

第四章 結果與討論

一、 橙皮苷元於大白鼠體內之代謝動力學

本研究利用 HPLC 方法，定量血清中之 hesperetin、hesperetin sulfates 及 hesperetin glucuronides。由於無法取得此兩種結合態代謝物之標準品，因而將血清檢品以 sulfatase 及 β -glucuronidase 分別水解成 hesperetin，再以 HPLC 測定。水解最適時間的決定，係經過 0.5、1、2、4 及 6 小時等各種不同水解時間的預試驗，結果顯示反應 2 小時已能完全水解 sulfates、glucuronides，因此本實驗血清檢品之水解反應時間均採 2 小時。

血清酶解前及酶解後利用分配原理，用乙酸乙酯萃取血清中之 hesperetin 及自 hesperetin sulfates、glucuronides 酶解釋出之 hesperetin。所採用之 HPLC 系統以 0.1 % 磷酸與氬甲烷之混合液為移動相，每一血清檢品可於 15 分鐘內完成 HPLC 分析，方法簡易而快速。層析圖如 Fig. 1-1 所示。

分析血清中橙皮苷元濃度之檢量線係以 hesperetin 與內標準波峰面積比值為 y 軸，hesperetin 濃度為 x 軸，經線性迴歸求得檢量線方程式。Hesperetin 之檢量線方程式為 $y = 1.126 x - 0.768$ ($r = 0.999$)，

hesperetin 濃度在 0.4 $\mu\text{g/mL}$ 至 100.0 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍有良好線性關係。分析方法之精密度 (precision) 及準確度 (accuracy) 如 Table 1-1 所示。同日內和異日間之變異係數 (coefficient of variation) 分別小於 9.4 % 及 9.7 %。血清中 hesperetin 之回收率 (recovery) 為 97.0~104.4 %，如 Table 1-2 所示。結果顯示分析系統之精密度、準確度及回收率皆良好。最低定量極限 (LLOQ) 為 0.4 $\mu\text{g/mL}$ ，可偵測極限 (LOD) 為 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 。

本研究以靜脈注射及口服兩種途徑給予 hesperetin。經由靜脈注射(10 mg/kg)給藥後，其血清中 hesperetin 及 hesperetin sulfates、glucuronides 之濃度如 Table 1-3~5 所示，平均濃度經時變化圖，如 Fig.1-2 所示。利用 WINNONLIN 等軟體求出有關 hesperetin 之藥物動力學參數。以非室模式計算出 hesperetin、hesperetin sulfates 及 glucuronides 之排除半衰期分別為 25.7 ± 4.6 、 174.7 ± 31.9 及 193.9 ± 45.4 min；分布體積分別為 1.6 ± 0.3 、 2.5 ± 0.4 及 3.4 ± 0.6 L；血藥面積分別為 284.5 ± 20.7 、 1171.0 ± 140.2 及 683.9 ± 105.5 nmol min/mL；全身清除率分別為 45.2 ± 3.4 、 9.3 ± 0.8 及 17.6 ± 4.8 mL/min；平均滯留時間分別為 17.5 ± 2.2 、 108.3 ± 15.9 及 90.6 ± 9.0 min，如 Table 1-6~8 所示。Hesperetin sulfates 之平均血藥面積

為 hesperetin 之 4.1 倍，而 glucuronides 為 hesperetin 之 2.4 倍。Hesperetin sulfates、glucuronides 之暴露明顯高於其原形分子，顯示 hesperetin 在體內受到顯著之代謝，主要以結合態代謝物形式存在於全身體循環中。

大白鼠口服 hesperetin 50 mg/kg，其血清中 hesperetin 及 hesperetin sulfates、glucuronides 之濃度如 Table 1-9~10 所示，平均濃度經時變化圖，如 Fig.1-3 所示。各大白鼠間有明顯之個體差異，hesperetin 原形分子之濃度低於最低定量濃度(LLOQ)。Hesperetin sulfates、glucuronides 為主要循環於體中之分子，顯示 hesperetin 在小腸中吸收之同時亦被代謝^[97]。Hesperetin sulfates、glucuronides 之藥物動力學參數，如 Table1-11~12 所示。Hesperetin sulfates、glucuronides 之平均排除半衰期分別為 594.2 ± 64.2 、 1131.8 ± 224.5 min；血中最高濃度分別為 10.6 ± 2.6 、 5.5 ± 1.3 nmol/mL；血藥面積分別為 2.8 ± 0.2 、 2.1 ± 0.1 $\mu\text{mol min/mL}$ ；平均滯留時間分別為 307.0 ± 12.3 、 333.4 ± 7.8 min。

本研究室先前曾經以家兔口服與靜脈注射 hesperetin^[98]，以混合酶 β -glucuronidase/sulfatase 水解血清檢品，本實驗改以大鼠為模型，且分別以 glucuronidase 與 sulfatase 兩種酶水解取代原先兩者之

混合酶水解，以分別定量此兩種結合態代謝物。比較兩研究結果顯示，大鼠的血藥面積、排除半衰期及平均滯留時間皆大於家兔。探究其原因可能是以混合酶水解時，其中硫酸酶含量較低，可能不足以完全水解 sulfate conjugates 而造成低估，但也有可能是不同動物間的差異。無論於大鼠或家兔靜脈注射或口服給予 hesperetin，其原形分子之濃度皆遠低於其結合態代謝物，顯示 hesperetin 於血中主要以結合態代謝物之形式存在。近年來本研究室發現，黃酮類化合物之硫酸結合態代謝物在體內之血中濃度常高於葡萄糖醛酸結合態代謝物，可見硫酸結合態代謝物為黃酮類極重要之代謝物。所以進行體外試驗時，除了 hesperetin 原形藥以外，更應注意此類結合態代謝物之藥理活性，讓體外試驗能更接近體內真正作用的分子狀態，才能真正瞭解 hesperetin 真實的藥理活性與機制。

另外 hesperetin 口服吸收率之計算，係以口服給藥後之結合態代謝物血藥面積之總和，與靜脈注射給藥後原形藥與結合態代謝物血藥面積之總和相比，再經劑量校正後求得口服吸收率為 45.2 %。

計算公式如下所示：

$$\text{Absorption rate} = \frac{\text{AUC}_{(\text{hesperetin}+\text{conjugates}) \text{ po}}}{\text{AUC}_{(\text{hesperetin}+\text{conjugates}) \text{ iv}}} \times \frac{\text{Dose}_{\text{iv}}}{\text{Dose}_{\text{po}}} \times 100 \%$$

二、 橙皮苷於大白鼠體內之代謝動力學

三隻大白鼠口服 hesperidin (101 mg/kg) 並採集血液，以 sulfatase 或 glucuronidase 分別水解前後，經 HPLC 分析，結果並未偵測到 hesperidin，hesperetin 或其結合態代謝物之血中濃度。此一結果與本研究室先前以家兔為實驗模式之結果相符，推測 hesperidin 不吸收的原因可能因它難溶於水，因此口服後於胃腸道之溶離度太低所致。

三、柳橙汁黃酮於人體之尿藥代謝動力學

(一) 柳橙汁中 hesperidin、narirutin 之定量

為進行柳橙汁於人體吸收之實驗，須先瞭解柳橙汁中橙皮苷與柚皮芸香苷等黃酮之含量，因此本研究開發 HPLC 方法分析柳橙汁中之 hesperidin、narirutin、naringin、naringenin、hesperetin 之含量，以氫甲烷與水 (22:78) 混合液為移動相，以 6,7-dimethoxycoumarin 為內標，每一檢品可於 25 分鐘內完成分析。結果發現柳橙汁中未含 naringin、naringenin、hesperetin，僅有 hesperidin 與 narirutin 存在，層析圖如 Fig. 3-1 所示。分析柳橙汁檢品之 hesperidin 檢量線方程式為 $y = 0.140x - 0.047$ ($r = 0.999$)、narirutin 檢量線方程式為 $y = 0.069x - 0.001$ ($r = 0.999$)，顯示 hesperidin、narirutin 兩者濃度在 $0.8 \mu\text{g/mL}$ 至 $50.0 \mu\text{g/mL}$ 之範圍內皆有良好線性關係。分析方法之確效顯示精密度 (precision) 及準確度 (accuracy) 皆佳，如 Table 3-1~2 所示。Hesperidin 同日內和異日間之變異係數 (coefficient of variation) 分別小於 1.9 % 及 1.8 %；narirutin 同日內和異日間之變異係數 (coefficient of variation) 分別小於 4.0 % 及 4.4 %。柳橙汁中 hesperidin 及 narirutin 回收率 (recovery) 分別為 94.3~97.2 % 及 98.2~104.3 %，如 Table 3-3 ~ 4 所示。結果顯示分析系統之回收率良好。另外，可定量

極限 (LLOQ) 為 0.8 $\mu\text{g/mL}$ ，最低偵測極限 (LOD) 為 0.03 $\mu\text{g/mL}$ 。

定量結果顯示柳橙汁中 hesperidin 含量為 28.5 $\mu\text{g/mL}$ ，naringin 含量為 6.1 $\mu\text{g/mL}$ 。

(二) 柳橙汁黃酮於健康自願者之尿藥動力學

為瞭解國人飲用柳橙汁後黃酮成分於體內之動態，我們徵求健康自願者以非侵入性的尿藥動力學探討飲用柳橙汁後，黃酮成分於尿中之動態。本研究先將尿液檢品分別以 sulfatase 與 glucuronidase 水解，將其中之 hesperetin sulfates 及 hesperetin glucuronides 酶解成 hesperetin；同時亦將 naringenin sulfates 及 naringenin glucuronides 酶解成 naringenin，水解物以鹽酸酸化後，再利用分配原理，用乙酸乙酯分別萃取 hesperetin 及 naringenin。再用本研究室開發的 HPLC 法定量尿液中之 hesperetin 與 naringenin 以 0.1 % 磷酸/氬甲烷/甲醇 (17:26:57) 之混合液為移動相。移動相採用三種溶媒混合的原因，乃因為 hesperetin 與 naringenin 之滯留時間極相近，若只用 0.1 % 磷酸與氬甲烷或甲醇，皆無法將 hesperetin 和 naringenin 成功分離，因此採用 0.1 % 磷酸/氬甲烷/甲醇之混合液為移動相。每一尿液檢品可於 25 分鐘內完成 hesperetin、naringenin 與內標 6,7-dimethoxycoumarin 之分離，方法簡易而快速，層析圖如 Fig. 3-2

所示。

分析尿液檢品之 hesperetin 檢量線方程式為 $y = 0.715 x + 0.186$ ($r=0.999$)、naringenin 檢量線方程式為 $y = 0.617 x + 0.043$ ($r=0.999$)，結果顯示 hesperetin、naringenin 濃度皆在 $0.8 \mu\text{g/mL}$ 至 $50.0 \mu\text{g/mL}$ 之範圍內有良好線性關係。分析方法之確效結果顯示，精密度 (precision) 及準確度 (accuracy)，如 Table 3-5、Table 3-6 所示。Hesperetin 同日內和異日間之變異係數 (coefficient of variation) 分別小於 9.3 % 及 9.1 %；naringenin 同日內和異日間之變異係數 (coefficient of variation) 分別小於 9.4 % 及 8.6 %。尿液中 hesperetin 及 naringenin 回收率 (recovery) 分別為 94.2~101.4 %；95.5~100.8 % 如 Table 3-7~8 所示。此結果顯示分析系統之精密度、準確度及回收率皆良好。另外，hesperetin、naringenin 之定量極限 (LLOQ) 皆為 $0.8 \mu\text{g/mL}$ ，最低偵測極限 (LOD) 分別為 $0.03 \mu\text{g/mL}$ 及 $0.04 \mu\text{g/mL}$ 。

本研究所用之 HPLC 方法相較於先前的研究^[99]更為簡便、迅速，水解時間由 17 小時縮短為 2 小時，而且本實驗尿液分別使用 sulfatase 及 glucuronidase 水解，比起前人以單一酶水解，可進一步了解 sulfates 與 glucuronides 二種結合態代謝物之存在比例及個別之體內動態。在收集尿液方面，與先前研究相較，時間分段更細，可詳細觀

察體內各時段的吸收代謝。

(三) 柳橙汁黃酮於人體之尿藥動力學

柳橙中富含 hesperidin、narirutin 等黃酮類配醣體。本研究之尿藥動力學發現柳橙汁黃酮於體內分別轉化成 hesperetin 與 naringenin 之結合態代謝物，不但無配醣體之原形，亦無其苷元出現於血中，此與大鼠口服 hesperetin 與兔子口服 naringenin^[107]後血中之代謝物現象一致。

十一位受試者飲用柳橙汁後之 hesperetin sulfates、glucuronides 及 naringenin sulfates、glucuronides 之個別累積排出量佔劑量之百分比(% of dose)，如 Fig. 3-5~6 所示。累積排出量 (μmol)，如 Fig. 3-3~4 所示。每時段之排出量 (μmol)，如 Table 3-9~12 所示。平均累積排出量佔劑量之百分比 (% of dose)，如 Fig. 3-7~8 所示。每小時平均之排出量佔劑量之百分比 (% of dose/h)，如 Table 3-13~3-16 及 Fig. 3-9 所示。

Hesperetin sulfates 及 glucuronides 之半生期皆為 2.9 小時，排除率各為 3.0 % 及 0.9 % ；naringenin sulfates 及 glucuronides 之半生期皆為 1.8 小時，排除率各為 2.2 % 及 0.3 % ，結果如 Table 3-17 所示。與本實驗室先前所得陳皮水煎劑中 hesperetin 結合態代謝物之排除

率 (4.5%)，差異不大。國人飲用柳橙汁之排除率(3.9%) 與西方人 (5.3%) 相比，相去不遠。

有研究指出，人體每日飲用 750 mL 柳橙汁對於輕度到中度的高
血脂病患具有降血脂的效用，長期服用下可以提高約 27% HDL ^[100]。
因此柳橙汁應該是一個價廉又健康的飲品。本研究採用台灣本土出產
的柳橙，本結果對國人飲用柳橙汁後黃酮成分於體內動態可提供重要
的參考資訊。整體而言，hesperetin 於人體之吸收，個體間的差異相
當大，但無太大之種族差異。

四、大黃、黃芩水煎劑於大白鼠對 Methotrexate 動力學之影響

(一) 大黃、黃芩水煎劑檢品中多酚成分之定量

本研究利用 HPLC 方法定量大黃水煎劑中 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol 之含量，由於四種有效成分之極性相差頗大，所以採用梯度沖提的方式，波峰分離效果良好，水煎劑於酸水解前及後定量 aloe-emodin、rhein、emodin 及 chrysophanol，結果非醣體含量分別為 128.4、904.2、190.3、62.8 $\mu\text{g/g}$ ；配醣體含量分別為 323.1、1460.7、317.3、231.0 $\mu\text{g/g}$ 。黃芩水煎劑中 baicalin、baicalein、wogonoside、wogonin 之含量分別為 32.3、2.7、2.9、1.1 mg/g 。

(二) 大黃水煎劑對 MTX 動力學之影響

本研究以大白鼠為模型，探討大黃水煎劑對 MTX 動力學之影響，於第一次實驗時，以交叉設計給藥，然而併服大黃與 MTX 組，有多隻大白鼠於給藥後第 5~9 天間陸續死亡，無法再進行第二次的交叉試驗。因此本實驗改採平行設計重新進行。

1. 大黃對口服 MTX 動力學之影響

口服 MTX (5.0 mg/kg)及分別併服 2 g/kg 與 1 g/kg 大黃水煎劑後，其血中濃度經時變化如 Fig. 4-1 所示，血中 MTX 之濃度如 Table 4-1~3 所示。單服 MTX 之平均血藥面積為 $45.85 \pm 5.35 \mu\text{mol} \cdot \text{min}/\text{L}$ ，平均血峰濃度為 $0.23 \pm 0.02 \mu\text{mol}/\text{L}$ ，平均滯留時間為 $270.44 \pm 51.62 \text{ min}$ ；併服大黃 2 g/kg 之 MTX 平均血藥面積為 $188.54 \pm 27.54 \mu\text{mol} \cdot \text{min}/\text{L}$ ，平均血峰濃度為 $0.15 \pm 0.03 \mu\text{mol}/\text{L}$ ，平均滯留時間為 $977.56 \pm 81.92 \text{ min}$ ；併服大黃 1 g/kg 之 MTX 平均血藥面積為 $222.93 \pm 18.01 \mu\text{mol} \cdot \text{min}/\text{L}$ ，平均血峰濃度為 $0.21 \pm 0.03 \mu\text{mol}/\text{L}$ ，平均滯留時間為 $1184.27 \pm 83.85 \text{ min}$ ，如 Table 4-4~6 所示。

比較動力學參數結果顯示，併服 2 g/kg 大黃之 MTX 之血藥面積顯著增加了 295.9%，血峰濃度顯著減少了 33.3%，滯留時間顯著增加了 261.5%；併服 1 g/kg 大黃之 MTX 血藥面積顯著增加了 386.2%，滯留時間顯著增加了 337.9%，如 Table 4-7 所示。在併服兩種劑量的大黃水煎劑後，血藥面積與滯留時間之增加皆達到顯著差異，但血峰濃度之下降，僅於併服高劑量大黃時達到統計意義。AUC₀₋₁₂₀之比較顯示，高劑量大黃對 MTX 之早期暴露有顯著降低的現象，顯示高劑量大黃對 MTX 之吸收有抑制作用，低劑量大黃對 MTX 之吸收則未達顯著影響。比較兩種劑量的效應顯示，高劑量大黃對 MTX 血藥面積的增加程度顯著低於低劑量，這個與劑量

成反比的交互作用，可能因為高劑量大黃對 MTX 吸收之抑制，而低劑量大黃對 MTX 之吸收無影響所導致。

另外，經由每日觀察大白鼠的健康狀況，發現有部分腹瀉且豎毛，繼而於第5~9天陸續死亡，顯示大黃與 MTX 產生嚴重的交互作用。單獨口服 MTX 組，無大鼠死亡；併服大黃1 g/kg 組之死亡率為12.5% (1/8, 8隻中有1隻於第6天死亡)；併服大黃2 g/kg 組之死亡率為37.5% (3/8, 8隻中分別於第1天、第6天及第9天各有1隻死亡)。

2. 併服大黃水煎劑對靜脈注射 MTX 動力學之影響

為了探討大黃對於 MTX 動力學影響之發生部位，本研究單獨靜脈注射 MTX (1 mg/kg) 及併服大黃水煎劑 (2 g/kg)，MTX 血中濃度經時變化如 Fig. 4-2 所示，血中濃度如 Table 4-8~9 所示。單服 MTX 之平均血藥面積為 $187.69 \pm 12.43 \mu\text{mol} \cdot \text{min}/\text{L}$ ，排除半衰期為 $47.28 \pm 6.19 \text{ min}$ ；併服大黃之 MTX 平均血藥面積為 $225.92 \pm 11.29 \mu\text{mol} \cdot \text{min}/\text{L}$ ，排除半衰期為 $63.20 \pm 6.02 \text{ min}$ ，如 Table 4-10~11 所示。比較動力學參數結果顯示，併服大黃之 MTX 排除半衰期顯著長於單獨靜脈注射 MTX 者，增加了 33.7%，如 Table 4-12 所示，顯示大黃抑制了 MTX 之排除。

由 Fig. 4-1 之血藥曲線的觀察顯示，在 240 分鐘處併服高劑量

大黃之曲線與單服 MTX 組之曲線有交叉的現象，且在給藥後 120 分鐘內，2 g/kg 大黃顯著降低 MTX 之血藥面積。推測高劑量大黃抑制 MTX 吸收的原因為大黃富含 COOH 基之 rhein，可能與 MTX 競爭 transporter 而抑制了 MTX 之吸收，而併服 1 g/kg 之大黃時，因 rhein 含量較低，抑制吸收情形較不明顯，以致於併服低劑量大黃時，MTX 之 AUC_{0-120} 明顯高於併服高劑量大黃。

綜合以上結果顯示，併服大黃對口服 MTX 顯著增加血藥面積與滯留時間，對靜脈注射 MTX 顯著增加排除半衰期，而且高劑量大黃對口服 MTX 之早期暴露顯著降低，顯示 2 g/kg 大黃抑制口服 MTX 之吸收與排除，而 1 g/kg 大黃則僅抑制 MTX 之排除。

(三) 併服黃芩水煎劑對 MTX 動力學之影響

1. 黃芩水煎劑對口服 MTX 動力學之影響

單獨口服 MTX (5 mg/kg) 及分別併服 2 g/kg 與 1 g/kg 黃芩水煎劑後，其血中濃度經時變化如 Fig. 4-3 所示，血中濃度如 Table 4-1、4-13~14 所示。單服 MTX 後平均血藥面積為 $45.85 \pm 5.35 \mu\text{mol} \cdot \text{min/L}$ ，平均血峰濃度為 $0.23 \pm 0.02 \mu\text{mol/L}$ ，平均滯留時間為 $270.44 \pm 51.62 \text{ min}$ ；併服黃芩 2 g/kg 之 MTX 平均血藥面積為 $159.20 \pm 8.91 \mu\text{mol} \cdot \text{min/L}$ ，平均血峰濃度為 $0.17 \pm 0.02 \mu\text{mol/L}$ ，平均滯留時間

為 1072.20 ± 81.11 min；併服黃芩 1 g/kg 之 MTX 平均血藥面積為 272.03 ± 18.59 $\mu\text{mol} \cdot \text{min}/\text{L}$ ，平均血峰濃度 0.33 ± 0.03 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ，平均滯留時間為 1226.12 ± 90.80 min，如 Table 4-4 及 Table 4-15~16 所示。

比較動力學參數結果顯示，併服 2 g/kg 黃芩使口服 MTX 之血藥面積顯著增加了 247.2%，血峰濃度顯著減少了 27.0%，滯留時間顯著增加了 296.5%。併服 1 g/kg 黃芩使 MTX 之血藥面積顯著增加了 493.3%，血峰濃度顯著增加了 44.6%，滯留時間顯著增加了 353.4%，如 Table 4-17 所示。高劑量黃芩顯著降低 MTX 之血峰濃度，顯示高劑量黃芩對 MTX 之吸收有抑制作用。低劑量黃芩反而顯著增高血峰濃度，顯示對 MTX 之吸收無抑制現象，而其血峰濃度的增加可能是對後續排除之抑制所造成的。比較兩種劑量的效應，顯示因高劑量黃芩對 MTX 吸收之抑制，導致併服低劑量黃芩對 MTX 血藥面積的增加顯著大於高劑量組，

在實驗期間亦發現，有些併服黃芩組大白鼠有腹瀉及豎毛的現象，繼而於數日後死亡。併服 2 g/kg 黃芩之大白鼠死亡率為 37.5%（3/8，8 隻中分別於實驗第 6 天、第 7 天及第 9 天各有 1 隻死亡）。併服 1 g/kg 黃芩之大白鼠死亡率為 25%（2/8，8 隻中有 2 隻分別於第 8 天及第 12 天死亡），中毒症狀與併服大黃之大鼠相似。

2. 併服黃芩水煎劑對靜脈注射 MTX 動力學之影響

為了探討黃芩與口服MTX發生交互作用之部位，本研究單獨靜脈注射MTX (1 mg/kg) 及併服黃芩水煎劑 (2 g/kg)，血中濃度經時變化如 Fig. 4-4所示，MTX之濃度如Table 4-18所示。單服MTX之平均血藥面積為 $187.69 \pm 12.43 \mu\text{mol} \cdot \text{min/L}$ ，平均排除半衰期為 $47.28 \pm 6.19 \text{ min}$ ，併服黃芩之平均血藥面積為 $214.66 \pm 13.26 \mu\text{mol} \cdot \text{min/L}$ ，平均排除半衰期為 $70.79 \pm 5.19 \text{ min}$ ，如Table 4-10與4-19所示。比較動力學參數結果顯示，併服2 g/kg黃芩之MTX排除半衰期顯著長於單獨靜脈注射MTX者，增加了49.7%，如Table 4-20所示，顯示黃芩抑制了MTX之排除。

由Fig. 4-3之血藥曲線的觀察顯示，在240分鐘處併服高劑量黃芩之曲線與單服 MTX 組之曲線有交叉的現象，且在給藥後120分鐘內，2 g/kg 黃芩顯著降低 MTX 之血峰濃度。推測高劑量黃芩抑制 MTX 吸收的原因為黃芩富含具 COOH 基之 baicalin，可能與 MTX 競爭 transporter 而抑制了 MTX 之吸收，而併服 1 g/kg 之黃芩時，因 baicalin 含量較低，抑制吸收情形較不明顯，以致於併服低劑量黃芩時，MTX之 AUC_{0-120} 明顯高於併服高劑量黃芩。

綜合以上結果顯示，併服黃芩對口服 MTX 顯著增加血藥面積

與滯留時間，對靜脈注射 MTX 顯著增加排除半衰期，併服 2 g/kg 黃芩抑制 MTX 之吸收與排除，而併服 1 g/kg 黃芩僅抑制 MTX 之排除。

近年的研究顯示，MTX 為 MRPs 1、2、3及4之受質^[91,92]，MTX 進入細胞後被代謝成 MTX-(Glu)_n^[101~103]，由於分子量增加，與 MRPs 之親和力降低，MTX-(Glu)_n 便逐漸蓄積在細胞中^[101]，因而產生毒性。天然多酚進入體內後大多形成 glucuronides 或 sulfates 等代謝物，有研究指出 sulfates 與 glucuronides 為 MRPs 之受質。假如多酚結合態代謝物與 MTX 競爭 MRP1 或 MRP3，則 MTX 排到血液的機會減少，血中濃度理應會降低，顯然與本實驗之結果不符。如果多酚結合態代謝物與 MTX 競爭 MRP2，則 MTX 外排到腸腔、膽管或尿中的機會降低，血中濃度則會增高，此與本實驗結果相符。因此吾人臆測 MTX 於排除期血中濃度之增加，可能肇因於多酚結合態代謝物與 MTX 競爭 MRP2，而抑制了 MTX 之排出。詳細的機轉，尚待進一步的研究釐清。

當大黃或黃芩與 MTX 併服時，其多酚之結合態代謝物可能競爭 MRPs 而造成 MTX 排除受阻，易使 MTX 蓄積於體內，逐漸代謝成 MTX-(Glu)_n。有文獻報導，MRP1、MRP2 和 MRP3 對於 MTX 高

濃度 4 小時的暴露下可保護細胞，但是對 MTX 低濃度長達 96 小時持續暴露下，則無保護作用^[95,96]。因為低濃度時，MTX 與 folylpoly- γ -glutamate synthetase (FPGS) 之親和力大於 MRPs，FPGS 能將 MTX 有效地代謝成 MTX-(Glu)_n。MTX-(Glu)_n 非為 MRPs 之受質，不受 MRPs 之排除，因此其半生期比 MTX 原型長許多^[101]而導致毒性，包括肝腎功能毒性、白血球降低及腹瀉等^[95,104]。MTX-(Glu)_n 對細胞之毒性應可解釋併服大黃或黃芩之高死亡率。

台灣地區的癌症病人除了服用醫生所開的化療藥物外，常常會併服中藥或來路不明的偏方，此種病急亂投醫的心態，卻忽略了其中交互作用的風險。本實驗結果證明了大黃、黃芩與抗癌藥 MTX 交互作用之風險，可提供臨床用藥的參考。

結論

- 一、大白鼠靜脈注射橙皮苷元，hesperetin sulfates 之血藥面積為 glucuronides 之 1.7 倍，而 glucuronides 為 hesperetin 原形之 2.4 倍，顯示主要以 sulfates 存在於全身循環中。
- 二、大白鼠口服橙皮苷元，幾全以 hesperetin sulfates 與 glucuronides 存在於體循環，顯示此等結合態代謝物於體內發揮藥理作用之重要性不可忽略。Hesperetin 之口服吸收率為 45.2 %。
- 三、健康受試者飲用柳橙汁，其 hesperidin 與 naringenin 之黃酮成分於尿中主要以 hesperetin 及 naringenin 之 sulfates 與 glucuronides 存在。排除量皆以 4-6 小時最高，hesperetin sulfates 與 glucuronides 之排除半衰期皆為 2.9 小時；naringenin sulfates 與 glucuronides 之排除半衰期皆為 1.8 小時。
- 四、大白鼠併服大黃對口服 MTX 顯著增加血藥面積與滯留時間，對靜脈注射 MTX 顯著增加排除半衰期；而 2 g/kg 大黃抑制口服 MTX 之吸收與排除，1 g/kg 大黃僅抑制 MTX 之排除。
- 五、大白鼠併服黃芩對口服 MTX 顯著增加血藥面積與滯留時間，對靜脈注射 MTX 顯著增加排除半衰期；而 2 g/kg 黃芩抑制口服 MTX 之吸收與排除，1 g/kg 黃芩僅抑制 MTX 之排除。
- 六、建議患者服用 MTX 時，盡量避免併服大黃、黃芩及其相關方劑。