

## 第四章 結果與討論

### 一、甘草水煎劑及甘草酸於大鼠體內對環孢靈動力學之影響

本實驗未採用交叉設計，因本實驗室先前的研究發現，交叉設計給藥時，第二次環孢靈給藥後之  $C_{max}$  與  $AUC_{0-t}$  均明顯下降，且達顯著差異。所以為避免此一效應之影響，本實驗將十八隻大鼠採平行試驗法給藥，隨機分為對照組及實驗組，口服投予環孢靈及併服甘草水煎劑或甘草酸。

大鼠單服環孢靈及併服甘草水煎劑後，血液中環孢靈濃度如表 2 - 1 及 2 - 2 所示，環孢靈濃度之經時變化如圖 2 - 1 所示，二者之動力學參數比較如表 2 - 4 所示，單服環孢靈及併服甘草水煎劑後血液中環孢靈之  $C_{max}$  分別為 632.7 ng/ml 及 696.7 ng/ml， $AUC_{0-t}$  分別為 102837.7 ng•min/ml 及 74099.9 ng•min/ml，MRT 分別為 136.2 分鐘及 129.4 分鐘。本實驗結果顯示併服甘草水煎劑會略為降低環孢靈之吸收，但未達統計意義。

甘草水煎劑之主要成分為甘草酸，我們以環孢靈併服甘草酸，探討甘草酸對環孢靈動力學之影響。大鼠併服甘草酸後，血液中環孢靈濃度如表 2 - 3 所示，環孢靈濃度之經時變化如圖 2 - 1 所示，併服甘草酸後，明顯降低環孢靈之血中濃度。二者之動力學參數比較如表 2 - 4 所示，併服甘草酸後血液中環孢靈之  $C_{max}$  為 295.6 ng/ml， $AUC_{0-t}$  為 36931.5 ng•min/ml，而 MRT 為 165.9 分，其中  $C_{max}$  比單服環孢靈時降低了 53.3 % ( $p < 0.01$ )， $AUC_{0-t}$  減少了 64.1 % ( $p < 0.001$ )，MRT 延遲了 21.8 % ( $p < 0.01$ )，均達統計上之意義。由此推論，甘草酸降低環孢靈吸收的效應為甘草水煎劑中其他成分所抵消。

近來研究指出，控制環孢靈之首渡代謝有二個重要因素，口服給藥時先受腸腔表面 P-gp 排除<sup>(26-28)</sup>，未被排除者再受腸與肝之 CYP3A4 代謝<sup>(16,29)</sup>，所以我們進一步利用大白鼠離體腸段，探討甘草水煎劑及甘草酸對腸的 P-gp 功能的影響。

**Table 2-1** Blood cyclosporine concentrations (ng/ml) after oral administration of cyclosporine (2.5 mg/kg) to rats.

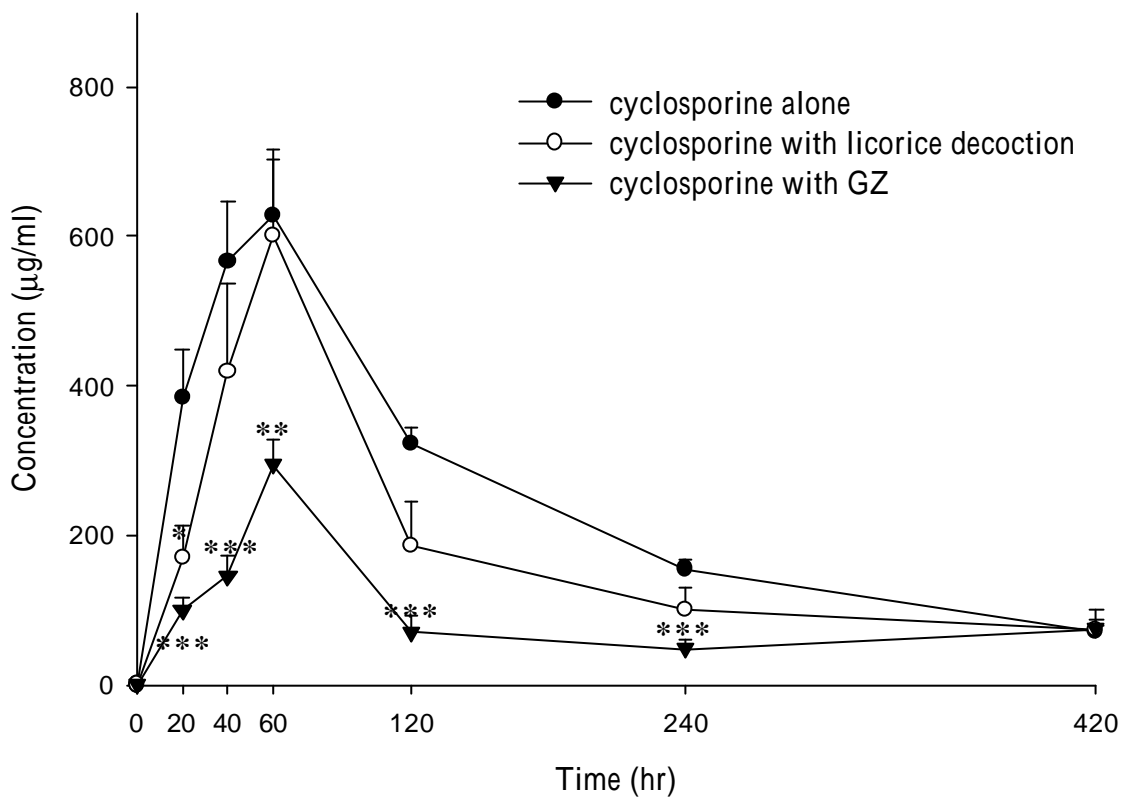
Rat	1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ S.E.
Time(min)							
20	295.8	498.6	568.9	334.2	465.1	146.8	384.9 $\pm$ 63.3
40	487.6	811.2	751.2	514.1	579.7	255.3	566.5 $\pm$ 81.6
60	595.4	782.1	790.6	627.2	685.9	286.1	627.9 $\pm$ 75.6
180	280.2	345.0	403.5	300.8	349.5	253.1	322.0 $\pm$ 22.2
300	126.6	162.8	191.1	158.8	177.8	114.2	155.2 $\pm$ 12.1
540	45.6	73.8	76.4	87.2	97.5	48.2	71.5 $\pm$ 8.5

**Table 2-2** Blood cyclosporine concentrations (ng/ml) after oral administration of cyclosporine (2.5 mg/kg) with licorice decoction (100 mg/kg GZ) to rats.

Rat	1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ S.E.
Time(min)							
20	177.6	100.7	117.6	45.8	327.3	256.6	170.9 $\pm$ 42.9
40	361.7	110.0	932.5	210.8	555.5	336.8	417.9 $\pm$ 119.9
60	980.8	329.8	358.3	369.4	831.0	736.6	601.0 $\pm$ 115.7
180	301.4	36.2	72.5	117.8	412.6	171.2	185.3 $\pm$ 59.1
300	181.5	23.7	31.0	71.3	196.3	93.8	99.6 $\pm$ 30.2
540	105.2	14.5	14.6	50.9	174.8	84.9	74.2 $\pm$ 25.1

**Table 2-3** Blood cyclosporine concentrations (ng/ml) after oral administration of cyclosporine (2.5 mg/kg) with 100 mg/kg GZ to rats.

Rat	1	2	3	4	5	6	Mean $\pm$ S.E.
Time (min)							
20	148.9	57.8	45.8	127.8	130.6	88.6	99.9 $\pm$ 17.3
40	257.5	87.5	53.9	156.3	171.7	141.2	144.7 $\pm$ 28.9
60	393.8	288.5	274.2	148.1	341.6	319.0	294.2 $\pm$ 33.9
180	159.8	26.0	22.9	82.6	81.9	54.1	71.2 $\pm$ 20.6
300	110.8	27.6	17.5	53.9	39.5	37.3	47.8 $\pm$ 13.6
540	91.8	60.6	42.3	70.4	58.6	122.8	74.4 $\pm$ 11.7



**Fig 2-1** Mean ( $\pm$ S.E.) blood concentration-time profiles of cyclosporine after oral administration of cyclosporine alone (2.5 mg/kg) and coadministration with licorice decoction (equivalent to 100 mg/kg GZ) or 100 mg/kg GZ to rats

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  compared with cyclosporine alone

**Table 2-4** Pharmacokinetic parameters of cyclosporine in rats after giving cyclosporine (2.5 mg/kg) alone and coadministration with licorice (100 mg/kg GZ) or GZ 100 mg/kg

Drug administered	Rabbits Parameters	Rabbits						Mean $\pm$ S.E.	difference
		1	2	3	4	5	6		
cyclosporine alone	T <sub>max</sub> (min)	60.0	40.0	60.0	60.0	60.0	60.0	56.7 $\pm$ 3.3	
	C <sub>max</sub> (ng/ml)	595.4	811.2	790.6	627.2	685.9	286.1	632.7 $\pm$ 77.7	
	AUC (ng•min/ml)	87791.9	119590.3	129874.3	100796.3	115240.9	63732.4	102837.7 $\pm$ 9872.5	
	MRT (min)	128.1	126.2741	129.7	142.0	140.2	150.9	136.2 $\pm$ 4.0	
cyclosporine with licorice decoction	T <sub>max</sub> (min)	60	60	40	60	60	60	56.7 $\pm$ 3.3	0%
	C <sub>max</sub> (ng/ml)	980.8	329.8	932.5	369.4	831.0	736.6	696.7 $\pm$ 115.1	10.1%
	AUC (ng•min/ml)	113837.1	25515.1	47820.2	45776.7	133199.6	78450.4	74099.9 $\pm$ 17263.0	-27.9%
	MRT (min)	144.8	106.2	85.8	149.3	155.4	134.8	129.4 $\pm$ 11.2	-5.0 %
cyclosporine with GZ	T <sub>max</sub> (min)	60.0	60.0	60.0	40.0	60.0	60.0	56.7 $\pm$ 3.3	0%
	C <sub>max</sub> (ng/ml)	393.8	288.5	274.2	156.3	341.6	319.0	295.6 $\pm$ 32.8	-53.3% **
	AUC (ng•min/ml)	63135.8	26378.5	21463.6	33459.6	38282.1	38869.2	36931.5 $\pm$ 5928.7	-64.1% ***
	MRT (min)	164.6	164.9	149.0	180.1	144.5	192.5	165.9 $\pm$ 7.4	21.8 % **

\*\*p<0.01 , \*\*\*p<0.001 compared with cyclosporine alone

## 二、甘草水煎劑及甘草酸在離體大鼠空腸、迴腸對 P-glycoprotein 功能之影響

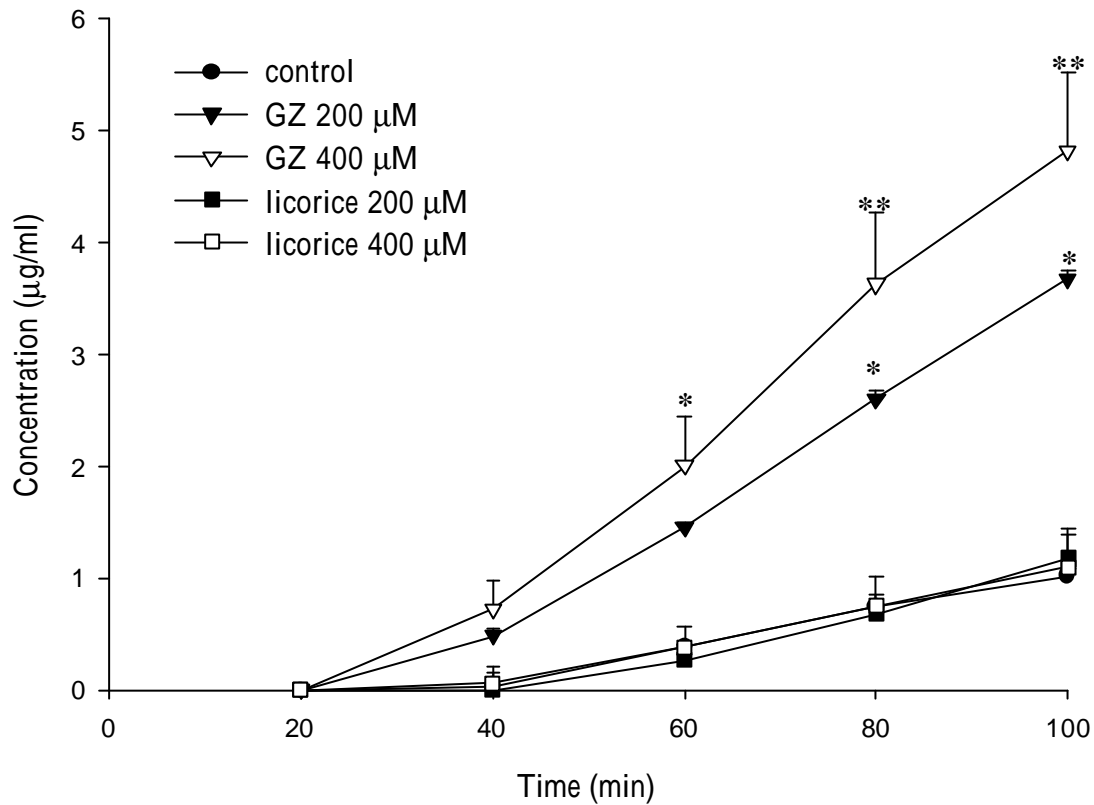
因為 rhodamine 123 為 P-gp 的專一受質，所以本實驗以 rhodamine 123 之螢光為指標，定量由漿膜層運送到黏膜層的 rhodamine 123，以了解甘草水煎劑及甘草酸對 P-gp 功能之影響。其檢量線係由螢光光譜儀偵測 19.5 - 5000.0 ng/ml rhodamine 123 之螢光強度，與各已知濃度進行線性迴歸。

甘草水煎劑及甘草酸在離體大鼠空腸對 P-gp 功能之影響，依定量 rhodamine 123 的結果如圖 2 所示，添加甘草水煎劑的 rhodamine 123 濃度曲線與對照組幾乎重疊，而添加甘草酸的 rhodamine 123 濃度較高，表示它會增加 P-gp 功能，使外排 rhodamine 123 較多。經由 ANOVA 統計分析對照組與給藥組之差異，結果顯示添加甘草水煎劑者，不論是含 200  $\mu$ M 或 400  $\mu$ M 甘草酸，均無差異；添加甘草酸者，自 80 分鐘起即有意義的促進 rhodamine 123 的外排，而較高劑量的甘草酸（400  $\mu$ M）自 60 分鐘起即造成統計上之差異。

至於甘草水煎劑及甘草酸在離體大鼠迴腸對 P-gp 功能之影響，如圖 3 所示，甘草水煎劑降低 P-gp 功能，使外排 rhodamine 123 的濃度減少，但未達統計上之意義。甘草酸可增加 P-gp 的功能，較高劑量的甘草酸（400  $\mu$ M）自 40 分鐘起即顯著促進 rhodamine 123 的外排，並具統計上之差異。結果顯示甘草酸與甘草水煎劑對 P-gp 之影響迥然不同。推測原因可能是因為甘草水煎劑為一複雜之混合物，其中除甘草酸為主要成分外，尚含許多黃酮類，而據本實驗室先前的結果顯示，黃酮類多為 P-gp 之抑制劑，所以甘草酸對 P-gp 功能的促進或許與黃酮類的抑制作用互相抵消了。

因環孢靈口服給藥時先受腸腔表面 P-gp 排除，未被排除者再受腸與肝之 CYP3A4 代謝，本實驗結果顯示甘草酸為 P-gp 之誘導劑，Paolini M. 等人之研究指出，在小鼠及大鼠之實驗中，單一劑量之甘草水煎劑（3138 或 6276 mg/kg）或甘草酸（240 或 480 mg/kg）並未影

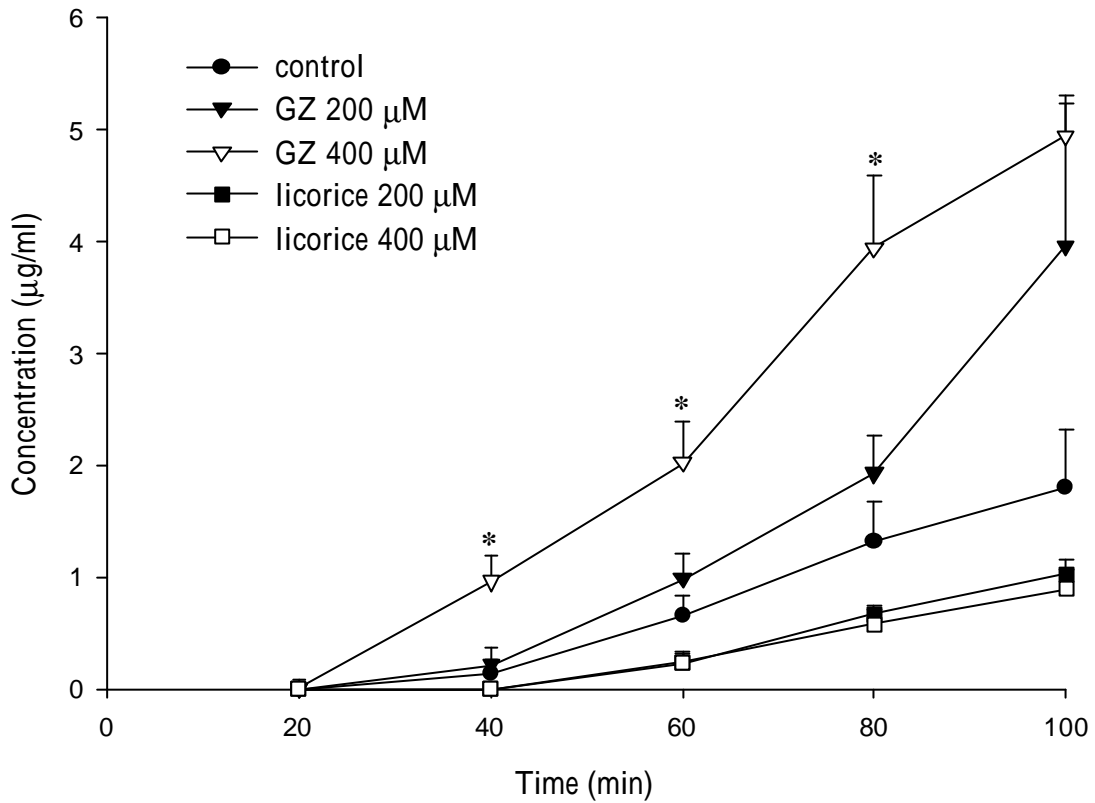
響 CYP，而當每天給藥一次，持續四天之後，不論甘草水煎劑或甘草酸均可顯著的誘導 CYP 3A<sup>(30,31)</sup>。據此推測，併服甘草酸於大鼠體內對 P-gp 之影響應快於 CYP3A，因此甘草酸使環孢靈在鼠體內的吸收顯著減少的原因，應與甘草酸誘導小腸的 P-gp 之功能，使環孢靈外排至腸腔增加有關。



**Fig. 2-2** Transport of rhodamine from serosal to mucosal surfaces across the everted jejunum in the absence or presence of licorice decoction or GZ at a concentration of 200 µM or 400 µM GZ. Each value represents the mean  $\pm$  S.E. (n = 3)

\* p<0.05, \*\* p<0.01 compared with control.





**Fig. 2-3** Transport of rhodamine from serosal to mucosal surfaces across the everted ileum in the absence or presence of licorice decoction or GZ at a concentration of 200  $\mu\text{M}$  or 400  $\mu\text{M}$ . Each value represents the mean  $\pm$  S.E. (n = 3)

\*  $p < 0.05$  compared with control.