

澳門大學中華醫藥研究院

摘要

淫羊藿黃酮腸道吸收機理的體外研究

歐喜笑

論文導師:鄭穎博士

目的: 淫羊藿 (*Herba Epimedii*) 是中國歷史悠久的傳統中藥, 可用以治療心血管疾病和其他慢性疾如不育、健忘症、神经衰弱症、阳萎、老年功能性疾病。淫羊藿的主要成份是黃酮類。60 多種的黃酮類已被鑑定, 其中, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷和寶藿苷 I 被認為主要的生物活性的黃酮類。雖然體外和體內研究提出這些黃酮類有益健康, 特別是有對抗骨质疏松症的潛在活性, 但是這些黃酮類的吸收程度和涉及的機制還不知道。本研究的目的是在於以經過驗證的 Caco-2 細胞單層體外模型作為朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷和寶藿苷 I 在不同的劑量處方中腸道轉運機理。此外, 也研究了外排轉運體包括 P-糖蛋白和多藥耐藥相關蛋白對這些黃酮吸收的影響。

方法: 以 Caco-2 單細胞層來研究五種黃酮類從頂側—腸腔側 (AP 側) 到達底側 (BL 側) 和從 BL 側外排到 AP 側的轉運。黃酮類以三種形式在 Caco-2 單細胞層進行研究, 分別是純的單體化合物、五種純的單體化合物混合物和總黃酮提取物。雙向轉運實驗在以下化合物的存在和不存在下進行: 可與鈣離子螯合而破壞細胞之間緊密連接的 EGTA; P-糖蛋白抑制劑酮康唑、环孢素或维拉帕米; 多藥耐藥相關蛋白抑制劑 MK571。此外, P-糖蛋白和多藥耐藥相關蛋白在 Caco-2 單細胞層的表達和定位分別以免疫印迹杂交法和萤光顯微鏡來檢測。

結果: 在純單體的形式下, 朝藿定 A、朝藿定 B 和朝藿定 C 在兩個轉運方向都測不到; 淫羊藿苷在 BL 側到 AP 側 (BL-AP) 的方向測得小的表觀滲透系數 ($0.89 \pm 0.07 \times 10^{-6}$ cm/s), 而在 AP 側到 BL 側 (AP-BL) 則測不到。另一方面, 寶藿苷 I 在 BL-AP 測得高的表觀滲透系數 ($5.66 \pm 0.40 \times 10^{-6}$ cm/s), 但在 AP-BL 則測不到。在 EGTA 的存在下, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 和淫羊藿苷在兩個

轉運方向的表觀滲透系數都增加至大約 10^{-6} cm/sec。而且，在 MK571 的存在下，淫羊藿苷在 BL-AP 側的表觀滲透系數明顯下降($P<0.05$)，但此表觀滲透系數不受環孢素的影響。另一方面，在 EGTA 的存在下，寶藿苷 I 在 AP-BL 的方向依然測不到而 BL-AP 則的表觀滲透系數就明顯下降了($P<0.05$)。然而，寶藿苷 I 的 AP- BL 的表觀滲透系數在 50 μ M 維拉帕米的存在下增加為 $0.68\pm 0.28\times 10^{-6}$ cm/s；在 50 μ M 酮康唑的存在下增加為 $0.64\pm 0.07\times 10^{-6}$ cm/s；而在 10 μ M 環孢素的存在下增加為 $2.56\pm 0.28\times 10^{-6}$ cm/s；而在 BL-AP 的表觀滲透系數就明顯下降($P<0.01$)。此外，寶藿苷 I 的 AP- BL 的表觀滲透系數在 50 μ M MK571 的存在下增加為 $1.12\pm 0.06\times 10^{-6}$ cm/s，而在 BL-AP 表觀滲透系數就明顯下降(MK571, $P<0.05$)。

無論在純的單體化合物、五種純的單體化合物混合物和總黃酮提取物的形式下，朝藿定 A、朝藿定 B 和朝藿定 C 在兩個轉運方向都測不到。與純的單體化合物比較，淫羊藿苷在混合物或提取物的形式中 BL-AP 側方向的表觀滲透系數明顯降低 ($P<0.05$)，在 AP- BL 則依然測不到；而寶藿苷 I 在 AP- BL 的表觀滲透系數增加至大於 10^{-6} cm/sec，而在 BL -AP 的表觀滲透系數就沒有明顯增加。此外，Caco-2 細胞單層上的 P-醣蛋白和多藥耐藥相關蛋白的表達以免疫印迹雜交法和螢光顯微鏡來証實。

結論：以上的結果提出朝藿定 A、朝藿定 B 和朝藿定 C 和淫羊藿苷的吸收轉運和外排轉運主要透過細胞旁路通路。同時，淫羊藿苷的外排轉運可能涉及多藥耐藥相關蛋白外排系統。我們預計這四種黃酮類在體內吸收不良。而寶藿苷 I 的轉運涉及外排系統 P-醣蛋白和多藥耐藥相關蛋白的相互作用而非經由細胞旁路通路。寶藿苷 I 在純單體化合物混合物和總黃酮提取物中測到而在純單體化合物中測不到的結果提出寶藿苷 I 與淫羊藿苷或其他黃酮類同時存在可能會使 P-醣蛋白和多藥耐藥相關蛋白飽和；另一可能是在混合物或總黃酮提取物中同時存在的其他黃酮類對 P-醣蛋白和多藥耐藥相關蛋白有某程度上的抑制作用。

關鍵詞：淫羊藿；淫羊藿苷；寶藿苷 I；朝藿定 A, B, C；Caco-2 單層細胞吸收模型；P-醣蛋白；多藥耐藥相關蛋白