而導致 CYP3A 活性的改變程度。

1.1 建立 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 的標準分析曲線

1.1.1 實驗的大鼠微粒體酵素反應液包含 20mM 葡萄糖磷酸、2mM 核酞二磷酸腺酞、2 I.U.葡萄糖磷酸去氫酵素、5mM 氯化鎂 (MgCl<sub>2</sub>)溶液、2.0mg/ml 微粒體酵素蛋白(經調整濃度)，與 0.1M 磷酸鹽緩衝溶液，反應液的總體積為 1mL。去蛋白化或終止反應是加入低溫之 Acetonitril(ACN) 1mL。

1.1.2 取 6 $\beta$ -hydroxytestosterone stock solution 1mg/ml 80L + 20L dilute solvent (Methanol: Q water = 1:1) 即成 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 工作液(working solution, 800 g/mL)。

1.1.3 取上述 working solution 120L 加入同體積的 dilute solvent，以序列稀釋作一組標準濃度依序為 400、200、100、50、20、10 g/mL，再以稀釋 20 倍方式加入已經去蛋白化(deprotein)的酵素標準反應液中，則標準濃度為 20、10、5、2.5、1、0.5 g/mL，再加入內部標準品 Corticosterone(200g/mL)後以 3900×g 離心 10 分鐘，取上清液以 LC/MS/MS 測定 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 的吸收值，。

1.2 CYP3A 的活性分析(控制組)

1.2.1 配置 Testosterone 2mM 於 dilute solvent(Methanol: Q water = 1:1)，取 50 mL 加入步驟 1.1.1 之大鼠肝微粒體酵素標準反應液 950L 於冰浴下混和之，背景組則以 0.1M PBS 代替。

1.2.2 將上述混合液於 37°C 水浴震盪 30 分鐘後，置於冰浴中以低溫之 ACN 終止反應，再加入內部標準品 Corticosterone(200 g/mL)後以 3900×g 離心 10 分鐘，取上清液以 LC/MS/MS 測定 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 的吸收值，並代入當次所製作 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 標準濃度曲線，求得 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 的生成量。

1.2.3 觀察每次實驗生成量的變化情形，以監測酵素模式的穩定性。

1.3 陽性控制組

1.3.1 陽性控制組(positive control)為將 Ketoconazole 工作液混合於

步驟之酵素反應溶液，使其最終濃度為 0.25 及 1mM，總反應體積 1mL。

- 1.3.2 將上述混合液於 37°C 水浴震盪 30 分鐘後，置於冰浴中並以低溫之 ACN 終止反應，再加入內部標準品 Corticosterone (200 $\mu$ g/mL)後以 3900 $\times$ g 離心 10 分鐘，取上清液以 LC/MS/MS 測定 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 的吸收值，並代入不同濃度之標準曲線，求得 6 $\beta$ -hydroxytestosterone 的生成量，此結果與控制組相比較以評估其對酵素代謝能力之影響。

(五) 體內試驗模式藥物 Midazolam 分析之方法：

1.分析條件：

此分析方法其移動相 (mobile phase) 是由 70%(90:10 Methanol/水,含 2mM ammonium acetate)與 30%(10:90 Methanol/水,含 2mM ammonium acetate)和 0.027% formic acid，使用流速每分鐘 1 毫升，以質譜儀偵測器進行藥物的偵測。

2.檢品處理：

檢品處理的步驟：取 0.2 毫升老鼠的血漿，加入 8  $\mu$ L 之內標準品 (internal standard Flunitrazepam 10 $\mu$ g/mL) 及 0.8 毫升的 milli-Q 水，接著移至經甲醇及 milli-Q 水活化完成的 C18 固相萃取管中，以 milli-Q 水及 40% 甲醇 1 ml 各沖洗三次，最後再以含 1% TEA 的甲醇 1 ml 將分析物與內標準品沖出萃取管外並收集於平口試管內，以真空離心法吹乾有機溶劑，並以移動相 200 ml 溶解已乾燥之分析物與內標準品，置自動取樣品注射器取 150 ml 注入高效液相層析系統中，進行分析。

3.校正曲線製作：

- 3.1. 取 Midazolam stock solution 100 $\mu$ g/ml 10L + 990 L dilute solvent (Methanol)即成 Midazolam 工作液(working solution, 1 $\mu$ g/mL)。

- 3.2 取上述 working solution 100 $\mu$ L 加入 4 倍體積的 dilute solvent，以序列

稀釋作一組標準濃度依序為 200、100、20、10、4、2ng/mL，再以稀釋 20 倍方式加入血漿，則標準濃度為 10、5、1、0.5、0.2、0.1ng/mL，再加入內部標準品 Flunitrazepam(100 $\mu$ g/mL)後以 3900 $\times$ g 離心 10 分鐘，取上清液以 LC/MS/MS 測定 Midazolam -sterone 的吸收值，以檢品及內部標準品的波峰高度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 deriatation, 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 (Within Day) 及異日間 (Between Day) 的標準曲線。

(六) 十種複方濃縮中藥製劑於動物體內試驗之評估：

實驗設計為利用大白鼠口服肝臟酵素 CYP3A 受質 Midazolam 併用短期(5 天，一天三次)及長期(14 天，一天三次)複方濃縮中藥製劑進行藥物動力學之研究，以觀察該模式藥物之藥動學性質(如 AUC,  $C_{max}$ ) 是否顯著地受到中藥的影響而存在中西藥交互作用之可能性，同時在完成藥動試驗的抽血後，取其肝及腸進行 CYP3A 在肝及腸的活性試驗。

1. 給予動物複方濃縮中藥製劑之劑量：

1.1 因為要模擬人體之中藥對西藥主要代謝酵素交互作用，所以以人平均體重 70kg 為標準，複方濃縮中藥製劑以甘露飲每次服用 4g，一天三次為例： $4\text{ g} / 70\text{ kg} = 0.06\text{g/kg} = 60\text{mg/kg}$ ；或是以腸肝體積來計算，以期於人之肝腸中藥物濃度與大鼠體內之肝腸中藥物濃度相同，同樣以甘露飲為例： $0.4\text{g}/2\text{L}(\text{人}) = x\text{ g}/0.1\text{L}(\text{大白鼠})$ ， $x\text{ g} = 0.02\text{g/rat}$ ，一隻大鼠體重約 300mg，所以可得  $0.07\text{g/kg} = 70\text{mg/kg}$ 。故使用劑量應在 60~70mg/kg 之間的範圍。

2. Midazolam 包含或不包含多劑量十種複方濃縮中藥製劑短期口服給予之研究：

2.1 取健康年輕成鼠(Sprage-Dawley, 6-9 週大)，以中藥複方 30mg/ml 之水溶液每天按早中晚三次胃管餵食，每次劑量 60mg/kg，一共五天而在控制組則以 Q 水取代餵食，於第六天以胃管餵食 midazolam 20mg/kg(溶於 HCl, NaCl and NaOH, containing 5 mg/ml)，依 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 min 自大白鼠尾靜脈取血 0.2ml 並加入適量之肝素，取完 240 min 的血後以乙醚將大鼠麻醉取其肝臟進行 CYP3A 之活性測定。在分析前，血漿樣品及肝臟小腸樣品儲存於 -80 °C 冷凍櫃。共十二組(含控制組)，每組至少 N=3。在實驗中任何時間，若發現有任何動物病危，則基於人道理由，將以二氧化碳使其安樂死。

3. Midazolam 包含或不包含多劑量五種複方濃縮中藥製劑長期口服給予之研究：

3.1 取健康年輕成鼠(Sprage-Dawley, 6-9 週大)，以中藥複方 30mg/ml 之水溶液每天按早中晚三次胃管餵食，每次劑量 60mg/kg，一共 14 天而在控制組則以 Q 水取代餵食，於第 15 天以胃管餵食

midazolam 20mg/kg(溶於 HCl, NaCl and NaOH, containing 5 mg/ml)，依 5, 15, 30, 60, 90, 120, 240 min 自大白鼠尾靜脈取血 0.2ml 並加入適量之肝素，取完 240 min 的血後以乙醚將大鼠麻醉取其肝臟進行 CYP3A 之活性測定。在分析前，血漿樣品及肝臟小腸樣品儲存於 -80 °C 冷凍櫃。共 6 組(含控制組)，每組至少 N=3。在實驗中任何時間，若發現有任何動物病危，則基於人道理由，將以二氧化碳使其安樂死。

## 參、結果

### (一)、體內藥物動力學實驗

#### 一、Midazolam 分析方法之確效

1. 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 1】) 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 1】。

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 2】和【表 3】。

#### 二、1'-OH-midazolam 分析方法之確效

1. 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 2】) 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 4】。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 5】和【表 6】。已知 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。

三、大鼠口服給予複方濃縮中藥一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組之比較：

大鼠口服給予一週（一天三次）十種複方濃縮中藥後，於第八天口服給予 CYP3A 受質 midazolam 20mg/kg，測定 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度，以觀察該模式藥物之藥動學性質(如 AUC,  $C_{max}$ )是否顯著地受到中藥的影響而存在中西藥交互作用之可能性。

控制組 (n=23) 即在大白鼠不餵食任何複方濃縮中藥製劑下經由酵素 CYP3A 代謝 Midazolam 的結果，其結果顯示口服給予 Midazolam 於大白鼠後，Midazolam 會快速吸收，到達最高血中濃度的時間 ( $T_{max}$ ) 平均為 27.4±15.4 分鐘，最高血中濃度 ( $C_{max}$ ) 平均達 946±526 ng/mL，而其半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 平均為 55.9±19.0 分鐘，血中濃度曲線下面積 ( $AUC_{0\rightarrow\infty}$ ) 平均為 90.8±42.3  $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ ，擬似分布體積 (Vd/F) 平均為 21.6±12.2 L/kg，身體清除率 (Cl/F) 平均為 263±107 mL/min/kg，各項藥物動力學參數如【表 7】所示；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 28.7±34.4 分鐘， $C_{max}$  平均達 462±298 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 44.7±15.3 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 37.7±19.6  $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 8】所示。

大白鼠餵食辛夷清肺湯 (n=6) 與控制組 (n=23) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 3】和【圖 4】。餵食辛夷清肺湯一週（一天三次）後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 25.0±18.2 分鐘， $C_{max}$  平均達 1086±478 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 55.2±17.6 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 115.0±50.0  $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ ，Cl/F 平均為 210±106 mL/min/kg，各項藥物動力學參數如【表 7】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 38.0±5.9 分鐘， $C_{max}$  平均達 539±130 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 38.0±5.9 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 44.3±9.7  $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 8】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食甘露飲 (n=6) 與控制組 (n=23) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 5】和【圖 6】。餵食甘露飲一週（一天三次）後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 18.3±13.7 分鐘， $C_{max}$  平均達 1100±609 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 48.6±7.7 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 80.3±41.0  $\mu$

g \*min /mL，Cl/F 平均為 317±171 mL/min/kg，各項藥物動力學參數如【表 7】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 32.5±30.6 分鐘， $C_{max}$  平均達 386±228 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 52.3±18.8 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 26.2±13.1  $\mu$ g \*min /mL，各項藥物動力學參數如【表 8】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食川芎茶調散 (n=7) 與控制組 (n=23) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 7】和【圖 8】。餵食川芎茶調散一週 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 15.7±7.3 分鐘， $C_{max}$  平均達 1432±645 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 57.7±15.3 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 118.8±40.7  $\mu$ g \*min /mL，Cl/F 平均為 193±90 mL/min/kg，各項藥物動力學參數如【表 7】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 19.3±7.3 分鐘， $C_{max}$  平均達 637±149 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 43.4±17.9 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 47.4±9.0  $\mu$ g \*min /mL，各項藥物動力學參數如【表 8】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食正骨紫金丹 (n=8) 與控制組 (n=23) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 9】和【圖 10】。餵食正骨紫金丹七天 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 26.3±10.6 分鐘， $C_{max}$  平均達 798±549 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 59.2±9.3 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 78.9±45.3  $\mu$ g \*min /mL，Cl/F 平均為 352±207 mL/min/kg，各項藥物動力學參數如【表 7】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達最  $T_{max}$  平均為 24.4±7.8 分鐘， $C_{max}$  平均達 453±313 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 42.1±6.5 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 35.3±22.7  $\mu$ g \*min /mL，各項藥物動力學參數如【表 8】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食小柴胡湯 (n=8) 與控制組 (n=23) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 11】和【圖 12】。餵食小柴胡湯七天 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為 26.3±15.5 分鐘， $C_{max}$  平均達 878±648 ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為 54.8±7.4 分鐘， $AUC_{0\rightarrow\infty}$  平均為 85.3±46.7  $\mu$ g \*min /mL，Cl/F 平均為 320±195 mL/min/kg，各項藥物動力學參數如【表 7】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝



物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $26.3 \pm 15.5$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $426 \pm 197$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $39.5 \pm 5.2$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $32.5 \pm 13.2$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 8】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食加味逍遙散 ( $n=7$ ) 與控制組 ( $n=23$ ) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 13】和【圖 14】。餵食加味逍遙散一週 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $36.4 \pm 8.0$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $562 \pm 311$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $59.3 \pm 7.5$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $64.9 \pm 31.3$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ， $Cl/F$  平均為  $361 \pm 138$  mL/min/kg，各項藥物動力學參數如【表 7】所示，結果與控制組相比，雖未達到顯著差異，但  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  降低， $Cl/F$  增加；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $36.4 \pm 8.0$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $283 \pm 115$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $45.4 \pm 7.4$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $25.3 \pm 8.4$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 8】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食半夏瀉心湯 ( $n=6$ ) 與控制組 ( $n=23$ ) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 15】和【圖 16】。餵食半夏瀉心湯七天 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $C_{max}$  平均達  $502 \pm 255$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $56.9 \pm 27.7$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $51.8 \pm 17.0$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ， $T_{max}$  由  $27.4 \pm 15.4$  分鐘增加為  $40.8 \pm 20.8$  分鐘 ( $P < 0.05$ )， $Cl/F$  由  $263 \pm 107$  mL/min/kg 增加為  $361 \pm 138$  mL/min/kg ( $P < 0.05$ )， $Vd/F$  由  $21.6 \pm 12.2$  L/kg 增加為  $37.4 \pm 31.5$  L/kg ( $P < 0.05$ )，各項藥物動力學參數如【表 7】所示，其他各項藥物動力學參數結果與控制組相比，雖未達到顯著差異，但  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  降低；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $32.5 \pm 14.7$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $301 \pm 167$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $49.3 \pm 24.9$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $26.1 \pm 12.1$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 8】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食知柏地黃丸 ( $n=4$ ) 與控制組 ( $n=23$ ) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 17】和【圖 18】。餵食知柏地黃丸七天 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $37.5 \pm 8.7$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $435 \pm 217$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $51.4 \pm 8.2$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $43.3 \pm 18.9$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ， $Cl/F$  由  $263 \pm 107$  mL/min/kg 增加為  $544 \pm 261$

mL/min/kg ( $P < 0.05$ ),  $V_d/F$  由  $21.6 \pm 12.2$  L/kg 增加為  $42.1 \pm 25.1$  L/kg ( $P < 0.05$ ), 各項藥物動力學參數如【表 7】所示, 藥物動力學參數結果與控制組相比, 雖無統計上的顯著差異, 但仍顯示  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  有降低的趨勢; 其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $26.3 \pm 7.5$  分鐘,  $C_{max}$  平均達  $260 \pm 103$  ng/mL, 而其  $t_{1/2}$  平均為  $39.6 \pm 10.0$  分鐘,  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $22.0 \pm 8.5$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ , 各項藥物動力學參數如【表 8】所示, 結果與控制組相似, 皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食龍膽瀉肝湯 ( $n=6$ ) 與控制組 ( $n=23$ ) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 19】和【圖 20】。餵食龍膽瀉肝湯七天 (一天三次) 後, 口服給予 midazolam 20 mg/kg, midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $18.3 \pm 9.8$  分鐘, 而其  $t_{1/2}$  平均為  $46.4 \pm 9.4$  分鐘,  $C_{max}$  由  $946 \pm 526$  ng/mL 增加為  $3083 \pm 2138$  ng/mL ( $P < 0.01$ ),  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  由  $90.8 \pm 42.3$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  增加為  $226.3 \pm 126.9$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  ( $P < 0.01$ ),  $Cl/F$  由  $263 \pm 107$  mL/min/kg 降低為  $113 \pm 58$  mL/min/kg ( $P < 0.05$ ), 各項藥物動力學參數如【表 7】所示, 其他各項藥物動力學參數結果與控制組相似, 皆未達到顯著差異; 其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $20.0 \pm 7.7$  分鐘,  $t_{1/2}$  平均為  $36.7 \pm 11.0$  分鐘,  $C_{max}$  由  $462 \pm 298$  ng/mL 增加為  $1029 \pm 565$  ng/mL ( $P < 0.01$ ),  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  由  $37.7 \pm 19.6$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  增加為  $65.0 \pm 26.5$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  ( $P < 0.01$ ), 各項藥物動力學參數如【表 8】所示, 其他各項藥物動力學參數結果與控制組相似, 皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食蒼耳散 ( $n=5$ ) 與控制組 ( $n=23$ ) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 21】和【圖 22】。餵食蒼耳散七天 (一天三次) 後, 口服給予 midazolam 20 mg/kg, midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $15.0 \pm 0.0$  分鐘,  $t_{1/2}$  平均為  $39.4 \pm 4.6$  分鐘,  $Cl/F$  平均為  $131 \pm 78$  mL/min/kg,  $C_{max}$  由  $946 \pm 526$  ng/mL 增加為  $2492 \pm 979$  ng/mL ( $P < 0.01$ ),  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  由  $90.8 \pm 42.3$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  增加為  $189.0 \pm 82.7$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  ( $P < 0.01$ ), 各項藥物動力學參數如【表 7】所示, 其他各項藥物動力學參數結果與控制組相似, 皆未達到顯著差異; 其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $15.0 \pm 0.0$  分鐘,  $t_{1/2}$  平均為  $34.7 \pm 7.3$  分鐘,  $C_{max}$  由  $462 \pm 298$  ng/mL 增加為  $1160 \pm 593$  ng/mL ( $P < 0.01$ ),  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  由  $37.7 \pm 19.6$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  增加為  $76.0 \pm 39.6$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  ( $P < 0.01$ ), 各項藥物動力學參數如【表 8】所示, 其他各項藥物動力學參數結果與控制組相似, 皆未達到顯著差異。

四、大鼠口服給予複方濃縮中藥十四天後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組之比較：

大鼠口服給予短期（一天三次，共七天）十種複方濃縮中藥後，將有顯著抑制 CYP3A 活性的龍膽瀉肝湯和蒼耳散以及可能具有誘導 CYP3A 活性的半夏瀉心湯、知柏地黃丸以及加味逍遙散進一步做長期（一天三次，共十四天）對於大白鼠 CYP3A 活性影響之研究。

大鼠口服給予長期（一天三次，共十四天）五種複方濃縮中藥後，於第十五天口服給予 CYP3A 受質 midazolam 20mg/kg，測定 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度，以觀察該模式藥物之藥動學性質(如 AUC,  $C_{max}$ )是否顯著地受到中藥的影響而存在中西藥交互作用之可能性。

控制組 (n=12) 即在大白鼠不餵食任何複方濃縮中藥製劑下經由酵素 CYP3A 代謝 Midazolam 的結果，其結果顯示口服給予 Midazolam 於大白鼠後，Midazolam 會快速吸收，到達  $T_{max}$  平均為  $20 \pm 11$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $1086 \pm 686$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $63.4 \pm 17.0$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $111.0 \pm 59.4$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ，平均滯留時間 (MRT) 平均為  $100 \pm 25$  分鐘，各項藥物動力學參數如【表 9】所示；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $18 \pm 8$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $421 \pm 171$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $48.9 \pm 21.0$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $35.6 \pm 13.5$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 10】所示。

大白鼠餵食龍膽瀉肝湯 (n=6) 與控制組 (n=12) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 23】和【圖 24】。餵食龍膽瀉肝湯十四天（一天三次）後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $28 \pm 20$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $919 \pm 607$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $55.8 \pm 7.9$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $100.5 \pm 68.0$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  各項藥物動力學參數如【表 9】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $25 \pm 12$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $373 \pm 173$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $44.0 \pm 10.6$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $30.8 \pm 12.3$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 10】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食蒼耳散 (n=10) 與控制組 (n=12) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 25】和【圖 26】。餵食蒼耳散十四天（一天三次）後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $42 \pm 28$  分鐘，其  $t_{1/2}$  為  $72.9 \pm 25.4$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  為  $77.2 \pm 46.2$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ， $C_{max}$  由  $1086 \pm 687$  ng/mL 降低為  $662 \pm 462$

ng/mL ( $P < 0.05$ )，各項藥物動力學參數如【表 9】所示，其他結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $30 \pm 12$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $309 \pm 187$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $59.1 \pm 25.6$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $26.8 \pm 14.6 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 10】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食半夏瀉心湯 ( $n=6$ ) 與控制組 ( $n=12$ ) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 27】和【圖 28】。餵食半夏瀉心湯十四天 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $35 \pm 23$  分鐘， $t_{1/2}$  平均為  $65.4 \pm 29.0$  分鐘， $C_{max}$  由  $1086 \pm 687$  ng/mL 降低為  $325 \pm 86$  ng/mL ( $P < 0.01$ )， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  由  $111 \pm 59.4 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  降低為  $39.6 \pm 8.9 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  ( $P < 0.01$ )，各項藥物動力學參數如【表 9】所示，其他結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $33 \pm 18$  分鐘， $t_{1/2}$  平均為  $69.6 \pm 39.4$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $35.6 \pm 13.5 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  降低為  $25.4 \pm 6.2 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ， $C_{max}$  由  $421 \pm 171$  ng/mL 降低為  $242 \pm 72$  ng/mL ( $P < 0.05$ )，各項藥物動力學參數如【表 10】所示，其他結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食知柏地黃丸 ( $n=7$ ) 與控制組 ( $n=12$ ) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 29】和【圖 30】。餵食知柏地黃丸十四天 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $29 \pm 30$  分鐘， $t_{1/2}$  平均為  $55.5 \pm 8.8$  分鐘， $C_{max}$  由  $1086 \pm 687$  ng/mL 降低為  $484 \pm 243$  ng/mL ( $P < 0.05$ )， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  由  $111 \pm 59.4 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  降低為  $50.9 \pm 20.2 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  ( $P < 0.01$ )，各項藥物動力學參數如【表 9】所示，其他結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $28 \pm 10$  分鐘， $t_{1/2}$  平均為  $64.2 \pm 11.9$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  由  $36 \pm 13 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  降低為  $17.1 \pm 8.3 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  ( $P < 0.01$ )， $C_{max}$  由  $421 \pm 171$  ng/mL 降低為  $178 \pm 95$  ng/mL ( $P < 0.01$ ) 各項藥物動力學參數如【表 10】所示，其他結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

大白鼠餵食加味逍遙散 ( $n=7$ ) 與控制組 ( $n=12$ ) 其 midazolam 及 1'-OH-midazolam 血中濃度經時曲線圖如【圖 31】和【圖 32】。餵食加味逍遙散十四天 (一天三次) 後，口服給予 midazolam 20 mg/kg，midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $34 \pm 11$  分鐘， $t_{1/2}$  平均為  $59.9 \pm 13.9$  分鐘， $C_{max}$  由  $1086 \pm 687$  ng/mL 降低為  $551 \pm 289$  ng/mL ( $P < 0.05$ )， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  由  $111 \pm 59.4 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  降低為  $59.2 \pm 24.3 \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$  ( $P <$

0.01)，各項藥物動力學參數如【表 9】所示，其他結果與控制組相似，皆未達到顯著差異；其代謝物 1'-OH-midazolam 到達  $T_{max}$  平均為  $30.0 \pm 9.0$  分鐘， $C_{max}$  平均達  $308 \pm 103$  ng/mL，而其  $t_{1/2}$  平均為  $57.0 \pm 24.7$  分鐘， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  平均為  $25.3 \pm 5.4$   $\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{mL}$ ，各項藥物動力學參數如【表 8】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異。

## 第二節、體內 CYP3A 活性分析實驗

### 1. 大白鼠肝臟酵素的蛋白質濃度之測定：

大白鼠肝、腸微粒酵素懸浮液之蛋白質含量以 Lowry Method 測定，標準品胎牛血清蛋白初濃度 100 mg/ml 稀釋 100 倍，測定濃度設定為 0、25、50、75 及 100 mg/dL，每組濃度重複配製三次 (n=3)，標準曲線之線性迴歸  $R=0.9973$  (如【圖 33】)，【表 11】則是上述標準曲線相關的測定數據。

### 2.6 $\beta$ -hydroxytestosterone 分析方法之確效

$\beta$ -hydroxytestosterone 於大白鼠微粒酵素懸浮液中測定之標準曲線濃度範圍為  $0.5 \sim 20$   $\mu\text{g} / \text{mL}$ 。標準曲線異日間 (n=6，如【圖 34】) 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 12】。

$\beta$ -hydroxytestosterone 的分析確效驗證，包括 LQC (1.5  $\mu\text{g} / \text{mL}$ )、Medium QC (8  $\mu\text{g} / \text{mL}$ )、High QC (15  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) 三種濃度，其異日間 (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 13】。

### 3. 大鼠口服給予複方濃縮中藥七天後，肝及腸 CYP3A 活性與控制組之比較：

大鼠在餵食辛夷清肺湯七天 (一天三次，N=6) 後，肝 CYP3A 活性與控制組 (n=5) 比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性為  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min，與控制組相似；腸 CYP3A 活性  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min 降低為  $0.009 \pm 0.009$  nmole/mg protein/min，如【圖 36】所示。

大鼠在餵食甘露飲七天 (一天三次，N=6) 後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.48 \pm 0.29$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異；腸 CYP3A 活性  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min 降低為  $0.010 \pm 0.005$  nmole/mg protein/min，如【圖 36】所示。

大鼠在餵食龍膽瀉肝湯七天（一天三次，N=6）後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 降低為  $0.16 \pm 0.06$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異；腸 CYP3A 活性均無法測出，可能是  $6\beta$ -hydroxytestosterone 濃度太低，低於 LOQ。

大鼠在餵食蒼耳散七天（一天三次，n=5）後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.49 \pm 0.20$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異；腸 CYP3A 活性  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.022 \pm 0.008$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異，如【圖 36】所示。

大鼠在餵食半夏瀉心湯七天（一天三次，N=6）後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.52 \pm 0.22$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異；腸 CYP3A 活性  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.024 \pm 0.015$  nmole/mg protein/min，有顯著性差異，如【圖 36】所示。

大鼠在餵食知柏地黃丸七天（一天三次，N=4）後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.80 \pm 0.24$  nmole/mg protein/min，有顯著性差異（ $P < 0.05$ ）；腸 CYP3A 活性  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min 降低為  $0.008 \pm 0.004$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異，如【圖 36】所示。

大鼠在餵食川芎茶調散七天（一天三次，N=7）後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.73 \pm 0.29$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異；腸 CYP3A 活性  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min 降低為  $0.008 \pm 0.004$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異，如【圖 36】所示。

大鼠在餵食正骨紫金丹七天（一天三次，N=8）後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.75 \pm 0.29$  nmole/mg protein/min，有顯著性差異（ $P < 0.05$ ）；腸 CYP3A 活性  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min 降低為  $0.010 \pm 0.009$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異，如【圖 36】所示。

大鼠在餵食加味逍遙散七天（一天三次，N=7）後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.57 \pm 0.16$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異；腸 CYP3A 活性  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min 降低為  $0.008 \pm 0.008$  nmole/mg protein/min，但並無顯著性差異，如【圖 36】所示。

大鼠在餵食小柴胡湯七天（一天三次，N=8）後，肝 CYP3A 活性與控制組比較結果如【圖 35】所示，顯示肝 CYP3A 活性由  $0.34 \pm 0.30$  nmole/mg protein/min 提高為  $0.62 \pm 0.20$  nmole/mg protein/min，有顯著性差異 ( $P < 0.05$ )；腸 CYP3A 活性為  $0.016 \pm 0.0005$  nmole/mg protein/min，與控制組相似，如【圖 36】所示。

## 肆、討論

Nishikawa 學者(Nishikawa, M., *et al.* 2004.)於公鼠 (S.D. rat) 口服給予 20 mg/kg midazolam (Dormicum<sup>®</sup>) 後，測得之  $t_{1/2}$  為  $0.88 \pm 0.16$  小時， $C_{max}$  為  $1.92 \pm 0.62$   $\mu$ g/mL， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  為  $2.62 \pm 0.82$   $\mu$ g\*hr/mL， $T_{max}$  為  $0.30 \pm 0.05$  小時 (Mean $\pm$ SE)；Mastuda 學者(Matsuda, K., *et al.* 2007.)於公鼠 (S.D. rat) 口服給予 20 mg/kg midazolam maleate 後，測得之  $t_{1/2}$  為  $58.82 \pm 20.07$  分鐘， $C_{max}$  為  $5.36 \pm 2.8$   $\mu$ g/mL， $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  為  $6.39 \pm 3.63$  mg\*hr/L (Mean $\pm$ SD)，Nishikawa 學者所測得之  $T_{max}$  為  $0.30 \pm 0.05$  小時 (Mean $\pm$ SE) 與本實驗結果  $T_{max}$  ( $27.4 \pm 15.4$  分鐘) 相似，Nishikawa 學者與 Mastuda 學者所測得之  $t_{1/2}$  與本實驗之  $t_{1/2}$  ( $55.9 \pm 19.0$  分鐘) 相似，Nishikawa 學者與 Mastuda 學者所測得之  $C_{max}$  和  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  不同，其中差別在於本實驗的大鼠 (300~420g) 較 Nishikawa 學者 (220~260g) 與 Mastuda 學者 (200~230g) 使用的重，Nishikawa 學者與 Mastuda 學者分析是使用 HPLC，本實驗使用 LC-MS/MS 分析，但不同的分析方法與不同的儀器所得到的結果，有可能變異較大。

Ohnishi 學者以小柴胡湯與 carbamazepine (CYP3A 受質) 於母鼠 (S.D. rat, 170-190g) 交互作用之研究，Ohnishi 學者將實驗分兩組，第一組口服給予小柴胡湯 (1g/kg) 與 carbamazepine (50mg/kg) 同時併服；第二組先口服給予大鼠給予小柴胡湯 (1g/kg) 兩週 (一天一次)，給予最後一次小柴胡湯後 24 小時再口服給予 carbamazepine (50mg/kg)，監測血中 carbamazepine 及 carbamazepine-10, 11-epoxide 濃度 (為 carbamazepine 具有毒性之有效代謝物)，實驗結果顯示同時

給予小柴胡湯及 carbamazepine 與控制組相比會使 carbamazepine 的  $C_{max}$  顯著降低 45% 且 carbamazepine-10, 11-epoxide 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  顯著降低 32%；但給予小柴胡湯兩週(一天一次)後再口服給予 carbamazepine 與控制組相比，各項藥動學參數並無顯著差異但於 carbamazepine 血中濃度圖顯示 carbamazepine 濃度於吸收相時顯著降低，其推測可能之原因為小柴胡湯會降低 carbamazepine 於腸胃道的吸收，所以於同時併服時會顯著影響 carbamazepine 的  $C_{max}$ ，但於給予兩週小柴胡湯組則可能是因為小柴胡湯會誘導腸道 CYP3A 所以導致 carbamazepine 濃度於吸收相時顯著減少(Ohnishi, N., *et al.* 2002.)。Ohnishi 學者與本實驗結果並不一致，可能是因 Ohnishi 學者使用的小柴胡湯 (1g/kg/天) 劑量約為本實驗 (90mg/kg/天) 的十倍，且本實驗只給予大鼠一週，所以可能 Ohnishi 學者所給予的劑量為一般臨床使用的十倍所以造成腸道 CYP3A 被誘導，因本實驗所給予的為一般臨床所使用的劑量，所以並不影響 CYP3A，也有可能是因為給藥時間較短(七天)所以並未發現小柴胡湯對 CYP3A 的影響。

本研究結果，餵食龍膽瀉肝湯和蒼耳散七天(一天三次)後，皆顯著抑制 CYP3A 活性，使 Midazolam  $C_{max}$  和  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  顯著增加，如【表 7】所示；但是餵食龍膽瀉肝湯和蒼耳散十四天(一天三次)後，龍膽瀉肝湯組各項藥物動力學參數如【表 9】所示，結果與控制組相似，皆未達到顯著差異，所以龍膽瀉肝湯一天三次服用七天會顯著抑制大鼠 CYP3A 活性，但是服用十四天後，並不會影響大鼠 CYP3A 活性。蒼耳散十四天組各項藥物動力學參數如【表 9】所示，結果會誘導大鼠 CYP3A 使 Midazolam  $C_{max}$  和  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  與控制組相比顯著下降，所以蒼耳散一天三次服用七天會顯著抑制大鼠 CYP3A 活性，但是服用十四天後，卻會誘導大鼠 CYP3A 活性，造成這相關可能的機轉仍得進一步實驗來釐清。例如：Kageyama 學者以小鼠(Wistar rat)分為五組，分別為控制組、口服給予 ritonavir 三天、口服給予 ritonavir 五天、口服給予 ritonavir 七天、口服給予 ritonavir 十四天，給予 ritonavir 的劑量皆為 20mg/kg/day，之後 IV (intravenous) 給予 midazolam (0.1mg/kg)，實驗結果顯示在給予 ritonavir 三天和五天這兩組，midazolam 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  與控制組相比顯著地增加、CL 顯著地減少顯示 ritonavir 會顯著的抑制大鼠 CYP3A，但於給予 ritonavir 七天和十四天這兩組 midazolam 各項藥動學參數與控制組相比皆無顯著地差異，作者建議可能是因為於第五天之後重複給予 ritonavir 會誘導 CYP3A(Kageyama, M., *et al.* 2005.)；Zand 學者給予健康受試者



isoniazid (300mg/day, 共服用七天) 後給予 chlorzoxazone 750mg (CYP2E1 受質), 監測給予 isoniazid 前 (baseline)、七天後和九天後的血中 chlorzoxazone 濃度, 實驗結果顯示給予 isoniazid 七天後會顯著降低 chlorzoxazone 的 CL (56%) 即減少 chlorzoxazone 的排除使 chlorzoxazone 血中濃度增加, 但停止給予 isoniazid 後 48 小時 (第九天) 會顯著增加 chlorzoxazone 的 CL (56%) 即增加 chlorzoxazone 的排除使 chlorzoxazone 血中濃度下降 (Zand, R., *et al.* 1993.), 由 Zand 學者及 Kageyama 學者的研究可知 Cytochrome P450 的活性可能因為藥物給予時間長短有所改變。

本實驗結果, 口服給予加味逍遙散 (60 mg/kg/次) 一週或兩週 (一天三次) 皆會誘導大鼠體內 CYP3A, 此項結果與 Makino 學者 (Makino, T., *et al.* 2005.) 所做的結果不同, Makino 學者給予大鼠加味逍遙散 (1 g/kg) 兩天 (一天兩次) 後, 給予 etizolam 10 mg/kg (CYP3A 受質), 但 etizolam 各項藥動學參數皆與控制組相似, 本實驗與 Makino 學者結果不一致的可能原因第一點為 Makino 學者所使用的實驗動物為母鼠 (S. D. rat), 因 CYP3A 在母鼠的表現量較少, 所以可能無法表現出因影響 CYP3A 所改變 etizolam 藥品動力學; 第二點可能是因為加味逍遙散需較長期的給予 (例如: 七天或十四天) 才可以顯示出加味逍遙散對於 CYP3A 的影響, 例如金絲桃草需服用超過七天以上才會影響 CYP3A 活性, 使 midazolam 血中濃度顯著下降, 第三點可能是因為劑量不同, Makino 學者所給予加味逍遙散 (2g/kg/天) 的劑量為一般人使用量的二十倍, 且為本實驗所使用的 (180mg/kg/天) 的十一倍 (Qi, J. W., *et al.* 2005.)。

本實驗當初以體外人肝活性篩選抑制 CYP3A 活性達 50% 以上的複方濃縮中藥製劑, 進一步做體內動物實驗, 但體外人肝活性篩選的結果與體內動物實驗結果並不一致, 於體外人肝活性篩選抑制 CYP3A 活性達 90% 以上的辛夷清肺湯和甘露飲於動物體內實驗結果與控制組相似, 顯示辛夷清肺湯和甘露飲在短期 (一天三次, 共七天) 於大鼠體內不會影響體內 CYP3A 的活性。於體外人肝活性篩選抑制 CYP3A 活性達 50% 以上的半夏瀉心湯、知柏地黃丸和加味逍遙散於動物體內長期 (一天三次, 共十四天) 實驗結果顯示, 半夏瀉心湯、知柏地黃丸和加味逍遙散顯著誘導大鼠體內 CYP3A 的活性。體外人肝活性篩選 CYP3A 與體內動物實驗結果並不完全一致, 可能的原因第一點為體外篩選時複方濃縮中藥可直接與人體肝臟微粒體酵素反應, 但體內動物實驗時複方濃縮中藥需經過腸胃道的吸收 (absorption

phase) 後才可影響全身的 CYP3A 活性造成複方濃縮中藥中可以抑制 CYP3A 的某些成分可能較體外活性篩選時所使用的濃度低(Ohnishi, N., *et al.* 2002.)，第二點複方濃縮中藥裡有些成分會經腸道細菌代謝以其代謝物進入體內循環，所以可能進入體內作用的成分與體外篩選時的成分不盡相同(Makino, T., *et al.* 2005.)，第三點可能因人肝 CYP3A 與大鼠體內 CYP3A 不完全相同所導致(Matsubara, T., *et al.* 2004.)，第四點也許藥物可高度與體內蛋白質結合 (protein-binding) 有關，因藥物與蛋白質結合而使游離態 (free form) 藥物減少，進而使藥物與酵素之間的作用受限(Kajosaari, L. I., *et al.* 2006.)。

將體內實驗中所得個別 Midazolam 之  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  及  $Cl/F$  分別對肝及腸的活性分析結果做圖，數據利用 Pearson Product-Moment Correlation Coefficients 方式進行統計分析，以評估其相關性。結果如【圖 37~39】顯示大白鼠肝臟的 CYP3A 活性與 Midazolam 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  及  $Cl/F$  均有顯著相關 (相關係數分別為-0.398, -0.381 和 0.383,  $P < 0.001$ )。結果如【圖 40~42】顯示大白鼠腸的 CYP3A 活性與 Midazolam 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  及  $Cl/F$  之間皆無顯著相關 (相關係數分別為-0.161, -0.176 和 0.100)。上述之相關性結果顯示，當大白鼠肝臟之 CYP3A 活性越低則 Midazolam 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  和  $C_{max}$  越高，反之亦然，即呈現負相關性；大白鼠肝臟之 CYP3A 活性越低則 Midazolam 的  $Cl/F$  越低，反之亦然，即呈現正相關。

將體內實驗中所得個別 1'-OH-midazolam 之  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  分別對肝及腸的活性分析結果做圖，數據利用 Pearson Product-Moment Correlation Coefficients 方式進行統計分析，以評估其相關性。結果如【圖 43~45】顯示大白鼠肝臟的 CYP3A 活性與 1'-OH-midazolam 的  $C_{max}$  及  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  則無顯著相關 (相關係數分別為-0.198 和-0.231)。結果如【圖 46~48】顯示大白鼠腸的 CYP3A 活性與 1'-OH-midazolam 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  和  $C_{max}$  之間皆無顯著相關 (相關係數分別為-0.067 和 -0.084)。1'-OH-midazolam 與 Midazolam  $AUC_{\rightarrow \infty}$  比值與肝 CYP3A 活性有顯著相關 ( $R=0.442$ ,  $P < 0.001$ )，但與腸 CYP3A 活性則無顯著相關 ( $R=0.179$ )。

大白鼠肝臟的 CYP3A 活性與 Midazolam 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  及  $Cl/F$  均有顯著相關 (相關係數分別為-0.398, -0.381 和 0.383,  $P < 0.001$ )，但大白鼠腸的 CYP3A 活性與 Midazolam 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  及  $Cl/F$  之間皆無顯著相關 (相關係數分別為-0.161, -0.176 和 0.100)，造成此一結果的原因為大鼠腸道 CYP3A 的活性可能較低(Matsubara, T., *et al.*

2004.)，所以對於代表大鼠整體 CYP3A 活性的 Midazolam 的  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  及  $Cl/F$  才無法顯示其相關性但具有相關的趨勢。

可能因肝腸 CYP3A 在個體間分布變異性很大，並且 midazolam 在動物間之藥動學參數變異約為 50%，並有研究指出 midazolam 於大鼠生體可用率約為 40%(Aarons, L., *et al.* 1991.)。因此在 n 值太小的情況下，無法以肝腸 CYP3A 活性平均值與 midazolam 藥動參數的平均值做連結。所以藉由個別的 midazolam 藥物動力學參數 ( $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$ 、 $Cl/F$ ) 與個別的肝、腸 CYP3A 活性之相關性來評估。

## 伍、結論與建議

1. 本實驗完成十種複方濃縮中藥短期（七天，一天三次）使用後對西藥主要代謝酵素交互作用於大白鼠的實驗。
2. 本實驗完成五種複方濃縮中藥長期（十四天，一天三次）使用後對西藥主要代謝酵素交互作用於大白鼠的實驗。
3. 口服給予短期（一天三次，共七天）複方濃縮中藥實驗結果顯示，短期使用蒼耳散和龍膽瀉肝湯會使 Midazolam  $C_{max}$  及  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  顯著上升 ( $P < 0.01$ )，半夏瀉心湯會使 Midazolam  $Cl/F$  顯著增加 ( $P < 0.05$ )，知柏地黃丸會使 Midazolam  $Cl/F$  顯著增加 ( $P < 0.01$ )。
4. 口服給予長期（一天三次，共十四天）複方濃縮中藥實驗結果，長期使用知柏地黃丸會使 Midazolam  $C_{max}$  ( $P < 0.05$ ) 及  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  ( $P < 0.01$ ) 顯著降低；半夏瀉心湯使 Midazolam  $C_{max}$  及  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  ( $P < 0.01$ ) 顯著降低；蒼耳散和加味逍遙散使 Midazolam  $C_{max}$  及  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  ( $P < 0.05$ ) 顯著降低。
5. 由體內之肝腸活性與 Midazolam  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$  和  $Cl/F$  之相關性顯示，肝的活性越高，則  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  及  $C_{max}$  越低、 $Cl/F$  越高。
6. 大部分測試的常用複方濃縮中藥短期（7 天）使用基本上相對是安全的，仍有少數會影響 CYP3A，例如：龍膽瀉肝湯和蒼耳散。但長期（14 天）使用後，有可能會誘導 CYP3A。

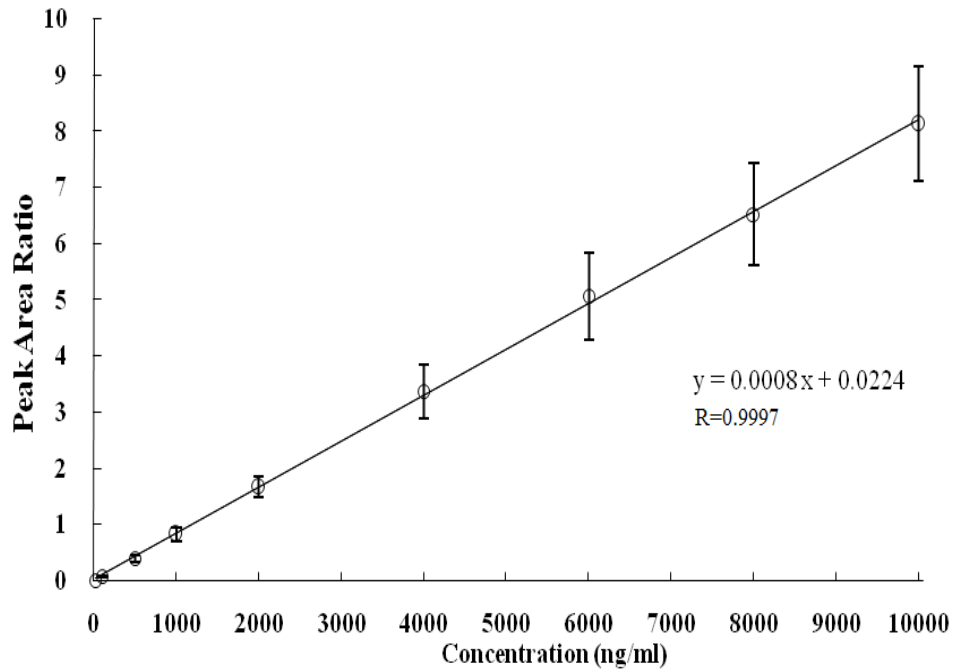
## 陸、參考文獻

1. Eisenber DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Van R, Kessler RC. Trends in alternative mmedicine used in the United States, 1990-1997: results of a follow-up National Survey. *JAMA* 1998;280:1569-75.
2. Barnes J, Mills SY, Abbot NC, Willoughby M and Ernst E. Different standards for reporting ADR to herbal remedies and conventional OTC medicines: face-t-face interviews with 515users of herbal remedies. *Br. J. Clin. Pharmacol* 1998;45:496 -500.
3. 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*. 53(5):583-600, 2001.
4. 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*. 27(6):491-7, 2001
5. Johne 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*. 66(4):338-45, 1999.
6. Muller WE. Rolli M. Schafer C. Hafner U. Effects of hypericum extract (LI 160) in biochemical models of antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry*. 30 Suppl 2:102-7, 1997.
7. Nebel A. Schneider BJ. Baker RK. Kroll DJ. Potential metabolic interaction between St. John's wort and theophylline. *Annals of Pharmacotherapy*. 33(4):502, 1999.
8. Piscitelli SC. Burstein AH. Chaitt D. Alfaro RM. Falloon J. Indinavir concentrations and St John's wort. [erratum appears in *Lancet* 2001 Apr 14;357(9263):1210.]. *Lancet*. 355(9203):547-8, 2000.
9. Ruschitzka F. Meier PJ. Turina M. Luscher TF. Noll G. Acute heart transplant rejection due to Saint John's wort. *Lancet*. 355(9203):548-9, 2000.
10. Yue QY. Bergquist C. Gerden B. Safety of St John's wort (*Hypericum*

- perforatum). *Lancet*. 355(9203):576-7, 2000.
- 11.楊啟裕，王耀宏，侯鈺琪，徐素蘭，李珮端：金絲桃草與環孢靈於大鼠及豬體內之交互作用，中臺灣醫學科學雜誌，8(3):127-133，2003。
  - 12.Bates DW, Cullen DJ, Laird N, Petersen LA, Small SD, Servi D, Laffel G, Sweitzer BJ, Shea BF, Hallisey R. Incidence of adverse drug events and potential adverse drug events: Implications for prevention. ADE prevention study group. *JAMA* 1995; 275:29-34.
  - 13.Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS, eds. To err is human: building a safer health system. Washington, D.C.: National Academy Press, 1999, 23, 27-29.
  - 14.Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN, Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998, 279:1200-1205.)
  15. *J. Am. Geriatr. Soc*, 1996; 44:944-48
  - 16.認識常用中藥，1999。
  - 17.認識常用中藥，2002。
  - 18.侯鈺琪：含黃酮類中藥與地高辛（Digoxin）之動態學交互作用研究，行政院衛生署中醫藥年報，23(5):165-197，2005。
  - 20.李珮端：中藥對 CYCLOSPORIN 之藥品動力學影響，行政院衛生署中醫藥年報，18(2):19-46，2000。
  - 21.台灣中醫藥整合與前瞻，2003。
  - 22.台灣中草藥臨床試驗環境與試驗法規，2003。
  - 23.行政院衛生署中醫藥委員會學術暨臨床應用研討會成果彙編，2004。
  - 24.建構台灣中藥用藥安全環境，2004。
  - 25.台灣中醫藥網路資源網站導覽，2004。
  - 26.中藥用藥安全與實務，2005。
  - 27.93 年度中醫藥研究計畫成果報告中英文摘要彙編，2006。
  - 28.Bjornsson TD., Callaghan JH., *et al.* The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: a PhRMA perspective. *Journal of clinical pharmacology*. 43: 443-469, 2003.
  - 29.Masataka Hishikawa, Noritaka Ariyoshi, *et al.* Effects of continuous ingestion of green tea or grape seed extracts on the pharmacokinetics of midazolam. *Drug metab. pharmacokin.* 19(4): 280-9, 2004.

30. Tsuto Kotegawa, Laurijssens B.E., et al. In vitro, pharmacokinetic, and pharmacodynamic interactions of ketoconazole and midazolam in the rat. *J. Pharmaco. Exp. Ther.* 302(3): 1228-37, 2002.

柒、圖及表



【圖 1】Midazolam 於大鼠血漿中異日間之標準曲線(n=6)

【表 1】Midazolam 於大鼠血漿中異日間之標準曲線數據(n=6)

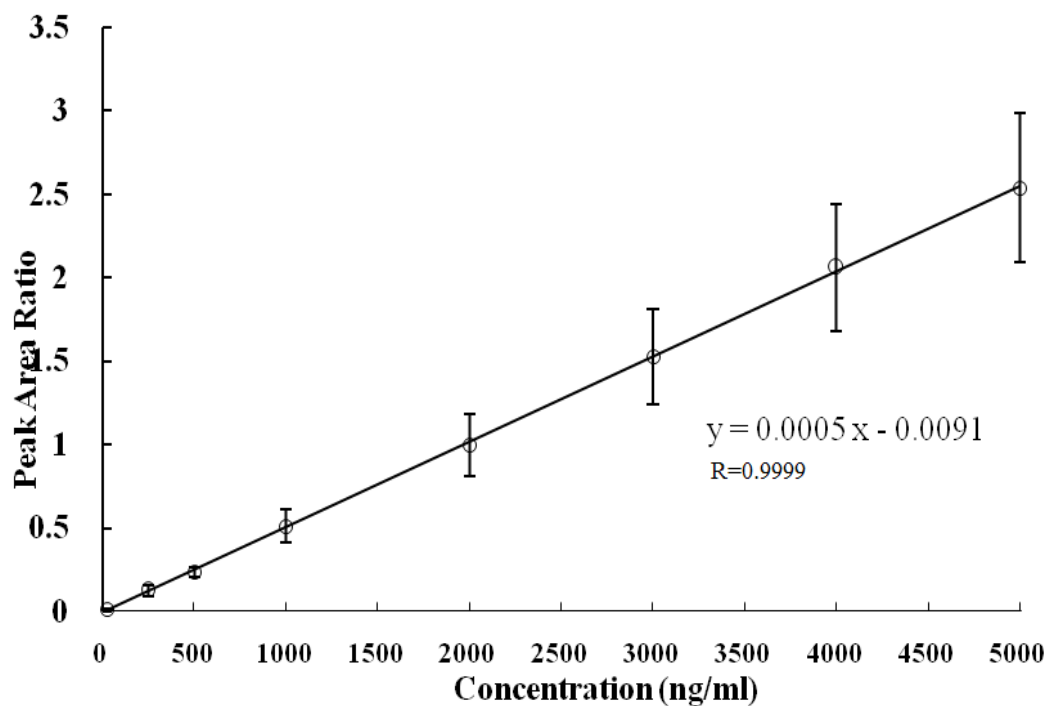
Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	SD	CV (%)	Accuracy (%err)
	No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
20	20.1	20.5	20.6	20.2	19.7	20.0	20.2	0.3	1.7	0.9
100	98.1	87.0	85.8	94.6	108.7	101.2	95.9	8.7	9.1	-4.1
500	439.7	510.1	491.2	488.0	495.1	485.3	484.9	23.8	4.9	-3.0
1000	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 2】** 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 3】** 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



**【圖 2】** 1'-OH-midazolam 於大鼠血漿中異日間(Inter-day)之標準曲線 (n=6)



**【表 4】** 1'-OH-midazolam 於大鼠血漿中異日間(Inter-day)之標準曲線數據 (n=6)

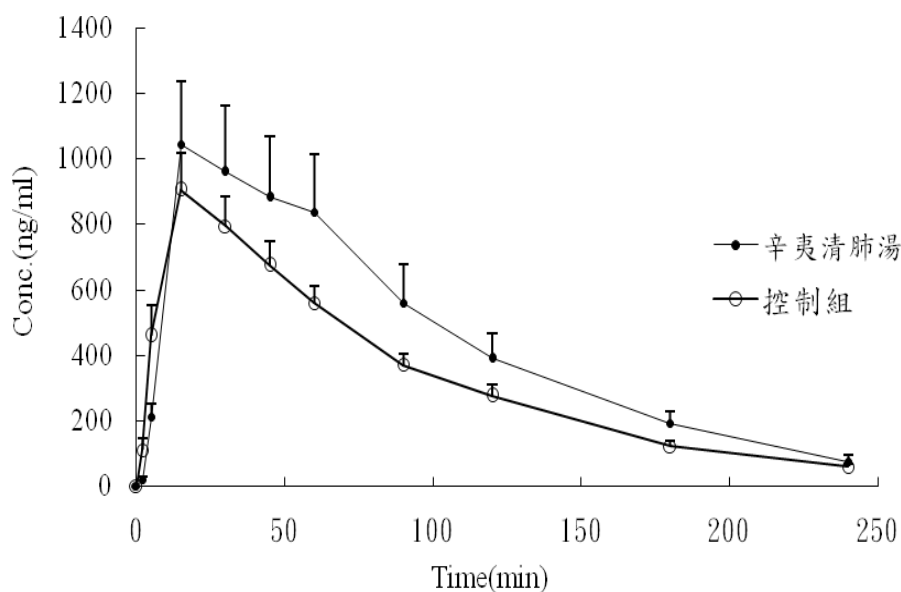
Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	SD	CV (%)	Accuracy (%err)
	No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
25	24.9	25.1	25.0	25.1	25.2	25.1	25.1	0.1	0.3	0.3
250	272.2	241.4	244.0	244.1	238.8	244.1	247.5	12.3	5.0	-1.0
500	421.3	485.7	502.5	478.6	478.4	478.6	474.2	27.5	5.8	-5.2
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 5】** 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)

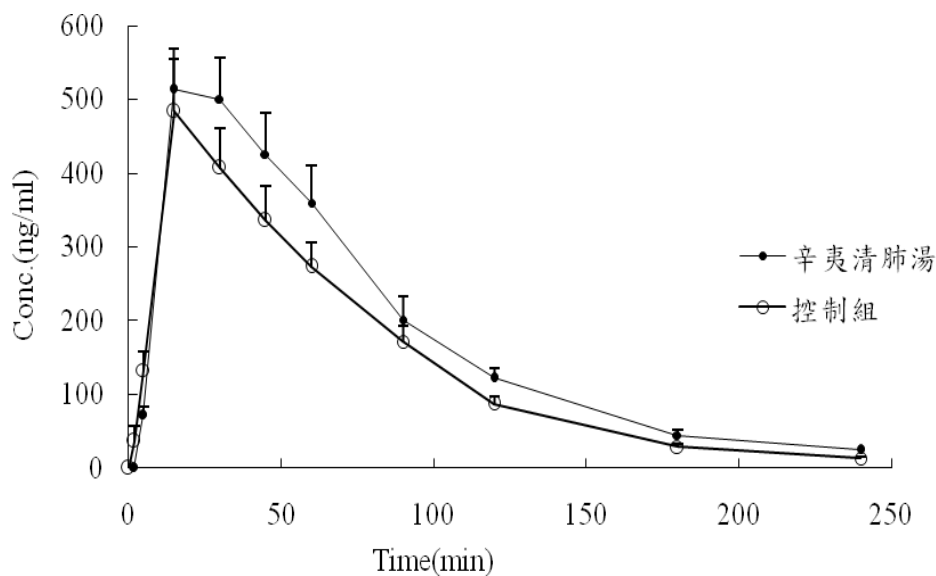
Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	S.D.	CV (%)	Accuracy (%err)
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
25	29.6	29.5	25.8	26.6	26	25.6	27.2	1.9	6.9	8.7
50	45.6	49.5	48.1	51.7	48.4	56.0	49.9	3.6	7.2	-0.2
2500	2400	2550	2460	2390	2410	2520	2455.0	67.2	2.7	-1.8
3500	3540	3490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

**【表 6】** 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)

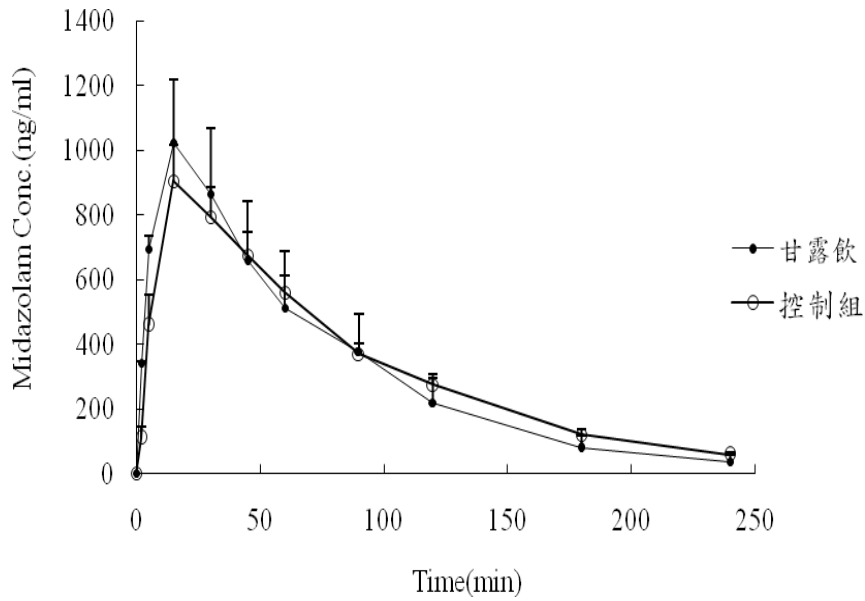
Actual Conc. (ng/ml)	Measured concentration (ng/ml)						Mean (ng/ml)	SD	CV (%)	Accuracy (%err)
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
25	22.9	22	26.4	28.4	25	22.5	24.5	2.5	10.3	-1.9
50	48.2	51	52.2	46.7	52.1	51.1	50.2	2.2	4.5	0.4
2500	2490	2410	2560	2380	2440	2470	2458.3	63.7	2.6	-1.7
3500	3710	3470	3700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



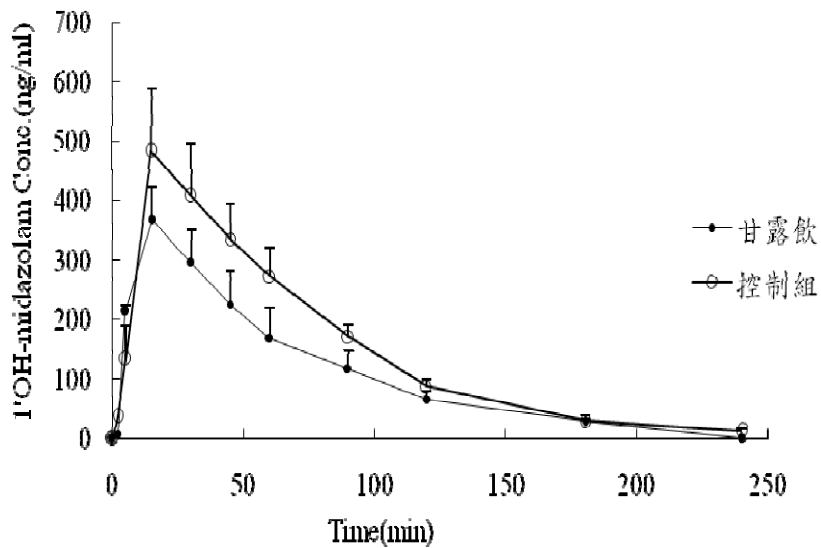
【圖 3】口服給予辛夷清肺湯 (n=6) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



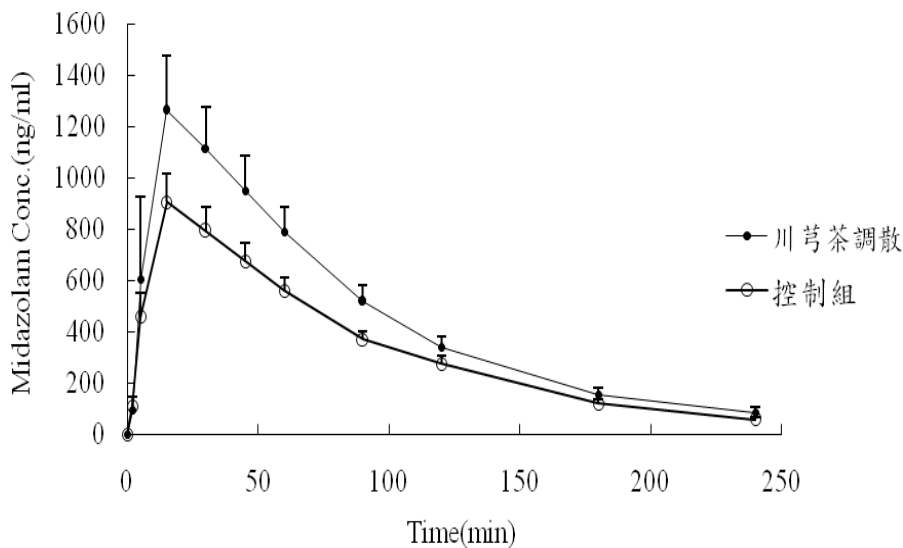
【圖 4】口服給予辛夷清肺湯 (n=6) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



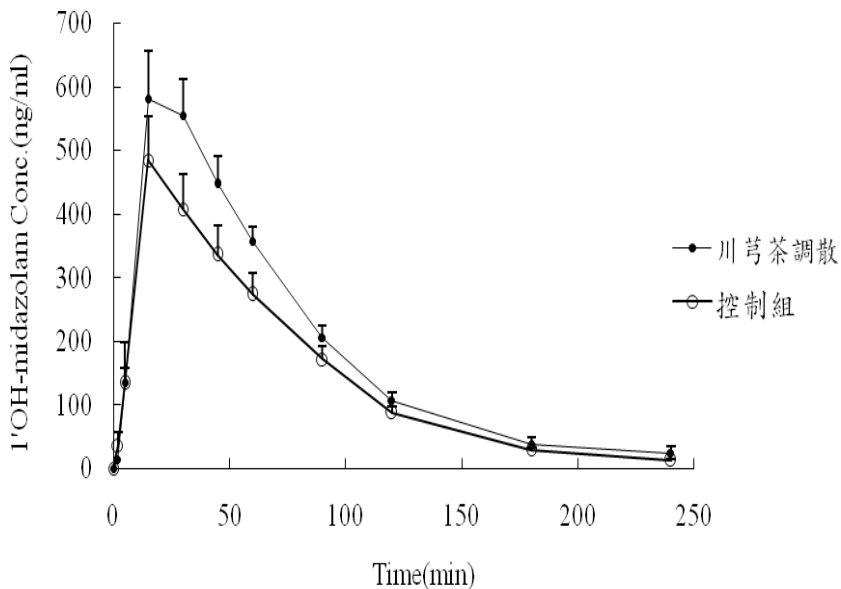
【圖 5】口服給予甘露飲 (n=6) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



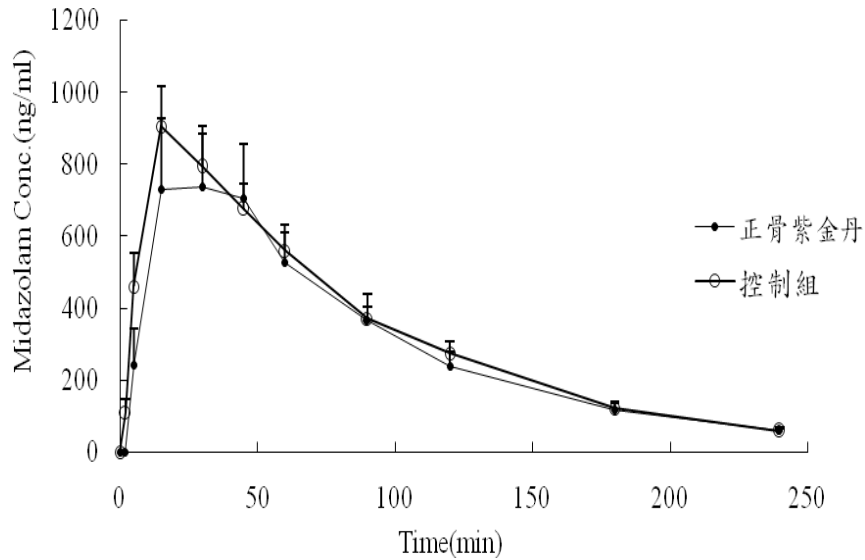
【圖 6】口服給予甘露飲 (n=6) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



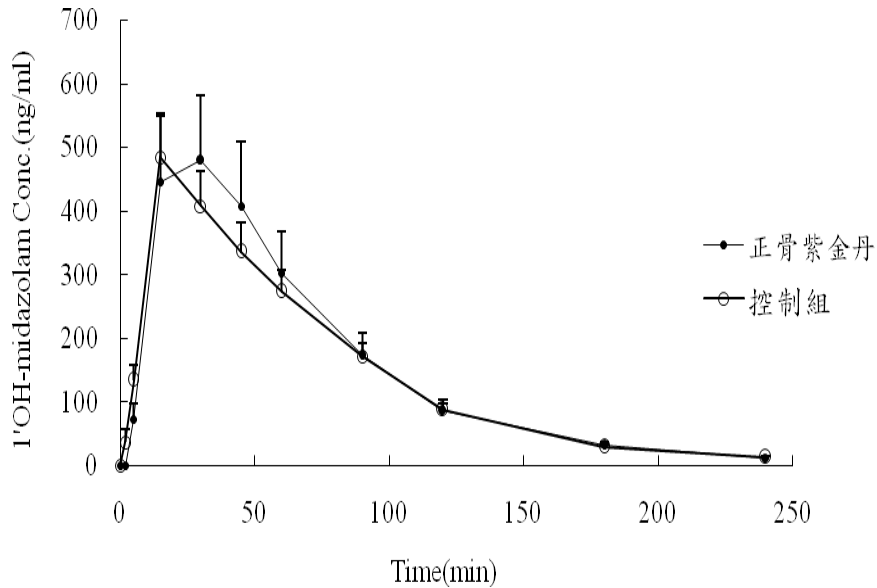
【圖 7】口服給予川芎茶調散 (n=7) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



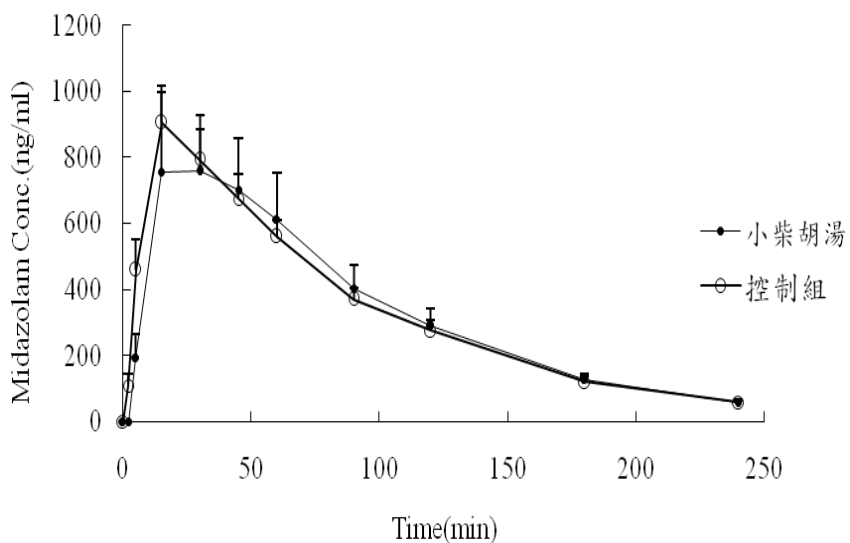
【圖 8】口服給予川芎茶調散 (n=7) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



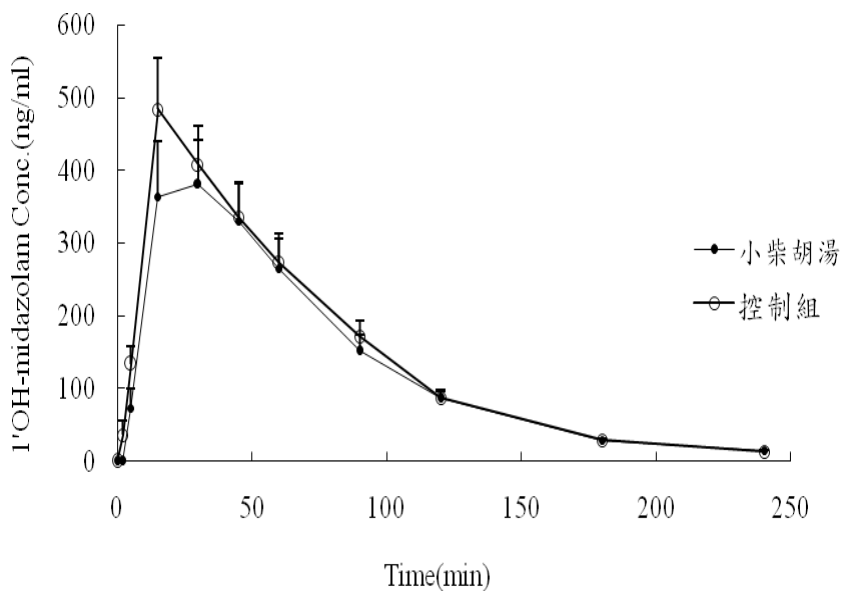
【圖 9】口服給予正骨紫金丹 (n=8) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



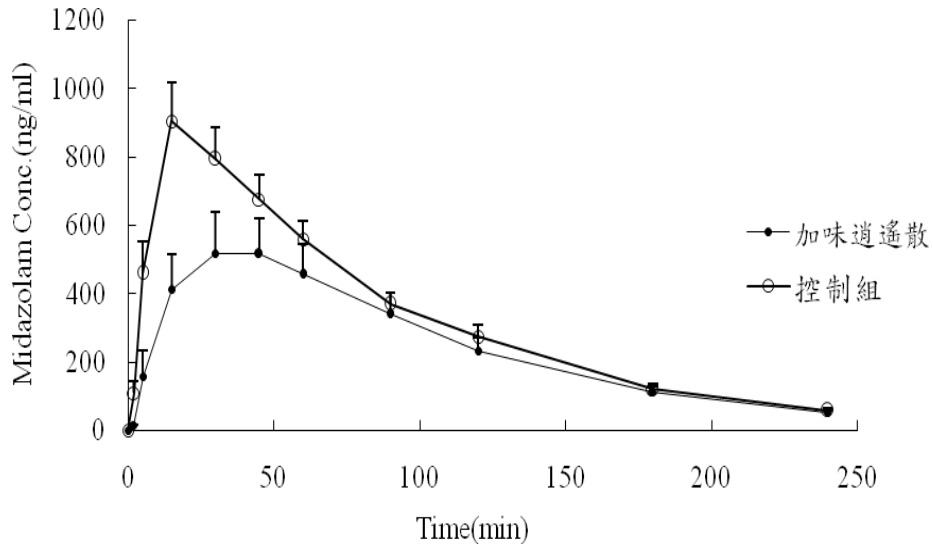
【圖 10】口服給予正骨紫金丹 (n=8) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



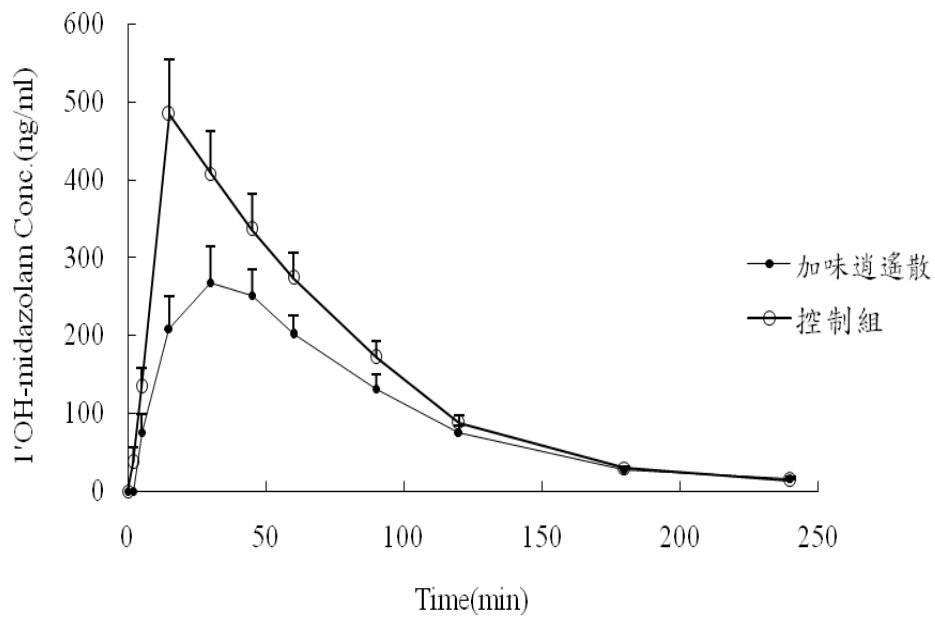
【圖 11】口服給予小柴胡湯 (n=8) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



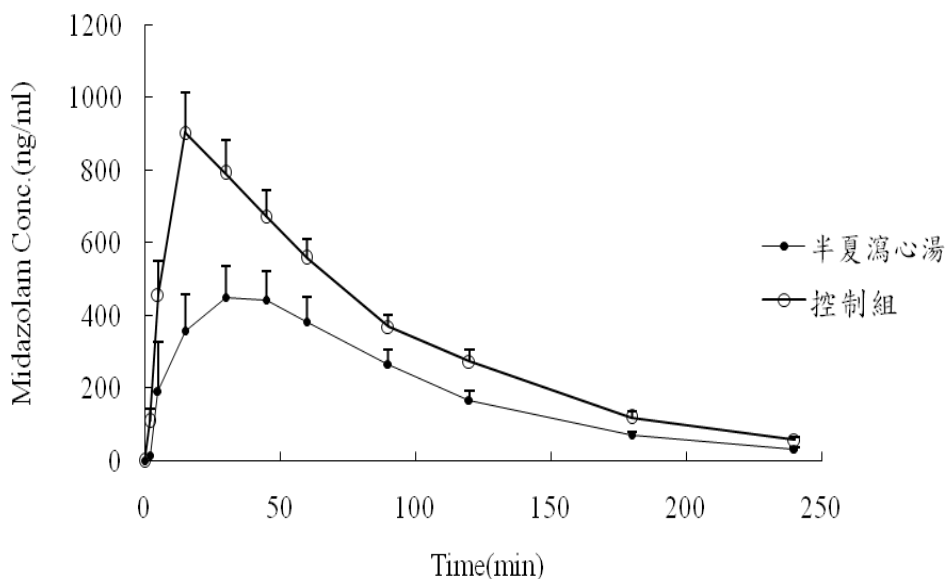
【圖 12】口服給予小柴胡湯 (n=8) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



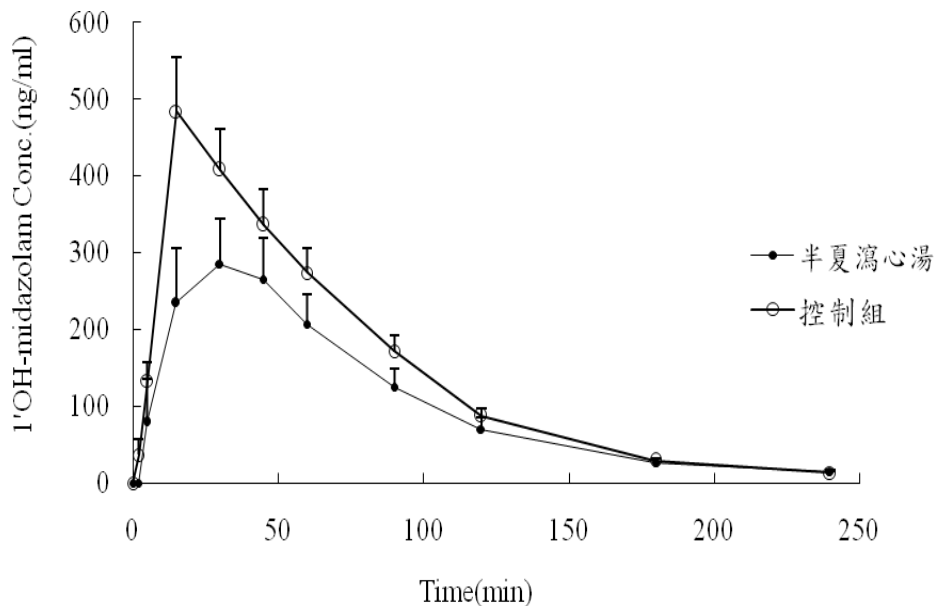
【圖 13】口服給予加味逍遙散 (n=7) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



【圖 14】口服給予加味逍遙散 (n=7) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。

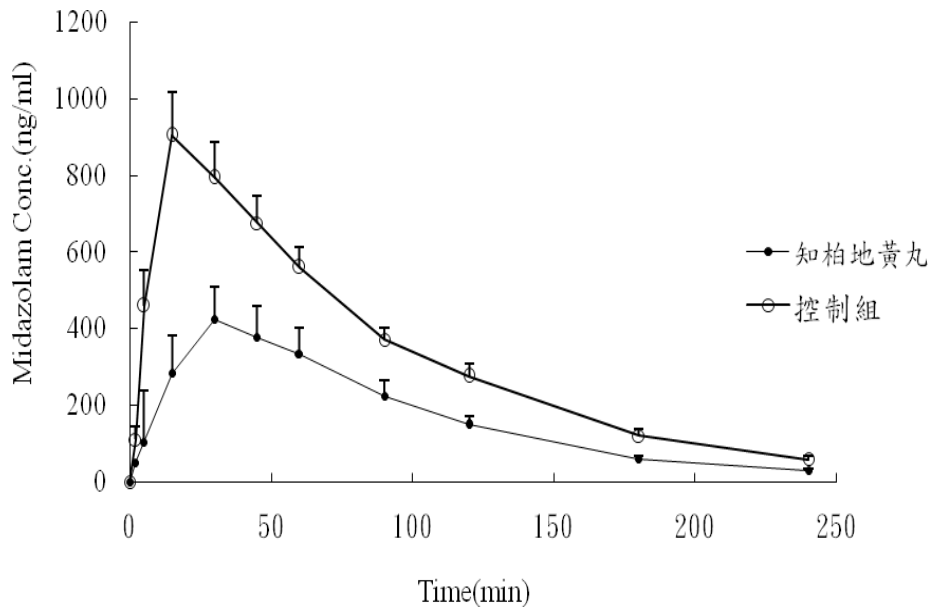


【圖 15】口服給予半夏瀉心湯 (n=6) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。

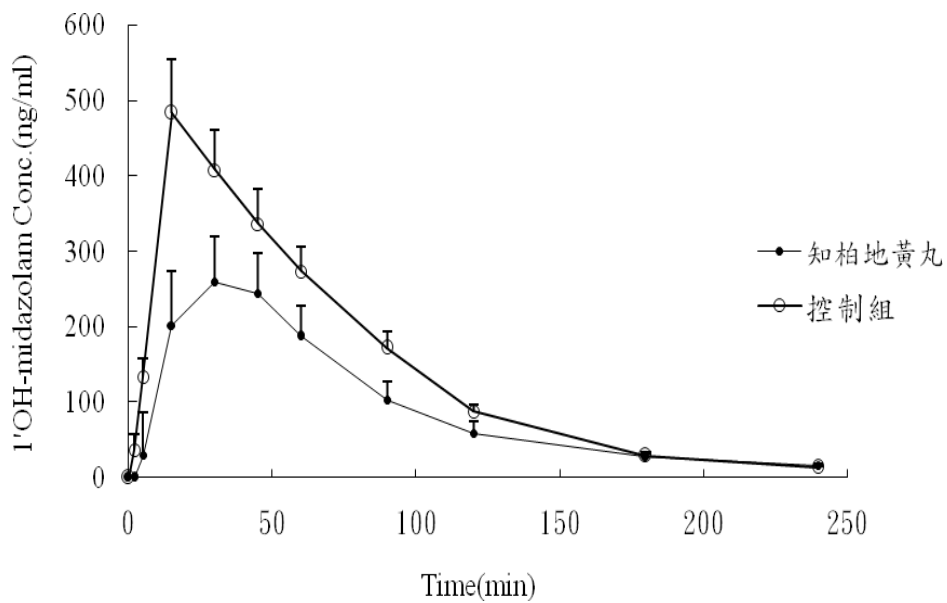


【圖 16】口服給予半夏瀉心湯 (n=6) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。

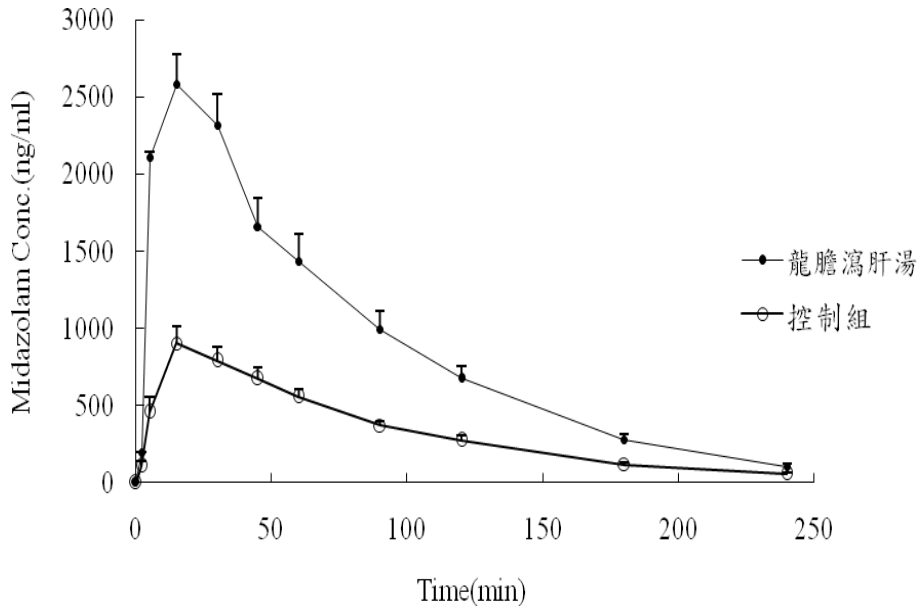




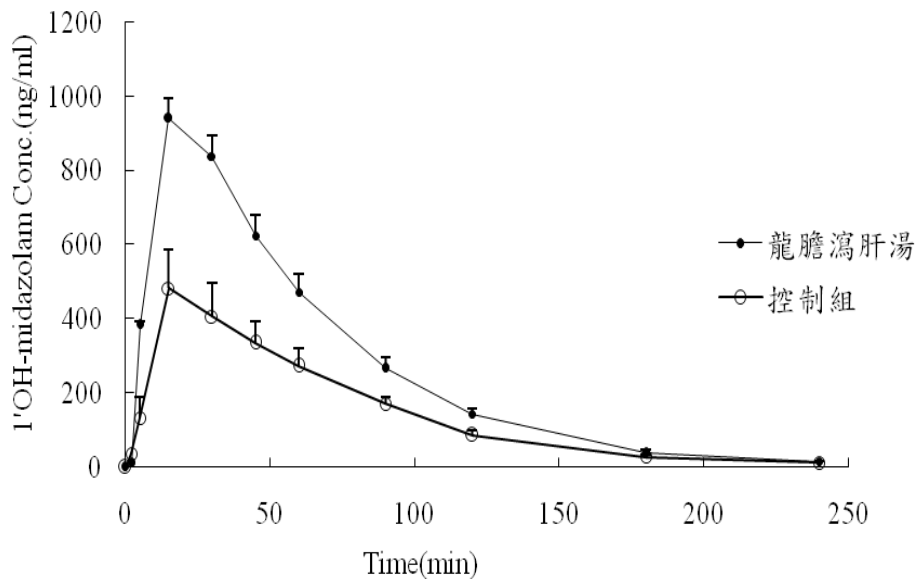
【圖 17】口服給予知柏地黃丸 (n=4) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



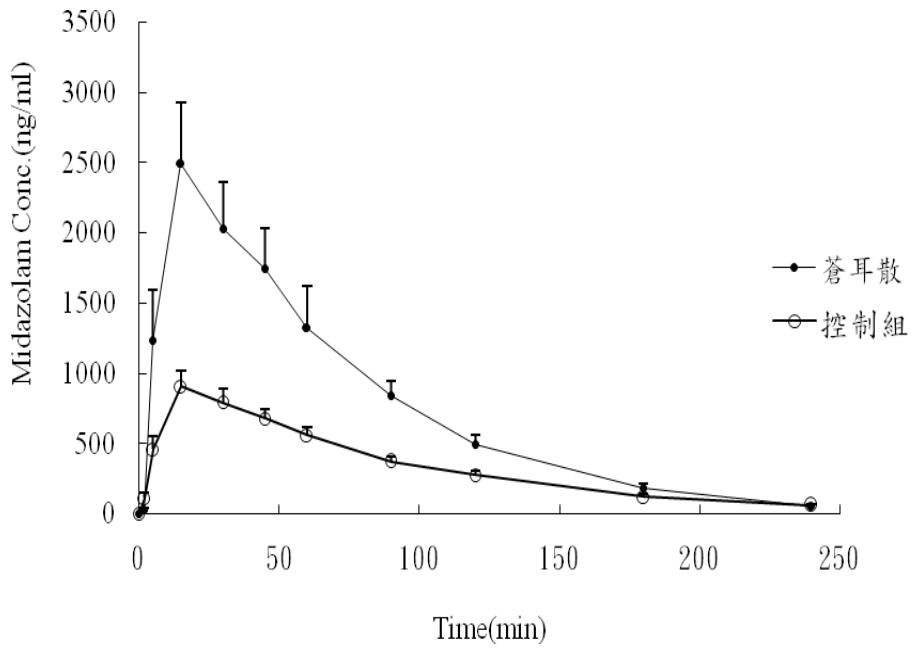
【圖 18】口服給予知柏地黃丸 (n=4) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



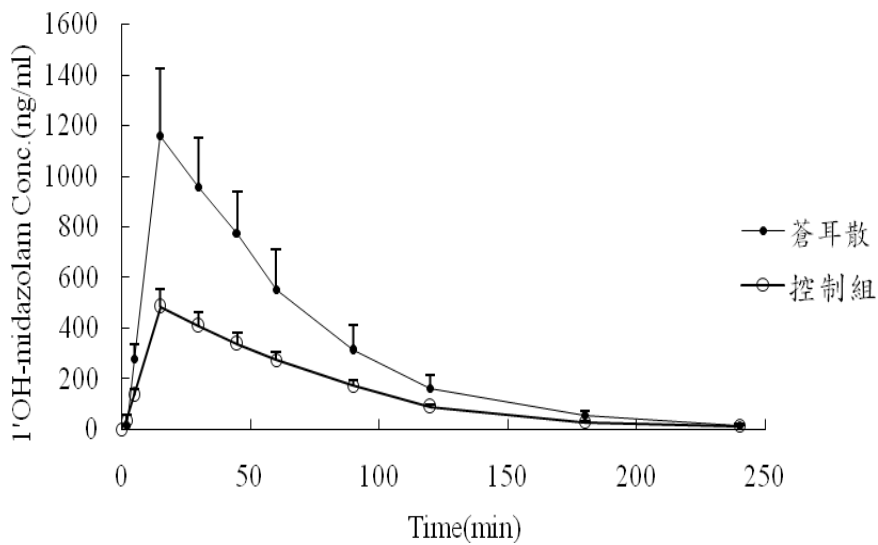
【圖 19】口服給予龍膽瀉肝湯 (n=6) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



【圖 20】口服給予龍膽瀉肝湯 (n=6) 一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=23) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



【圖 21】口服給予蒼耳散(n=5)一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組(n=23)Midazolam 血中濃度之比較圖(Mean±SE)。



【圖 22】口服給予蒼耳散(n=5)一週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組(n=23)1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖(Mean±SE)。

【表 7】大白鼠口服給予複方濃縮中藥製劑一週後，口服給予 midazolam 20mg/kg 與控制組之 midazolam 藥物動力學參數之比較 (Mean±SD)

組別	N	$t_{1/2}$ (mins)	$T_{max}$ (mins)	$C_{max}$ (ng/ml)	$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (min*ug/ml)	Cl/F (ml/min/kg)
控制組	23	55.9±19.0	27.4±15.4	946±526	90.8±42.3	263±107
辛夷清肺湯	6	55.2±17.6	25.0±18.2	1086±478	115.0±50.0	210±106
甘露飲	6	48.6±7.7	18.3±13.7	1100±609	80.3±41.0	317±171
龍膽瀉肝湯	6	46.4±9.4	18.3±9.8	3083±2138**	226.3±126.9**	113±58*
蒼耳散	5	39.4±4.6	15±0.0	2492±979**	189.0±82.7**	131±78
半夏瀉心湯	6	56.9±27.7	40.8±20.8*	502±255	51.8±17.0	421±132*
知柏地黃丸	4	51.4.6±8.2	37.5±8.7	435±217	43.3±18.9	544.5±261**
川芎茶調散	7	57.7±15.3	15.7±7.3	1432±645	118.8±40.7	193±90
正骨紫金丹	8	59.2±9.3	26.3±10.6	798±549	78.9±45.3	352±207
加味逍遙散	7	59.3±7.5	36.4±8.0	562±311	64.9±31.3	361±138
小柴胡湯	8	54.8±7.4	26.3±15.5	878±648	85.3±46.7	320±195

\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$

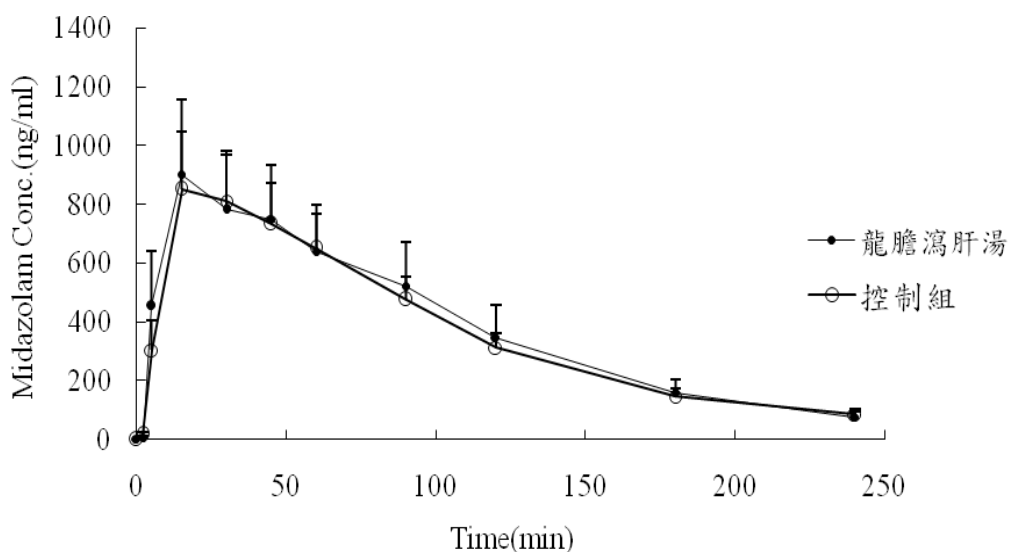
統計分析以 One-way ANOVA，事後分析以 LSD 分析

【表 4- 8】大白鼠口服給予複方濃縮中藥製劑一週後，口服給予 midazolam 20mg/kg 與控制組之 1'-OH-midazolam 藥物動力學參數之比較 (Mean±SD)

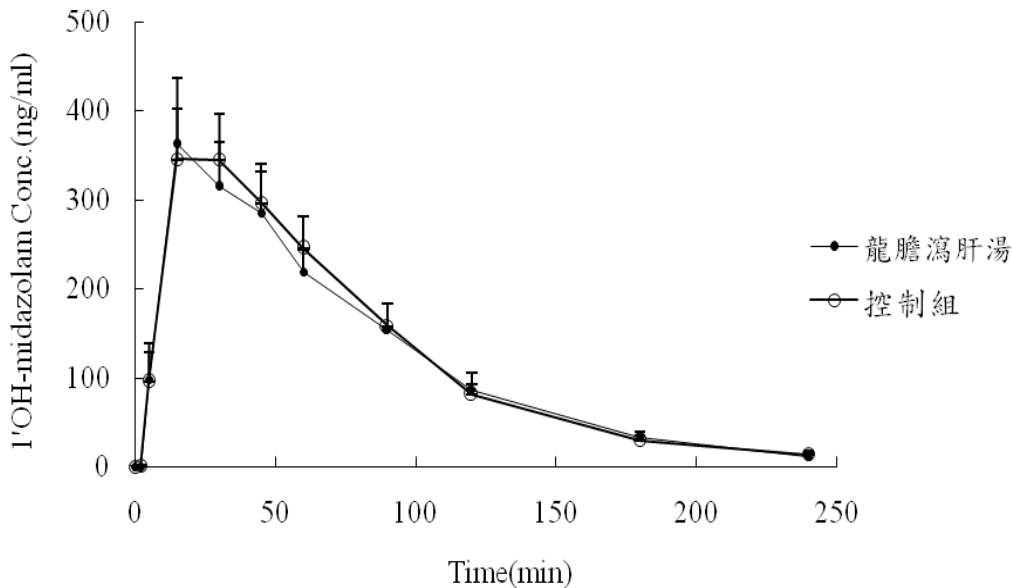
組別	N	$t_{1/2}$ (mins)	$T_{max}$ (mins)	$C_{max}$ (ng/ml)	$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (min*ug/ml)
控制組	23	44.7±15.3	28.7±34.4	462±298	37.7±19.6
辛夷清肺湯	6	38.0±5.9	27.5±11.3	539±130	44.3±9.7
甘露飲	6	52.3±18.8	32.5±30.6	386±228	26.2±13.1
龍膽瀉肝湯	6	36.7±11.0	20±7.7	1029±565**	65.0±26.5**
蒼耳散	5	34.7±7.3	15±0.0	1160±593**	76.0±39.6**
半夏瀉心湯	6	49.3±24.9	32.5±14.7	301±167	26.1±12.1
知柏地黃丸	4	39.6±10	26.3±7.5	260±103	22.0±8.5
川芎茶調散	7	43.4±17.9	19.3±7.3	637±149	47.4±9.0
正骨紫金丹	8	42.1±6.5	24.4±7.8	453±313	35.3±22.7
加味逍遙散	7	45.4±7.4	36.4±8.0	283±115	25.3±8.4
小柴胡湯	8	39.5±5.2	26.3±15.5	426±197	32.5±13.2

\*\* :  $P < 0.01$

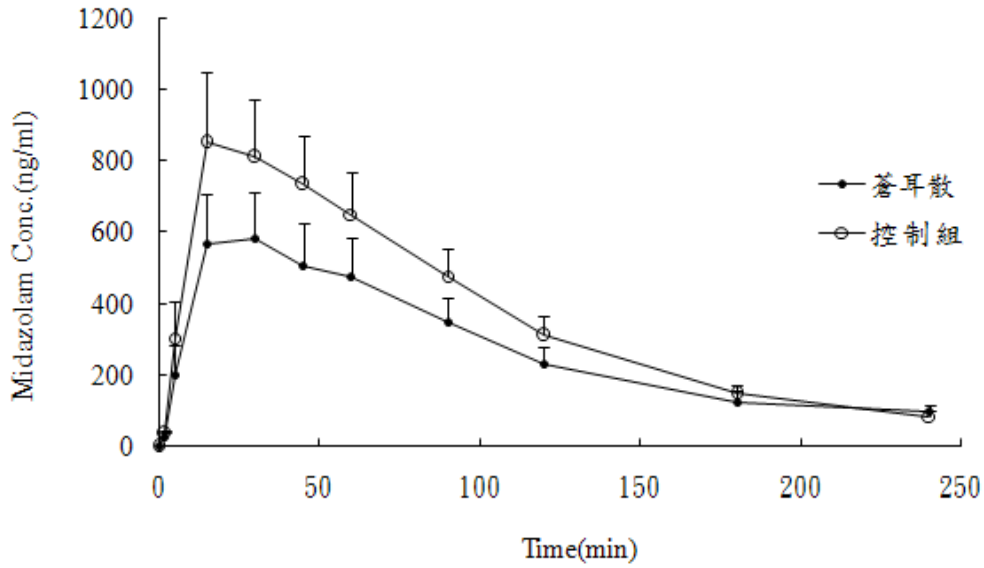
統計分析以 One-way ANOVA，事後分析以 LSD 分析



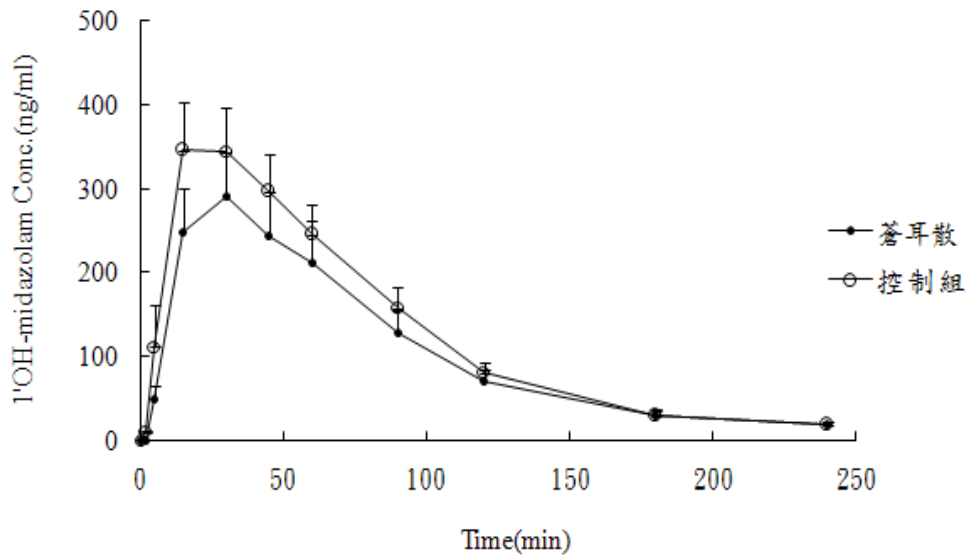
【圖 23】口服給予龍膽瀉肝湯 (n=6) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



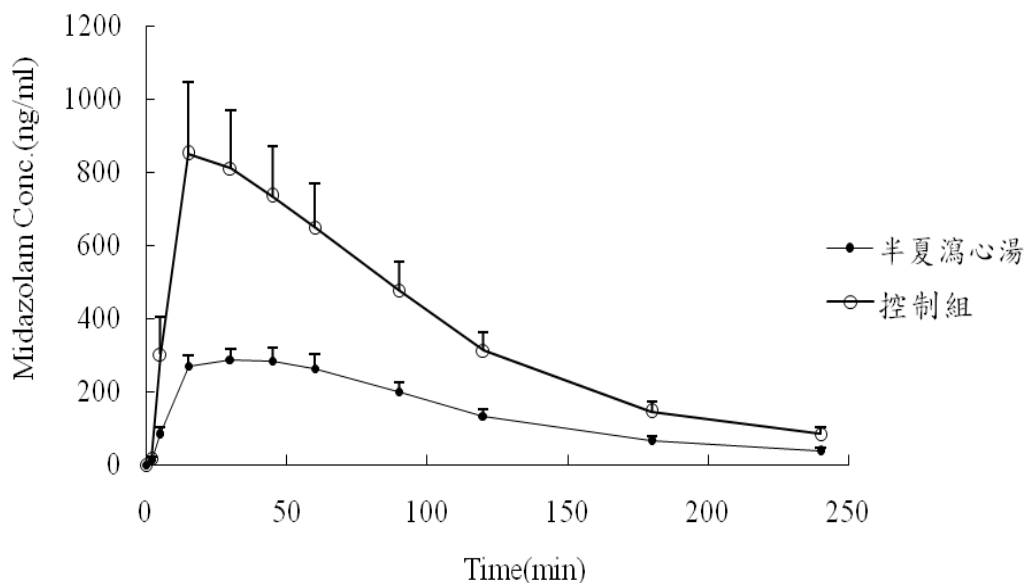
【圖 24】口服給予龍膽瀉肝湯 (n=6) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



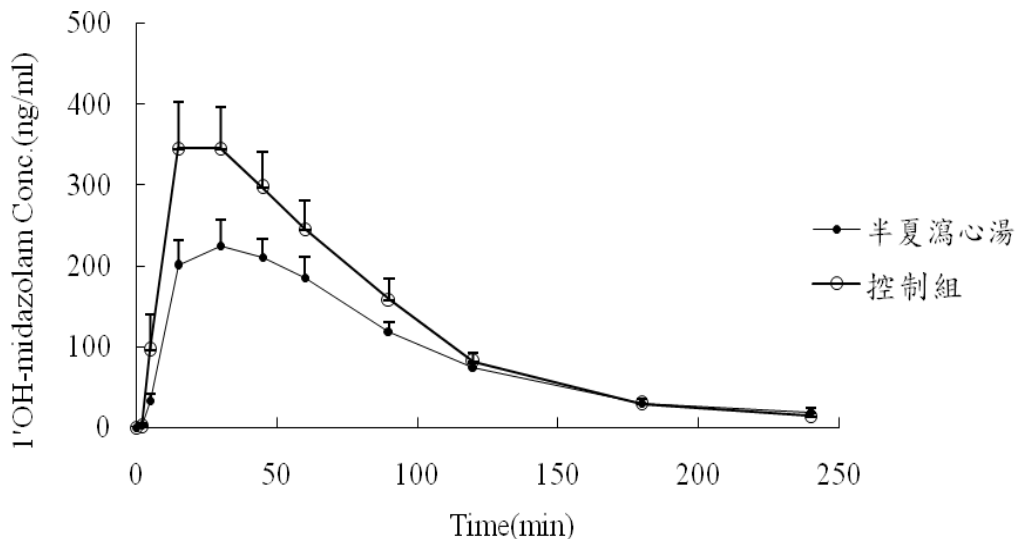
【圖 25】口服給予蒼耳散 (n=10) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



【圖 26】口服給予蒼耳散 (n=10) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。

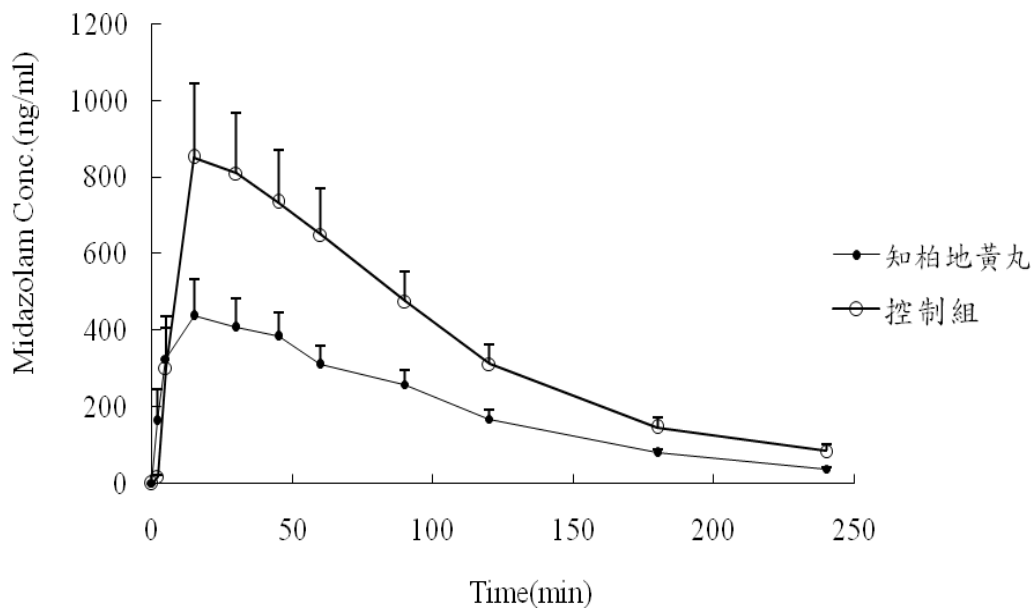


【圖 27】口服給予半夏瀉心湯 (n=6) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。

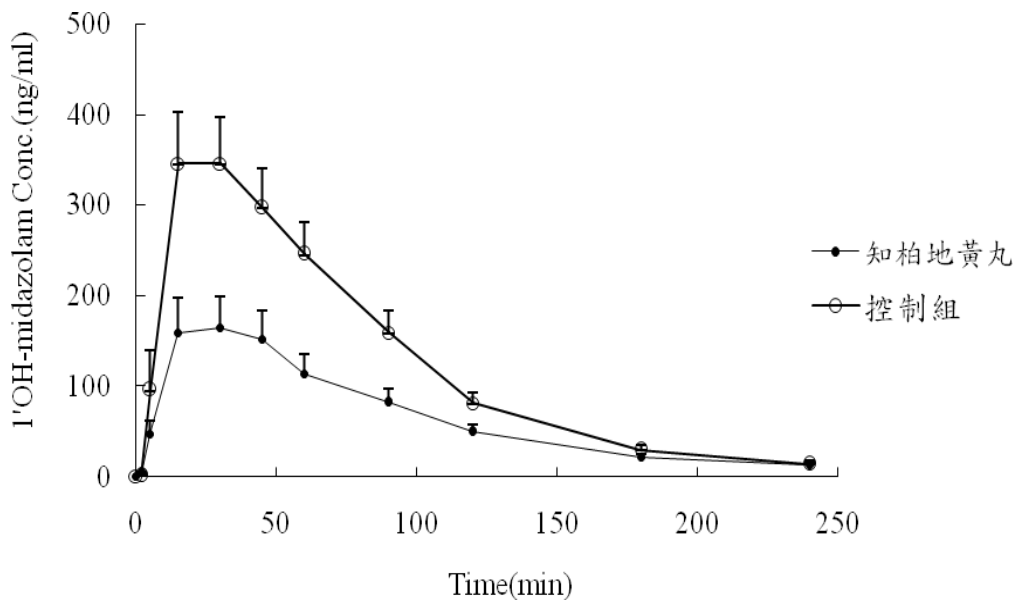


【圖 28】口服給予半夏瀉心湯 (n=6) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。

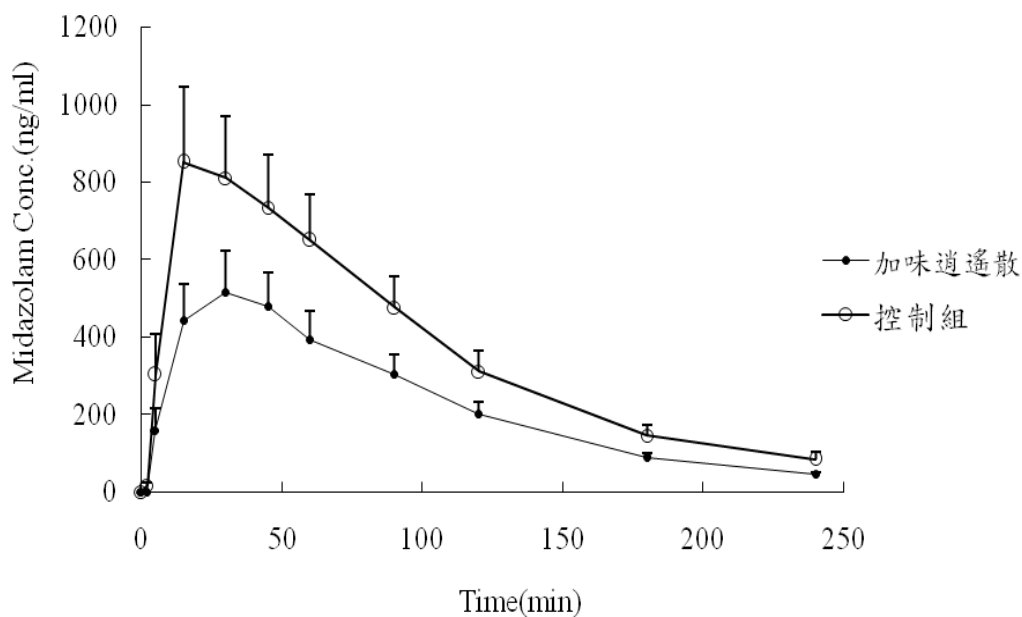




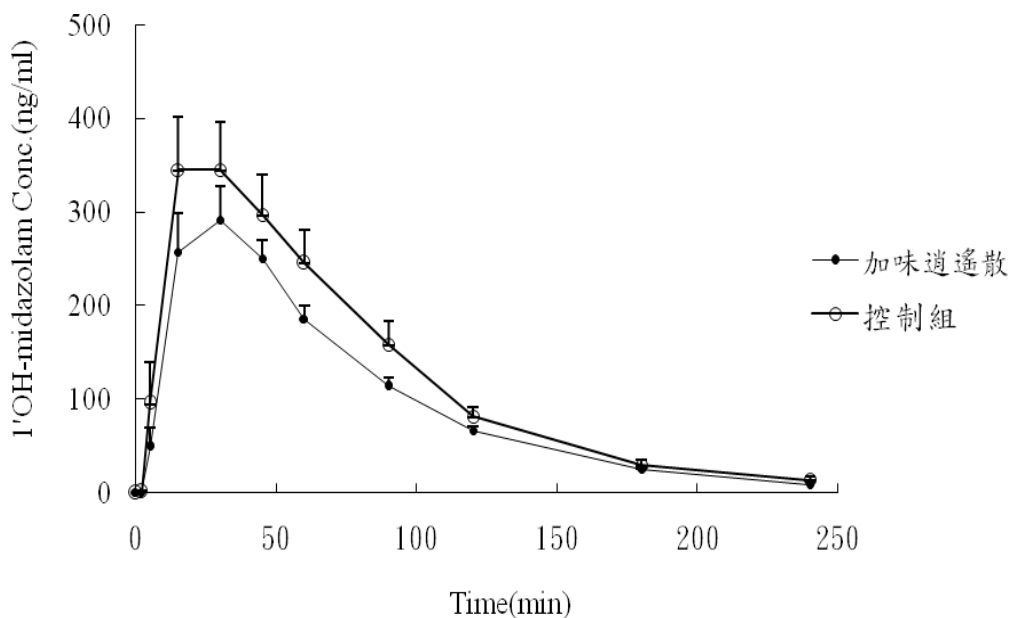
【圖 29】口服給予知柏地黃丸 (n=7) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



【圖 30】口服給予知柏地黃丸 (n=7) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



【圖 31】口服給予加味道遙散 (n=7) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) Midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。



【圖 32】口服給予加味道遙散 (n=7) 兩週後，口服給予 Midazolam 20mg/kg 與控制組 (n=12) 1'-OH-midazolam 血中濃度之比較圖 (Mean±SE)。

【表 9】大白鼠口服給予複方濃縮中藥製劑兩週後，口服給予 midazolam 20mg/kg 與控制組之 midazolam 藥物動力學參數之比較 (Mean±SD)

組別	N	$t_{1/2}$ (mins)	$T_{max}$ (mins)	$C_{max}$ (ng/ml)	$AUC_{0 \rightarrow t}$ (min*ug/ml)	$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (min*ug/ml)	Cl/F (ml/min/kg)
控制組	12	63.4±17.0	20±11	1086±686	101.7±54.3	111.0±59.4	243±140
龍膽瀉肝湯	6	55.8±7.9	28±20	919±607	94.5±64.3	100.5±68.0	303±204
蒼耳散	10	72.9±25.4	42±28	662±462*	66.6±41.7	77.2±46.2	460±413
半夏瀉心湯	6	65.4±29.0	35±23	325±86**	35.5±8.4**	39.6±8.9**	523±97
知柏地黃丸	7	65.5±8.8	29±30	484±243*	47.9±19.4*	50.9±20.2**	459±199
加味逍遙散	7	59.9±13.9	34±11	551±289*	55.2±24.1*	59.2±24.3*	410±213

\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$

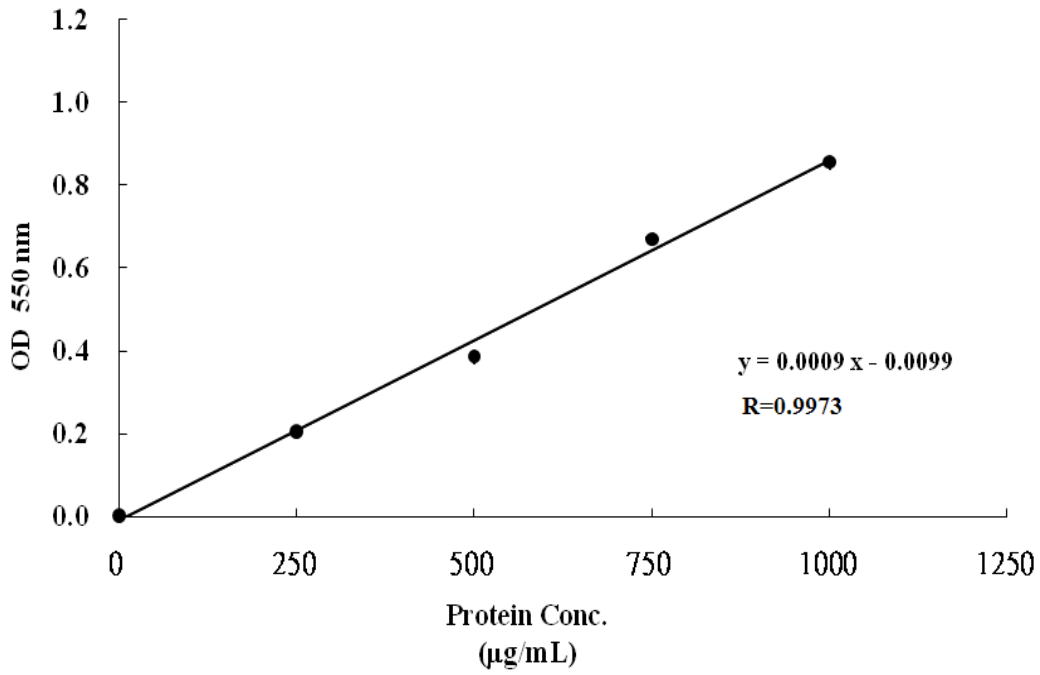
統計分析以 One-way ANOVA，事後分析以 LSD 分析

【表 10】大白鼠口服給予複方濃縮中藥製劑兩週後，口服給予 midazolam 20mg/kg 與控制組之 1'-OH-midazolam 藥物動力學參數之比較 (Mean±SD)

組別	N	$t_{1/2}$ (mins)	$T_{max}$ (mins)	$C_{max}$ (ng/ml)	$AUC_{0 \rightarrow t}$ (min*ug/ml)	$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (min*ug/ml)
控制組	12	48.9±21.0	18±8	421±171	34.2±14.5	35.6±13.5
龍膽瀉肝湯	6	44.0±10.6	25±12	373±173	29.9±12.3	30.8±12.3
蒼耳散	10	59.1±25.6	30±12	309±187	25.2±14.5	26.8±14.6
半夏瀉心湯	6	69.6±39.4	33±18	242±72*	22.0±5.3*	25.4±6.2
知柏地黃丸	7	64.2±11.9	28±10	178±95**	15.9±7.9**	17.1±8.3**
加味逍遙散	7	57.0±24.7	30±9	308±103	23.5±5.4	25.3±5.4

\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$

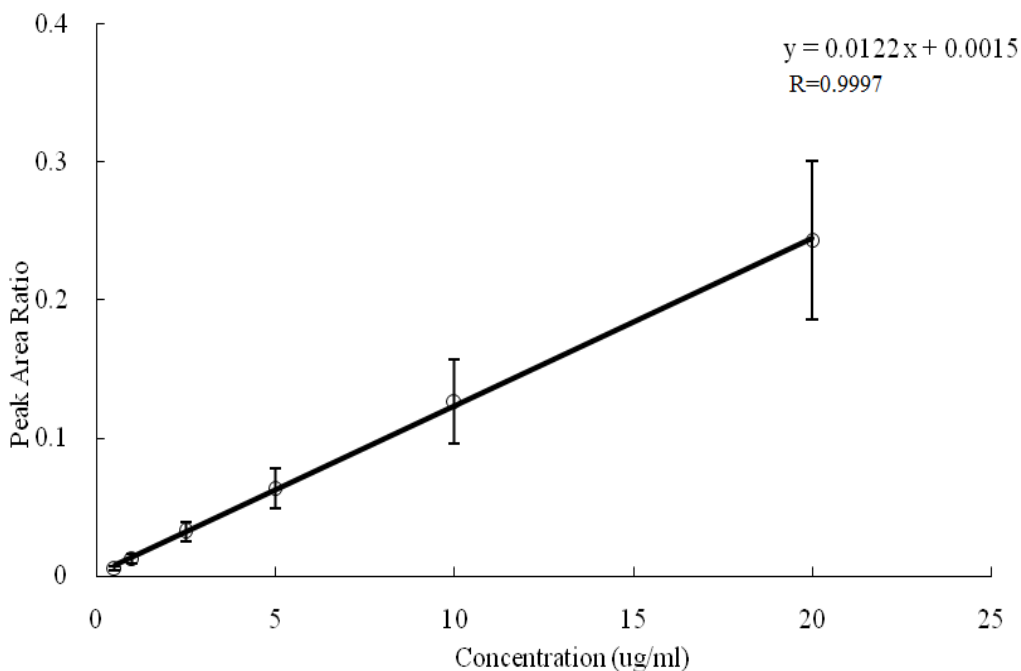
統計分析以 One-way ANOVA，事後分析以 LSD 分析



【圖 33】 蛋白質測定標準曲線 (n=3)

【表 11】 蛋白質測定標準曲線數據 (n=3)

標準品濃度 (mg/ml)	OD 550 nm Detected			Mean (mg/ml)	SD	CV
	No.1	No.2	No.3			
0	0.0027	0.0025	0.003	0.0027	0.0003	9.2
250	0.2055	0.2057	0.2058	0.2057	0.0002	0.1
500	0.3863	0.3867	0.387	0.3867	0.0004	0.1
750	0.6704	0.671	0.6714	0.6709	0.0005	0.1
1000	0.8557	0.8559	0.8562	0.8559	0.0003	0.0



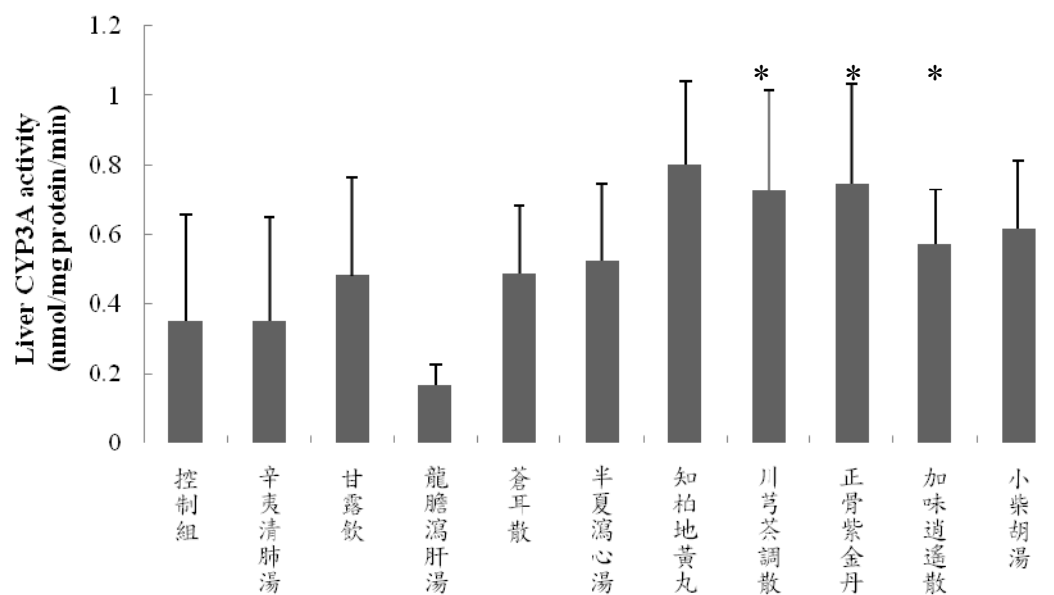
【圖 34】6β-hydroxytestosterone 於大白鼠微粒酵素懸浮液異日間 (Inter-day) 標準曲線圖(n=6)

【表 12】6β-hydroxytestosterone 於大白鼠微粒酵素懸浮液異日間 (Inter-day) 標準曲線數據(n=6)

Actual Conc. (ug/ml)	Measured concentration (ug/ml)						Mean (ug/ml)	SD	CV (%)	Accuracy (%err)
	No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.01	1.3	-1.8
1	1.0	1.0	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0	0.04	3.9	2.6
2.5	2.5	2.5	2.5	2.6	2.7	2.5	2.6	0.09	3.6	2.4
5	4.9	5.0	5.0	5.0	5.2	5.1	5.0	0.09	1.8	0.9
10	9.9	10.4	9.8	9.8	9.9	10.2	10.0	0.24	2.5	-0.1
20	19.8	18.7	19.5	19.7	18.4	19.1	19.2	0.58	3.0	-4.0

【表 13】6β-hydroxytestosterone 於大白鼠微粒酵素懸浮液異日間之品管檢品在 LC-MS-MS 分析確效驗證結果 (n=6)

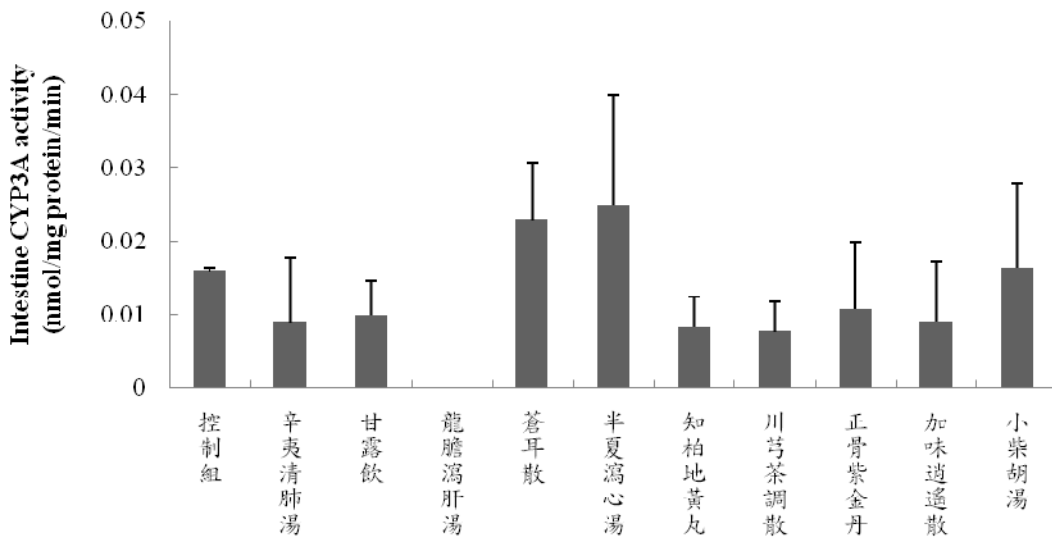
Actual Conc. (ug/ml)	Measured concentration (ug/ml)						Mean (ug/ml)	SD	CV (%)	Accuracy (%err)
	No. 1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6				
1.5	1.57	1.42	1.59	1.45	1.48	1.49	1.5	0.1	4.5	0.0
8	8.23	7.66	7.83	8.06	8.85	7.79	8.1	0.4	5.4	0.9
15	15.9	14.5	15.4	15.5	14.2	13.8	14.9	0.8	5.6	-0.8



【圖 35】大白鼠餵食複方濃縮中藥一週後，肝 CYP3A 活性與控制組之比較 (n=4~11)

\*: p<0.05

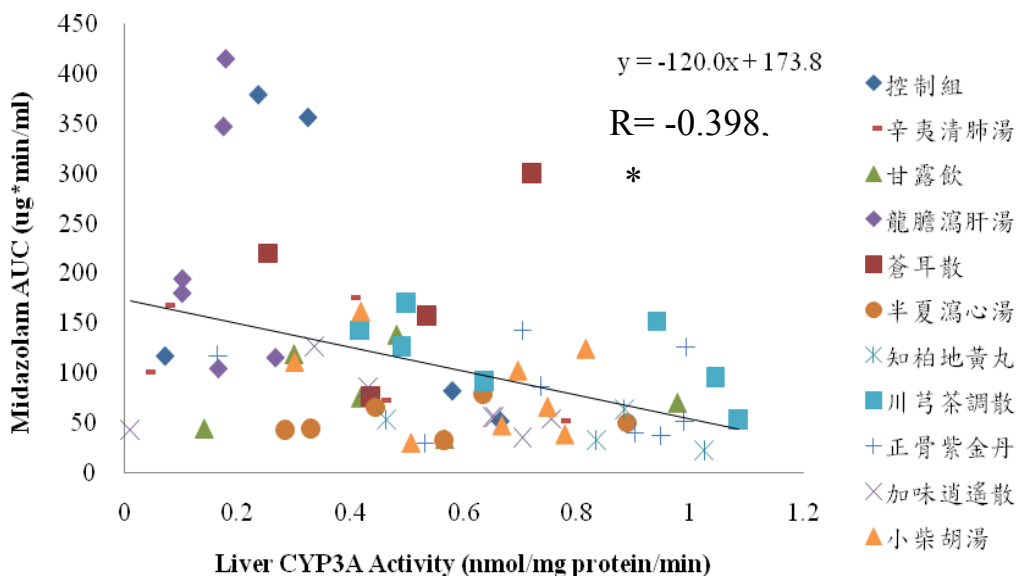
統計分析以 One-Way ANOVA 分析，事後分析以 LSD 分析



【圖 36】大白鼠餵食複方濃縮中藥一週後，腸 CYP3A 活性與控制組之比較 (n=4~8)

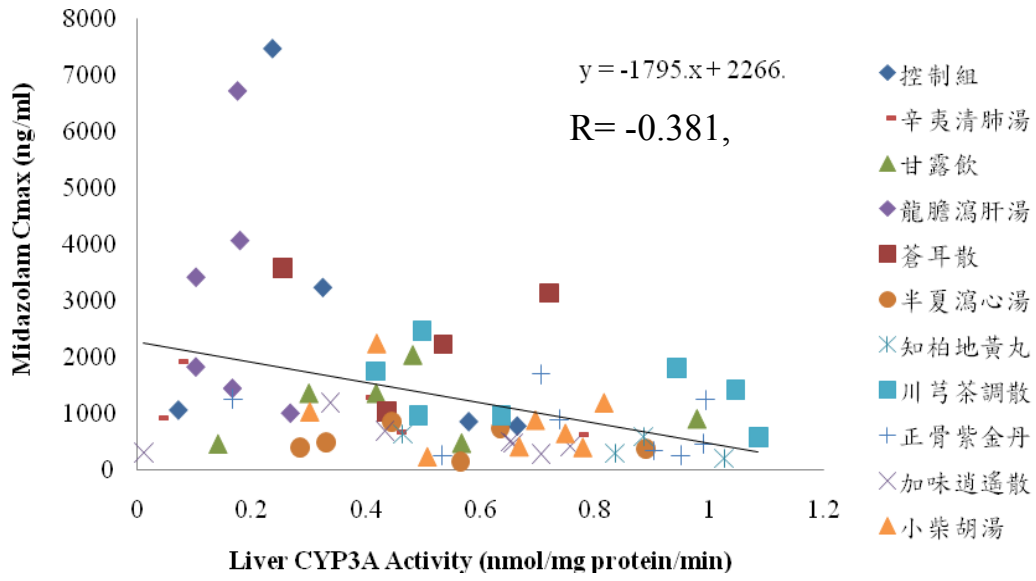
\*:p<0.05

統計分析以 One-Way ANOVA 分析，事後分析以 LSD 分析

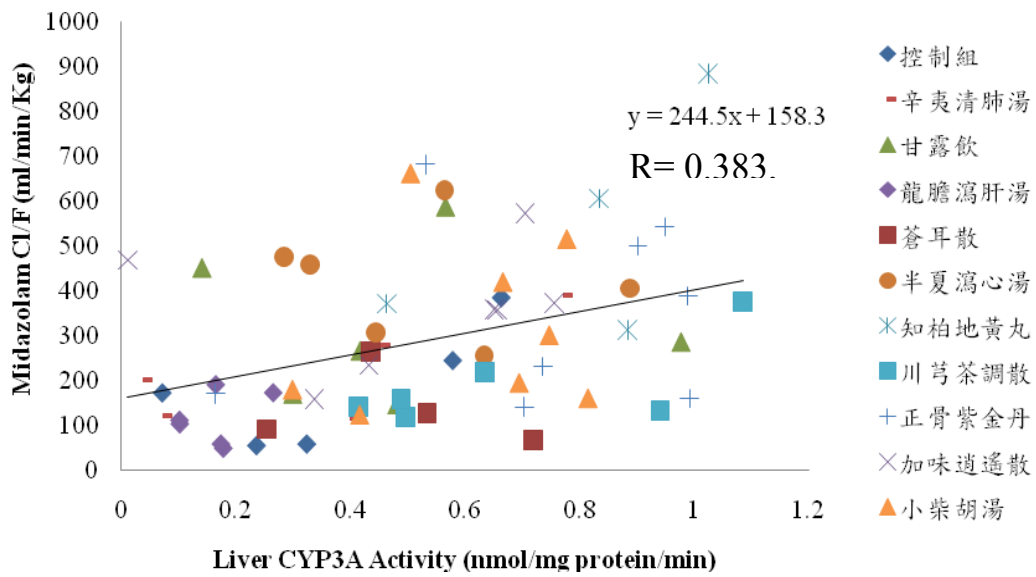


【圖 37】Midazolam 血中濃度曲線下面積與肝 CYP3A 活性關係圖

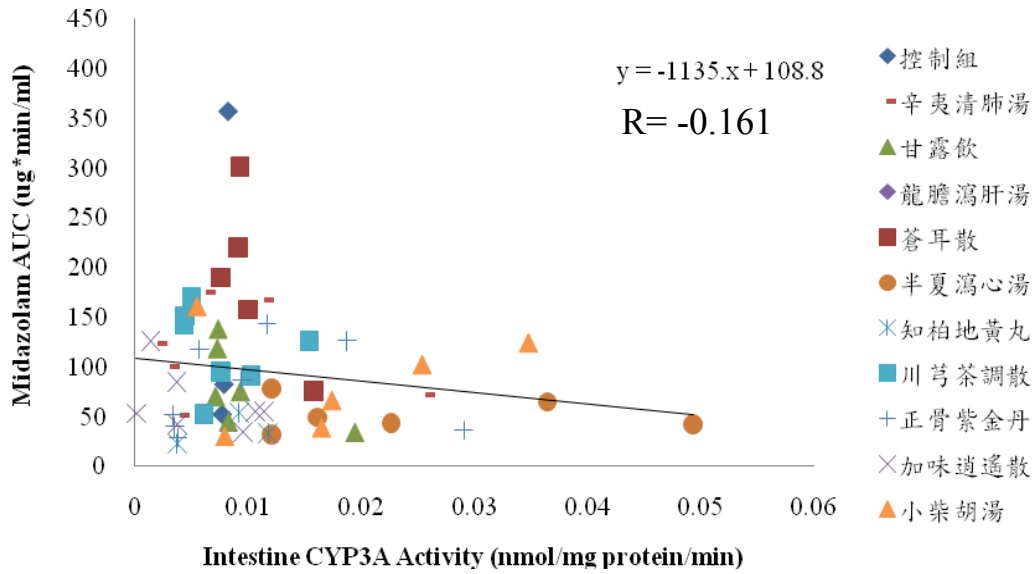




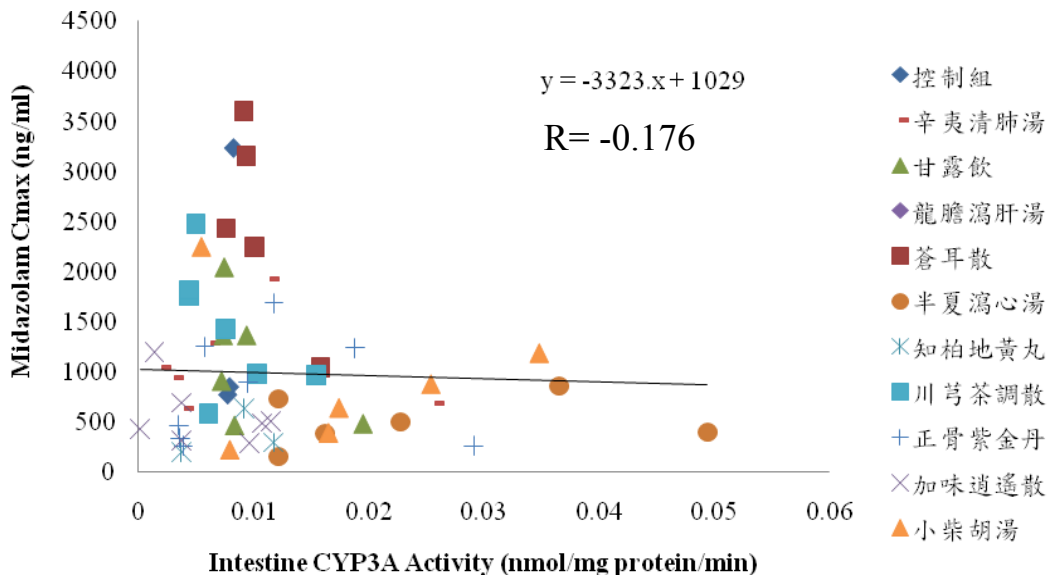
【圖 38】 Midazolam 最高血中濃度與肝 CYP3A 活性關係圖



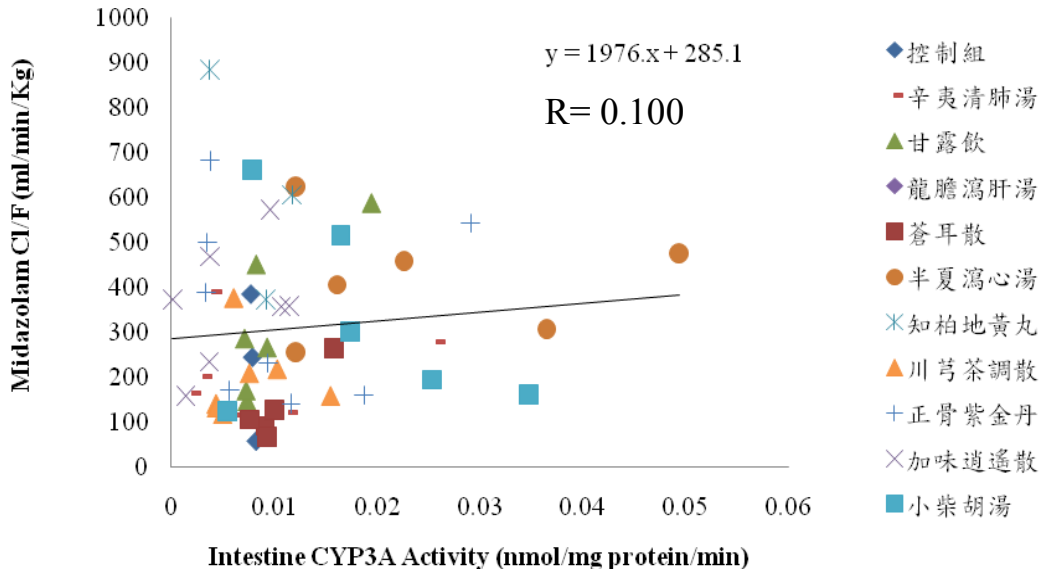
【圖 39】 Midazolam 身體清除率與肝 CYP3A 活性關係圖



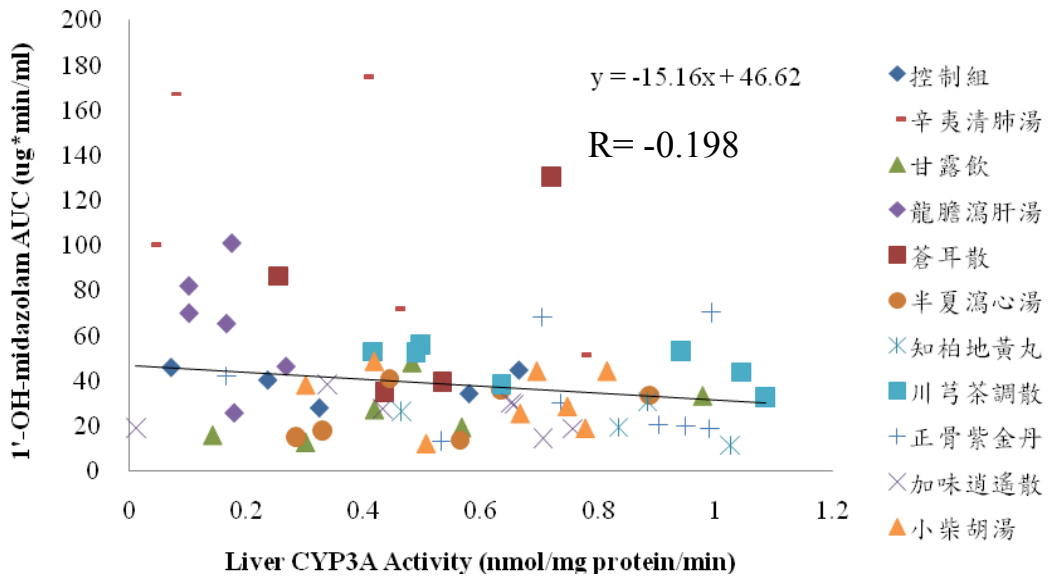
【圖 40】 Midazolam 血中濃度曲線下面積與腸 CYP3A 活性關係圖



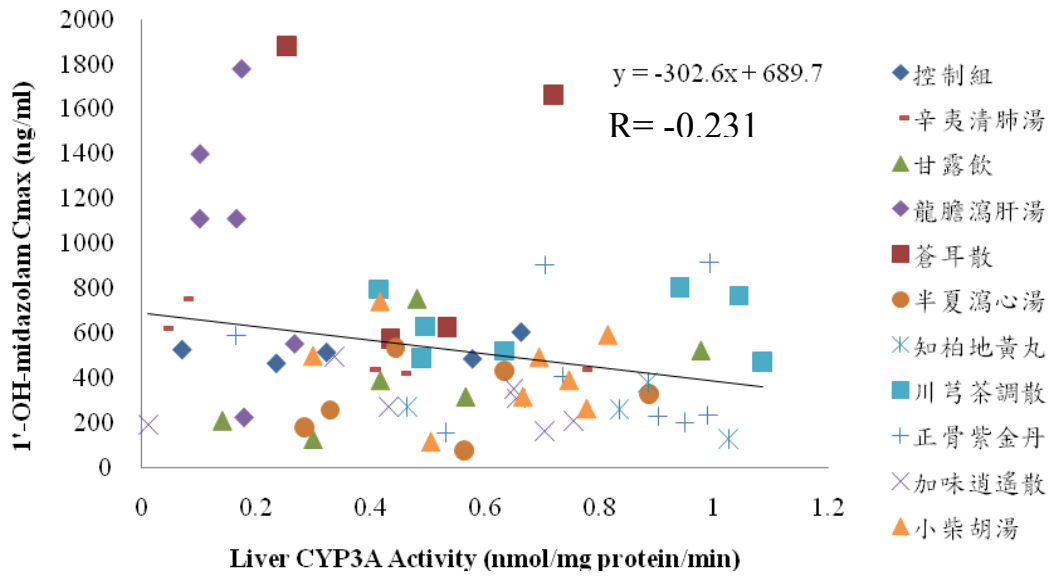
【圖 41】 Midazolam 最高血中濃度與腸 CYP3A 活性關係圖



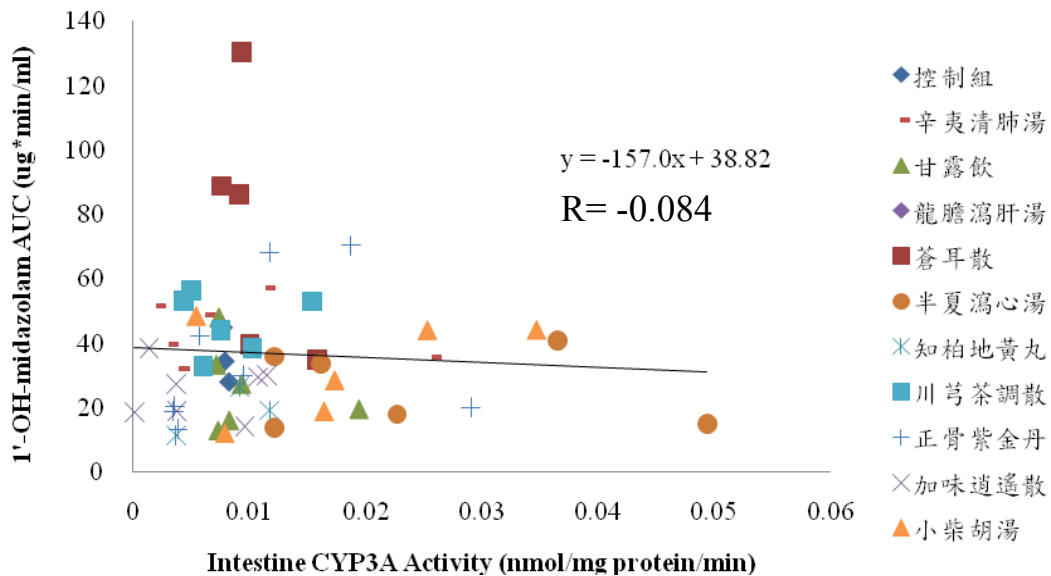
【圖 42】Midazolam 身體清除率與腸 CYP3A 活性關係圖



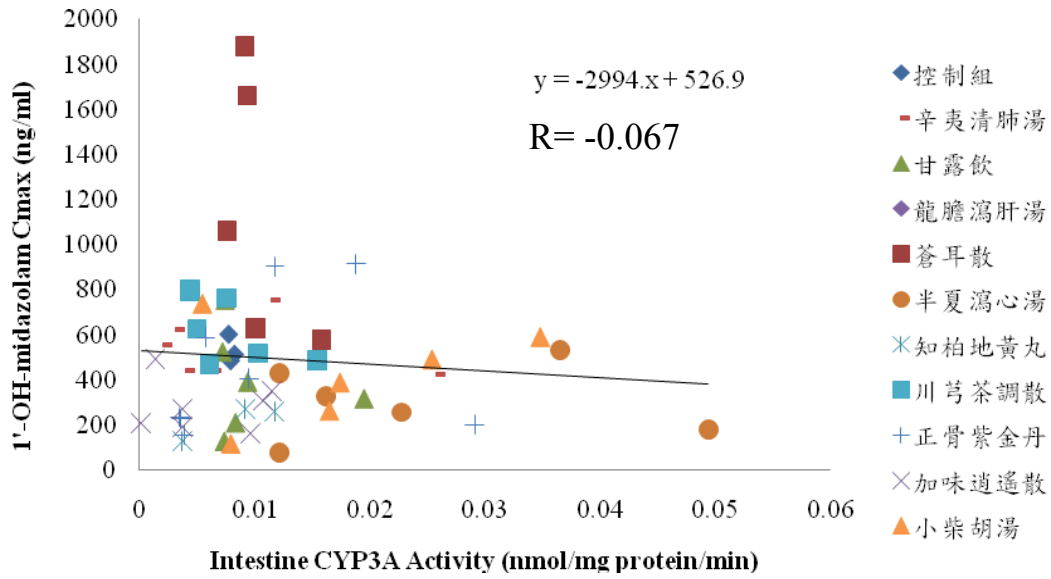
【圖 43】1'-OH-midazolam 血中濃度曲線下面積與肝 CYP3A 活性關係圖



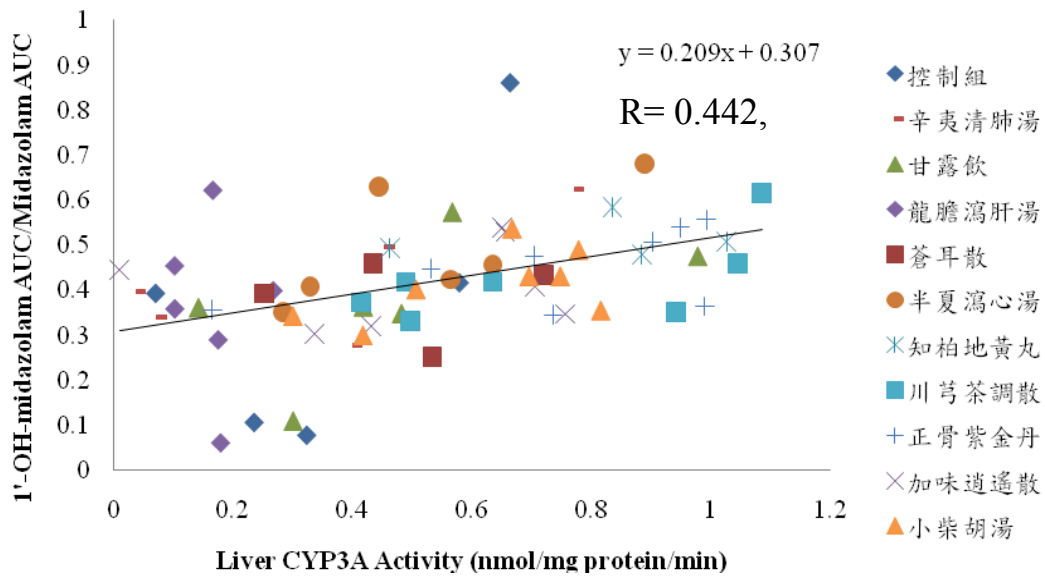
【圖 44】1'-OH-midazolam 最高血中濃度與肝 CYP3A 活性關係圖



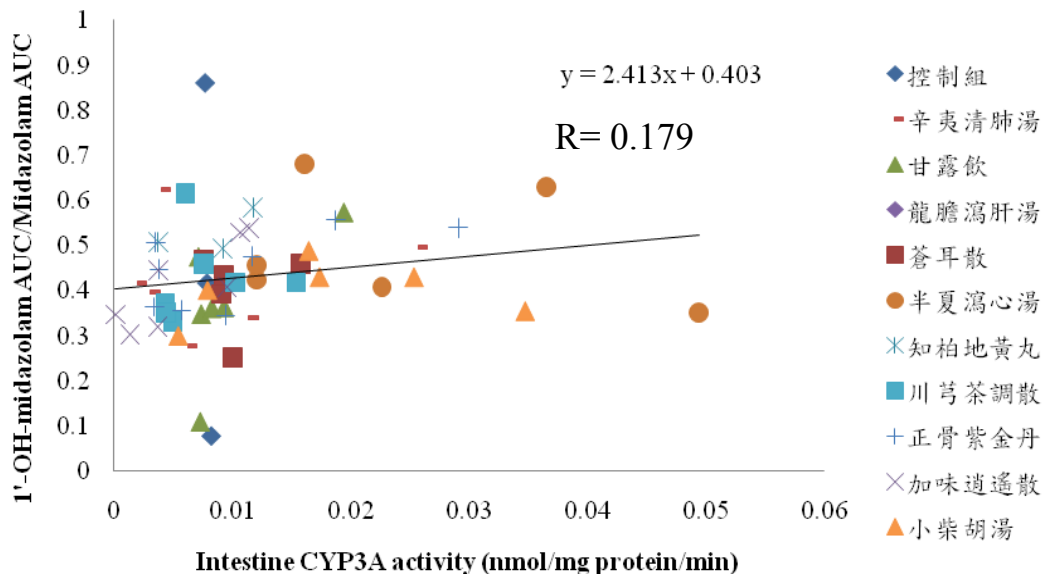
【圖 45】1'-OH-midazolam 血中濃度曲線下面積與腸 CYP3A 活性關係圖



【圖 46】1'-OH-midazolam 最高血中濃度與腸 CYP3A 活性關係



【圖 47】1'-OH-midazolam/Midazolam 血中濃度曲線下面積比與肝 CYP3A 活性關係



【圖 48】1'-OH-midazolam/Midazolam 血中濃度曲線下面積比與腸 CYP3A 活性關係