

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

以大鼠模式探討芝麻 lignan compounds 的生物可利用性
(3/3)

研究成果報告(完整版)

計畫類別：個別型

計畫編號：NSC 95-2313-B-002-001-

執行期間：95年08月01日至96年07月31日

執行單位：國立臺灣大學食品科技研究所

計畫主持人：孫璐西

計畫參與人員：研究生：詹國靖、謝欣玲、石倩如

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 96 年 12 月 18 日

一、摘要：

芝麻具有很多有益的生理功效，主要與它的lignan化合物有關，例如sesamol、sesaminol glucosides及sesaminol。Sesamol (benzo[1,3]dioxol-5-ol, MW 138)已被證實為芝麻油中主要抗氧化物質，Sesaminol glucosides 在體內試驗並無抗氧化效果，但是有文獻指出在大鼠體內可轉變成酚類化合物，在體內具有抗氧化活性。本研究探討在Sprague Dawley大鼠體內sesamol之生物可利用率，Sesamol以管餵及靜脈注射方式測其藥物動力學參數，以管餵及靜脈注射給予30mg/kg sesamol後，經靜脈採血方式收集血液，藥物動力學參數係以非室模式計算所得。我們並以管餵sesamol (p.o. 100 mg/kg)SD大鼠測定組織分佈，管餵24小時後測定各組織及血漿sesamol濃度變化，結果顯示sesamol口服生物可利用率為34.8%。另外，發現sesamol可以通過血腦障壁，並且經由腸肝循環排除。Sesamol代謝物(sulfate) 廣泛分佈於老鼠組織中，在肝臟及腎臟有最高濃度，而腦部含量為最低。sesamol可能最初結合進入肝臟，然後轉運至其他組織(肺、心、腎和腦)。在SD大鼠體內sesaminol glucosides及sesaminol之生物可利用率研究，管餵sesaminol glucosides及sesaminol (p.o. 500 mg/kg, 220 mg/kg) 24小時後測定各組織及血漿sesamol濃度變化，結果顯示，sesaminol triglucoside經由腸內菌水解糖基成sesaminol，經由淋巴被吸收進入心血管系統，運送至其他組織(肺臟、肝臟及腎臟)，sesaminol triglucoside代謝物(sesaminol sulfate)被發現存在大鼠許多組織中，在心臟、肝臟及腎臟有最高濃度，而腦部含量為最低。sesaminol sulfate排除很快：在尿液於8-12 h，糞便於12-16h。以LC/MS/MS分析其代謝物，發現sesaminol triglucoside可受到大鼠體內腸內菌，轉變成mammalian lignans (enterolactone)。

關鍵字：芝麻, sesamol, sesaminol trigluoside, sesaminol, 生物可利用率

Abstract

Sesame exhibits many beneficial physiological effects, which are mostly related to its lignan compounds, such as sesamol, sesaminol glucosides and sesaminol. Sesamol (benzo[1,3]dioxol-5-ol, MW 138) has been generally regarded as the main antioxidative component in sesame oil. Sesaminol glucosides have no antioxidative properties in vitro, but they have been reported to be converted to phenolic compounds after oral administration to rat and showed antioxidative activity in vivo. This investigation intends to study the bioavailability of sesamol in Sprague Dawley rats. Sesamol was introduced to rats by tube-feeding (p.o.) or intravenous injection and the various pharmacokinetic parameters were determined. Biological fluid was intravenously sampled following a dose of sesamol 30mg/kg by tube-feeding or by intravenous injection. The pharmacokinetic data of sesamol was calculated by non-compartmental model. We have also investigated the distribution of sesamol (p.o. 100 mg/kg) in SD rats, the concentration changes of sesamol were determined in various tissues and plasma within 24 h period after oral administration to SD rats. Our results showed that the oral bioavailability of sesamol was 34.8%. In addition, sesamol was found to be able to penetrate the blood-brain barrier and go through hepatobiliary excretion. Sesamol metabolites (sulfate) were widely distributed in SD rat tissues, with the highest concentrations in liver and kidneys and the lowest in brain. It is postulated that sesamol is incorporated into the liver first and then transported to the other tissues (lung, heart, kidneys, and brain). Study the bioavailability of sesaminol triglucoside and sesaminol in Sprague Dawley rats. In order to investigate the distribution of sesaminol triglucoside and sesaminol (p.o. 500 mg/kg, 220 mg/kg) in SD rats, the concentration changes of sesaminol triglucoside and its metabolites were determined in tissues and plasma within 24 h period after tube-feeding to SD rats. Results showed that sesaminol triglucoside may be deglycosylated to from sesaminol first by intestinal microflora and then incorporated via lymphatic absorption into the cardiovascular system, transported to other tissues (lung, liver, and kidneys). Metabolites of sesaminol triglucoside (sesaminol sulfate) were found in many tissues of rat, they were present in the higher

concentrations in heart, liver and kidneys while the lowest in brain. The elimination of sesaminol sulfate is fast: 8-12 h from urine and 12-16h from feces. From LC/MS/MS analysis of rat excreta, sesaminol triglucoiside can be converted to mammalian lignans (enterolactone) in vivo by rat intestinal microflora.

Keywords : sesame, sesamol, sesaminol triglucoiside, sesaminol, bioavailability

二、計畫緣由與目的

芝麻(Sesame) (*Sesamum indicum* L.)為 *Sesamum* 屬一年生草本植物，其種子含有豐富的營養成份，長久以來被東方民族視為保健食品，用以補充營養及延緩老化。「神農本草經」記載：「胡麻。味甘平。主傷中虛羸。補五內。益氣力。長肌肉。填髓腦。九服輕身不老」。民間亦認為芝麻油有通潤便秘、淨化血液、治白頭髮、養顏美容、治火傷及消炎等功效。

芝麻種子所含的抗氧化成分已陸續被確認，其中又以高含量的 lignans 類天然抗氧化成份最受矚目 (Fukuda et al., 1985)。Kang 等(2000)的研究發現芝麻 sesaminol 對抑制 Cu^{2+} 誘導 LDL 過氧化反應非常有效，其 IC_{50} 值為 36.0 nM，此外，sesaminol 對於 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) 所誘導之 peroxy radicals 亦具有非常好的清除能力。此外 lignan glycosides 也能抑制 microsome 酵素與非酵素性之脂質過氧化反應。大澤(1996)的專論中指出：芝麻籽中含有大量 sesaminol glycosides，在腸內經由 β -glucosidase 的水解作用，會轉變成 sesaminol，再由血液運送至全身各部位，對體內氧化、DNA 損傷及老化現象發揮不容忽視的防衛效果。萌發中的白芝麻甲醇萃取物捕捉 hydroxy radical 的能力遠高於未萌發之白芝麻，此可能和萌發中白芝麻具有較高的 lignan glycosides 含量有關 (栗山和無類井，1995)。Lignans 能有效提升體內 α -tocopherol 及 γ -tocopherol 的含量，對於過氧化脂質生成、紅血球溶血性及血漿 pyruvate kinase 活性皆有抑制作用 (Yamashita et al., 1995)。

在降低膽固醇方面，Sesamin 能抑制膽固醇於小腸的吸收及肝臟的合成，因而降低血清膽固醇，且在 α -tocopherol 之共存下，效果更顯著(秋元和清水，1996)。Sugano 等(1990)指出，芝麻油所含之 lignans 混合物，主要為 sesamin 和 episesamin，以 0.2% lignans 餵食老鼠，其血漿及肝臟膽固醇均會下降，同時，糞便排除的中性膽固醇量亦會增加。另外在降低高血壓方面，Kita 等(1995)指出，餵食 sesamin 能降低老鼠血液收縮壓，推測乃因 sesamin 可抑制 angiotensin converting enzyme (ACE) 之活性。芝麻 sesamin 證實能有效降低 7,12-dimethyl benz[a]anthracene (DMBA)誘發老鼠乳癌之發生率(秋元和清水，1996；Hirose et al., 1992)。促進酒精之代謝及增強肝功能方面，服用 sesamin 可以促進小白鼠對酒精的代謝速率，並減輕酒精引起的肌肉鬆弛反應(楊等，1995)。以 sesamin、sesaminol 及 sesamol 等三種 lignans 餵食老鼠，發現老鼠肝臟較為健康(飯塚等，1996；Sugano et al., 1990)。

芝麻種子具有許多生理功效，大都和其所含的 lignan compounds 有關。然而，對於芝麻 lignan compounds 在動物體內的吸收、分佈、排除、代謝情形及可能的代謝途徑尚無深入之研究。因此，本研究將深入探討芝麻 lignan compounds 的生物可利用性。

三、材料與方法

(一)試驗材料

- 1.芝麻(*Sesamum indicum* L.)樣品：進口自泰國黑芝麻，取自薌園公司(台中市)。
2. Sesamol：99%純度，購自美國 Sigma 公司 (St. Louis, MO)。
3. Sesaminol triglucoside、sesaminol：自行製備與純化，方法同第一年度報告。
4. Cellulase:E.C 3.2.1.4(C-1184)，由 *Aspergillus niger* 而來，購自美國 Sigma 公司 (St. Louis, MO)。
5. β -Glucosidase:E.C 3.2.1.21(C-0395)，由 almonds 而來，購自美國 Sigma 公司 (St. Louis, MO)。
- 6.Sulfatase: E.C 3.1.6.1 (type H-1) (S-9626)，由 *Helix pomatia* 而來，購自美國 Sigma 公司 (St. Louis, MO)。
7. β -Glucuronidase: E.C 3.2.1.31 (type E-1) (G-0251)，由 bovine liver 而來，購自美國 Sigma 公司 (St. Louis, MO)。

(二)試驗動物

雄性 SD 大白鼠 (250~300g)，購自樂司科生物科技公司。

(三)試驗方法

1.Lignan glycosides 粗萃出物之製備：

實驗參考栗山等(1993)和徐(2001)的方法，將黑芝麻先以壓榨機去除部份油脂，再以重量(g)10 倍體積(ml)之正己烷於室溫下攪拌萃取 24 小時，所得之芝麻殘渣再以重量(g)10 倍體積(ml)之 80%甲醇水溶液於室溫下攪拌萃取 24 小時後過濾，所得之濾液經減壓濃縮去除溶劑後，製得 lignan glycosides 粗萃物，接著進行管柱層析區分。

2.Lignan glycosides 粗萃出物之管柱層析區分(Katsuzaki, 1994)

(1)管柱中 XAD gel 之充填

將 400 g 之 XAD gel (20~60 mesh,Amberlite 公司) 浸泡在 800 ml 之 20%甲醇水溶液中，經真空脫氣後，以玻棒攪拌 XAD gel 使之均勻分布，接著將此 XAD gel 沿著玻棒倒入玻璃管柱(2.5 cm id × 100 cm；瑞典 Pharmacia 公司，Uppsala)內，以同心圓方式順勢充填，邊充填邊以木槌輕敲玻璃管柱使 XAD gel 充填緊密，充填高度為 70 cm。充填好的管柱以 20%甲醇水溶液流洗 24 小時，使 XAD gel 充填更為緊密，並同時清洗膠體。

(2)樣品之前處理及注入

取 5 g 之 lignan glycosides 粗萃物，溶於 5 ml 之 20%甲醇水溶液中，加入 10 g 之 XAD gel 混合均勻，使成粘稠狀，並將此混合物均勻地加入已充填好的 XAD gel 上緣表面，接著進行層析區分。

(3)管柱層析條件及區分物處理

以 1000 ml 之 20%、40%、60%甲醇水溶液及 100%甲醇為沖提溶劑，依序將三種移動相加入管柱中，以 0.8 ml/min 之流速進行沖提，並以 290 nm 為檢測波長。每 1000 ml 為一區分，收集於血

清瓶中，各區分液經減壓濃縮及凍結乾燥後製得 lignan glycosides 區分物。此些區分物分別將進行高效能液相層析(HPLC)分析，並供標準品之製備。

3. Sesaminol triglucoside 及 sesaminol 標準品之製備(徐，2001)

(1)樣品之前處理:

a. Sesaminol triglucoside 粗萃物之製備：

上述 XAD 管柱層析 60% 甲醇水溶液沖提物，即為 sesaminol triglucoside 粗萃物。

b. sesaminol 粗萃物之製備：

取 1 g 芝麻 lignan glycosides 粗萃物溶於 100 ml 之醋酸緩衝液(20 mM, pH4.5)，以 0.6 g β -glucosidase 及 0.7 g cellulase 於 50°C 水解 48 小時，水解後之 lignan glycosides 粗萃出物即為含 sesaminol 之粗萃物。

(2)管柱層析條件：

將上述 sesaminol triglucoside 或 sesaminol 粗萃物 1 g 溶解於 50 ml 甲醇中，以 0.45 μ m 過濾膜過濾，每次取濾液 1 ml 注入製備型高效能液相層析管柱，收集 sesaminol triglucoside 或 sesaminol 之沖提液，經減壓濃縮去溶劑及凍結乾燥後，製得 sesaminol triglucoside 或 sesaminol 之純化物。層析條件：製備型管柱為美國 Keystone 公司製造之 Hyperprep 100 C18 (20 mm id $\times$ 250 mm, 8 μ m particle size)；沖提溶劑：methanol/H₂O = 60:40 (v/v)，在 30 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 76:24 (v/v)；流速：5 ml/min；檢測波長：290 nm。

4. 芝麻 Lignan compounds 之高效能液相層析：

實驗參考栗山等(1993)和徐(2001)的方法，分析芝麻 Lignan compounds。分析條件：分離管柱為英國 ThermoQuest 公司製造之 Hypersil HS C18 (4.6 mm id $\times$ 250 mm, 5 μ m particle size)；沖提溶劑：methanol/H₂O = 60:40 (v/v)，在 30 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 76:24 (v/v)；流速：1 ml/min；檢測波長：290 nm。

5. 芝麻 sesamol 藥物動力學參數測定

(1)管灌餵食

實驗參考 Liu 等(1999)和蔡(2003)的方法，分別取三種芝麻 lignan compound (sesamol、sesaminol、sesaminol triglucoside)溶解於生理食鹽水中，定量成 200 mg/ml，再根據動物體重換算用量，以管灌方式餵食 30、100 和 300 mg/kg BW 三個不同劑量之 lignan compound 入大白鼠體內，同時參考 Umeda-Saeada 等(1999)的研究結果，將大白鼠於灌食後 2.5 min、5 min、10 min、30 min、60 min、90 min、120 min、180 min 及 240 min 時採其心臟血(以小號 23G 針頭，針頭及針筒先以 heparin (200 IU/ml) 處理)，採血前先以乙醚麻醉大白鼠，每次採血 0.3 ml，取得之血液樣本置於肝素(heparin 200 IU/mL)處理過的收集管內，於 4°C 下以 2900 $\times$ g 離心 10 分鐘，取出上層液體再以相同條件離心一次，所分離出上層的 plasma，而後再加入 2 倍體積之 acetonitrile 與 plasma 充份混合，於 4°C 下以 1000 rpm 離心 10 分鐘，以去除蛋白質，取上清液經 0.45 μ m 濾膜過濾後，行 HPLC 分析。分析條件：分離管

柱為英國 ThermoQuest 公司製造之 Hypersil HS C18 (4.6 mm id × 250 mm, 5 µm particle size)；沖提溶劑：acetonitrile / 10 mM sodium dihydrogen phosphoate = 35:65 (v/v)；流速：1 ml/min；檢測波長：294 nm。以管灌餵食 lignan compound 前採集的大白鼠血液為空白對照組。每個劑量皆以 6 隻大白鼠進行試驗，求其平均值。

3. 靜脈注射

(1) 傳統法

實驗參考 Chen 等(1997)、Cheng 等(2002)和蔡(2003)的方法，分別取三種芝麻 lignan compound 溶解於生理食鹽水中，定量成 20 mg/ml，再根據動物體重換算用量，以 30 mg/kg BW(此劑量為口服劑量之 1/10，為一般藥物動力學常用之設計)芝麻 lignan compounds，採靜脈注射的方式置入大白鼠體內，靜脈注射前先以 urethane 1 g/ml 和 α -chloralose 1 mL/kg 的混合液(約 0.4 ml)，採腹腔注射以麻醉大白鼠，而後進行手術將大白鼠的股靜脈接上 polyethylene 管並將 PE-50 管導出，以接上含 lignan compounds 之注射針筒，而後進行股靜脈注射，注射後於 2.5 min、5min、10min、30 min、60min、90min、120min、180min 及 240min 時採其心臟血，每次採血 0.3 ml，將採出的血置入以 heparin 處理過之收集管，於 4°C 下以 2900×g 離心 10 分鐘，所分離出上層的 plasma，再加入 2 倍體積之 acetonitrile 與 plasma 充份混合，於 4°C 下以 2900×g 離心 10 分鐘，以去除蛋白質，取上清液經 0.45 µm 濾膜過濾後，行 HPLC 分析。以股靜脈注射前採集的大白鼠血液為空白對照組。實驗以 6 隻大白鼠進行試驗，求其平均值。

(2) 微透析法

實驗參考 Cheng 等(2002)和蔡(2003)的方法，微透析系統由 CMA/100 microinjection pump (CMA/Microdialysis AB Co. Sweden)，微透析針，CMA/140 microfraction collector (CMA/Microdialysis AB Co. Sweden)組成。實驗分別取三種芝麻 lignan compound 溶解於生理食鹽水中，定量成 30 mg/ml，再根據動物體重換算用量，以 30 mg/kg BW 芝麻 lignan compounds，採股靜脈注射的方式置入大白鼠體內。除以前述的方式接上注射針外，並對大白鼠進行手術，將微透析針(透析膜(cut-off at nominal monocular mass of 13,000)約 10 mm)由頸靜脈置入，透達右心房，並以(Anticoagulant citrate dextroses solution, ACD solution (citric acid 3.5 mM, sodium citrate 7.5 mM, dextrose 13.6 mM)進行灌流(2.7 µl/min)，每 10 分鐘收集 1 管透析液，取 20 µl 行 HPLC 分析，共收集 9 小時。同時亦參考作者利用微透析法，同步檢測膽汁中 lignan compounds 的劑量。實驗將手術後的大白鼠膽管以 PE-10 管導出膽汁，再接上微透析管(透析膜約 7 cm)並以 Ringer's solution 進行灌流(2.7µl/min)，每 10 分鐘收集一管透析液，取 20 µl 行 HPLC 分析，共收集 9 小時。以股靜脈注射前收集大白鼠頸靜脈及膽汁之透析液為空白對照組。實驗以 6 隻大白鼠進行試驗，求其平均值。

(3) 微透析管的回收率測定

參考 Cheng 等(2002) 和 蔡(2003)的方法，採微透析管針(管)檢測時，為求各個 lignan compound 於大白鼠體內之回收率(in vivo recovery)，將含有三種不同芝麻 lignan compound 的灌流液(ACD solution

或 Ringer's solution，濃度為 0.5、1、5 µg/ml)，分別以 CMA/100 microdialysis pump，流速 2.7 µl/min，灌流入微透析針(管)。待穩定後(大白鼠植入透析針(管)約 1 小時)即可由 HPLC 系統得到 lignan compounds 在大白鼠細胞組織空間的實際濃度($C_{\text{perfusate}}$)和透析液測得的濃度($C_{\text{dialysate}}$)，通過微透析針(管)得到 lignan compounds 之大白鼠體內回收率為：

$$\text{Recovery in vivo} = (C_{\text{perfusate}} - C_{\text{dialysate}} / C_{\text{perfusate}})$$

實驗以 6 隻大白鼠進行試驗，求其平均值，並比較以傳統法和微透析法於藥物動力參數檢測之差異。

6. 芝麻 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 藥物動力學參數測定

(1)傳統採血法之 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 回收率測定

分別取 100 µl 之空白血漿，加入 100 µl 不同濃度 (5、10、50 和 100 µg/ml) 之 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 溶液及 100 µl 之 Hesperetin 標準溶液，以震盪器充份混合去除蛋白質，再於 4 °C 下以 8000 × g 離心 10 分鐘，取上清液，得到芝麻酚在血漿中之標準溶液，進行高效液相層析分析。另取 100 µl 之純水，加入 100 µl 不同濃度 (5、10、50 和 100 µg/ml) 之 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 溶液及 100 µl 之 Hesperetin 標準溶液，以震盪器充份混合，再於 4 °C 下以 8000 × g 離心 10 分鐘，取上層液，得到 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在純水中之標準溶液，進行高效液相層析分析。sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在血漿中回收率 (Recovery) 之計算方法如下：回收率 (%) = (血漿中 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 對內標準品之積分面積比 / 純水中 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 對內標準品之積分面積比) × 100。

(2)管灌餵食

實驗參考 Liu 等(1999)和蔡(2003)的方法，分別取 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 溶解於 50% propylene glycol 生理食鹽水溶液中，再根據動物體重換算用量，以管灌方式餵食 42.6 和 88.9 mg/kg BW 之入大白鼠體內，同時參考 Umeda-Saeada 等(1999)的研究結果，將大白鼠於灌食後 5 min、10min、15min、20 min、25 min、30 min、45 min、60 min、90 min、120 min、180 min 及 240 min 時採其尾部靜脈血(以小號 23G 針頭，針頭及針筒先以 heparin(200 IU/ ml) 處理)，每次採血 0.3 ml，取得之血液樣本置於肝素(heparin 200 IU/mL)處理過的收集管內，於 4°C 下以 2900×g 離心 10 分鐘，取出上層液體再以相同條件離心一次，所分離出上層的 plasma，而後再加入 2 倍體積之 acetonitrile 與 plasma 充份混合，於 4°C 下以 1000 rpm 離心 10 分鐘，以去除蛋白質，取上清液經 0.45 µm 濾膜過濾後，行 HPLC 分析。以管灌餵食 lignan compound 前採集的大白鼠血液為空白對照組。每個劑量皆以 6 隻大白鼠進行試驗，求其平均值。

(3)靜脈注射

實驗參考 Chen 等(1997)、Cheng 等(2002)和蔡(2003)的方法，分別取二種芝麻 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 溶解於 50% propylene glycol 生理食鹽水溶液中，再根據動物體重換算用量，以 30、10.65

和 88.9 mg/kg BW 芝麻 lignan compounds，採靜脈注射的方式置入大白鼠體內，靜脈注射前先以 pentobarbital 50mg/kg 的混合液，採腹腔注射以麻醉大白鼠，而後進行手術將大白鼠的股靜脈接上 polyethylene 管並將 PE-50 管導出，以接上含 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 之注射針筒，而後進行股靜脈注射，注射後於 5 min、10min、15min、20 min、25 min、30 min、45 min、60 min、90 min、120 min、180 min 及 240 min 時採其尾部靜脈血，每次採血 0.3 ml，將採出的血置入以 heparin 處理過之收集管，於 4℃ 下以 2900×g 離心 10 分鐘，所分離出上層的 plasma，再加入 2 倍體積之 acetonitrile 與 plasma 充份混合，於 4℃ 下以 2900×g 離心 10 分鐘，以去除蛋白質，取上清液經 0.45 μm 濾膜過濾後，行 HPLC 分析。以股靜脈注射前採集的大白鼠血液為空白對照組。實驗以 6 隻大白鼠進行試驗，求其平均值。

(4) sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在血漿中之蛋白質結合率

由股靜脈注射 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 之生理食鹽水溶液，劑量為 100 mg/kg。給藥後 10、20 及 30 分鐘，以 24 G 採血針筒（事先以肝素溶液 (200 IU/ml heparin) 潤濕）進行心臟採血（採血前以乙醚麻醉大白鼠），每次採血 1 ml，取得之血液樣本置於離心管（事先以肝素溶液 (200 i.u./ml heparin) 潤濕），於 4℃ 下以 2900 ×g 離心 10 分鐘，取 100 μl 之血漿，加入 100 μl 之 acetonitrile 及 100 μl Hesperetin 標準溶液，以震盪器充份混合去除蛋白質，再於 4℃ 下以 8000 ×g 離心 10 分鐘，取上清液，進行高效液相層析分析，將 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 對內標準品之積分面積比代入檢量線，求得血漿中不同時間點總 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 之濃度。另取 300 μl 之血漿，置於離心過濾器中，於 4℃ 下以 720 ×g 離心 30 分鐘，取 30 μl 之濾液，加入 30 μl 之 acetonitrile 及 30 μl 4-hydroxycoumarin 標準溶液，以震盪器充份混合，再於 4℃ 下以 8000 ×g 離心 10 分鐘，取上層液，進行高效液相層析分析，將 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 對內標準品之積分面積比代入檢量線，求得血漿中不同時間點游離態 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 之濃度。sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在血漿中之蛋白質結合率的計算方法如下：蛋白質結合率 (%) = (總 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 濃度 - 游離態 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 濃度) / 總 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 濃度 × 100。

(5) 芝麻 lignan compounds 檢量線的製備

Lignan compounds 的檢量線製備，是以 lignan compounds 標準品配成 6 個不同濃度於前述的分析條件下進行三重複分析，再以注射之 lignan compounds 的量對積分面積作圖，並以 Chem-Win 電腦軟體系統(Shuen-Hua Co., Taipei, Taiwan) 計算求得回歸方程式及相關係數(r^2)。

(6) 數據分析

實驗數據的測定值均以平均值和標準差表示(mean±S.D.)，血液中各個 lignan compound 濃度與時間關係之數據以 WinNonlin(Pharsight Co., CA USA)藥物動力學計算程序於計算機上處理，獲得各項藥物動力學參數。

(7) 芝麻 lignan compounds 於大白鼠的生物利用率之測定

參考 Chen 等(1997)和韓(1999)的方法，利用各個 lignan compound 於大白鼠血中的濃度對時間作圖，求其曲線下面積 (area under curve, AUC)，再利用以下的公式算出各個 lignan compound 於大白鼠之生物利用率：

$$\text{生物利用率} = \frac{(\text{AUC}\infty)_{\text{p.o.}} / D_0 \text{ p.o.}}{(\text{AUC}\infty)_{\text{i.v.}} / D_0 \text{ i.v.}} \times 100\%$$

(AUC ∞)_{iv}：以快速靜脈注射投藥測得之 area under curve(AUC)值

(AUC ∞)_o：以口服(管灌)方式投藥測得之 area under curve(AUC)值

D_{0 iv}：以快速靜脈注射投藥劑量

D_{0 po}：以口服方式投藥劑量

7. 芝麻 lignan compounds 於大白鼠的吸收分佈及排除

(1) 實驗動物

以雄性 Sprague-Dawley 大白鼠為試驗動物，購自樂司科生物科技公司(台北，台灣)，飼養於台灣大學食品科技研究所動物房中，生活週期維持 12 小時光照(12-hour light cycle)從早上 6 時至下午 6 時，室溫維持 22±2℃，並給予動物充足飼料 (Purina 5001 rodent chow diet) 及飲水。

(2) 吸收分佈

a. 試驗

參考 Liu 等(1999)和 Umeda-Sawada 等(1999)的方法，根據動物體重換算用量，以管灌方式餵食之 sesamol (100 mg/kg BW)、sesaminol triglucoside (500 mg/kg BW)及 sesaminol (220 mg/kg BW)入大白鼠體內。灌食後的大白鼠分別於 1 hr, 3hr, 6hr, 9hr 和 24hr 予以犧牲，以二氧化碳迷昏進行犧牲，收集血液，並解剖迅速取出肝臟、小腸、心臟、腎臟和肺臟。以不給藥之正常動物的相應組織臟器為空白對照。各組織臟器分別取自 6 隻大白鼠進行測定，求其平均值。

b. 動物檢體之收集與處理

實驗參考 Umeda-Sawada 等(1999)、de Boer(2005)和蔡(2003)的方法。

I. 血漿：

大白鼠犧牲後所取得之全血置於含有肝素(heparin 100 IU/mL)的試管中，立刻充分混合之，再於 4℃ 下以 3,500 ×g 離心 10 分鐘，分離出上層血漿，保存於-20℃ 冰箱，以備進行血漿中 sesamol、sesaminol triglucoside、sesaminol 及其代謝產物濃度之測定。

II. 臟器：

取下之各臟器皆以 0.9% 生理食鹽水清洗後，稱重，包於鋁箔紙中，迅速以液態氮急速冷凍，保存於-80℃ 冰箱內，以待分析。

將各臟器解凍後，加入生理食鹽水，以均質機(polytron)均質磨碎，加入氘甲烷將蛋白質沈澱，再以離心機 3500 rpm 離心，取其上清液，經氮氣吹乾後，再以 0.1N 醋酸緩衝溶液(pH 5.0)定容至 1 ml，經 0.45 μ m 濾膜過濾後，行 HPLC 分析，檢測各臟器中 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 含量。

(3) 排除

a. 糞便分析

參考 Chen(1997)和 Liu 等(1999)的方法，根據動物體重換算用量，以管灌餵食 sesamol (100 mg/kg BW)、sesaminol triglucoside(500 mg/kg BW)及 sesaminol (220 mg/kg BW)入大白鼠體內。灌食後的大白鼠分別收集 0~4 hr, 4~8 hr, 8~12 hr, 12~16 hr 和 16~24hr 排除之各區段糞便。糞便收集是利用代謝籠收集新鮮糞便，將各區段收集之糞便分別秤其重量即為糞便濕重。將糞便置於冷凍乾燥機中去除水分，所得糞便重即為其乾重。

取各區段收集並經冷凍乾燥之大白鼠糞便，磨成粉末後，加入糞便重量(g)10 倍體積(ml) 氘甲烷萃取液，經震盪萃取後 30 分鐘後，以離心機 3500 rpm 離心，取其上清液，經氮氣吹乾後，再以 0.1N 醋酸緩衝溶液(pH 5.0)定容至 1 ml，經 0.45 μ m 濾膜過濾後，行 HPLC 分析，檢測各區段糞便中 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 的含量。大白鼠於給 sesamol 前先收集 2 hr 糞便作空白對照。實驗以 6 隻大白鼠進行試驗，求其平均值。

b. 尿液分析

參考 Chen(1997)和 Liu 等(1999)的方法，根據動物體重換算用量，以管灌餵食 sesamol (100 mg/kg BW)、sesaminol triglucoside (500 mg/kg BW)及 sesaminol (220 mg/kg BW)入大白鼠體內。灌食後的大白鼠分別收集 0~4 hr, 4~8 hr, 8~12 hr, 12~16 hr 和 16~24hr 排除之各區段尿液。尿液收集是利用代謝籠之尿液收集瓶收集新鮮尿液，將各區段收集之尿液分別量測其體積(ml)，再行冷凍乾燥去除水分。

取各區段收集並經冷凍乾燥之大白鼠尿液，以 0.1N 醋酸緩衝溶液(pH 5.0)定容至 1 ml，經 0.45 μ m 濾膜過濾後，行 HPLC 分析，檢測各區段尿液中 sesamol 的含量。大白鼠於給 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 前先收集 2 hr 尿液作空白對照。實驗以 6 隻大白鼠進行試驗，求其平均值。

(4) 檢體中 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 之定量

a. 自由態 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 之定量

分別取 100 μ L 各檢體，加入 50 μ L 0.1N 醋酸緩衝溶液(pH 5.0)、50 μ L 抗壞血酸(200 mg/mL) 及 0.1N 鹽酸，再以 250 μ L 氘甲烷(含內標準品 Hesperetin 2.0 μ g/mL)萃取，經震盪萃取後 10 分鐘後，以離心機 10000 $\times$ g 離心 10 分鐘，取其上清液，經氮氣吹乾後，再以甲醇定容至 1 ml，經 0.45 μ m 濾膜過濾後，行 HPLC 分析。

b. sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 之 sulfates 定量(Hsiu, 2001)

分別取 100 μ L 各檢體，加入 50 μ L 1000 units/mL sulfatase (溶於 0.1N 醋酸緩衝溶液)及 50 μ L 抗壞血酸(200 mg/mL)，充分混合後，於 37 $^{\circ}$ C 之恆溫水浴震盪 1 小時。反應結束後，加入 20 μ L 0.1N 鹽酸，再以 250 μ L 氯甲烷(含內標準品 Hesperetin 2.0 μ g/mL)萃取，經震盪萃取後 10 分鐘後，以離心機 10000 $\times$ g 離心 10 分鐘，取其上清液，經氮氣吹乾後，再以甲醇定容至 1 ml，經 0.45 μ m 濾膜過濾後，行 HPLC 分析。

c. sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 之 glucuronides 之定量(Hsiu, 2001)

分別取 100 μ L 各檢體，加入 50 μ L 1000 units/mL β -glucuronidase (溶於 0.1N 醋酸緩衝溶液)及 50 μ L 抗壞血酸(200 mg/mL)，充分混合後，於 37 $^{\circ}$ C 之恆溫水浴震盪 1 小時。反應結束後，加入 20 μ L 0.1N 鹽酸，再以 250 μ L 氯甲烷(含內標準品 Hesperetin 2.0 μ g/mL)萃取，經震盪萃取後 10 分鐘後，以離心機 10000 $\times$ g 離心 10 分鐘，取其上清液，經氮氣吹乾後，再以甲醇定容至 1 ml，經 0.45 μ m 濾膜過濾後，行 HPLC 分析。

d. 高效液相層析條件

I. 組織中 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 回收率測定

分別取 100 μ L 之空白組織均質液，加入 100 μ L 不同濃度 (62.5、125 和 250 μ g/ml) 之 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 溶液及 100 μ L 之 Hesperetin 標準溶液，以震盪器充份混合去除蛋白質，再於 4 $^{\circ}$ C 下以 8000 $\times$ g 離心 10 分鐘，取上清液，得到 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 在組織中之標準溶液，進行高效液相層析分析。另取 100 μ L 之純水，加入 100 μ L 不同濃度(62.5、125 和 250 μ g/ml)之 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 溶液及 100 μ L 之 Hesperetin 標準溶液，以震盪器充份混合，再於 4 $^{\circ}$ C 下以 8000 $\times$ g 離心 10 分鐘，取上層液，得到 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 在純水中之標準溶液，進行高效液相層析分析。sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 在血漿中回收率 (Recovery) 之計算方法如下：回收率 (%) = (組織均質液中 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 對內標準品之積分面積比 / 純水中 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 對內標準品之積分面積比) $\times$ 100。

II. 檢量線之製作及分析方法之確效

取 0.2、0.39、0.78、1.56、3.13、6.25、12.5 和 25 μ g/ml 八個濃度之 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 標準溶液進行高效液相層析分析，將注射之理論濃度 (C_{nom}) 對積分面積 (peak area) 作圖，以線性回歸法求得其方程式及相關係數 (r^2)。

為確認 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 標準溶液之分析在同日內 (intra-day) 及異日間 (inter-day) 之靈敏度及再現性，分別在同一日內，及不同六日中，針對八個不同濃度的標準溶液，各取七個樣本進行分析，以求其精密度 (precision) 和精確性 (accuracy)。精密度和精確性分別以變異係數 (coefficient of variation (% CV) 及偏差百分比 (% bias) 表示。首先分別將八個理論濃度 (C_{nom}) 所測得之積分面積，代回其濃度對面積所得之回歸方程式，可求出實際濃度；再針對八個濃度之七個樣本所得之實際濃度，分別計算各濃度之平均值 (C_{obs}) 和標準差 (SD)，以求得變異係數

$(CV (\%) = (SD / Cobs) \times 100)$ 及偏差百分比 $(bias (\%) = ((Cobs - Cnom) / Cnom) \times 100)$ 。變異係數及偏差百分比在 $\pm 15\%$ 以內，表示在此濃度範圍內之精密度和精確性是可接受的。

III. 部位組織

將上述各組織檢體，取濾液 20 μ L 注入高效能液相層析管柱。層析條件：製備型管柱為美國 Phenomenex 公司製造之 Luna C18 (20 mm id $\times$ 250 mm, 5 μ m particle size)；流速：1ml/min；檢測波長：290 nm

- (a) Sesamol 層析條件：沖提溶劑：methanol/H₂O = 50:50 (v/v)，在 5 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 80:20 (v/v)，10 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 100:0 (v/v)；流速：1ml/min；檢測波長：290 nm。
- (b) Sesaminol triglucoside 及 sesaminol (肝臟、腎臟、心、肺臟及腦)層析條件：沖提溶劑：methanol/H₂O = 40:60(v/v)，在 5 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 80:20 (v/v)，10 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 100:0 (v/v)。
- (c) Sesaminol triglucoside 及 sesaminol (小腸、盲腸、大腸及直腸)層析條件：沖提溶劑：methanol/H₂O = 40:60(v/v)，在 20 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 80:20 (v/v)，21 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 100:0 (v/v)。

IV. 糞便

將上述糞便檢體，取濾液 20 μ L 注入高效能液相層析管柱。層析條件：製備型管柱為美國 Phenomenex 公司製造之 Luna C18 (20 mm id $\times$ 250 mm, 5 μ m particle size)；流速：1ml/min；檢測波長：290 nm。

Sesamol 層析條件：沖提溶劑：methanol/H₂O = 40:60 (v/v)，在 15 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 70:30 (v/v)，16 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 100:0 (v/v)。

Sesaminol triglucoside 及 sesaminol 層析條件：沖提溶劑：methanol/H₂O = 20:80(v/v)，在 25 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 100:0 (v/v)。

V. 尿液

將上述尿液檢體，每次取濾液 20 μ L 注入高效能液相層析管柱。層析條件：製備型管柱為美國 Phenomenex 公司製造之 Luna C18 (20 mm id $\times$ 250 mm, 5 μ m particle size)；；流速：1ml/min；檢測波長：290 nm。

Sesamol 層析條件：沖提溶劑：methanol/H₂O = 30:70 (v/v)，在 15 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 40:60 (v/v)，19 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 100:0 (v/v)。

Sesaminol triglucoside 及 sesaminol 層析條件：沖提溶劑：methanol/H₂O = 20:80(v/v)，在 25 分鐘內線性增加至 methanol /H₂O = 100:0 (v/v)。

e. 組織中血紅素測定

參考 de Boer(2005) 方法並加以修飾，將上述組織檢品，取 0.1g 組織加入 4 mL Tris-HCl 緩衝溶液(50mmol/L, pH 7.4)予以均質，取 0.1mL 均質液加入 5mL 之試藥 Drabkin's 試劑及 Brij-35 溶液 (RANDOX) 中，混合均勻後，以離心機 10000×g 離心 10 分鐘，以分光光度計之比色法進行分析，檢測波長：540nm。原理如下：



組織中殘留血紅素含量之計算，其表示方式各組織中所測得血紅素含量($\text{Hb}_{\text{tissue}}$)與全血所含血紅素含量(Hb_{blood})之比值($f_{\text{blood}} = \text{Hb}_{\text{tissue}} / \text{Hb}_{\text{blood}}$)。在各組織中真實藥物濃度計算方式則為 $C_{\text{corr}} = C_{\text{total}} - f_{\text{blood}} \times C_{\text{plasma}}$ ， C_{total} 為組織中所含藥物總量， C_{plasma} 血漿中所含藥物濃度， f_{blood} 為各組織中所測得血紅素含量之比例。

8. 大鼠體內 Sesaminol、Sesaminol triglucoside 代謝物之 LC/MS/MS 及 HPLC 分析

(1) 各部位組織

將上述各組織檢體，取濾液 20 μ L 注入高效能液相層析管柱。層析條件：製備型管柱為美國 Phenomenex 公司製造之 Luna C18 (20 mm id $\times$ 250 mm, 5 μ m particle size)；沖提溶劑：methanol/H₂O = 40:60 (v/v)，在 20 分鐘內線性增加至 methanol/H₂O = 80:20 (v/v)，21 分鐘內線性增加至 methanol/H₂O = 100:0 (v/v)；流速：1ml/min；檢測波長：290 nm。

(2) 糞便及尿液

將上述糞便及尿液檢體，取濾液 20 μ L 注入高效能液相層析管柱。層析條件：製備型管柱為美國 Phenomenex 公司製造之 Luna C18 (20 mm id $\times$ 250 mm, 5 μ m particle size)；沖提溶劑：methanol/H₂O = 20:80 (v/v)，在 25 分鐘內線性增加至 methanol/H₂O = 100:0 (v/v) 流速：1ml/min；檢測波長：290 nm。

9. Sesaminol、Sesaminol triglucoside 及 sesamol 之胃腸道模擬系統穩定試驗

(1) 模擬胃液配製

參考美國藥典(U.S.Pharmacopeia, 2006)，配置方法如下：取 2.0 g sodium chloride 及 3.2 g pepsin，加於 7.0mL hydrochloric acid 加水至 1000 mL，調整溶液 pH 至 1.2。

(2) 模擬腸液配製

參考美國藥典(U.S.Pharmacopeia, 2006)，配置方法如下：取 6.8 g potassium dihydrogen orthophosphate 溶於 250 mL 水溶液，加 77 mL 0.2 N sodium hydroxide 及 500 mL 水溶液，加入 10g pancreatin，以 0.2N NaOH 及 HCl 調整溶液 pH 至 6.8。

(3) 胃腸道模擬系統穩定試驗

樣品 1mM 及 0.5mM(Sesaminol、Sesaminol triglucoside 及 sesamol)，分別以 DMSO、生理食鹽水溶解，加至 10mL Simulated gastric fluid 及 Simulated intestinal fluids(最終濃度為 1mM 及 0.5mM)，至 37℃反應（反應取樣時間分別為 0, 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 540 min）

10.大鼠肝臟酵素系統代謝試驗

參考 Nakai (2003)，S9 (大鼠肝臟酵素)與輔因子($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (8 μmol)、KCl (33 μmol)、D-glucose-6-phosphate (5 μmol)、NADPH (4 μmol)、 Na_2HPO_4 (100 μmol)及 NaH_2PO_4 (100 μmol)) 以 1：9 (v/v)，將樣品 0.1 μM (Sesaminol、Sesaminol triglucoside 及 sesamol)，分別以 DMSO、生理食鹽水溶解，放置 37℃培養箱，分別於 60、120、240 及 360 min 取樣(1mL)，取 100 μL 酵素反應液加入兩倍體積氯甲烷萃取。

11.Sesamol、Sesaminol triglucoside 大鼠腸內菌群代謝產物之研究

(1)盲腸菌群分離

腸道菌群為厭氧性微生物，隨著暴露在空氣中時間增長，腸道菌群因缺乏 superoxide dismutase 及 catalase，無法將氧氣代謝而死亡，所以本試驗採集盲腸組織內容物，減少因採集糞便所造成微生物菌數過少。參考 Kawata 等(1991)和 Chen(1999)的方法，以二氧化碳迷昏大鼠，並迅速解剖取出盲腸，取盲腸內容物 10 g 加入 100 mL 0.1mM phosphate buffer (pH 7.3)中，通入 CO_2 氣體，於厭氧條件下攪拌，製成大白鼠盲腸菌群懸浮液。

(2)Sesamol 及 Sesaminol triglucoside 於盲腸菌群中代謝產物之研究

參考實驗參考 Kawata 等(1991)和 Chen(1999)的方法，各取 50 mL 大白鼠盲腸菌群懸浮液分別置於 3 支血清瓶中，再各加入 3.5 μmole 之 Sesamol 及 Sesaminol triglucoside，將試管置於 37℃厭氧培養箱中培養，由於 Sesamol 及 Sesaminol triglucoside 可能因盲腸菌群長時間作用下，初期產生之代謝產物再進一步被代謝形成另一種代謝產物 (Hollman et al., 1997)，因此實驗培養 24 小時，將血清瓶取出，再加入 150 mL 的甲醇經震盪 10 分鐘後，以離心機 3500 rpm 離心，取其上清液濃縮至乾後，再轉溶至甲醇，經 0.45 μm 濾膜過濾後，行 HPLC 分析。並以 HPLC 製備 Sesamol 及 Sesaminol triglucoside 的代謝產物，供結構鑑定用。

12.Sesamol、Sesaminol triglucoside 人體糞便腸內菌群代謝產物之研究

參考 Xie 等人(2003)及 Wang 等人(2000)方法修飾，人體糞便腸內菌群製備，以兩位健康受試者三個月內未使用抗生素，取 5g 新鮮糞便與 100mL GAM (General anaerobic medium)培養基混合，製備成 HIB (Human Intestinal Bacterial)混合物，再各加入 μmole 之 Sesamol 及 Sesaminol triglucoside，於 37℃厭氧培養箱中培養七天，以正丁醇(飽和水溶液及添加 0.1%醋酸溶液)萃取三次，取其上清液濃縮至乾後。正丁醇萃出物以去離子水回溶，進行 Diaion HP-20 管柱層析，依序以去離子水、50%甲醇水溶液及 100%甲醇溶液進行沖提，在 50%甲醇水溶液及 100%甲醇溶液沖提層合併，進行 Sephadex LH-20 管柱層析，以

60% 甲醇水溶液進行沖提，取其收集後沖提液濃縮至乾後，再以 Sephadex LH-20 進行管柱層析，以 50% 甲醇水溶液進行沖提，收集區分 15-35 管，以 ODS 管柱進行代謝物純化，以 LC/MS/MS 及 NMR 進行代謝物鑑定。

13. Sesamol 及 lignan 化合物之 GC-MS 衍生化

參考 Liu (2006) 分析方法，1 mL Sesamol 尿液樣品加入 2 mL 0.1 mol/L 醋酸緩衝溶液(pH 4.5)，及加入 phase II 酵素 250 μ L β -glucuronidase (2500 unit) 及 250 μ L sulfatase (1000 unit)，並添加 100 μ L 抗壞血酸 (200 mg/mL)，充分混合後，於 37 $^{\circ}$ C 之恆溫水浴震盪分別反應 2 及 1 小時。反應結束後，經由固相萃取(SPE C18-OH, Varian Co.)，先以 5 mL chloroform:methanol (1:1, v:v)，再以 5 mL methanol 沖提及 5 mL 去離子水沖提清洗 SPE 裝置，將酵素水解樣品置入固相萃取裝置，先以 5 mL 去離子水沖提後，再以 4 mL methanol 沖提並收集，經氮氣吹乾後，再以 1 mL 甲醇回溶，進行 GC-MS 衍生化反應。Sesamol 尿液樣品加入 100 μ L Tri-sil reagent 於 60 $^{\circ}$ C 反應 30 分鐘或添加 100 μ L BSA 於室溫下反應 12 小時，衍生化後再以氮氣吹乾，並加入 100 μ L 正己烷。

1. GC/MS 分析條件

參考 Liu (2006) 分析方法，美國 Agilent 公司製造之 6890 氣相層析儀與 5973 質譜儀連結，以 HP-5 毛細管柱(25 m $\times$ 0.12 mm i.d. $\times$ 0.25-mm film thickness) 進行分析，檢測條件如下所述：carrier gas (helium) 1 mL/min、烘箱溫度(初始溫度 100 $^{\circ}$ C 平衡 1 分鐘，以 25 $^{\circ}$ C/min 升溫速率，升溫至 280 $^{\circ}$ C 平衡 17 分鐘)、injection port 溫度 250 $^{\circ}$ C、ion source 溫度 230 $^{\circ}$ C 及 Interface 溫度 280 $^{\circ}$ C、離子化能量 70 eV、質量掃描範圍 50-700 amu。

14. 大鼠體內 Sesaminol、Sesaminol triglucoside 代謝物之 LC/MS/MS 及 HPLC 分析

(1) 各部位組織

將上述各組織檢體，取濾液 20 μ L 注入高效能液相層析管柱。層析條件：製備型管柱為美國 Phenomenex 公司製造之 Luna C18 (20 mm id $\times$ 250 mm, 5 μ m particle size)；沖提溶劑：methanol/H₂O = 40:60 (v/v)，在 20 分鐘內線性增加至 methanol/H₂O = 80:20 (v/v)，21 分鐘內線性增加至 methanol/H₂O = 100:0 (v/v)；流速：1 mL/min；檢測波長：290 nm。

(2) 糞便及尿液

將上述糞便及尿液檢體，取濾液 20 μ L 注入高效能液相層析管柱。層析條件：製備型管柱為美國 Phenomenex 公司製造之 Luna C18 (20 mm id $\times$ 250 mm, 5 μ m particle size)；沖提溶劑：methanol/H₂O = 20:80 (v/v)，在 25 分鐘內線性增加至 methanol/H₂O = 100:0 (v/v) 流速：1 mL/min；檢測波長：290 nm。

a. Sesaminol triglucoside LC/MS/MS 條件

美國 Thermo 公司製造之 Finnigan LCQ，以 Electrospray ionization (ESI) 負電模式檢測，檢測條件如下所述：Source Voltage (3.94 kV)、Source Current (6.15 μ A)、Sheath Gas Flow Rate (34.57 a.u.)、

Capillary Voltage(-9.52 V)、Capillary Temp (200.10°C)、Tube Lens Voltage (-30.00 V)。

b. Sesaminol LC/MS/MS條件

美國Thermo公司製造之Finnigan LCQ，以Electrospray ionization (ESI)負電模式檢測，檢測條件如下所述：Source Voltage (3.53 kV)、Source Current (6.15 uA)、Sheath Gas Flow Rate (29.44 a.u.)、Capillary Voltage(-3.44 V)、Capillary Temp (200.30°C)、Tube Lens Voltage (-40.00 V)。

四、結果與討論

(一)sesaminol triglucoside 萃取與製備

本實驗所用 sesaminol triglucoside 自行萃取自備，先將未炒焙芝麻先用壓榨去除油脂 (29.40 %)，再以 n-hexane 去除油脂 (12.32 %)，再以 80 % 甲醇水溶液萃取芝麻粕中之 lignan glycosides 得其粗萃物 (3.693 %)，將 5 克 80 % 甲醇水溶液粗萃物各以 1000 ml 之 20 %、40 %、60 % 及 100 % 甲醇為沖提溶劑，沖提溶劑由高極性沖提至低極性以 XAD-2 管柱(2.5 cm id × 100 cm)層析區分，流速為 0.8 ml/min，每 16 ml 收集一管，測其 290 nm 吸光值，其層析圖如圖 3 所示。將各沖提溶劑所沖提出之物質分別收集，可得四區分物，分別為 Fr1、Fr2、Fr3 及 Fr4，Fr3 區分物之高效能液相層析圖如圖 4 所示(其條件示於圖中)。由此圖可看出，各 lignan glycosides 中，以 sesaminol triglucoside 吸收波峰面積最大；圖 4A 為 Fr1，沖提溶劑為 20 % 甲醇水溶液，由圖中可看出，此區分物極性較高，吸收波峰在圖譜上之滯留時間為 0~20 分鐘。圖 4B 為 Fr2，沖提溶劑為 40 % 甲醇溶液，吸收波峰在圖譜上之滯留時間為 20 分鐘左右。圖 4C 為 Fr3，沖提溶劑為 60 % 甲醇水溶液，所沖提出來的物質為其他 lignan glycosides 及 sesaminol triglucoside。圖 4D 為 Fr4，沖提溶劑為 100 % 甲醇，在圖譜上出現的吸收波峰為少量 lignan glycoside。由此結果可知，sesaminol triglycoside 大部分出現於 Fr3。

本研究所用來分析 lignan glycosides 之方法，如圖 5A 所示，為徐(2001)分析方法，sesaminol triglycoside 在滯留時間為 37 分鐘有明顯吸收波峰。圖 5B 所示為修飾徐(2001)分析方法，起始動相為甲醇/水=60/40 (v/v)，在 30 分鐘內線性增加至甲醇/水=76/24 (v/v)，流速為 1 ml/min，檢測波長為 290 nm。圖 5A 中，在滯留時間為 37 分鐘有明顯吸收波峰，在圖 5B 中有縮短滯留時間但不影響分離結果。

將 XAD-2 管柱所得區分物 Fr 3，以製備型管柱純化 sesaminol triglycoside，將不同濃度之 sesaminol triglucoside (7~500 µg/ml)純化物，依前述方法之高效能液相層析條件加以分析，將所得到之吸收波峰面積對濃度作圖，並求得標準曲線方程式 ($y=1.22327 \times 10^4 x + 4.1977 \times 10^4$; $r^2=0.9996$)，再利用內插法，將芝麻粕 80 % 甲醇粗萃物 (39.62 mg/ g seed) 之 HPLC 分析圖中 sesaminol triglucoside 吸收波峰面積代入下述方程式中，即可求出 sesaminol triglucoside 化合物含量 (3.246 mg/g seed)。

黑芝麻主要用途為生產芝麻油，國內麻油廠所使用之芝麻原料大多自國外進口，其中最主要進口國為緬甸、泰國及印度。本研究之試驗材料選為進口自泰國之黑芝麻，乃因其進口數量最多。在泰國黑芝麻中 sesaminol triglucoside 含量為 3.246 mg/g seed。以分光光度計進行全光譜掃描，sesaminol triglucoside

最大吸收波長為 288nm，如圖四所示，所得結果與 Katsuzaki(1994)純化鑑定 sesaminol triglucoside 物質相同。

(二)sesamol 藥物動力學參數測定

1. 血漿中 sesamol 之高效液相層析分析結果

在本實驗所採用之高效液相層析分析條件下，如圖一所示，sesamol 標準品之波峰滯留時間約在 7.5 分鐘，內標準品 (4-hydroxycoumarin) 之波峰滯留時間約在 6.5 分鐘。在未給藥之空白血漿中，sesamol 波峰出現之時間下並無血漿中內生性物質之干擾。在給藥後之血漿檢品中，sesamol 波峰出現之時間下亦無血漿中物質之干擾。

2. 血漿中 sesamol 分析方法之確認

在血漿中 sesamol 分析方法為了確認實驗過程定量分析之精確性，將 sesamol 標準溶液(100、50、10、5、1、0.5、0.1、0.05 µg/ml)在同日之不同時間(intra-day)及間日 (inter-day)以高效液相層析儀分析標準溶液。並分別依下列方法計算其精確性(%CV)及準確性(%bias)。

$$\text{精確性}(\%CV) = (\text{標準偏差} / \text{平均濃度}) \times 100$$

$$\text{準確性}(\%bias) = [(\text{平均濃度} - \text{真實濃度}) / \text{真實濃度}] \times 100$$

以線性回歸法計算，如表一所示，在 0.05~100 µg/ml 之濃度範圍內之校正曲線方程式，具有良好之線性關係 ($r^2 > 0.999$)。於同日內 (intra-day) 及異日間 (inter-day) 分析之變異係數 (CV %) 及偏差百分比 (bias %) 均小於 15 %，表示精密度 (precision) 及準確度 (accuracy) 接在可接受之範圍內。

3. 血漿中 sesamol 之微透析法回收率

微透析採樣技術是透過微透析探針上的透析膜來反應待測溶質在組織的濃度，因此欲求得待測物在組織的濃度真值，就不能忽略採樣過程中任何可能改變濃度「真值」的因素。透過「校正」(calibration)，才能將微透析的實驗數據量化。透析液濃度與細胞外液濃度間常以回收率(recovery)來連接兩者間的數學關係。微透析回收率的原始定義為：透析液中的溶質濃度與透析膜遠處的組織外液溶質濃度之比值(Zetterstrom et al., 1982)。

本實驗以血漿 sesamol 於 0.5、5 及 50 µg/ml 之濃度下，如表二所示，所測得回收率分別為 $107 \pm 10\%$ ， $110 \pm 13\%$ 及 $111 \pm 6\%$ ，平均回收率為 $110 \pm 10\%$ ，且在不同濃度下之回收率，並無統計上之顯著差異。此結果表示血漿中 sesamol 之回收率不因濃度之改變而改變。

4. 血漿中 sesamol 濃度對時間之關係

將血漿中 sesamol 濃度對時間之變化以半對數圖表示，由管灌餵食 sesamol 後，不論是給予 30、100 或 300 mg/kg 之劑量，如圖二所示，血漿中 sesamol 濃度均在第一個採血點 (2.5 min) 即達到血漿中最高濃度，接著便隨時間持續下降，且三種劑量之濃度變化曲線呈現相互平行之趨勢。但在較低之兩個劑量下，在給藥 90 分鐘後，血漿中濃度即幾乎低於定量極限 (0.05 µg/mL)。在最

高劑量 (300 mg/mL) 下，則在給藥 180 分鐘後才低於定量極限 (0.05 µg/mL)。

以靜脈注射給予 30 mg/kg 之劑量後，如圖二所示，血漿中 sesamol 濃度隨時間持續下降，但其下降之趨勢較管灌餵食者較為緩和並在給藥 90 分鐘後，幾乎低於定量極限 (0.05 µg/mL)。

5. Sesamol 之藥物動力學

藥物動力學的參數是透過一系列實驗數據，經過數學模式的計算所得，可作為描述藥物動向。一般用常見者包括：濃度時間曲線下面積 (area under the concentration-time curve, 縮寫 AUC)、半衰期 (half-life, 縮寫 $t_{1/2}$)、與最高血中濃度(C_{max})、達最高血中濃度所需的時間(T_{max})等。AUC 是藥物濃度對應時間的曲線下積分所獲之面積； $t_{1/2}$ 表示藥物的濃度在生物體內減為一半所需的時間，也就是藥物從最高濃度降低一半所需的時間；非室模式下的藥動學參數是根據統計動量理論 (Statistic moment theory)所導出(Yamaoka et al., 1978)。

本實驗經由管灌餵食 30、100 及 300 mg/kg 之劑量後，如表三所示，血漿中最高濃度 (C_{max}) 分別為 11.2 ± 6.2 , 22.2 ± 7.3 及 60.5 ± 14.0 µg/ml，隨劑量之增加而增加；達血漿中最高濃度之時間 (T_{max}) 分別為 2.08 ± 0.2 , 3.42 ± 1.24 及 3.33 ± 1.37 min，此結果顯示 sesamol 於胃腸道之吸收極為迅速，且三個劑量在統計上並無顯著差異；藥物半衰期 ($t_{1/2}$) 分別為 9.43 ± 4.33 , 13.2 ± 4.9 及 11.1 ± 2.4 min，表示 sesamol 在體內之排除快速，三個劑量在統計上亦無顯著差異；血漿中濃度對時間曲線下之面積 (AUC) 分別為 110 ± 70 , 443 ± 150 及 1140 ± 360 min µg/ml，隨劑量之增加而增加；血漿中濃度對時間曲線下之面積除以劑量 (AUC/Dose) 分別為 3.66 ± 2.34 , 4.43 ± 1.50 及 3.82 ± 1.21 min/l，三個劑量在統計上無顯著差異。以上結果顯示 sesamol 在此劑量範圍內，呈線性之藥物動力學。

經由靜脈給予 30 mg/kg 之劑量後，血漿中最高濃度 (C_{max})為 38.8 ± 16.8 µg/ml，藥物半衰期 ($t_{1/2}$) 為 15.3 ± 5.8 min，血漿中濃度對時間之曲線下面積 (AUC) 為 343 ± 96 min µg/ml，血漿中濃度對時間曲線下之面積除以劑量 (AUC/Dose) 為 11.4 ± 3.2 min/l。

(三) sesaminol、sesaminol triglucoside 藥物動力學參數測定

1. 血液之體內回收率

分別測定 sesaminol、sesaminol triglucoside 於 5、10、50 及 100 µg/ml 四個濃度下，在血液之體內回收率，結果如表四所示。在血液之體內回收率，在 5、10、50 及 100 µg/ml 四個濃度下，回收率平均分別為 103 ± 0.15 %及 88.08 ± 0.32 %。

2. 血漿中 sesaminol、sesaminol triglucoside 之藥物動力學及其口服生物可利用率

經由口服給予 sesaminol triglucoside (88.9mg/kg)、sesaminol (42.6 mg/kg)之劑量後，測定 sesaminol triglucoside、sesaminol 在血漿之濃度，其藥物動力學採用非室模式計算，結果列於表五。血漿中最高濃度 (C_{max}) 分別為 0.181 ± 0.092 及 0.7 ± 0.214 µg/ml，隨劑量之增加而增加；達血漿中最高濃度之時間 (T_{max}) 分別為 4.17 ± 2.04 及 10min，此結果顯示 sesaminol triglucoside、

sesaminol 於胃腸道之吸收極為迅速；藥物半衰期 ($t_{1/2}$) 分別為 102.22 ± 35.5 及 29.89 ± 7.96 min，表示 sesaminol 在體內之排除較 sesaminol triglucoside 快速，但以 sesamol 比其他二者有較快排除；sesaminol triglucoside、sesaminol 在血漿中濃度對時間曲線下之面積 (AUC) 分別為 17.2 ± 2.77 及 17.6 ± 7.56 min $\mu\text{g/ml}$ ；血漿中濃度對時間曲線下之面積除以劑量 (AUC/Dose) 分別為 0.19 ± 0.03 及 0.413 ± 0.177 min/l。

經由靜脈給予 sesaminol triglucoside (88.9 mg/kg)、sesaminol (10.65 mg/kg) 之劑量後，血漿中最高濃度 ($C_{\max}$) 分別為 159 ± 17.7 及 0.242 ± 0.04 $\mu\text{g/ml}$ ，而 $t_{1/2}$ 是指血漿藥物濃度或體內藥量降低 50% 所需的時間，本實驗藥物半衰期 ($t_{1/2}$) 為 50.0 ± 13.3 及 74.0 ± 28.36 min，血漿中濃度對時間之曲線下面積 (AUC) 為 5511 ± 1847 及 21.8 ± 12.1 min $\mu\text{g/ml}$ ，血漿中濃度對時間曲線下之面積除以劑量 (AUC/Dose) 為 61.99 ± 20.8 及 2.07 ± 1.26 min/l。在清除率 (Clearance; CL) 方面，sesaminol triglucoside、sesaminol 分別為 16.37 ± 6.57 、 395.6 ± 53.6 (mL/min)。擬似分佈容積是指以血液或血漿相同的濃度來計算體內的藥物需要多少液體容量。此參數可以計算獲得一定濃度所需的劑量，也可估算給予一定劑量後可達到的血藥濃度。非結合型藥物濃度和藥物效應密切相關，特別當血漿蛋白結合能力有改變時，如低蛋白血症，腎病，肝病或有取代性藥物相互作用，擬似分佈容積是在藥物分佈中使用最廣泛的參數 (Shargel et al., 1999)。本實驗所測得分佈體積 (Volume of distribution at steady state; V_{ss}) 分別 606.5 ± 65.3 及 52860 ± 1206 (L/kg)，雖然 sesaminol 有較高清除率，但由 V_{ss} 數值可推測 sesaminol 經由吸收後分佈至各組織中，且 sesaminol 為油溶性，較 sesaminol triglucoside 易於穿透細胞膜。

生物可利用率表示藥物吸收進入體循環之分率，其參數會影響單劑口服後的最大濃度，以及到達最大濃度的時間以和濃度-時間曲線下面積 (Shargel et al., 1999)。本實驗經由劑量之校正 (AUC/Dose) 後，求得 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 之口服生物可利用率分別為 34.8、0.307 及 19.95 %，表示經由口服方式給予 sesamol、sesaminol triglucoside 及 sesaminol 後，分別有 34.8、0.307 及 19.95 % 進入體循環。若藥物能迅速溶解並容易穿透細胞膜，則吸收趨向完全，但口服給藥時吸收常不完全。藥物在到達腹腔靜脈之前先沿著胃腸道向下移動並通過腸壁和肝臟，而這些臟器是藥物代謝的常見部位；藥物在進入體循環前即可能被代謝 (首渡效應；first pass effect)。許多藥物呈低的生物可利用率是由於存在較高的首渡效應。這些組織對這些藥物 (如 isoprenaline hydrochloride) 的高首渡效應以至其生物可利用率實際上為零。若藥物在肝臟和腸道被排出，則口服生物利用度很低，可能導致不能口服給藥，或口服劑量提高。首渡效應明顯的藥物有：alprenolol、hydralazine、isoprenaline、hydrochloride、lidocaine、pethidine、morphine、nifedipine、propranolol 和 verapamil (Shargel, 1999)。

在人體中攝取 flavonol glycosides 吸收由快速至緩慢 (Hollman et al., 1996; Hollman et al., 1997; Hollman et al., 1999; Nieder, 1991)，到達波峰濃度時間 ($T_{\max}$) 至少 30 分鐘至 9 小時，quercetin glucosides 之生物可利用率，洋蔥較蘋果中多種 quercetin glycosides 及 quercetin rutinoside 之生物可

利率高，洋蔥中主要包含 quercetin- β -glucosides，而蘋果中 quercetin- β -galactosides 及 β -xylosides，另有 quercetin 結合 rutin 雙糖。quercetin glycosides 結構上糖基決定其吸收及生物可利用率。Hollman 等人(1999)在健康自願者注射 quercetin- β -glucoside (300 μ mole)及 quercetin- β -rutinoside (300 μ mole) 確認 quercetin 上糖基對於吸收的影響，quercetin 在血漿中波峰濃度(C_{max})(3 μ M)較 rutinoside 高 20 倍，達至血漿中最高濃度時間(T_{max}) 較 rutinoside 快 10 倍，rutinoside 生物可利用率只有 glucoside 20%，這些藥物動力參數顯示，經由 deglycosylation quercetin glucoside 從小腸吸收，quercetin rutinoside 由結腸被吸收。Hollman 等人(1999)研究顯示 quercetin glucoside 在小腸被吸收，有一理論 flavonoids 與葡萄糖結合經由主動運輸攜帶至小腸細胞（在小腸經由鈉-葡萄糖協同運輸蛋白（sodium-dependent glucose transporter；SGLT1），在體外實驗 quercetin glucosides 吸收機制方面研究為 SGLT1，在老鼠十二指腸外翻實驗，quercetin glucosides 會與鈉-葡萄糖協同運輸蛋白結合(Gee et al., 1998)，quercetin-4'-glucoside 在人體腸道表皮 Caco-2 細胞經 SGLT1 行主動運輸(Walgren et al., 2000)，非主要機制為 quercetin glucosides 受到 lactase phloridzin hydrolase (LPH)水解， β -glucosidase 於刷狀緣膜外圍。(Day et al., 2000)，接著 aglycone 在小腸中由被動擴散吸收，然而這些 glucosides 吸收機制尚未完全了解，當藉由蛋白質將葡萄糖移除，例如 LPH 產生轉運(Day et al., 1998; Scalbert and Williamson, 2000)，但這並不是所有 glucosides 相同(Cao et al., 2001)。

本實驗 sesaminol triglucoside 結果與先前 glycosides 研究結果異同，不同於 flavonol glycosides 需被水解才能被吸收，而這樣理論主要以 monoglucoside 為主，而且 sesaminol triglucoside 結構異於 flavonol，另有學者在 Galvano (2004)、Tsuda (1999)、Miyazawa (1999)、Matsumoto (2001)等人指出在老鼠及人口服黑醋栗果汁(含有 cyanidin-3- glycosides 及 cyanidin-3,5-diglycoside)及木莓果汁(cyanidin-3-O- β -rutinoside)後，可在血漿中測得 cyanidin glycosides。Milbury (2002)及 Murkovic (2001)等人在尿液排除試驗中，測得 anthocyanins 最大量排出時間為 3-4 小時，Felgines (2002)等人給予 blackberry 飲食，則在尿液中測得 cyanidin-3- glycosides 或 methylated 形式，但無測到 aglycone 及結合態代謝物。Talavera (2005)等人研究指出在餵食老鼠黑莓汁，在花青素組織分佈實驗中，以 LC-ESI-MS/MS 在空腸、腦、肝臟及腎臟組織中，檢測出 cyanidin 3-o-glucoside、cyanidin 3-o-pentose、甲基化花青素及結合態代謝物(cyanidin 和 peonidin monoglucuronides)，所以由以上研究推論天然物中含有 glycosides 之吸收代謝，並非遵循去除糖基(deglycosylation)之代謝途徑(SGLT1 及 LPH 水解機轉)。本實驗中 sesaminol triglucoside 生物可利用率較其他二者差，其餘未被胃腸道吸收可能被腸道微生物代謝為其他代謝產物或經由糞便尿液排出體外。

3. sesaminol、sesaminol triglucoside 在血漿中之蛋白結合率

藥物在血流中轉運時，一部分是以游離藥溶解於血液中(非結合型)，另一部分則與血液中血漿蛋白、血細胞結合，而決定血漿中結合藥物與非結合藥物比率主要因素是藥物分子和蛋白質分子間的可逆性相互作用，多種血漿蛋白能與藥物相結合，白蛋白、 α -酸性糖蛋白和脂蛋白是最重要的蛋

白質，一般酸性藥物更易與白蛋白結合，而鹼性蛋白則易與 α -酸性糖蛋白和脂蛋白結合(Shargel, 1999)。由於只有非結合藥物才能通過被動擴散到達產生藥理作用的血管外或組織部位，因此非結合型藥物濃度和作用部位藥物濃度關係更密切，亦即和藥物效應的關係更密切。血漿蛋白結合作用會影響藥物的分佈，也會影響藥理活性和血漿藥物濃度間的關係。本實驗由靜脈注射 sesaminol triglucoside (29.63 mg/kg)、sesaminol (10.65 mg/kg)，在給藥後 10、20 及 30 分鐘進行心臟採血，測定 sesaminol、sesaminol triglucoside 在血漿中之蛋白結合率，結果列於表六。在三個採血時間點下，測得血漿中 sesaminol triglucoside 之蛋白結合率分別為 $82.27 \pm 6.73\%$ 、 $84.51 \pm 3.58\%$ 及 $85.83 \pm 2.25\%$ ，而 sesaminol triglucoside 蛋白結合率分別為 $8.97 \pm 1.78\%$ 、 $7.93 \pm 4.96\%$ 及 $9.46 \pm 1.11\%$ 。許多酸性藥物(如 warfarin 和 salicylic acid)與蛋白質高度結合，因此分佈體積小。許多鹼性藥物(如 Amphetamine 和 pethidine)極易被組織攝取，因此分佈體積大(Shargel, 1999)。本實驗結果 sesaminol 對於蛋白質結合率較低，並由 sesaminol 藥動參數-分佈體積(V_{ss})，sesaminol 分佈體積(V_{ss})則較 sesaminol triglucoside 較大，此現象與先前研究有一致性。

(四) 芝麻 lignan compounds 於大白鼠的吸收分佈及排除

藥物代謝過程包含化合物影響、結構改變、分子裂解等因子影響，分子結構依據生化性質及化學特性經酵素或非酵素反應修飾。飲食中抗氧化物質為不同酵素受質，抗氧化物可受異物代謝酵素影響，例如：cytochrome-P450- dependent monooxygenases (CYP450) 和 phase II 生物轉換結合酵素 (UDP-glucuronosyl transferases 或 phenol sulphotransferases) 代謝，抗氧化物也會受到其它酵素代謝，例如 esterases 切除 carotenol 上脂肪酸，或 β -glucosidases 將 o-glucosides 釋放出。在組織中及腸道細菌 β -Glucosidases 會將結合之碳水化合物移除，使得 flavonoid 活化。Massey 等人(1984)以富含 quercetin 飲食中，由血漿得到結合形式衍生物及甲基化形式 isorhamnetin (3'-methylquercetin)、isorhamnetin 占血漿中 quercetin 之 20-30%，早期由老鼠實驗所得數據顯示，3'-methylquercetin 在血漿中循環 quercetin 佔有 80%，isorhamnetin 及 flavonol 代謝物以結合形式進行循環(Manach et al., 1996)。Catechol 之氫氧基與 glucuronic acid、sulphate、glycine、o-methylation 結合作用為植物酚類代謝路徑 (Stahl et al., 2002)。

許多研究顯示 flavonoids 為小腸 UDP-glucuronyl transferases 和 catechol-o-methyltransferases 之受質，其在小腸之迴腸空腸經 deglycosylation 和 methylation 之結合反應如 glucuronidation (Kuhnle et al., 2000; Manach et al., 1998; Spencer et al., 1999)。Glucosides 之 deglycosylation 發生於小腸及肝臟，具廣泛專一性細胞 β -glucosidase 在小腸上皮細胞及肝臟細胞被發現 (Day et al., 1998; Lambert et al., 1999)，小腸刷狀緣存有 β -glucosidase、lactase phloridzin hydrolase (Day et al., 2000)，flavonoids 吸收在小腸代謝後，在肝臟有 methylation、sulphation、glucuronidation 主要反應形成結合態，flavonoid 生物轉換能力，如 catechol-o-methyl transferase (Mannisto and Kaakkola, 1999) 可以催化 sulphate 及 glucuronic acid 結合反應，並在肝臟中活化。攝取 flavonols 代謝主要在肝臟 (Griffiths, 1982) 及小腸 (Scalbert and Williamson, 2000)，catechol-o-methyl transferase 存於腸細胞中 (Okushio et al., 1999)，利用動物實驗了解 flavonoid 環狀之分

解反應，初期經腸道微生物酵素作用 demethylation 和 dehydroxylation 產生酚酸，細菌酵素會催化許多反應，包括 glucuronides、sulphates、glycosides 水解、dehydroxylation、demethylation、降低雙鍵數目、環裂解、酚酸 decarboxylation(Hollman and Katan 1999)。本實驗探討 sesamol 原型態及結合態代謝物在組織分佈情形，並且由尿液及糞便了解 sesamol 排除現象。

1. sesamol、sesaminol 及 sesaminol triglucoside 分析方法之確效

以線性迴歸法計算，在 0.2 – 25 µg/ml 之濃度範圍內之校正曲線方程式，具有良好之線性關係 ($r^2 > 0.997$)。表七為 Sesamol 於同日內 (intra-day) 及異日間 (inter-day) 分析方法之確效結果。於同日內分析之變異係數 (CV%) 小於 2%，偏差百分比 (bias%) 介於 ±4% 之間；於異日間分析之變異係數 (CV%) 小於 5%，偏差百分比 (bias%) 介於 ±4% 之間。表十三、表十四、表十五、表十六、表十七及表十八分別為為 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 於大鼠組織、腸道及排出物之同日內 (intra-day) 及異日間 (inter-day) 確效結果。於同日內分析之變異係數 (CV%) 小於 3%，偏差百分比 (bias%) 介於 ±4% 之間；於異日間分析之變異係數 (CV%) 小於 3%，偏差百分比 (bias%) 介於 ±6% 之間。實驗結果顯示此分析方法不論是在同日內或異日間之精密度 (precision) 及準確度 (accuracy) 皆在 ±15% 之可接受範圍內 (Causon, 1997)，即此分析系統在 0.2 – 25 µg/ml 之濃度範圍內具有良好之靈敏度及再現性，而最低定量極限為 0.02 µg/ml。

2. sesamol、sesaminol 及 sesaminol triglucoside 組織分佈

藥物進入體循環後分佈於全身各組織。由於不同組織的血液流動差異，藥物與組織結合力不同，各部位組織 pH 值和細胞膜通透性差異等影響，藥物分佈會有差異(Shargel et al.,1999)。本實驗採以氯甲烷及醋酸緩衝溶液萃取方式，因氯甲烷可以在正常生理 pH 下以較少量溶劑去除蛋白質 (Blanchard, 1981)，可有效將組織中與蛋白質結合之原形藥或結合態代謝物萃出，各組織回收率之計算方式為，將 sesamol 標準溶液加入空白組織液中，予以定量，其各組織回收率結果，如表八所示，此法萃取組織中 sesamol 有很好回收率。將 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 標準溶液加入空白組織液中，予以定量，其各組織回收率結果，如表二十三及表二十四所示，此法萃取組織及腸道中 sesaminol triglucoside 有很好回收率，而 sesaminol 因油溶性特性，在此萃取系統中回收率不及 sesaminol triglucoside 佳。

在各組織中藥物濃度計算，因組織中含有血液，為了將求得真實組織中藥物濃度，需扣除組織中殘留血液(血藥濃度)，本實驗則以定量各組織中 hemoglobin 含量(表九)，求得組織中血液比例，求得各組織中藥物濃度。由全血所測得標準曲線回歸方程式為 $y=0.0253x+0.0011$ ($r^2=0.9999$)，各組織血紅素分佈，如表十所示，以高血流量組織-肺臟及心臟含量最高，而其次為排除代謝器官-腎及肝臟，腸道血紅素分佈最少。

sesamol 在組織分佈實驗中，給予 sesamol (100mg/kg) 後，經各組織中血紅素測定，以高血液流量組織-肺臟及心臟，如圖十一及圖七所示，因受到血液與組織間交互作用，使肺臟及心臟中有較高濃度，

與 Umeda-Saeada 等(1999)的研究結果相同，sesamin 及 episesamin 可以經過淋巴循環系統，所以在肺臟組織中有較高濃度。各部位組織 sesamol 及結合態代謝態產物分佈情形，如圖十二所示，以血漿中藥物濃度最高，而在血漿中 sesamol sulfates 及 glucuronides 之濃度明顯高於其原型態，在給藥後之 60 分鐘，如圖八、圖九及圖十所示，sesamol 結合態代謝物所佔比率高達 96.48 %（包含原型及結合態代謝物），比較兩種代謝物含量，sesamol sulfates 為 sesamol glucuronides 之兩倍，結合態代謝物在體內的滯留時間皆比 sesamol 長，推測結合態代謝物進行腸肝循環。

sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在組織分佈實驗中，給予 sesaminol (220 mg/kg)及 sesaminol triglucoside (500 mg/kg) 後，經各組織中血紅素測定，以高血液流量組織-肺臟及心臟，如圖十五及圖二十四所示，因受到血液與組織間交互作用，使肺臟及心臟中有較高濃度，與 Umeda-Saeada 等(1999)的研究結果相同，sesamin 及 episesamin 可以經過淋巴循環系統，所以在肺臟組織中有較高濃度。淋巴系統由淋巴結(lymph nodes)與淋巴管(lymphatic vessels)所構成，負責將組之間液送回心血管系統。各器官及組織間質內，則有許多淋巴微管(lymphatic capillaries)，由基底膜上單層內皮細胞所構成，其運送方式為淋巴微管匯流淋巴管，聚集後大型淋巴管，經由頸部及胸部上方頸靜脈及鎖骨下靜脈接合注入靜脈內，而這些交界處含有瓣膜，使得淋巴液單方向注入靜脈，進而將組之間液帶入心血管系統。各部位組織 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 及結合態代謝態產物分佈情形，如圖十六及圖二十五所示，以血漿中藥物濃度最高，而在血漿中 sesaminol 及 sesaminol triglucoside sulfates 及 glucuronides 之濃度明顯高於其原型態，在給藥後之 360 分鐘，如圖十六、圖十八、圖二十三及圖二十五所示，sesaminol 及 sesaminol triglucoside 結合態代謝物含量高於原型態，比較兩種代謝物含量，sesaminol sulfates 高於 sesaminol glucuronides，結合態代謝物在體內的滯留時間皆比 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 長，並在腸道系統有較高含量，推測結合態代謝物進行腸肝循環。

在腦部組織，雖然供給腦部的血液量占心臟輸出量的 1/6，但分佈到腦組織的藥物卻受到限制，但脂溶性藥物(如 thiopental)能很快進入腦組織而且迅速發揮其藥理作用，但水溶性較高的藥物卻非常緩慢地進入腦部，與其他部位微血管相比，腦部微血管與內皮細胞相互聯接更為緊密，使水溶性藥物擴散緩慢，另外對水溶性藥物的阻礙屏障是膠質結締組織中星形細胞(astrocyte)所組成的星形細胞鞘，與微血管內皮基膜緊密鄰接，微血管內皮和星形細胞鞘在一起構成血腦屏障(Blood-brain barrier)。因為屏障僅與微血管壁相聯繫而與實質細胞無關，所以它賦於腦組織與其他組織不同的滲透性特徵。因此，極性物質可進入大多數其他組織間液但不能進入腦組織。藥物可以經由脈絡叢直接進入側腦室腦脊液，再由腦脊液通過被動擴散進入腦組織。然而決定藥物通透到腦脊液或進入其他組織速率的因素有：藥物與蛋白質結合程度、解離度和極性範圍。中樞神經系統的血液流動極佳，一般而言，通透性是藥物分佈速率的主要影響因素。然而，對大多數組織間液而言，血液流動是主要影響因素(Shargel et al.,1999)。在本實驗中腦部所測得主要以 sesamol 原形藥為主，如圖九所示，推測可能因結合態代謝物極性較高，無法完全穿透血腦障壁，使得較低極性 sesamol 在腦部中有較高濃度。其他組織中不同時間下，如圖十二所示，均以 sesamol sulfates 濃度較 sesamol glucuronides 高，其中以肝臟及腎臟含量最高，如圖八所示，肝臟中

sesamol sulfates 與 sesamol glucuronides 濃度，在 60 分鐘時分別為 61.73 ± 3.99 、 17.59 ± 1.06 $\mu\text{g/g}$ 。在 sesaminol 實驗中腦部所測得主要以 sesaminol sulfates 結合態為主，其他組織中不同時間下，如圖十六及圖二十三所示，均以 sesaminol sulfates 濃度較 sesaminol glucuronides 高，其中以心臟含量最高。

在 Higaki 等人 (2003) 在大鼠離體實驗中，以肝臟灌流模式發現 sulfates 經肝臟細胞與血管中 sinusoidal membrane 進入血液之含量遠高於 glucuronides，並且 glucuronides 於膽管清除率高於 sulfates，Takenaka 等人 (1997) 研究指出在老鼠之肝臟 influx clearance，以 glucuronides (1.20 ml/min/g) 較 sulfates (0.74 ml/min/g) 高，這些結果可以解釋本實驗中為何血液循環中 sesamol sulfates 濃度高於 sesamol glucuronides，且在組織分佈中肝臟 glucuronides 排除高於 sulfates。在正常生理狀況下，由於 MRP2 在肝臟的表現量較在腸或其他組織的表現量高 (位於 canalicular 或 apical site)，MRP3 在肝臟的表現量較在腸或其他組織的表現量低 (位於 basolateral site)；因此肝臟中大多數結合後的有機陰離子是經由 MRP2 排至膽道。當 MRP2 轉送器有缺陷或缺乏的老鼠或因 MRP2 轉送器有缺陷而患 Dubin-Johnson 症候群的人，其肝臟會代償性的誘使 MRP3 表現增加，進而將原本因應自膽道排除的有害化合物轉送至血液中再經腎臟排除，以便減少因阻塞性黃膽造成肝臟中有害肝細胞的物質淤積。除了膽汁阻滯的情況會誘導 MRP3 表現增加外，也有報導指出 phase II 酵素誘導劑，如：TSO 和 DAS，可經由與 CAR 和 PXR 等這些 nuclear receptor 無關的途徑增加 MRP3 的表現。此外外生素 (xenobiotics) 如：omeprazole, β -naphthoflavone, 和 2-acetylaminofluorene (2-AAF)，也可增加人類肝癌細胞株 (Hep G2) 表現 MRP3。然而，這些藥物誘導肝臟中 MRP3 表現增加的機制仍有待進一步探討。另外在組織中腸、肝、腎已發現陰離子的 transporters，如 organic anion transporters (OATs) 及 multidrug resistance proteins (MRPs)，可以運送負電荷的結合態代謝物進出細胞 (Chan, 2004 and Arrese, 2002)，進而影響結合態代謝物在組織中所佔比率，Moon (2000) 研究指出在 quercetin 結合態代謝物可能相互競爭 transporters，使得 glucuronides 較易 pump out 至腸道中。Shibayama (2004) 研究指出肝臟結合態代謝物濃度較腎臟低，可能因為活化肝臟中 multidrug resistance protein 2 (MRP2) 之表現，但卻對腎臟 MRP2 無影響。在本實驗中推測造成肝臟中 sesamol 結合態代謝物較低，可能因結合態代謝物排除至膽管，導致肝臟結合態代謝物濃度較腎臟低。另外 Deguchi (2003) 等人測得 Indoxy sulfates 在血中濃度高時，Indoxy sulfates 可由血液至腎小管，經由有機陰離子運輸系統 (organic anion transport system) 調節，使得腎臟清除率呈現飽和現象，故此論點可推測本實驗中 sesamol sulfates 於血中濃度高時，因腎臟清除率達飽和，造成 sesamol sulfates 較 sesamol glucuronides 易蓄積組織中，並且在腎臟組織中達較高藥物濃度。

Manach 等人 (1995) 在 quercetin 代謝產物研究中發現，quercetin 代謝產物在生理 pH 下為負離子，且與蛋白質結合率高，進而影響 quercetin 結合態代謝物進入組織中。表七 為組織與血漿中濃度之比值關係 ($C_{\text{tissue}}/C_{\text{plasma}}$)，結果顯示血漿中結合態代謝物高於組織中，但在腸道、心臟及肺臟則為相反，可能因在高血液流量組織中油溶性 sesamol 可穿過細胞壁到達心臟及肺臟中，在腸道中因 sesamol 殘留量較高，如圖三所示，並有腸肝循環所排出之 sesamol glucuronides，所以腸道藥物濃較其他組織高；而 sesamol 結合態代謝物極性較高，因 sesamol 結合態代謝物帶有負離子，與血漿中蛋白質結合率高，使 sesamol

結合態代謝物進入組織有限。另外在圖十七、圖十九、圖二十及圖二十一結果顯示血漿中結合態代謝物高於組織中，但在腸道、心臟及肺臟則為相反，可能因在高血液流量組織中油溶性 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 可穿過細胞壁到達心臟及肺臟中，在腸道中因 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 殘留量較高，如圖二十一、圖二十六及圖二十七所示，並有腸肝循環所排出之 sesaminol 及 sesaminol triglucoside glucuronides，所以腸道藥物濃較其他組織高；而 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 結合態代謝物極性較高，因 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 結合態代謝物帶有負離子，與血漿中蛋白質結合率高，使 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 結合態代謝物進入組織有限。

3. sesamol、sesaminol 及 sesaminol triglucoside 之糞便及尿液排除

排除是指藥物或代謝物不再進一步化學變化而從體內消除的過程。腎臟是水溶性藥物排泄的主要器官，膽道系統有利於在胃腸道不被吸收的藥物排泄。在腎小球的血漿約有1/5，而通過腎小球內皮細胞小孔被濾出，其餘部分流向環繞腎小管的輸出小動脈。結合於血漿蛋白的藥物不能濾過，只有非結合藥物出現在濾液中。控制腎小管藥物再吸收和控制membrane transport原理是相同的。極性化合物和離子不能返回血循環而被排泄，除非有特異性轉運機制能使其再吸收(如葡萄糖，抗壞血酸和維生素B群)。在曲小管(convoluted tubule)的腎小管主動分泌機制(tubular secretion)對許多藥物(例如penicillins、mecamylamine、salicylic acid)的排除是很重要的。分泌轉運的能力可被高濃度藥物所飽和，每種物質具有各自的最大分泌速率(Shargel et al.,1999)。以尿中sesamol濃度乘以該時段尿量，分別計算平均24小時總排除量、平均排出百分率，如表十一所示。sesamol、sesamol sulfates 與sesamol glucuronides之平均總排出量分別為 111.1 ± 3.76 、 324.5 ± 3.22 及 5535.8 ± 32.2 ($\mu\text{g/g}$)，平均總排出百分率分別為 $0.111 \pm 0.04 \%$ 、 $0.32 \pm 0.03 \%$ 及 $5.56 \pm 0.32 \%$ ，本實驗尿液排除與Scalbert (2000)等人結果相比較，在原形態尿液排除情形，Flavanones介於3.0 % (Hesperidin)- 8.8 % (Naringin)、Isoflavones介於19.8 % (Genistein)- 2.5 % (Daidzein)、Catechins介於6.2 % (Epicatechin)- 3.6 % (Epigallocatechin)，而sesamol相較於這些天然物較低排除情形，與Flavonols中Quercetin-4-O-rhamnoglucoside (0.35 %)、Quercetin (0.44 %)相近。在結合態sesamol sulfates之排出量皆高於sesamol glucuronides，尿液中藥物濃度尖峰於4-8小時，如圖十三所示。

在糞便排除實驗，糞便中 sesamol 濃度乘以該時段糞便量，分別計算平均 24 小時總排除量、平均排出百分率，如表十二所示。sesamol、sesamol sulfates 與 sesamol glucuronides 之平均總排出量分別為 293 ± 1.22 、 318.5 ± 1.77 及 318.5 ± 1.76 ($\mu\text{g/g}$)，平均總排出百分率分別為 $0.29 \pm 0.01 \%$ 、 $0.32 \pm 0.01 \%$ 及 $0.93 \pm 0.01 \%$ ，雖 sesamol sulfates 之總排出量與 sesamol glucuronides 相同，但在藥物濃度尖峰(4-8, 16-24 小時)主要排除為 sesamol sulfates，糞便中藥物濃度尖峰於 4-8 小時，而 16-24 小時其次，如圖十四所示。

以尿中sesaminol triglucoside濃度乘以該時段尿量，分別計算平均24小時總排除量、平均排出百分率，如表十九所示。sesaminol triglucoside、sesaminol、sesaminol glucuronides、sesaminol sulfate之平均總排出量分別為 1329.3 ± 420.14 、 31.87 ± 5.878 、 105.4 ± 40.29 及 4349 ± 708.2 (nmole)，平均總排出百分率分別為0.911 %、0.0218 %、0.0722 %及2.9784 %。

以尿中 sesaminol 濃度乘以該時段尿量，分別計算平均 24 小時總排除量、平均排出百分率，如表二十一所示。sesaminol、sesaminol glucuronides、sesaminol sulfate 之平均總排出量分別為 87.89 ± 24.42 、 133.2 ± 3.209 及 343.7 ± 38.56 (nmole)，平均總排出百分率分別為 0.05913、0.0896 % 及 0.2312 %。在結合態 sesaminol sulfates 之排出量皆高於 sesaminol glucuronides，尿液中藥物濃度尖峰於 8-12 小時，如圖二十二所示。

在 sesaminol triglucoside 糞便排除實驗，糞便中 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 濃度乘以該時段糞便量，分別計算平均 24 小時總排除量、平均排出百分率，如表二十所示。sesaminol triglucoside、sesaminol、sesaminol sulfates 及 sesaminol glucuronides 之平均總排出量分別為 6382 ± 493.3 、 56820 ± 2790 及 1288 ± 13.58 (nmole)，平均總排出百分率分別為 4.370、38.91 %、0.882 % 及 35.996 %，雖 sesaminol 及 sesaminol sulfates 之總排出量皆較 sesaminol glucuronides 及 sesaminol triglucoside 多，主要排除藥物濃度尖峰(12-16 小時)，而原形藥 sesaminol triglucoside 主要在 8-12 小時排除，如圖二十二所示。

在 sesaminol 糞便排除實驗，糞便中 sesaminol 濃度乘以該時段糞便量，分別計算平均 24 小時總排除量、平均排出百分率，如表二十二所示。sesaminol、sesaminol glucuronides 及 sesaminol sulfates 之平均總排出量分別為 24523 ± 2822 、 407.1 ± 12.84 及 23896 ± 696.8 (nmole)，平均總排出百分率分別為 16.498 %、0.2738% 及 16.076 %，雖 sesaminol 及 sesaminol sulfates 之總排出量皆較 sesaminol glucuronides，主要排除藥物濃度尖峰(8-12 小時)，而原形藥 sesaminol triglucoside 主要在 12-16 小時排除，如圖二十八所示。

(五) 芝麻 lignan compounds 於大白鼠的代謝途徑

1. Sesamol、Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol 之胃腸道模擬系統穩定試驗及大鼠肝臟酵素代謝反應

在 Sesamol、Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol 之分析方法確立，標準曲線和樣品處理回收率分別為：Sesaminol triglucoside 標準曲線為 $y = 0.1554x + 0.0077$ $R^2 = 0.9954$ ，在胃液回收率 $129.12 \pm 2.89\%$ ，在腸液回收率 $138.34 \pm 3.00\%$ ，於肝臟酵素系統回收率 $112.64 \pm 0.134\%$ ；Sesaminol 標準曲線為 $y = 0.4939x - 0.0194$ $R^2 = 0.9999$ ，在胃液回收率 $71.91 \pm 0.36\%$ ，在腸液回收率 $87.39 \pm 11.0\%$ ，於肝臟酵素系統回收率 $70.98 \pm 3.12\%$ ；Sesamol 標準曲線為 $y = 0.3733x + 0.0036$ $R^2 = 0.9999$ ，在胃液回收率 $92.62 \pm 2.20\%$ ，在腸液回收率 $93.62 \pm 1.47\%$ ，於肝臟酵素系統回收率 $91.34 \pm 0.31\%$ 。

Sesamol、Sesaminol triglucoside 在胃腸道模擬系統中，胃酸的低酸性環境下，並未造成 Sesamol 及 Sesaminol triglucoside 降解，如圖三十二及圖三十三所示，且胃腸模擬液酵素並未對此兩種化合物產生作用。在大鼠肝臟酵素代謝試驗中，Sesamol、Sesaminol triglucoside 並未受到肝臟酵素代謝成其他代謝物。對於 Sesaminol 在胃液中並不穩定(圖三十一)，在很短反應時間產生降解作用，經過 LC/MS/MS 分析後，確認生成 Sesaminol isomer，但是此兩種物質在酸性環境下，皆不穩定推測可能降解成其他物質。相同的，Sesaminol 經大鼠肝臟酵素代謝反應後，則有產生 methylenedioxyphenyl 基團產生開環之代謝產物，如圖三十所示。

2. Sesamol、Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol 之大鼠體內代謝物分析

在 Sesamol 代謝物分析試驗中，以管灌餵食 100mg/kg BW Sesamol，結果發現在大鼠尿液經 phase II 酵素(sulfatase 及 β -glucuronidase)水解後 TMS 衍生化分析中，如表二十七所示，以氣相層析質譜儀發現測得分子量 210、284 及 342 代謝物，代謝物分子量 210 其子離子片段 195、165、137、97 及 73，而分子量 284 其子離子片段 241、185、129 及 73，另外在分子量 342 其子離子片段 342、327、267、254、239、211、179 及 73。

Sesaminol 經過 LC/MS/MS 分析後，可產生分子量 m/z 369 之 $[M-H]^-$ 離子，並使用離子撞擊片段化分析(collision induced dissociation, CID)，因此可得到母離子之碎片資訊，其 MS/MS 離子片段則有 m/z 339、219、191、163 之 $[M-H]^-$ 片段(如圖二十九所示)。

在大鼠模式餵食 Sesaminol 及 Sesaminol triglucoside，分別給予 220、500mg/kg。進行大鼠體內各組織中代謝物生成，並以 LC/MS/MS 分析，依離子片段解析其代謝物結構。

在餵食 Sesaminol triglucoside 組別，如表二十五所示，在直腸部位測得 MST-3(m/z 359)、MST-7 (m/z 297)及 MST-1 (m/z 369; 不帶糖基 Sesaminol)之 $[M-H]^-$ 離子;在大腸部位測得 MST-3 (m/z 359)、MST-2 (m/z 357)、MST-7 (m/z 297) 及 MST-1 (m/z 369)之 $[M-H]^-$ 離子。在盲腸部位測得 MST-3 (m/z 359)、MST-2 (m/z 357)、MST- 7 (m/z 297) 及 MST-1 (m/z 369)之 $[M-H]^-$ 離子；而在大鼠血漿中則可測得 MST-3 (m/z 359)、MST-5 (m/z 361)、MST- 7(m/z 297)及 MST-1 (m/z 369)之 $[M-H]^-$ 離子；但在大鼠腦部只能測得 MST-1 (m/z 369; 不帶糖基 Sesaminol)之 $[M-H]^-$ 離子；在肺臟只能測得 MST- 3 (m/z 359)之 $[M-H]^-$ 離子；在心臟則有測得 MST- 3(m/z 359) 及 MST-1 (m/z 369)之 $[M-H]^-$ 離子；在腎臟只能測得 MST-1 (m/z 369; 不帶糖基 Sesaminol) 之 $[M-H]^-$ 離子；在肝臟測得 MST- 7(m/z 297) 及 MST-1 (m/z 369; 不帶糖基 Sesaminol)之 $[M-H]^-$ 離子。

在餵食 Sesaminol 組別，如表二十六所示，在小腸部位測得 MS-2 (m/z 359)、MS-3 (m/z 373)、MS-5 (m/z 345)、MS-4 (m/z 361)、MS-1 (m/z 357)及 MS-7 (m/z 297)之 $[M-H]^-$ 離子；在直腸及大腸部位測得 MS-2 (m/z 359)之 $[M-H]^-$ 離子；在盲腸部位測得 MS-2 (m/z 359)、MS-4 (m/z 345)、MS-3 (m/z 373)、MS-5 (m/z 361)、MS-1 (m/z 357)及 MS-7 (m/z 297)之 $[M-H]^-$ 離子；在其他組織只有腦部及腎臟測得 MS-2 (m/z 359) 之 $[M-H]^-$ 離子。

在大鼠排除物之代謝物 LC/MS/MS 分析，如表二十四所示，餵食 Sesaminol triglucoside 組別中，在糞便中測得 MST-3 (m/z 359)、MST-2(m/z 357)、MST-6 (m/z 301)、MST-4 (m/z 377)、MST-7 (m/z 297)及 MST-1 (m/z 369; 不帶糖基 Sesaminol)之 $[M-H]^-$ 離子；代謝物經體循環後於尿液中，可測得 MST-3 (m/z 359)、MST-2 (m/z 357)、MST-5 (m/z 361)、MST-7 (m/z 297)及 MST-6 (m/z 301)之 $[M-H]^-$ 離子。餵食 Sesaminol 組別中，在糞便中測得 MS-2 (m/z 359)、MS-6 (m/z 377)、MS-8 (m/z 297)及 MS-7 (m/z 301)之 $[M-H]^-$ 離子；代謝物經體循環後於尿液中，也可測得 MS-2 (m/z 359)、MS-1 (m/z 369)及 MS-7 (m/z 301) 之 $[M-H]^-$ 離子。

在 Sesaminol 及 Sesaminol triglucoside 代謝物經 LC/MS/MS 分析，在大部分組織及排泄物中，測得分子量 m/z 301、297 (MST-7 及 MS-8) 之 $[M-H]^-$ 離子，此化合物與 Jansen 等人(2005)質譜結果，經 LC/MS/MS 二次質譜分析，在則有相同離子片段(m/z 253、189)，推測此物質為 enterolactone，所以 Sesaminol 及 Sesaminol triglucoside 由大鼠消化吸收後，lignan 受腸內菌經去糖基、還原、去甲基及去氫氧基反應後，降解成 enterolactone。

在天然物中 lignan 之代謝途徑，Lampe 等人(2006)指出植物 phytoestrogen 之 lignan 化合物受到腸道微生物作用，代謝生成 enterodiol、enterolactone，secoisolariciresinol diglucoside 在人體攝取後，經腸道微生物代謝及腸道吸收，攝取後 8-10 小時可在血漿中測得，結合態代謝產物 sulfate 及 glucuronic acid 在腸壁及肝臟產生結合作用，主要結合態代謝產物為 glucuronides。Lignan 在植物體中，大部分以配糖體形式存在，經攝取後被水解成 aglycone，受到腸道微生物之 β -glucosidase 及小腸絨毛上 β -glucosidase 水解(Rowland et al., 2003)。Aglycone 經吸收或由微生物代謝成 enterolignans，matairesinol 及 secoisolariciresinol diglucoside 經 dehydroxylated 及 demethylated 生成 enterolactone 和 enterodiol。微生物可將 enterodiol 氧化成 enterolactone，但是在體內試驗則無法將 enterolactone 還原成 enterodiol (Setchell et al., 1988)。然而，以人類糞便與 lignan 共同培養，則可生成 enterolactone 和 enterodiol (Thompson and others, 1991, Rickard and others, 1996, Borriello and others 1985)。matairesinol 及 secoisolariciresinol diglucoside 為植物體中常見 lignan 化合物，除此之外尚有 pinoresinol diglucoside、7-hydroxymatairesinol 及 lariciresinol 皆可經由腸道微生物可轉變成 enterolactone 和 enterodiol (Heinonen et al., 2001 和 Wang et al., 2001)。並且發現 lignan 化合物在人類糞便微生物則有不同轉化率，secoisolariciresinol 轉化成 enterolactone (21 %) 和 enterodiol (50 %)，pinoresinol diglucoside 轉化成 enterolactone (19 %)和 enterodiol (32 %)，另外 lariciresinol 轉化成 enterolactone (46 %)和 enterodiol (55 %)，相反的，isolariciresinol 則不轉化代謝成 enterolignan，而 matairesinol 只能轉化成 enterolactone (62 %)(Heinonen et al., 2001)。Wang 等人(2001)在 secoisolariciresinol diglucoside 腸道代謝分離出 *Petostreptococcus* sp. SDG-1 及 *Eubacterium* sp. SDG-2，可進行 demethylation 及 dehydroxylation。Clavel 等人(2005)鑑定出 *P. productus* SECO-Mt75m3 及 *Eggerthella lenta* SECO-Mt75m2 為進行 demethylation 及 dehydroxylation 反應之菌株。然而這些 lignan 化合物並非進行相同代謝途徑，例如 arctiin 在人類糞便共同培養，則只生成 enterolactone (Xie et al., 2003)。在給予 secoisolariciresinol diglucoside 後，經吸收後 lignan 代謝物 enterolactone 從尿液排除相當少或沒有(Kuijsten et al., 2005；Lampe et al., 1994；)。在 secoisolariciresinol diglucoside 轉化 enterolactone 實驗中，以 tRFLP (terminal restriction fragment length polymorphism)分析腸道微生物 16S rRNA 基因序列，發現 *Bacteroides* (78, 138, 220 及 258 bp)、*B. distasonis* (207 及 235 bp)及 *Peptostreptococcus* sp. (199, 297 及 305 bp)，然而，*Peptostreptococcus* sp.則是影響 secoisolariciresinol diglucoside 轉化 enterolactone 之中間產物生成(Liu et al., 1997；Wang et al., 2000；Clavel et al., 2005)。

Lignan 化合物及其代謝物經吸收後，於腸道上皮細胞及肝臟之 UDP-glucuronosyl- transferases (UGT) 及 sulfotransferases 進行結合態反應，並從尿液或膽汁排除，而經由膽汁排出 glucuronide，在腸道中則受

到微生物 β -glucuronidase 去結合作用，可再進行腸肝循環被吸收利用(Setchell et al., 1988)。Lignan 在尿液排除形式主要為結合態，enterolactone 和 enterodiols 排除以 monoglucuronides 為主(分別為 95 % 及 85 %)，而較少以 monosulfates(2-10 %形式)，另有 0.3-1 % 為 free aglycones (Adlercreutz et al., 1995)。影響結合態或非結合態化合物排除作用，在腸細胞中主要為 ATP (adenosine triphosphate) 依賴型轉運蛋白質，可將代謝物排除胞外，例如：MRP2 (multidrug resistance associated protein 2)，在高劑量時則會影響 enterolactone 和 enterodiols 吸收(Lania-Pietrzak et al., 2005)。在人類肝臟微小體共同培養，則發現 enterolactone 和 enterodiols 可進行 aliphatic 及 aromatic hydroxylation 反應，生成二次代謝產物(Jacobs et al., 1999)。這些二次代謝產物在尿液中，已確認為結合態形式(佔總 lignan ≤ 5 %)。enterolactone 和 enterodiols 經過 Phase I 酵素作用很少，而在腸道上皮細胞(Jansen et al., 2005)和肝臟(Dean et al., 2004)快速進行 glucuronidation 反應。Kuijsten 等人(2005)先將樣品經由酵素(β -glucuronidase 及 sulfatase)水解成 aglycones，檢測血漿中 enterolignan 總量，以時差式螢光(Time-Resolved Fluorescence)檢測 enterolactone 濃度(0.35 nM)，GC/MS 偵測 enterolactone 和 enterodiols 濃度為(0.2-1.0 nM)，而 LC/MS 則檢測出 0.15-3.5 nM，LC-couarray 則檢測出 1.9-2.1 nM。Enterolignan 攝取 8-10 小時後，進入體循環，enterolactone 和 enterodiols 在血漿中最高濃度時間分別為 19.7 及 14.8 小時；平均滯留時間 (mean residence time; MRT) 分別為 35.8 及 20.6 小時；血漿中最高濃度為 56 及 73 nmol/L (Kuijsten et al., 2005)。同樣的，Penalvo 等人(2005)給予受試者芝麻(50 g)，24 小時在血漿中分別測得 enterolactone 和 enterodiols 濃度為 567 及 699 nmol/L。Horner 等人(2002)以 193 受試者中，測得 enterolactone 濃度為 24.7 ± 26.1 nmol/L，而有 17 % 受試者 enterolactone 濃度低於 1.2 nmol/L。在人類乳癌細胞株(MCF-7)發現高劑量 enterolactone (20-90 μ M) 可以抑制 DNA 合成，但是低劑量(0.1-10 μ M)則可誘導 DNA 合成，在 Horner 等人(2002)之人體試驗中，enterolactone 在體內濃度很低，在此濃度下，對人類乳癌細胞株(MCF-7)則是進行誘導細胞生長作用，而非抑制作用(Wang et al., 1997; Wang et al., 2002)。另外在 enterolignan 對於雌激素受體(ERs; estrogen receptor) α 及 β 親和性試驗，enterolactone 對於 ERs α 及 β 之 IC_{50} (抑制螢光標記 estradiol 與 ER 鍵結)分別為 6.7 ± 4.3 μ M 及 39 ± 22 μ M，相對親和力(以 diethylstilbestrol 親和力為 100)方式表示，enterolactone 對於 ERs α 及 β 分別為 0.07 及 0.01。

在 Sesaminol triglucoside 代謝途徑，如圖三十四所示，首先去除糖基之部位為十二指腸及空腸，所存在部位有：腸腔(intestinal lumen)、刷狀緣水解酶(brush border hydrolase)、水解酶胞內(intracellular hydrolase)，經由水解成 aglycone 再運送至腸道細胞 (enterocyte) 內，由腸道中酵素去除糖基，並運送黏膜(mucosal)及漿膜層(serosal)(Crespy et al., 2001)，或受到腸內菌 β -glucosidase 水解成 sesaminol (MST-1)，接著可進行三種代謝途徑，由還原反應及去甲基化作用產生 MST-2，另有還原反應及去甲基化作用產生 MST-3，此兩種代謝物可由還反應生成 MST-5。另外 MST-1 可直接還原 methylenedioxyphenyl 基團產生開環，進而產生 MST-4 代謝物。MST5 及 MST-4 分別進行還原、去羥化、去甲基化及去甲氧基作用，生成 MST-6 (enterodiols)，最終氧化成 MST-7 (enterolactone)。另外在 MST-4 可進行另外一條代謝途徑，進行 enterodiols 代謝途徑 I 及 II。

Sesaminol 代謝途徑，如圖三十五所示，經還原反應及去甲基化作用，生成具有 catechol 基團之 MS-1 及 MS-2 代謝物，若只進行還原反應則產生 MS-3 代謝物，而 MS-1 代謝物進行還原反應及去甲基化作用，生成具有 dicatechol 基團之 MS-4 代謝物。MS-2 及 MS-3 代謝物結構上 hydrofuran 產生開環反應，分別產生 MS-5 及 MS-6。具有 dicatechol 基團之 MS-4 代謝物，則可受到 catechol-O-methyltransferase 酵素，催化 SAM 轉移甲基至 MS-4 之 catechol 基團上，轉變成 MS-2。在含有 catechol 基團之 MS-4、MS-5 及 MS-6 代謝物，分別進行還原反應、去羥化、去甲基化及去甲氧基作用，生成 MS-7 (enterodiol)，最終氧化成 MS-8 (enterolactone)。另外在 MS-6 可進行另外一條代謝途徑，進行 enterodiol 代謝途徑 I 及 II。

3. Sesamol 代謝途徑探討

Sesamol 原型態 (benzo[d][1,3]dioxol-5-ol) 分子量為 138，受到 TMS 衍生化後，結構上具有氫氧基，接上三甲基矽 (TMS 72 Da)，其 m/z 為 210；而分子量為 284 代謝物之經體內還原後，產生 methylenedioxyphenyl 基團開環反應，生成 catechol 或 methoxy catechol 基團，結構上具有兩個氫氧基，可接上兩個三甲基矽 (TMS 72 Da) 其 m/z 為 284 (2-methoxybenzene-1,4-diol)。另外分子量 342 為 methoxy catechol 經去甲基化作用後，結構上具有三個氫氧基，可接上三個三甲基矽 (TMS 72 Da) 其 m/z 為 342 (benzene-1,2,4-triol)，這些結果與 Nakai 等人 (2003) 及 Liu 等人 (2006) 動物實驗中，sesamin 之 methylenedioxyphenyl 基團有相同代謝反應。由此可推測 Sesamol 受到腸道微生物作用，如圖三十七所示，可將 Sesamol 原型態 (benzo[d][1,3]dioxol-5-ol) 經還原反應及去甲基化作用，生成 methoxy catechol 或 catechol 基團或受到腸道細胞內 catechol-O-methyltransferase (COMT) 酵素將 benzene-1,2,4-triol 甲基化，再經腸道吸收後，並由肝門靜脈運送至肝臟代謝，或再透過膽汁至腸道排除，而透過肝臟代謝後，進入體循環，代謝物可經由血液運送至腎臟排除。

Murray 等人 (2000) 發現 sesamin 經由氧化反應之生物轉化作用，及對於 methylenedioxy-phenyl 基團去甲基化作用，生成 hydroxylated catechol 代謝物。而在這些反應所進行位置，Scott 等人 (2001) 發現在人類小腸上皮細胞對於口服來源物質，可先與胞內酵素 cytochrome P450 (CYP 450) 進行代謝反應。通常酚類化合物之結合態代謝物主要在肝臟生成，但是 Phase II 反應則是在腸道發生 (Jansen et al., 2005)。Sesamol 及其結合態代謝物可經由腸道吸收後，透過肝門靜脈運送，最後以 Phase II 結合態或 catechol 代謝物形式排除。另有排除機制經由腸道細胞之 ATP-binding cassette transporters 排除至腸腔中。

4. Sesaminol 及 Sesaminol triglucoside 代謝成 enterodiol 代謝途徑探討

在大鼠模式餵食 Sesaminol 及 Sesaminol triglucoside，分別給予 220、500 mg/kg，進行大鼠體內各組織中代謝物生成，並以 LC/MS/MS 分析，依離子片段解析其代謝物結構，如表二十八所示。在餵食 Sesaminol triglucoside 組別，在尿液部位測得分子量 m/z 359 之 $[M-H]^-$ 離子 (不帶糖基 Sesaminol)；而 enterolactone 及 enterodiol 代謝物之質譜結果，發現在 enterodiol 代謝途徑 I 中 MI-1 (377)、MI-2 (359)、MI-3 (373) 及 MI-4 (387) 之 $[M-H]^-$ 離子，而 enterodiol 代謝途徑 II 中 MII-1 (377)、MII-2 (359)、MII-3 (373)、

MII-4 (355)、MII-5 (355)及 MII-6 (326)之[M-H]⁻離子。其子離子片段在 enterodiol 代謝途徑 I 中，MI-1 代謝物可測得 283、271、257 及 231 [M-H]⁻離子，MI-2 代謝物可測得 359、341、329、311 及 221 [M-H]⁻離子，MI-3 代謝物可測得 373、343、325、306、293、265、233、218 及 203 [M-H]⁻離子，MI-4 代謝物可測得 389、307、263 及 229 [M-H]⁻離子。而 enterodiol 代謝途徑 II 中，MII-1 代謝物可測得 283、271、257 及 231 [M-H]⁻離子，MII-2 代謝物可測得 359、341、329、311 及 221 [M-H]⁻離子，MII-3 代謝物可測得 373、343、325、306、293、265、233、218 及 203 [M-H]⁻離子，MII-4 代謝物可測得 355、308、292 及 252 [M-H]⁻離子，MII-5 代謝物可測得 355、308、292 及 252 [M-H]⁻離子，MII-6 代謝物可測得 325、315 及 297 [M-H]⁻離子。

在 Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol 代謝途徑，如圖三十六所示，中間產物 MST-4 及 MS-6 可進行 enterodiol 代謝途徑 I 及 II。enterodiol 代謝途徑 I，可由 MST-4 (MI-1)及 MS-6 (MI-1)脫水生成 MI-2 進而氧化成 MI-3，並於 C7 位置上接上氫氧基，產生 7-OH enterolactone (MI-4)。enterodiol 代謝途徑 II，可由 MST-4 (MII-1)及 MS-6 (MII-1)脫水生成 MII-2 進而氧化成 MII-3，並脫水產生 α -conidendrin (MII-4)，經由 enolisation 生成 β -conidendrin (MII-5)，最後經由去甲基化及去羥化產生 MII-6。

五、結論

(一) sesamol 藥物動力學參數測定

1. Sesamol、Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol 之藥物動力學參數分析

本實驗經由管灌餵食 30，100 及 300 mg/kg 之劑量後，血漿中最高濃度 (C_{max})與到達血漿中最高濃度之時間 (T_{max})隨劑量之增加而增加，此結果顯示 sesamol 於胃腸道之吸收極為迅速，且三個劑量在統計上並無顯著差異；藥物半衰期 ($t_{1/2}$)，三個劑量在統計上亦無顯著差異，表示 sesamol 在體內之排除快速，血漿中濃度對時間曲線下之面積 (AUC)隨劑量之增加而增加；血漿中濃度對時間曲線下之面積除以劑量 (AUC/Dose)三個劑量在統計上無顯著差異，以上結果顯示 sesamol 在此劑量範圍內，並由 AUC/Dose 比值可得知 sesamol 呈現線性之藥物動力學；另外以靜脈給予給藥途徑可求得藥動參數，以管灌餵食及靜脈給予給藥途徑，可求得 sesamol 之生體可用率為 34.8%，表示經由管灌餵食方式給予 sesamol 後，有 34.8% 進入體循環，其餘之 65.2% 未被胃腸道吸收或被代謝為其他代謝產物。

sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在大白鼠之口服生物可利用率，分別以胃管強迫餵食及靜脈注射給藥之方式給予大白鼠 sesaminol 及 sesaminol triglucoside，以計算其絕對可利用率。在胃管強迫餵食的部分，結果發現在十分鐘內 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 即達到血漿中最高濃度，顯示 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在胃腸道之吸收非常迅速，且 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 分別為油溶性和水溶性之分子，因此推測以胃管餵食後，立即在胃及十二指腸被吸收，導致血漿濃度於十分鐘內到達最大濃度。以利用口服所得之 AUC 與靜脈注射所得之 AUC 計算芝麻酚之口服生物可利用率。測得 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 之口服生

物可利用率為 0.307 及 19.95%，表示經由胃管強迫餵食方式給予芝麻酚後，有 0.307 及 19.95 % 進入體循環。本實驗 sesaminol triglucoside 可以在血漿中測得，可能因 sesaminol triglucoside 結構異於 flavonol，且並非遵循去糖基(deglycosylation)之代謝途徑(SGLT1 及 LPH 水解機轉)。sesaminol triglucoside 生物可利用率較其他二者差，其餘未被胃腸道吸收可能被腸道微生物代謝為其他代謝產物或經由糞便尿液排出體外。

2.Sesamol、Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol 組織分佈

sesamol 在組織分佈實驗中，給予 sesamol (100 mg/kg) 後，各組織 sesamol 及結合態代謝態產物分佈情形，以血漿中藥物濃度最高，而在血漿中 sesamol sulfates 及 glucuronides 之濃度明顯高於其原型，在給藥後之 60 分鐘，sesamol 結合態代謝物所佔比率高達 96.48 % (包含原型及結合態代謝物)，比較兩種代謝物含量，sesamol sulfates 為 sesamol glucuronides 之兩倍，結合態代謝物的滯留時間皆比 sesamol 長，推測結合態代謝物有腸肝循環。在其他組織中不同時間下 sesamol sulfates 濃度較 sesamol glucuronides 高。本實驗中在肺臟可測得結合態代謝物，其含量僅次於肝、腎臟組織。而在腦部所測得主要以 sesamol 原形要為主，推測可能因結合態代謝物極性較高，無法完全穿透血腦障壁，使得較低極性 sesamol 在腦部中有較高濃度。而造成肝臟中 sesamol 結合態代謝物較低，可能因結合態代謝物排除至膽管，導致肝臟結合態代謝物濃度較腎臟低。在組織與血漿中濃度之比值(C_{tissue}/C_{plasma})，得知血漿中結合態代謝物高於組織中，但在腸道、心臟及肺臟則為相反，可能因在高血液流量組織中油溶性 sesamol 可穿過細胞壁到達心臟及肺臟中，在腸道中因 sesamol 殘留量較高，並有腸肝循環所排出之 sesamol glucuronides，所以腸道藥物濃較其他組織高；而 sesamol 結合態代謝物極性較高，與血漿中蛋白質結合率高，使 sesamol 結合態代謝物進入組織有限。

sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在組織分佈實驗中，給予 sesaminol 及 sesaminol triglucoside (100 mg/kg) 後，各組織 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 及結合態代謝態產物分佈情形，以血漿中藥物濃度最高，而在血漿中 sesaminol 及 sesaminol triglucoside sulfates 及 glucuronides 之濃度明顯高於其原型，在給藥後之 60 分鐘，比較兩種代謝物含量，sesaminol 及 sesaminol triglucoside sulfates 為 sesaminol 及 sesaminol triglucoside glucuronides 之兩倍，結合態代謝物的滯留時間皆比 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 長，推測結合態代謝物有腸肝循環。在其他組織中不同時間下 sesaminol 及 sesaminol triglucoside sulfates 濃度較 sesaminol 及 sesaminol triglucoside glucuronides 高。本實驗中在肺臟可測得結合態代謝物，其含量僅次於肝、腎臟組織。而在腦部所測得主要以 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 原形要為主，推測可能因結合態代謝物極性較高，無法完全穿透血腦障壁，使得較低極性 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 在腦部中有較高濃度。而造成肝臟中 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 結合態代謝物較低，可能因結合態代謝物排除至膽管，導致肝臟結合態代謝物濃度較腎臟低。

3. Sesamol、Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol 糞便及尿液排除

在 sesamol 排除試驗中，以尿中 sesamol、sesamol sulfates 與 sesamol glucuronides 之平均總排出量分別為 111.1 ± 3.76 、 324.5 ± 3.22 及 5535.8 ± 32.2 ($\mu\text{g/g}$)，平均總排出百分率分別為 $0.111 \pm 0.04\%$ 、 $0.32 \pm 0.03\%$ 及 $5.56 \pm 0.32\%$ ，sesamol sulfates 之排出量皆高於 sesamol glucuronides，尿液中藥物濃度尖峰於 4-8 小時。在糞便排除實驗，糞便中 sesamol、sesamol sulfates 與 sesamol glucuronides 之平均總排出量分別為 293 ± 1.22 、 318.5 ± 1.77 及 318.5 ± 1.76 ($\mu\text{g/g}$)，平均總排出百分率分別為 $0.29 \pm 0.01\%$ 、 $0.32 \pm 0.01\%$ 及 $0.93 \pm 0.01\%$ ，雖 sesamol sulfates 之總排出量與 sesamol glucuronides 相近，但在藥物濃度尖峰(4-8, 16-24 小時)主要排除為 sesamol sulfates。

在 sesaminol 及 sesaminol triglucoside 排除試驗中，以尿中 sesaminol 及 sesaminol triglucoside、sesaminol 及 sesaminol sulfates 與 sesaminol 及 sesaminol glucuronides 之平均總排出量分別為 111.1 ± 3.76 、 324.5 ± 3.22 及 5535.8 ± 32.2 ($\mu\text{g/g}$)，平均總排出百分率分別為 $0.111 \pm 0.04\%$ 、 $0.32 \pm 0.03\%$ 及 $5.56 \pm 0.32\%$ ，sesaminol 及 sesaminol triglucoside sulfates 之排出量皆高於 sesaminol 及 sesaminol triglucoside glucuronides，尿液中藥物濃度尖峰於 4-8 小時。在糞便排除實驗，糞便中 sesaminol 及 sesaminol triglucoside、sesaminol 及 sesaminol sulfates 與 sesaminol 及 sesaminol glucuronides 之平均總排出量分別為 293 ± 1.22 、 318.5 ± 1.77 及 318.5 ± 1.76 ($\mu\text{g/g}$)，平均總排出百分率分別為 $0.29 \pm 0.01\%$ 、 $0.32 \pm 0.01\%$ 及 $0.93 \pm 0.01\%$ ，雖 sesaminol 及 sesaminol triglucoside sulfates 之總排出量與 sesaminol 及 sesaminol glucuronides 相近，但在藥物濃度尖峰(4-8, 16-24 小時)主要排除為 sesaminol 及 sesaminol sulfates。

4. Sesamol、Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol 之大鼠體內代謝物分析

在 Sesaminol 及 Sesaminol triglucoside 代謝物經 LC/MS/MS 分析，在大部分組織及排泄物中，測得分子量 m/z 301、297 (MST-7 及 MS-8)之[M-H]⁻離子，此化合物與 Jansen 等人(2005)質譜結果，經 LC/MS/MS 二次質譜分析，在則有相同離子片段 (m/z 253、189)，推測此物質為 enterolactone，所以 Sesaminol 及 Sesaminol triglucoside 由大鼠消化吸收後，lignan 受腸內菌經去糖基、還原、去甲基及去氫氧基反應後，降解成 enterolactone。

七、參考文獻：

- 大澤俊彦。1996。ゴマ種子に含まれる配糖體の研究。食の科學。26-32。
析。Nippon Nogeikagaku Kaishi。67:1693-1700。
秋元健吾，清水昌。1996。ゴマ成分セサミンの多様な生理活性。New Food Industry。38：62-70。
秋元健吾，清水昌。1997。ゴマ成份セサミンの生理活性—アルコール代謝と生体内抗酸化中心として—。New Food Industry。39：25-31。
徐永鑫。2001。芝麻中 ligans 及 ligand glycosides 之分析及抗氧化性探討。國立台灣大學食品科技研究所博士論文。台北。台灣。
栗山健一，土屋欣也，無類井建夫。1993。高速液體クロマトグラフィーによるゴマ種子リグナン配糖體の分析。Nippon Nogeikagaku Kaishi。67:1693-1700。
栗山健一，土屋欣也，無類井建夫。1995。ゴマ發芽に伴う新規リグナン配糖體の生成。Nippon Nogeikagaku Kaishi。69: 685-693。

- 飯塚佳恵，並木満夫，山下かなへ。1996。ゴマリグナン物質のラット生体内 α -トコフェロール濃度増強効果に對するりグナンの種類おびトコフェロール濃度の影響。日本營養食糧學會誌。49：149-155。
- 蔡東湖。2003。大白鼠的基本手術技術與微透析應用。國立陽明大學 藥物動力學部份上課教材。台北。台灣。
- 蔡東湖。2003。大白鼠的基本手術技術與微透析應用。國立陽明大學 藥物動力學部份上課教材。台北。台灣。
- Adlercreutz H, van der Wildt J, Kinzel J, Attalla H, Wähälä K, Mäkelä T, Hase T, Fotsis T. 1995. Lignan and isoflavonoid conjugates in human urine. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 52(1):97-103.
- Arrese M, Accatino L. 2002. From blood to bile: recent advances in hepatobiliary transport. *Ann Hepatol.* 1(2):64-71.
- Borriello SP, Setchell KD, Axelson M, Lawson AM. 1985. Production and metabolism of lignans by the human faecal flora. *J Appl Bacteriol.* 58(1):37-43.
- Cao G, Muccitelli HU, Sanchez-Moreno C, Prior RL, 2001. Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study. *Am J Clin Nutr.* 73 (5), 920–926.
- Chan LM, Lowes S, Hirst BH. 2004. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *Eur J Pharm Sci.* 21(1):25-51.
- Chen L Lee ML, Li H, Yang CS. 1997. Absorption, distribution and elimination of tea polyphenols in rats 1. *Drug Metab. Dispos.* 25: 1045-1050.
- Chen X, Zhou QL, Wang BX 1999. The metabolism of ginsenoside Rb1 by intestinal bacteria. *Acta Pharmaceutica Sinica* 34: 410-414.
- Cheng FC, Ho, YF, Hung LC, Chen CF, Tsai TH. 2002. Determination and pharmacokinetic profile of omeprazole in rat blood, brain and bile by microdialysis and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 949: 35-42.
- Clavel T, Henderson G, Alpert CA, Philippe C, Rigottier-Gois L, Dore J, Blaut M. 2005. Intestinal bacterial communities that produce active estrogen-like compounds enterodiol and enterolactone in humans. *Appl Environ Microbiol.* 71(10):6077-85.
- Clavel T, Henderson G, Engst W, Dore J, Blaut M. 2006. Phylogeny of human intestinal bacteria that activate the dietary lignan secoisolariciresinol diglucoside. *FEMS Microbiol Ecol.* 55(3):471-8.
- Crespy V, Morand C, Besson C, Manach C, Demigne C, Remesy C. 2001. Comparison of the intestinal absorption of quercetin, phloretin and their glucosides in rats. *J Nutr.* 131(8):2109-14.
- Day AJ, Canada FJ, Diaz JC, Kroon PA, Mclauchlan R, Faulds CB, Plumb GW, Morgan MR, Williamson G, 2000. Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Lett.* 468 (2–3), 166–170.
- Day AJ, DuPont MS, Ridley S, Rhodes M, Rhodes MJ, Morgan MR, Williamson G, 1998. Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver betaglucosidase activity. *FEBS Lett.* 436 (1), 71–75.
- de Boer VC, Dihal AA, van der Woude H, Arts IC, Wolfram S, Alink GM, Rietjens IM, Keijer J, Hollman PC. 2005. Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. *J Nutr.* 135(7):1718-25.
- Dean B, Chang S, Doss GA, King C, Thomas PE. 2004. Glucuronidation, oxidative metabolism, and bioactivation of enterolactone in rhesus monkeys. *Arch Biochem Biophys.* 429(2):244-51.
- Deguchi T, Nakamura M, Tsutsumi Y, Suenaga A, Otagiri M. 2003. Pharmacokinetics and tissue distribution of uraemic indoxyl sulphate in rats. *Biopharm Drug Dispos.* 24(8):345-55.
- Edwards HG, de Oliveira LF, Nesbitt M. 2003. Fourier-transform Raman characterization of brazilwood trees

- and substitutes. *Analyst*. 128(1):82-7.
- Felgines, Texier O, Besson C, Fraisse D, Lamaison JL, Rémésy C. 2002. Blackberry anthocyanins are slightly bioavailable in rats. *J Nutr Environ Med*.12:19-34.
- Fu TJ, Abbott UR, Hatzos C. 2002. Digestibility of food allergens and nonallergenic proteins in simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid-a comparative study. *J. Agric. Food chem*. 50: 7154-7160.
- Fukuda Y, Osawa T, Namiki M, Ozaki T. 1985. Studies on antioxidative substances in sesame seed. *Agric. Biol. Chem*. 49:301-306.
- Galvano F, La Fauci L, Lazzarino G, Fogliano V, Ritieni A, Ciappellano S, Battistini NC, Tavazzi B, Galvano G. 2004. Cyanidins: metabolism and biological properties. *J Nutr Biochem*. 15(1):2-11.
- Gee JM, DuPont MS, Rhodes MJ, Johnson IT, 1998. Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Radic Biol Med*. 25 (1), 19–25.
- Griffiths LA, 1982. In: Harborne, J., Mabry, T. (Eds.), *The Flavonoids: Advances in Research*. Chapman & Hall, London. 681–718.
- Heinonen S, Nurmi T, Liukkonen K, Poutanen K, Wahala K, Deyama T, Nishibe S, Adlercreutz H. 2001. In vitro metabolism of plant lignans: new precursors of mammalian lignans enterolactone and enterodiol. *J Agric Food Chem*. 49(7):3178-86.
- Higaki K, Ishii M, Esumi H, Kanayama M, Ogawara KI, Kimura T. 2003. Pharmacokinetic analysis of factors determining elimination pathways for sulfate and glucuronide metabolites of xenobiotics II: Studies with isolated perfused rat liver. *Xenobiotica*. 33(11):1097-108.
- Hirose N, Doi F, Ueki T, Akazawa K, Chijiwa K, Sugano M, Akimoto K, Shimizu S, Yamada H. 1992. Suppressive effect of sesamin against 7,12-dimethylbenz[a]-anthracene induced rat mammary carcinogenesis. *Anticancer Research* 1259-1266.
- Hollman PC, Bijlsman MN, van Gameren Y, Cnossen EP, Vries JH, Katan MB, 1999. The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radic Res*. 31 (6), 569–573.
- Hollman PC, de Vries JH, Leeuwen SD, Mengelers MJ, Katan MB, 1995. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr*. 62 (6), 1276– 1282.
- Hollman PC, Katan MB, 1999. Health effects and bioavailability of dietary flavonols. *Free Radic Res*. 31 (Suppl.), S75–S80.
- Hollman PC, van der Gaag MS, Mengelers MJ, van Trijp JM de Vries, J.H., Katan, M.B., 1996. Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Radic Biol.Med*. 21 (5), 703–707.
- Hollman PC, van Trijp JM, Buysman MN, van der Gaag MS, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB, 1997. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Lett*. 418 (1–2), 152–156.
- Horner NK, Kristal AR, Prunty J, Skor HE, Potter JD, Lampe JW. 2002. Dietary determinants of plasma enterolactone. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 11(1):121-6.
- Hsiu SL, Tsao CW, Tsai YC, Ho HJ, Chao PD. 2001. Determinations of morin, quercetin and their conjugate metabolites in serum. *Biol Pharm Bull*. 24(8):967-9.
- Jacobs E, Kulling SE, Metzler M. 1999. Novel metabolites of the mammalian lignans enterolactone and enterodiol in human urine. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 68(5-6):211-8.
- Jacobs E, Metzler M. 1999. Oxidative metabolism of the mammalian lignans enterolactone and enterodiol by rat, pig, and human liver microsomes. *J Agric Food Chem*. 47(3):1071-7.

- Jansen GHE, Arts ICW, Nielen MWF, Mueller M, Hollman PCH, Keijer J. 2005. Uptake and metabolism of enterolactone and enterodiols by human colon epithelial cells. *Arch Biochem Biophys.* 435:74–82.
- Katsuzaki H, Kawakishi S, Osawa T. 1994. Sesaminol glucosides in sesame seeds. *Phytochemistry.* 35(3):773-6.
- Kawata Y, Hattori M, Akao T, Kobashi K, Namba T. 1991. Formation of Nitrogen-Containing metabolites from geniposide and gardenoside by human intestinal bacteria *Planta Med.* 57: 536-542.
- Kawata Y, Hattori M, Akao T, Kobashi K, Namba T. 1991. Formation of Nitrogen-Containing metabolites from geniposide and gardenoside by human intestinal bacteria *Planta Med.* 57: 536-542.
- Kita S, Matsumura Y, Morimoto S, Akimoto K, Furuya M, Oka N, Tanaka T. 1995. Antihypertensive effect of sesamin. II. Protection against two-kidney, one-clip renal hypertension and cardiovascular hypertrophy. *Biol. Pharm. Bull.* 18:1283-1285.
- Kuhnle G, Spencer JP, Chowrimootoo G, Schroeter H, Debnam ES, Srai SK, Rice-Evans C, Hahn U, 2000. Resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide. *Biochem Biophys Res Commun.* 272 (1), 212–217.
- Kuhnle G, Spencer JP, Schroeter H, Shenoy B, Debnam ES, Srai SK, Rice-Evans C, Hahn U, 2000. Epicatechin and catechin are O-methylated and glucuronidated in the small intestine. *Biochem Biophys Res Commun.* 277 (2), 507–512.
- Kuijsten A, Arts IC, van't Veer P, Hollman PC. 2005. The relative bioavailability of enterolignans in humans is enhanced by milling and crushing of flaxseed. *J Nutr.* 135(12):2812-6.
- Kuijsten A, Arts IC, Vree TB, Hollman PC. 2005. Pharmacokinetics of enterolignans in healthy men and women consuming a single dose of secoisolariciresinol diglucoside. *J Nutr.* 135(4):795-801.
- Kuijsten A, Buijsman MN, Arts IC, Mulder PP, Hollman PC. 2005. A validated method for the quantification of enterodiol and enterolactone in plasma using isotope dilution liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B.* 822(1-2):178-84.
- Lambert N, Kroon PA, Faulds CB, Plumb GW, McLauchlan WR, Day AJ, Williamson G, 1999. Purification of cytosolic beta-glucosidase from pig liver and its reactivity towards flavonoid glycosides. *Biochim Biophys Acta.* 1435 (1–2), 110–116.
- Lampe JW, Atkinson C, Hullar MA.. 2006. Assessing exposure to lignans and their metabolites in humans. *J AOAC Int.* 89(4):1174-81.
- Lampe JW, Martini MC, Kurzer MS, Adlercreutz H, Slavin JL. 1994. Urinary lignan and isoflavonoid excretion in premenopausal women consuming flaxseed powder. *Am J Clin Nutr.* 60(1):122-8.
- Lania-Pietrzak B, Michalak K, Hendrich AB, Mosiadz D, Gryniewicz G, Motohashi N, Shirataki Y. 2005. Modulation of MRP1 protein transport by plant, and synthetically modified flavonoids. *Life Sci.* 77(15):1879-91.
- Liu WT, Marsh TL, Cheng H, Forney LJ. 1997. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol.* 63(11):4516-22.
- Liu Z, Saarinen NM, Thompson LU. 2006. Sesamin is one of the major precursors of mammalian lignans in sesame seed (*Sesamum indicum*) as observed in vitro and in rats. *J Nutr.* 136(4):906-12.
- Liu CX, Gu YB, Li QC. 1999. Pharmacokinetics of oxiracetam in rats and mice. *Acta Pharmaceutica Sinica* 34: 85-89.

- Manach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Texier O, Regerat F, Remesy C, 1998. Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. *FEBS Lett.* 426 (3), 331–336.
- Manach C, Morand C, Texier O, Favier ML, Agullo G, Demigne C, Regerat F, Remesy C. 1995. Quercetin metabolites in plasma of rats fed diets containing rutin or quercetin. *J Nutr.* 125(7):1911-22.
- Manach C, Texier O, Regerat F., Agullo G, Demigne C, Remesy C, 1996. Dietary quercetin is recovered in rat plasma as conjugated derivatives of isorhamnetin and quercetin. *J Nutr Biochem.* 7, 375–386.
- Mannisto PT, Kaakkola S, 1999. Catechol-O-methyltransferase (COMT), biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. *Pharmacol Rev.* 51 (4), 593–628.
- Massey JB, 1984. Kinetics of transfer of alpha-tocopherol between model and native plasma lipoproteins. *Biochim Biophys Acta.* 793 (3), 387–392.
- Matsumoto H, Inaba H, Kishi M, Tominaga S, Hirayama M, Tsuda T. 2001. Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms. *J Agric Food Chem.* 49:1546–51.
- Milbury PE, Cao G, Prior RL, 2002. Blumberg J. Bioavailability of elderberry anthocyanins. *Mech Ageing Dev.* 123:997–1006.
- Miyazawa T, Nakagawa K, Kudo M, Muraishi K, Someya K. 1999. Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3, 5-diglucoside, into rats and humans. *J Agric Food Chem.* 47:1083–91.
- Moon JH, Nakata R, Oshima S, Inakuma T, Terao J. 2000. Accumulation of quercetin conjugates in blood plasma after the short-term ingestion of onion by women. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 279(2):R461-7.
- Mueller SO, Simon S, Chae K, Metzler M, Korach KS. 2004. Phytoestrogens and their human metabolites show distinct agonistic and antagonistic properties on estrogen receptor alpha (ERalpha) and ERbeta in human cells. *Toxicol Sci.* 80(1):14-25.
- Murkovic M, Mulleder U, Adam U, Pfannhauser W. 2001. Detection of anthocyanins from elderberry juice in human urine. *J Sci Food Agric.* 81:934–7.
- Murray M. 2000. Mechanisms of inhibitory and regulatory effects of methylenedioxyphenyl compounds on cytochrome P450-dependent drug oxidation. *Curr Drug Metab.* 1:67–84.
- Nakai M, Harada M, Nakahara K, Akimoto K, Shibata H, Miki W, Kiso Y. 2003. Novel antioxidative metabolites in rat liver with ingested sesamin. *J Agric Food Chem.* 51:1666–70.
- Nieder M, 1991. Pharmakokinetik der Ginkgo-Flavonole im Plasma. *Munch. Med. Wochenschr.* 133 (Suppl. 1), S61–S62.
- Okushio K, Suzuki M, Matsumoto N, Nanjo F, Hara Y, 1999. Methylation of tea catechins by rat liver homogenates. *Biosci Biotechnol Biochem.* 63 (2), 430–432.
- Penalvo JL, Heinonen SM, Aura AM, Adlercreutz H. 2005. Dietary sesamin is converted to enterolactone in humans. *J Nutr.* 135(5):1056-62.
- Qiu F, Chen, YJ, Kano YH, Yau XS. 1999. Metabolism of orally administered icariin in rat. *Acta Pharmaceutica Sinica* 34: 222-226.
- Rickard SE, Orcheson LJ, Seidl MM, Luyengi L, Fong HH, Thompson LU. 1996. Dose-dependent production of mammalian lignans in rats and in vitro from the purified precursor secoisolariciresinol diglycoside in flaxseed. *J Nutr.* 126(8):2012-9.

- Rowland I, Faughnan M, Hoey L, Wähälä K, Williamson G, Cassidy A. 2003. Bioavailability of phyto-oestrogens. *Br J Nutr.* 89:S45-58.
- Scalbert A, Williamson G, 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 130 (Suppl 8S), 2073S–2085.
- Scott Obach R, Zhang Q, Dunbar D, Kaminsky LS. 2001. Metabolic characterization of the major human small intestinal cytochrome P450s. *Drug Metab Dispos.* 29:374–352.
- Setchell KDR, Adlercreutz H. 1988. In *Role of the Gut Flora in Toxicity and Cancer*, I. Rowland (Ed.), Academic Press, London, UK, pp 316-345.
- Shibayama Y, Ikeda R, Motoya T, Yamada K. 2004. St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) induces overexpression of multidrug resistance protein 2 (MRP2) in rats: a 30-day ingestion study. *Food Chem Toxicol.* 42(6):995-1002.
- Spencer JP, Chowrimootoo G, Choudhury R, Debnam ES, Srai SK, Rice-Evans C, 1999. The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids. *FEBS Lett.* 458 (2), 224–230.
- Stahl W, van den Berg H, Arthur J, Bast A, Dainty J, Faulks RM, Gartner C, Haenen G, Hollman P, Holst B, Kelly F, Polidori MC, Rice-Evans C, Southon S, Vliet T van, Vina-Ribes J, Williamson G, Astley SB. 2002. Bioavailability and metabolism. *Mol Aspects Med.* 23:39-100.
- Sugano M, Inoue T, Koba K, Yoshida K, Hirose N, Shinmen Y, Akimoto K, Amachi T. 1990. Influence of sesame lignans on various lipid parameters in rats. *Agric. Biol. Chem.* 54:2669-2673.
- Takenaka O, Horie T, Suzuki H, Sugiyama Y. 1997. Carrier-mediated active transport of the glucuronide and sulfate of 6-hydroxy-5,7-dimethyl-2-methylamino-4-(3-pyridylmethyl) benzothiazole (E3040) into rat liver: quantitative comparison of permeability in isolated hepatocytes, perfused liver and liver in vivo. *J Pharmacol Exp Ther.* 280(2):948-58.
- Talavera S, Felgines C, Texier O, Besson C, Gil-Izquierdo A, Lamaison JL, Remesy C. 2005. Anthocyanin metabolism in rats and their distribution to digestive area, kidney, and brain. *J Agric Food Chem.* 53(10):3902-8.
- Thompson LU, Robb P, Serraino M, Cheung F. 1991. Mammalian lignan production from various foods. *Nutr Cancer.* 16(1):43-52.
- Tsuda T, Horio F, Osawa T. 1999. Absorption and metabolism of cyaniding 3-O- β -D-glucoside in rats. *FEBS.* 449:179–82.
- Umeda-Sawada R, Ogawa M Igarashi O. 1999. The metabolism and distribution of sesame lignans (sesamin and episesamin) in rats. *Lipids.* 34(6):633-7.
- Walgren RA, Lin JT, Kinne RK, Walle T, 2000. Cellular uptake of dietary flavonoid quercetin 40-beta-glucoside by sodium-dependent glucose transporter SGLT1. *J.Pharmacol Exp Ther.* 294 (3), 837–843.
- Wang C, Kurzer MS. 1997. Phytoestrogen concentration determines effects on DNA synthesis in human breast cancer cells. *Nutr Cancer.* 28(3):236-47.
- Wang LQ, Meselhy MR, Li Y, Nakamura N, Min BS, Qin GW, Hattori M. 2001. The heterocyclic ring fission and dehydroxylation of catechins and related compounds by *Eubacterium* sp. strain SDG-2, a human intestinal bacterium. *Chem Pharm Bull.* 49(12):1640-3.
- Wang LQ, Meselhy MR, Li Y, Qin GW, Hattori M. 2000. Human intestinal bacteria capable of transforming secoisolariciresinol diglucoside to mammalian lignans, enterodiols and enterolactone. *Chem Pharm Bull.* 48(11):1606-10.

- Wang LQ. 2002. Mammalian phytoestrogens: enterodiols and enterolactone. *J Chromatogr B*. 777(1-2):289-309.
- Xie LH, Ahn EM, Akao T, Abdel-Hafez AA, Nakamura N, Hattori M. 2003. Transformation of arctiin to estrogenic and antiestrogenic substances by human intestinal bacteria. *Chem Pharm Bull*. 51(4):378-84.
- Xie LH, Akao T, Hamasaki K, Deyama T, Hattori M. 2003. Biotransformation of pinoresinol diglucoside to mammalian lignans by human intestinal microflora, and isolation of *Enterococcus faecalis* strain PDG-1 responsible for the transformation of (+)-pinoresinol to (+)-lariciresinol. *Chem Pharm Bull*. 51(5):508-15.
- Yamaoka K., Nakagawa T., Uno T. 1978. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*. 6 : 165-175.
- Yamashita K, Lizuka Y, Imai T, Namiki M. 1995. Sesame seed and its lignans produce marked enhancement of vitamin E activity in rats fed a low α -tocopherol diet. *Lipids* 30: 1019 –1028.
- Zetterstrom T, Vernet L, Ungerstedt U, Tossman U, Jonzon B, Fredholm BB. 1982. Purine levels in the intact rat brain. Studies with an implanted perfused hollow fibre. *Neuroscience Letters* 29: 111-115.

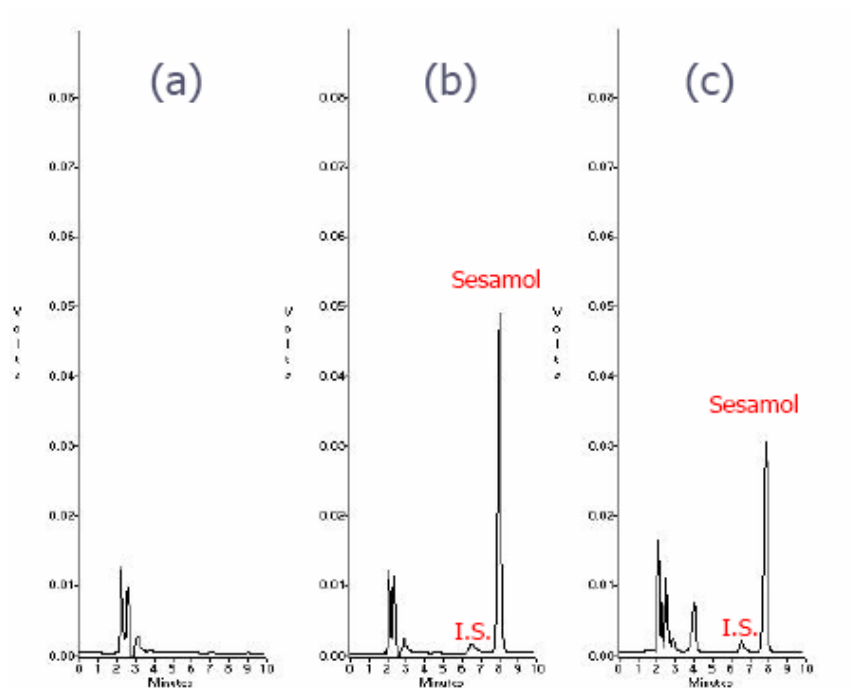


圖 1. (a) 空白血漿 (b) 血漿含sesamol標準品 (50 µg/ml) (c) sesamol以30 mg/kg i.v. 注射予大鼠2.5分鐘後血漿中含sesamol (32.92 µg/ml)之層析圖譜

Figure 1. Chromatograms of (a) blank plasma, (b) standard sesamol (50 µg/ml in plasma) , and (c) plasma sample containing sesamol (32.92 µg/ml) collected at 2.5 min after sesamol administration (30 mg/kg, i.v.)to rat

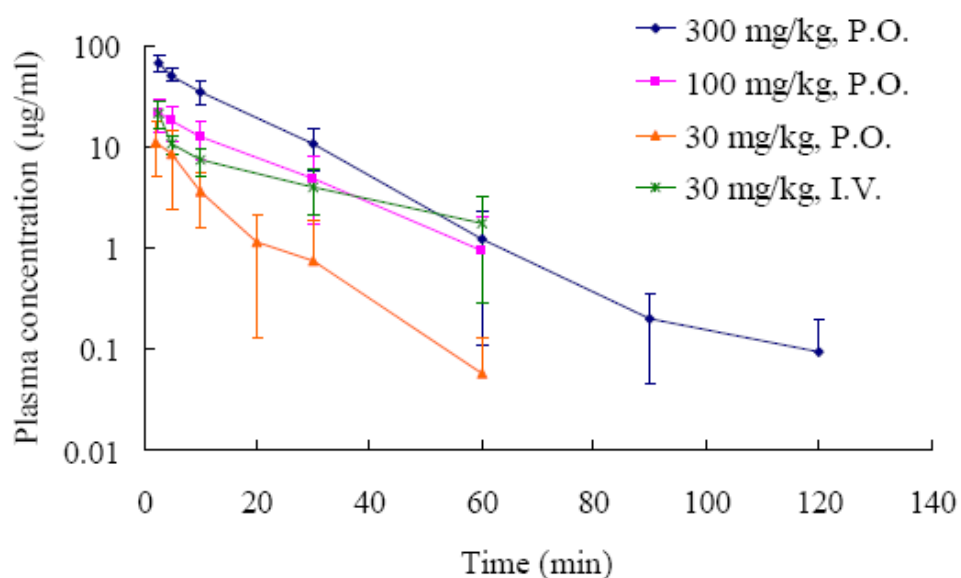


圖 2. Sesamol在大白鼠血漿中濃度變化圖

Figure 2. The concentration-time profiles for sesamol in rat plasma following sesamol administration (30, 100 and 300 mg/kg, P.O., 30 mg/kg, i.v., n = 6).

表 1. HPLC 分析 sesamol 於同日間及異日間之精確性和準確性

Table 1. Intra-day and inter-day precision and accuracy of the HPLC method for determination of sesamol

Nominal conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Intra		Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Inter	
		Precision (% CV)	Accuracy (% bias)		Precision (% CV)	Accuracy (% bias)
0.05	0.0444 ± 0.0065	14.6	-11.2	0.0440 ± 0.0053	12.0	-12.0
0.1	0.0934 ± 0.0085	9.10	-6.60	0.105 ± 0.014	13.3	5.00
0.5	0.501 ± 0.016	3.19	0.200	0.490 ± 0.026	5.31	-2.00
1	1.01 ± 0.03	2.97	1.00	1.01 ± 0.02	1.98	1.00
5	4.89 ± 0.14	2.86	-2.20	4.94 ± 0.21	4.25	-1.20
10	9.98 ± 0.24	2.40	-0.200	10.3 ± 0.6	5.83	3.00
50	50.5 ± 0.9	1.78	1.00	48.9 ± 2.1	4.29	-2.20
100	99.8 ± 0.5	0.501	-0.200	100 ± 1	1.00	0

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=6)

表 2. Sesamol於血漿微透析探針之回收率

Table 2. Recovery of sesamol in spiked plasma

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)
0.5	107 ± 10
5	110 ± 13
50	111 ± 6
Average	110 ± 10

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=6)

表 3. Sesamol於大白鼠血漿之藥動參數

Table 3. Pharmacokinetic parameters of sesamol in rat plasma following sesamol administration

Parameters	Dose (mg/kg)		
P.O.	30	100	300
$T_{\max}$ (min)	2.08 ± 0.20	3.42 ± 1.24	3.33 ± 1.37
$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	11.2 ± 6.2	22.2 ± 7.3	60.5 ± 14.0
$t_{1/2}$ (min)	9.43 ± 4.33	13.2 ± 4.9	11.1 ± 2.4
AUC (min $\mu\text{g/ml}$)	110 ± 70	443 ± 150	1140 ± 360
AUC/Dose (min/l)	3.66 ± 2.34	4.43 ± 1.50	3.82 ± 1.21
I.V.	30		
$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	38.8 ± 16.8		
$t_{1/2}$ (min)	15.3 ± 5.8		
AUC (min $\mu\text{g/ml}$)	343 ± 96		
AUC/Dose (min/l)	11.4 ± 3.2		

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=6)

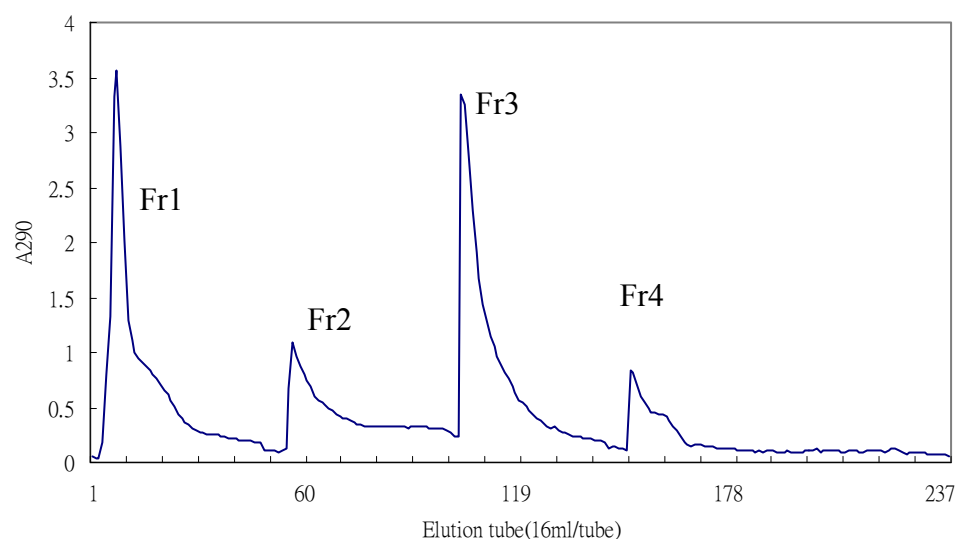


圖 3. 未炒焙芝麻粕 lignan glycosides 萃出物之 XAD-2 管柱層析區分圖

Figure 3. XAD-2 column chromatogram of lignan glycosides crude extract from unroasted sesame meal.

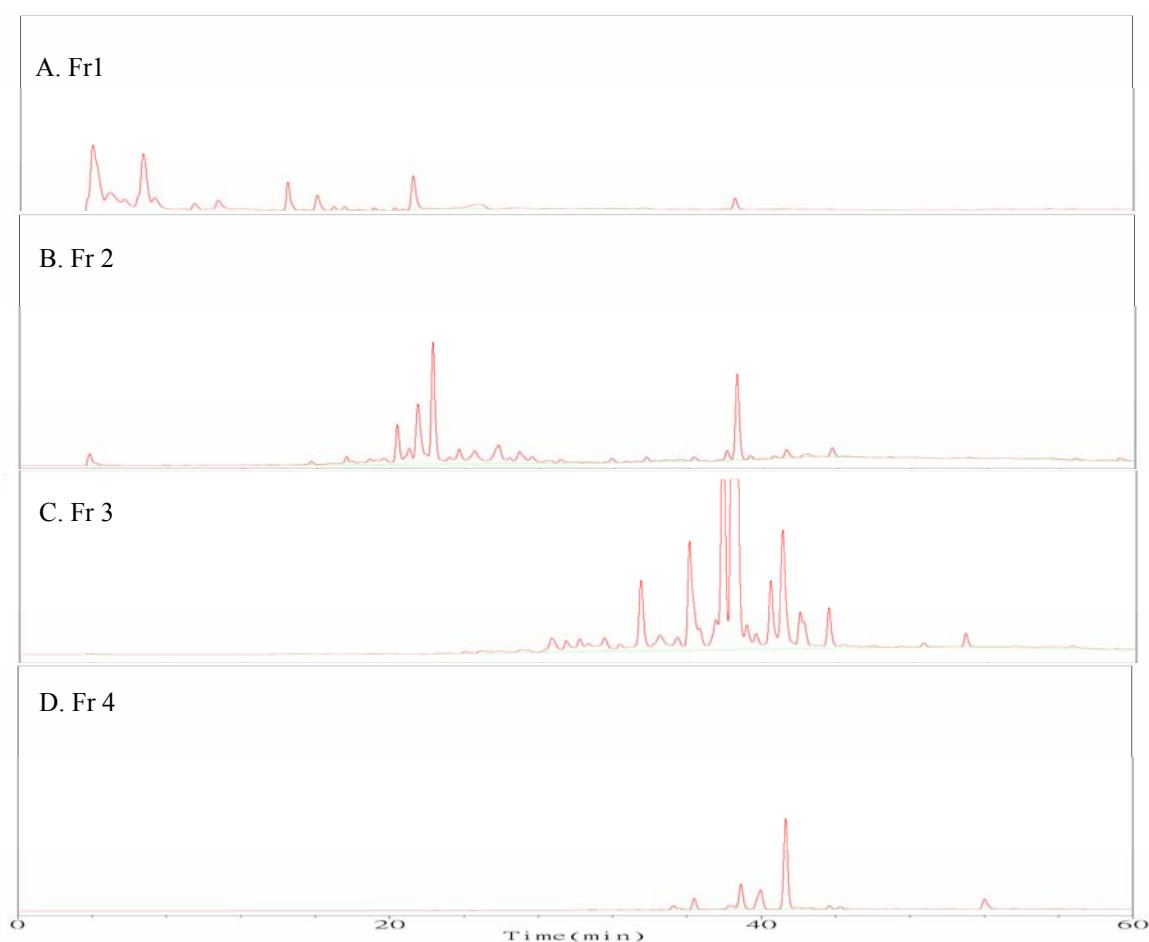


圖 4. 芝麻粕 lignan glycosides 粗萃出物之 XAD-2 管柱層析各區分物之 HPLC 圖譜

Figure 4. HPLC chromatograms of lignan glycosides crude extract after XAD-2 column chromatography. (HPLC conditions: column: Hypersil HS C18 (4.6 mm id × 250 mm, 5 um particle size; mobile phase: linear gradient from 10% methanol to 90% methanol in 60 min.; flow rate: 1 ml/min; detector: 290nm).

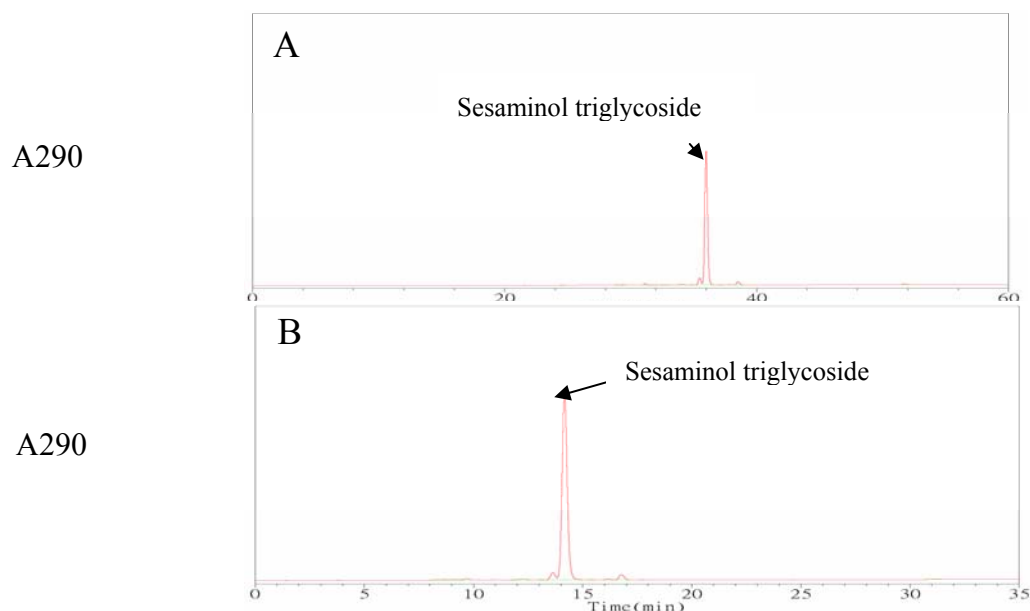


圖 5. 芝麻粕 lignan glycosides 粗萃出物之 XAD-2 管柱層析第三區分物之 HPLC 圖譜

Figure 5. HPLC chromatograms of Fr3 obtained from lignan glycosides crude extract after XAD-2 column chromatography. (HPLC conditions: column: Hypersil HS C18 (4.6 mm id × 250 mm, 5 um particle size; mobile phase: A. linear gradient from 10% methanol to 90% methanol in 60 min. B. linear gradient from 60% methanol to 76% methanol in 30 min ; flow rate: 1 ml/min; detector: 290nm.

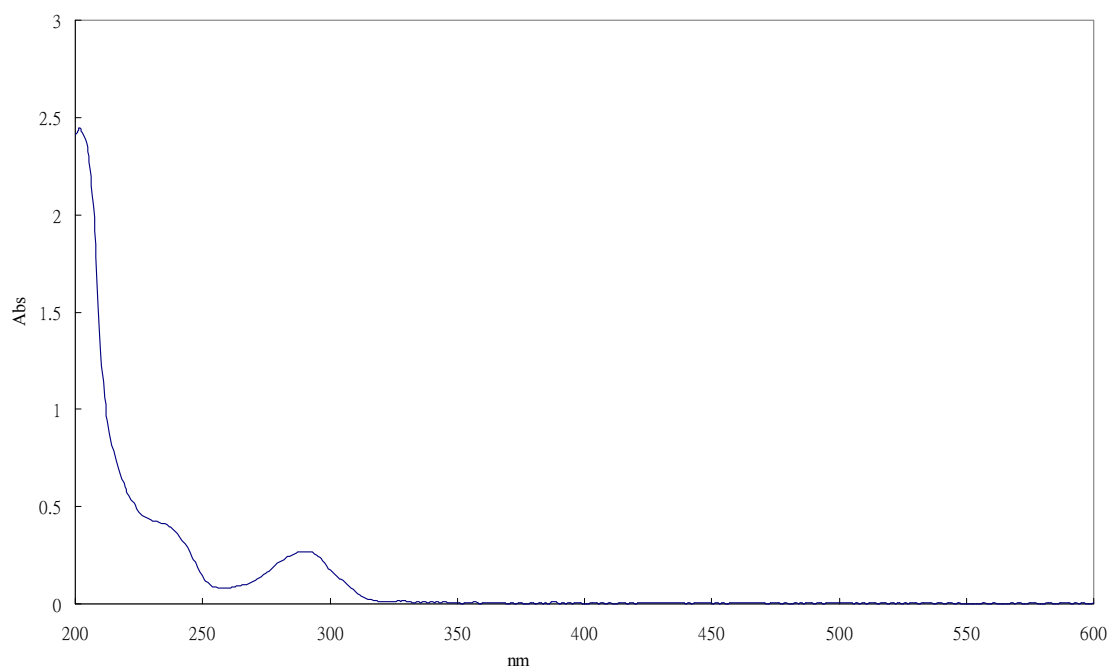


圖 6. Sesaminol triglycoside 的 UV-Vis 全光譜圖

Figure 6. UV-Vis absorption spectrum of sesaminol triglycoside.

表四、總 sesaminol、sesaminol triglycoside 在大白鼠血漿之回收率

Table 4. Recovery of total form sesaminol and sesaminol triglycoside in rat plasma

Recovery(%) Concentration(μg/ml)	Sesaminol	Sesaminol triglycoside
100	108.37±0.07	90.32±0.37
50	101.70±0.02	86.04±0.73
10	103.95±0.01	90.42±0.06
5	97.98±0.05	85.53±0.13
Average	103±0.15	88.08±0.32

Data are expressed as mean±S.D. (n=6)

表五、大白鼠血漿中 sesamol、sesaminol triglycoside 和 sesaminol 之藥物動力學參數

Table 5. Pharmacokinetic parameters of sesamol, sesaminol triglycoside and sesaminol in rat following lignans administration

	Sesamol		Sesaminol triglycosides		Sesaminol	
	P.O. (30 mg/kg)	I.V. (30 mg/kg)	P.O. (88.9 mg/kg)	I.V. (88.9 mg/kg)	P.O. (42. 6 mg/kg)	I.V. (10.65 mg/kg)
T _{max} (min)	2.08±0.20	0	4.17±2.04	0	10	0
C _{max} (μg/ml)	11.2±6.2	38.8±16.8	0.181±0.092	159±17. 7	0.70±0.214	0.242±0.04
t _{1/2} (min)	9.43±4.33	15.3±5.8	102.22±35.5	50.00±13.3	29.89±7.96	74.0±28.36
AUC (min • μg/ml)	110±70	343±96	17.2±2.77	5511±1847	17.6±7.56	21. 8±12.1
CL(mL/min • kg)	—	—	—	16.37±6.57	—	395.6±53.6
V _{ss} (L/kg)	—	—	—	606.5±65.3	—	52860±1206
AUC/Dose (min/l)	3.66±2.34	11.4±3.2	0.19±0.03	61.99±20.8	0.413±0.177	2.07±1.26
Bioavailability(%)	34.8		0.307		19.95	

Data are expressed as mean ± S.D. (n=6)

表六、靜脈注射 100 mg/kg sesaminol、sesaminol triglycoside 後，大白鼠血漿中芝麻酚之蛋白質結合率
Table 6. Protein binding ratio of sesaminol and sesaminol triglycoside in rat plasma following sesaminol and sesaminol triglycoside administration (100mg/kg, i.v.)

Protein binding ratio(%) Time(min)	Sesaminol triglycoside	Sesaminol
10	82.27±6.73	8.97±1.78
20	84.51±3.58	7.93±4.96
30	85.83±2.25	9.46±1.11
Average	84.20±4.19	8.79±2.62

Data are expressed as mean±S.D. (n=6)

表七、sesamol 在大鼠組織中之高效能液相層析分析方法於同日內及異日間之精密度及精確性
Table 7. Intra-day and inter-day precision and accuracy of the HPLC method for the determination of total form sesamol in rat tissue

Nominal conc. (µg/ml)	Intra			Inter		
	Observed conc. (µg/ml)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)	Observed conc. (µg/ml)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)
25	25.3±0.01	0.048	1.059	25.2±0.15	0.589	0.641
12.5	11.9±0.13	1.114	-4.732	12.2±0.07	0.569	-2.75
6.25	6.01±0.04	0.592	-3.273	6.16±0.10	1.647	-1.402
3.13	3.12±0.02	0.601	-0.212	3.14±0.04	1.425	0.471
1.56	1.58±0.03	1.678	0.804	1.60±0.04	2.655	2.701
0.78	0.80±0.002	0.277	2.251	0.77±0.02	2.643	-1.725
0.39	0.39±0.0003	0.087	-1.166	0.40±0.02	4.470	3.669
0.20	0.2±0.0002	0.101	1.480	0.20±0.002	0.787	1.992

Data are expressed as mean ± S.D. (n=6)

表八、總 sesamol 在大白鼠組織之回收率

Table 8. Recovery of total form sesamol in rat tissue

Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Liver	Heart	Lung	Kidney	Intestine	Feces	Urine	Plasma	Brain
250	98.2 $\pm$ 0.41	87.5 $\pm$ 4.0	98.7 $\pm$ 0.89	96.4 $\pm$ 0.28	110 $\pm$ 2.39	77 $\pm$ 0.57	104 $\pm$ 0.12	98.2 $\pm$ 0.02	88.1 $\pm$ 0.35
125	96.1 $\pm$ 0.21	88.1 $\pm$ 0.02	97.8 $\pm$ 0.74	95.6 $\pm$ 0.49	107 $\pm$ 0.15	77.6 $\pm$ 2.97	91.1 $\pm$ 1.45	101 $\pm$ 0.43	86.3 $\pm$ 0.11
62.5	96.9 $\pm$ 0.37	83.3 $\pm$ 0.16	97.1 $\pm$ 1.09	96.2 $\pm$ 0.82	90.2 $\pm$ 3.25	86.9 $\pm$ 3.86	90.9 $\pm$ 1.25	98.8 $\pm$ 0.24	84.6 $\pm$ 1.36
Average	97.1 $\pm$ 0.88	86.3 $\pm$ 2.67	97.9 $\pm$ 0.91	96.0 $\pm$ 0.46	105 $\pm$ 7.58	95.3 $\pm$ 6.18	80.5 $\pm$ 4.94	99.3 $\pm$ 1.15	86.3 $\pm$ 1.75

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=6)

表九、SD 大鼠中組織殘留血液

Table 9. Fraction of residual blood in SD rat tissues.

Tissue	Residual blood(%)
Blood	100
Liver	6.75 $\pm$ 0.50
Kidney	6.99 $\pm$ 1.39
Heart	14.3 $\pm$ 1.15
Lung	14.5 $\pm$ 1.30
Brain	2.76 $\pm$ 0.35
Intestine	0.09 $\pm$ 0.04

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=6)

表十、口服餵食 sesamol(100mg/kg) 在大鼠各臟器中 sesamol 及其代謝物在組織及血漿比值($C_{\text{tissue}}/C_{\text{plasma}}$)

Table 10. The $C_{\text{tissue}}/C_{\text{plasma}}$ ratio of sesamol and its metabolites after oral administration of sesamol 100mg/kg in rat tissue.

$C_{\text{tissue}}/C_{\text{plasma}}$ Time(hr)	Sesamol	Sesamol glucuronides	Sesamol sulfates
Brain	0.96 $\pm$ 0.72	0.18 $\pm$ 0.15	0.06 $\pm$ 0.05
Heart	1.62 $\pm$ 0.91	0.35 $\pm$ 0.27	0.23 $\pm$ 0.14
Lung	1.13 $\pm$ 0.44	0.25 $\pm$ 0.09	0.27 $\pm$ 0.15
Kidney	0.62 $\pm$ 0.25	0.39 $\pm$ 0.22	0.38 $\pm$ 0.14
Liver	0.26 $\pm$ 0.06	0.10 $\pm$ 0.04	0.12 $\pm$ 0.08
Intestine	6.19 $\pm$ 5.01	1.53 $\pm$ 1.26	0.42 $\pm$ 0.26

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=6)

表十一、口服餵食 sesamol(100mg/kg) 在每段時間下 sesamol 及其代謝物尿液排除

Table 11. Individual urinary excretion of sesamol and its metabolites during each time interval after oral administration of sesamol 100mg/kg

Conc.(nmole/ml) Time(hr)	Sesamol	Sesamol glucuronides	Sesamol sulfates
0-4	202.9±76.09	811.6±66.52	7153±703.6
4-8	109.4±4.783	920.3±65.80	13280±171.0
8-12	93.48±23.84	275.2±41.74	5793±266.4
12-16	97.83±16.88	137.0±16.67	6101±426.1
16-24	301.4±33.98	207.2±22.83	7788±129.6
Total(0-24hr)	805.1	2351	40114
% of dose	0.4443	1.2981	22.143

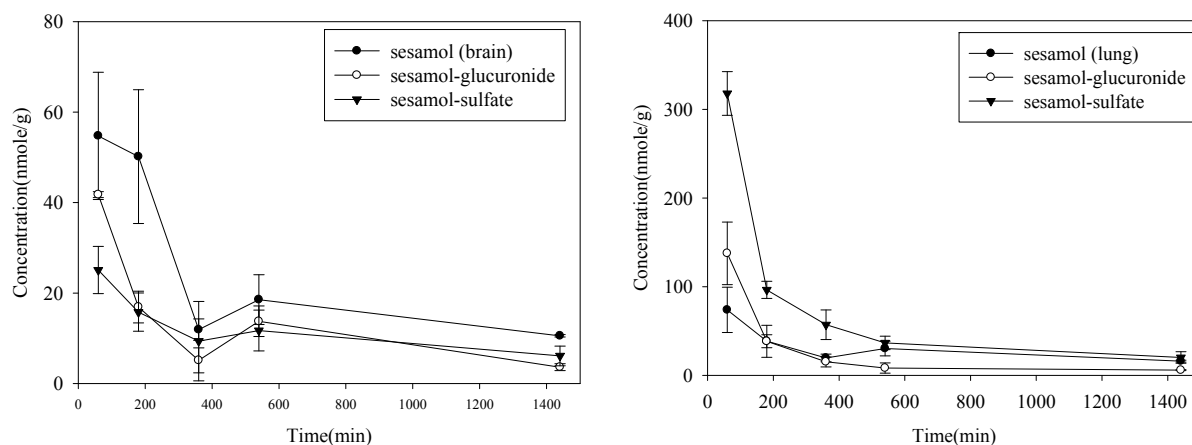
Data are expressed as mean ± S.D. (n=6)

表十二、口服餵食 sesamol(100mg/kg) 在每段時間下 sesamol 及其代謝物糞便排除

Table 12. Individual fecal excretion of sesamol and its metabolites during each time interval after oral administration of sesamol 100mg/kg

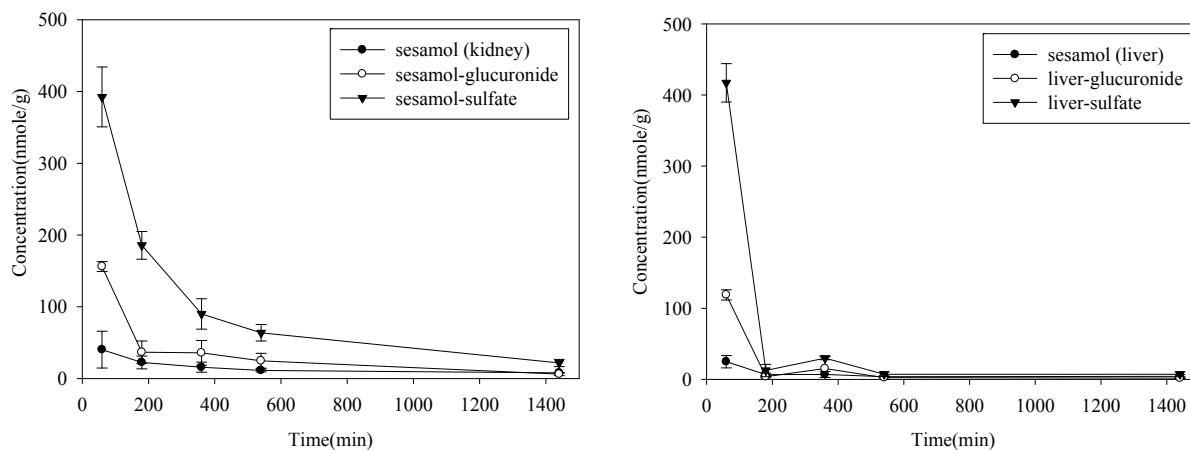
Conc.(nmole/ml) Time(hr)	Sesamol	Sesamol glucuronides	Sesamol sulfates
0-4	240.6±2.826	208.0±5.435	191.3±2.463
4-8	635.5±1.014	651.4±2.029	722.5±4.420
8-12	312.3±11.81	397.8±1.449	328.3±8.478
12-16	426.8±23.19	442.0±8.55	344.2±14.93
16-24	510.9±8.043	609.4±15.14	722.5±13.99
Total(0-24hr)	2123	2308	2308
% of dose	1.3542	1.2742	1.2741

Data are expressed as mean ± S.D. (n=6)



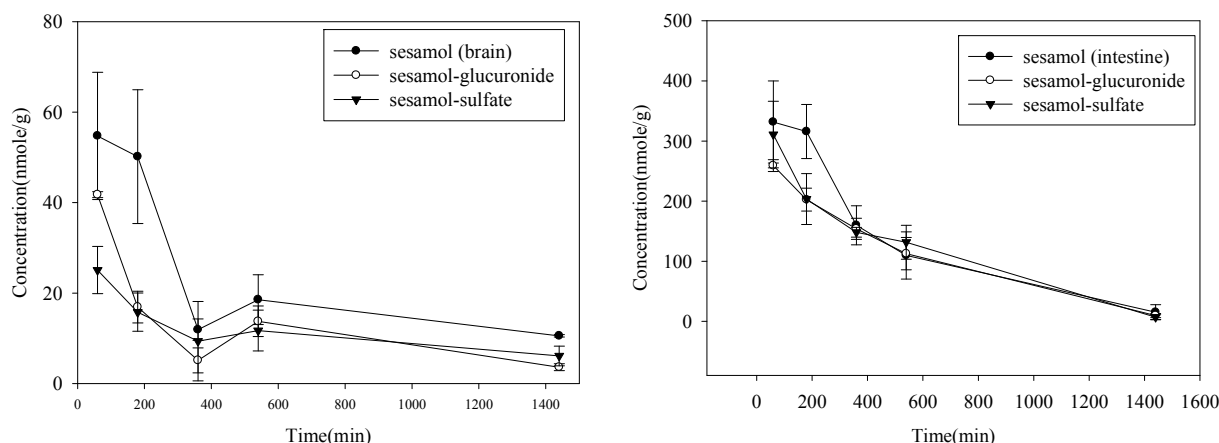
圖七、大鼠灌食 sesamol(100 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠組織中(心、肺臟)sesamol 及其代謝物濃度

Figure 7. Time-dependent changes of sesamol and its metabolites concentration in rat tissues (heart, lung) after oral administration. Sesamol and its metabolites were extracted from the tissues (heart, lung) collected at 60, 180, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



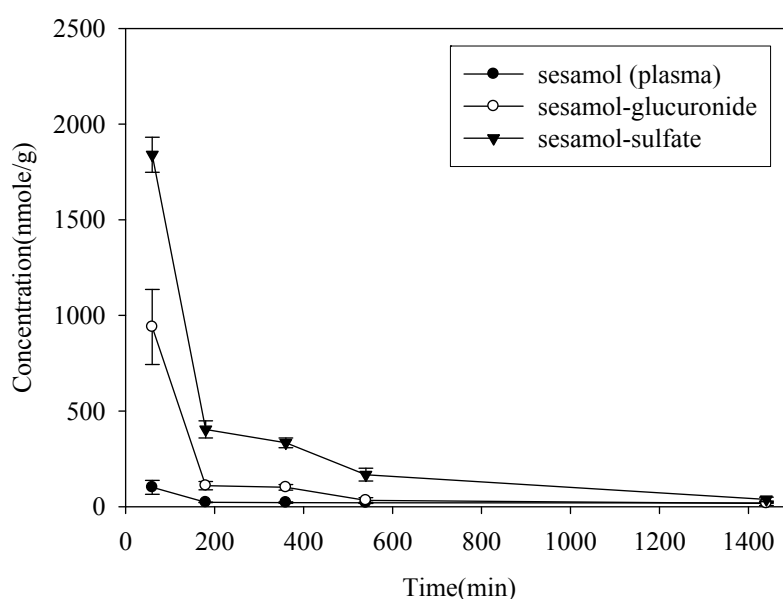
圖八、大鼠灌食 sesamol(100 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠組織中(腎、肝臟)sesamol 及其代謝物濃度

Figure 8. Time-dependent changes of sesamol and its metabolites concentration in rat tissues (kidney, liver) after oral administration. Sesamol and its metabolites were extracted from the tissues (kidney, liver) collected at 60, 180, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



圖九、大鼠灌食 sesamol(100 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠組織中(腦、腸道)sesamol 及其代謝物濃度

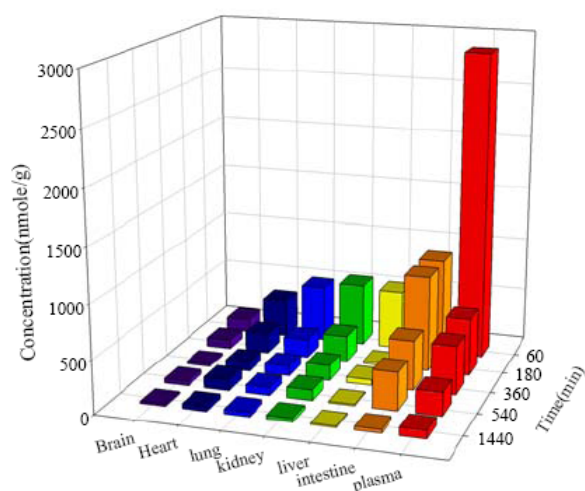
Figure 9. Time-dependent changes of sesamol and its metabolites concentration in rat tissues (brain, intestine) after oral administration. Sesamol and its metabolites were extracted from the tissues (brain, intestine) collected at 60, 180, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



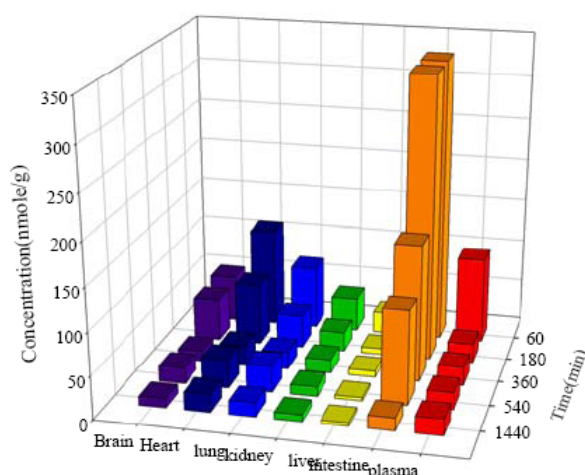
圖十、大鼠灌食 sesamol(100 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠血漿中 sesamol 及其代謝物濃度

Figure 10. Time-dependent changes of sesamol and its metabolites concentration in rat plasma after oral administration. Sesamol and its metabolites were extracted from the plasma collected at 60, 180, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.

Sesamol + total metabolites



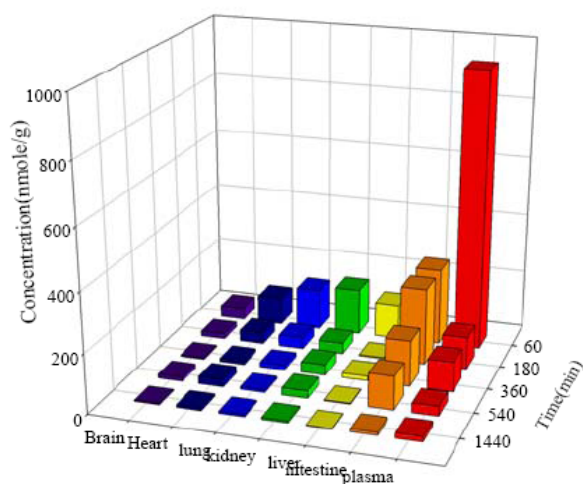
Sesamol



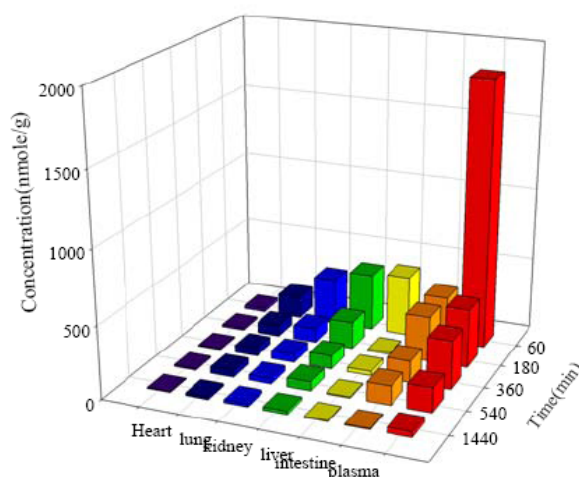
圖十一、大鼠灌食 sesamol(100 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各部位組織中 sesamol 及總代謝物濃度

Figure 11. Time-dependent changes of sesamol and its metabolites concentration in rat tissues after oral administration. Sesamol and its metabolites were extracted from the tissues collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.

Glucuronides

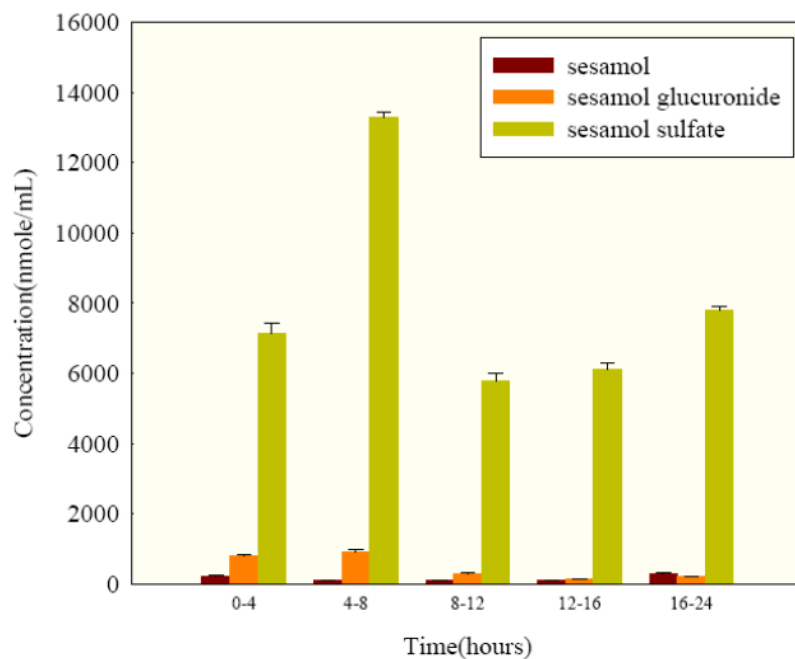


sulfates

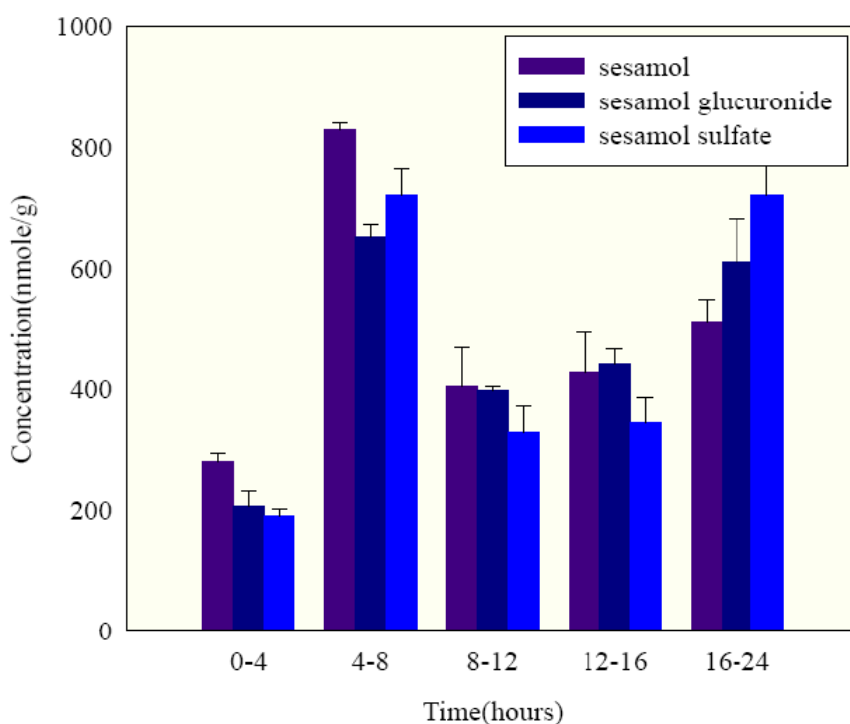


圖十二、大鼠灌食 sesamol(100 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各組織中 sesamol 代謝物 (glucuronides 及 sulfates)濃度

Figure 12. Time-dependent changes of sesamol and its metabolites concentration in rat tissues after oral administration. Sesamol metabolites (glucuronides and sulfates) were extracted from the tissues collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



圖十三、大鼠灌食 sesamol(100 mg/kg)在每段時間下尿液排除以 HPLC 分析 sesamol 及其代謝物
 Figure 13. Individual urinary excretion of sesamol and sesamol metabolites in during each time interval after analyzed by HPLC. (100 mg/kg oral, n = 6)



圖十四、大鼠灌食 sesamol(100 mg/kg)在每段時間下糞便排除以 HPLC 分析 sesamol 及其代謝物
 Figure 14. Individual fecal excretion of sesamol and sesamol metabolites in during each time interval after analyzed by HPLC. (100 mg/kg oral, n = 6)

表十三、sesaminol triglucoside 在大鼠組織之高效能液相層析分析方法於同日內及異日間之精密度及精確性

Table 13. Intra-day and inter-day precision and accuracy of the HPLC method for the determination of total form sesaminol triglucoside in rat tissue

Nominal conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Intra			Inter		
	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)
25	24.8 $\pm$ 0.10	0.106	0.429	24.2 $\pm$ 0.23	0.965	-3.142
12.5	12.8 $\pm$ 0.04	0.339	3.122	12.6 $\pm$ 0.07	0.558	1.011
6.25	6.34 $\pm$ 0.07	1.154	1.450	6.13 $\pm$ 0.06	0.969	-1.955
3.13	3.02 $\pm$ 0.06	1.833	-3.333	3.11 $\pm$ 0.03	0.896	-0.454
1.56	1.58 $\pm$ 0.01	0.716	0.807	1.60 $\pm$ 0.02	1.431	2.210
0.78	0.75 $\pm$ 0.02	2.001	-3.722	0.80 $\pm$ 0.02	2.958	2.391
0.39	0.38 $\pm$ 0.004	1.107	-2.820	0.39 $\pm$ 0.004	1.203	0.415
0.20	0.2 $\pm$ 0.004	2.231	-0.168	0.19 $\pm$ 0.004	2.075	-4.242

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=6)

Intra-day : $y = 0.1534x - 0.0015$ $R^2 = 0.9999$; Inter-day : $y = 0.1509x + 0.0003$ $R^2 = 0.9996$

表十四、sesaminol 在大鼠組織之高效能液相層析分析方法於同日內及異日間之精密度及精確性

Table 14. Intra-day and inter-day precision and accuracy of the HPLC method for the determination of total form sesaminol in rat tissue

Nominal conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Intra			Inter		
	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)
25	25.0 $\pm$ 0.10	0.401	0.029	25.0 $\pm$ 0.08	0.334	0.004
12.5	12.5 $\pm$ 0.02	0.121	-0.067	12.5 $\pm$ 0.10	0.803	0.081
6.25	6.25 $\pm$ 0.004	0.056	0.059	6.23 $\pm$ 0.21	0.346	-0.253
3.13	3.13 $\pm$ 0.004	0.129	0.042	3.11 $\pm$ 0.02	0.506	-0.289
1.56	1.59 $\pm$ 0.05	2.854	1.723	1.57 $\pm$ 0.01	0.911	0.768
0.78	0.80 $\pm$ 0.009	1.067	2.872	0.81 $\pm$ 0.003	0.426	3.873
0.39	0.40 $\pm$ 0.004	0.992	3.595	0.37 $\pm$ 0.005	1.386	-4.182
0.20	0.19 $\pm$ 0.001	0.669	-2.935	0.20 $\pm$ 0.001	0.460	2.009

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=6)

Intra-day : $y = 0.3539x + 0.0013$ $R^2 = 0.9999$; Inter-day : $y = 0.5917x + 0.0003$ $R^2 = 0.9999$

表十五、sesaminol triglucoside 在大鼠腸道中之高效能液相層析分析方法於同日內及異日間之精密度及精確性

Table 15. Intra-day and inter-day precision and accuracy of the HPLC method for the determination of total form sesaminol triglucoside in rat intestinal

Nominal conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Intra			Inter		
	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)
25	24.9 $\pm$ 0.05	0.218	-0.578	24.8 $\pm$ 0.07	0.265	-0.768
12.5	12.5 $\pm$ 0.03	0.199	1.966	12.8 $\pm$ 0.03	0.219	2.48
6.25	6.39 $\pm$ 0.04	0.634	2.19	6.48 $\pm$ 0.12	2.11	3.62
3.13	3.01 $\pm$ 0.10	3.27	-3.68	3.05 $\pm$ 0.03	0.938	-2.35
1.56	1.46 $\pm$ 0.03	2.34	-6.76	1.49 $\pm$ 0.03	1.95	-4.77
0.78	0.773 $\pm$ 0.01	1.83	-1.04	0.756 $\pm$ 0.01	2.81	-3.26
0.39	0.399 $\pm$ 0.10	1.66	2.15	0.380 $\pm$ 0.002	2.01	-2.77
0.20	0.192 $\pm$ 0.05	26.4	-1.78	0.197 $\pm$ 0.01	3.78	0.816

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=3)

Intra-day : $y = 0.1435x - 0.0004$ $R^2 = 0.9998$; Inter-day : $y = 0.1374x + 0.0011$ $R^2 = 0.9996$

表十六、sesaminol 在大鼠腸道中之高效能液相層析分析方法於同日內及異日間之精密度及精確性

Table 16. Intra-day and inter-day precision and accuracy of the HPLC method for the determination of total form sesaminol in rat intestinal

Nominal conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Intra			Inter		
	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)
15	14.9 $\pm$ 0.300	2.01	-0.566	15.15 $\pm$ 0.019	0.122	0.989
7.5	7.46 $\pm$ 0.059	0.794	-0.556	7.47 $\pm$ 0.043	0.580	-0.416
3.75	3.74 $\pm$ 0.026	0.687	-0.174	3.73 $\pm$ 0.023	0.606	-0.661
1.88	1.84 $\pm$ 0.001	0.034	-1.83	1.85 $\pm$ 0.013	0.685	-1.48
0.938	0.896 $\pm$ 0.013	1.41	-4.47	0.891 $\pm$ 0.008	0.904	-4.98
0.469	0.445 $\pm$ 0.004	0.996	-5.02	0.466 $\pm$ 0.01	2.13	-0.531
0.2348	0.237 $\pm$ 0.005	2.28	1.15	0.234 $\pm$ 0.003	1.47	-0.330
0.1178	0.113 $\pm$ 0.003	2.21	-3.47	0.113 $\pm$ 0.002	1.76	-3.49

Data are expressed as mean $\pm$ S.D. (n=3)

Intra-day : $y = 0.589x - 0.0013$ $R^2 = 0.9999$; Inter-day : $y = 0.597x - 0.0041$ $R^2 = 0.9999$

表十七、sesaminol triglucoside 在大鼠排出物中之高效能液相層析分析方法於同日內及異日間之精密度及精確性

Table 17. Intra-day and inter-day precision and accuracy of the HPLC method for the determination of total form sesaminol triglucoside in rat excrement

Nominal conc. (µg/ml)	Intra			Inter		
	Observed conc. (µg/ml)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)	Observed conc. (µg/ml)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)
25	25.0±0.18	0.724	-0.179	24.7±0.45	1.80	-1.10
12.5	12.6±0.24	1.90	0.802	12.9±0.02	0.130	3.12
6.25	6.34±0.01	0.141	1.46	6.61±0.006	0.096	5.79
3.13	3.00±0.03	0.958	-3.95	3.05±0.08	2.60	-2.41
1.56	1.52±0.002	0.111	-2.54	1.48±0.03	2.28	-5.57
0.78	0.76±0.01	1.32	-2.57	0.81±0.009	1.17	3.61
0.39	0.39±0.01	1.80	0.244	0.40±0.006	1.61	1.74
0.20	0.20±0.00048	0.242	1.67	0.20±0.0003	0.149	2.94

Data are expressed as mean ± S.D. (n=3)

Intra-day : $y = 0.1512x - 0.0016$ $R^2 = 0.9999$ Inter-day : $y = 0.1354x + 0.0043$ $R^2 = 0.9992$

表十八、sesaminol 在大鼠排出物中之高效能液相層析分析方法於同日內及異日間之精密度及精確性

Table 18. Intra-day and inter-day precision and accuracy of the HPLC method for the determination of total form sesaminol in rat excrement

Nominal conc. (µg/ml)	Intra			Inter		
	Observed conc. (µg/ml)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)	Observed conc. (µg/ml)	Precision (% CV)	Accuracy (% bias)
15	15.1±0.03	0.206	0.639	15.0±0.08	0.548	0.100
7.5	7.47±0.002	0.026	-0.344	7.40±0.050	0.679	-1.37
3.75	3.71±0.043	1.16	-1.14	3.72±0.064	1.71	-0.673
1.88	1.82±0.018	0.968	-2.93	1.83±0.001	0.078	-2.63
0.938	0.900±0.009	0.951	-4.19	0.881±0.006	1.58	-1.28
0.469	0.459±0.00003	0.007	-2.07	0.443±0.001	0.272	-4.83
0.2348	0.232±0.001	0.639	-1.02	0.221±0.007	1.24	-4.51
0.1178	0.113±0.00002	0.025	-3.79	0.109±0.001	0.965	-5.82

Data are expressed as mean ± S.D. (n=3)

Intra-day : $y = 0.5958x - 0.0049$ $R^2 = 0.9999$ Inter-day : $y = 0.5925x - 0.0051$ $R^2 = 0.9999$

表十九、口服餵食 sesaminol triglucoside (500mg/kg) 在每段時間下 sesaminol triglucoside 及其代謝物尿液排除

Table 19. Individual urinary excretion of sesaminol triglucoside and its metabolites during each time interval after oral administration of sesaminol triglucoside 500mg/kg

Conc.(nmole) Time(hr)	Sesaminol triglucoside	Sesaminol	Sesaminol glucuronide	Sesaminol sulfate
0-4	393.3±112.1	3.050±1.264	63.21±32.20	592.1±148.8
4-8	234.7±73.42	1.227±0.150	3.780±1.691	269.8±69.24
8-12	311.7±154.4	2.223±1.217	12.25±3.416	3400±471.6
12-16	195.9±65.65	4.916±1.459	11.65±2.981	50.52±15.06
16-24	193.4±14.50	20.46±1.789	14.49±1.135	36.81±3.454
Total(0-24hr)	1329.3	31.87	105.4	4349
% of dose	0.2528	0.006	0.0200	0.8273

Data are expressed as mean ± S.D. (n=6)

表二十、口服餵食 sesaminol triglucoside (500mg/kg) 在每段時間下 sesaminol triglucoside 及其代謝物糞便排除

Table20. Individual fecal excretion of sesaminol triglucoside and its metabolites during each time interval after oral administration of sesaminol triglucoside 500mg/kg

Conc.(nmole) Time(hr)	Sesaminol triglucoside	Sesaminol	Sesaminol glucuronide	Sesaminol sulfate
0-4	12.70±0.333	96.82±3.521	108.7±13.58	44.71±0.769
4-8	42.47±1.059	186.0±9.716	ND ¹	89.93±4.917
8-12	5435±434.0	17951±772.9	1020±88.86	16623±1381
12-16	332.4±50.86	24985±1885	ND ¹	29522±4766
16-24	559.6±7.104	13601±119.1	159.9±34.94	6284±53.70
Total(0-24hr)	6382	56820	1288	52563
% of dose	1.214	10.81	0.2451	9.999

Data are expressed as mean ± S.D. (n=6)

¹ND:non-detectable.

表二十一、口服餵食 sesaminol (220mg/kg) 在每段時間下 sesaminol 及其代謝物尿液排除

Table 21. Individual urinary excretion of sesaminol and its metabolites during each time interval after oral administration of sesaminol 220mg/kg

Conc.(nmole) Time(hr)	Sesaminol	Sesaminol glucuronide	Sesaminol sulfate
0-4	2.007±0.362	35.72±0.459	132.3±16.80
4-8	27.34±6.882	53.15±0.341	76.01±7.743
8-12	50.98±15.69	12.70±1.133	56.09±8.039
12-16	3.323±0.255	31.63±1.276	41.70±3.218
16-24	4.241±1.225	ND ¹	37.566±2.752
Total(0-24hr)	87.89	133.2	343.7
% of dose	0.016	0.025	0.064

Data are expressed as mean ± S.D. (n=6)

¹ND:non-detectable.

表二十二、口服餵食 sesaminol (220mg/kg) 在每段時間下 sesaminol triglucoside 及其代謝物糞便排除

Table 22. Individual fecal excretion of sesaminol triglucoside and its metabolites during each time interval after oral administration of sesaminol 220mg/kg

Conc.(nmole) Time(hr)	Sesaminol	Sesaminol glucuronide	Sesaminol sulfate
0-4	1115±10.11	ND	2612±274.0
4-8	2470±434.6	71.73±1.170	4580±10.75
8-12	4128±349.0	6.350±0.846	15783±647.2
12-16	8932±1544	270.0±0.626	505.9±0.675
16-24	7877±484.1	59.02±10.19	414.0±37.20
Total(0-24hr)	24523	407.1	23896
% of dose	4.582	0.076	4.465

Data are expressed as mean ± S.D. (n=6)

¹ND:non-detectable.

表二十三總 sesaminol triglucoside 在大白鼠組織之回收率

Table 23. Recovery of total form sesaminol triglucoside in rat tissue

Concentration (µg/ml)	Liver	Heart	Lung	Kidney	Brain	Feces	Urine	Plasma	Cecum	Rectum	Large intestines	Small intestines
250	89.7±0.19	85.5±0.23	81.1±0.07	90.3±2.37	81.0±0.97	102±2.68	91.3±0.40	88.9±0.56	90.4±0.09	92.3±0.04	88.0±0.28	78.2±0.36
125	91.7±0.21	92.1±0.26	92.5±0.19	90.6±0.75	91.0±1.35	95.0±0.67	89.9±0.19	89.4±0.74	89.9±0.06	91.2±0.10	91.1±0.67	89.5±0.23
62.5	86.6±0.16	88.0±0.31	92.1±0.39	87.9±0.39	86.5±0.29	100±0.43	84.4±0.32	87.8±0.26	90.6±0.01	87.3±3.86	88.2±0.38	85.4±0.49
Average	89.3±2.54	88.5±3.32	88.5±6.48	89.6±1.46	86.2±5.03	98.9±3.46	88.5±3.66	88.7±0.82	90.3±0.38	90.3±2.60	89.1±1.77	84.4±5.72

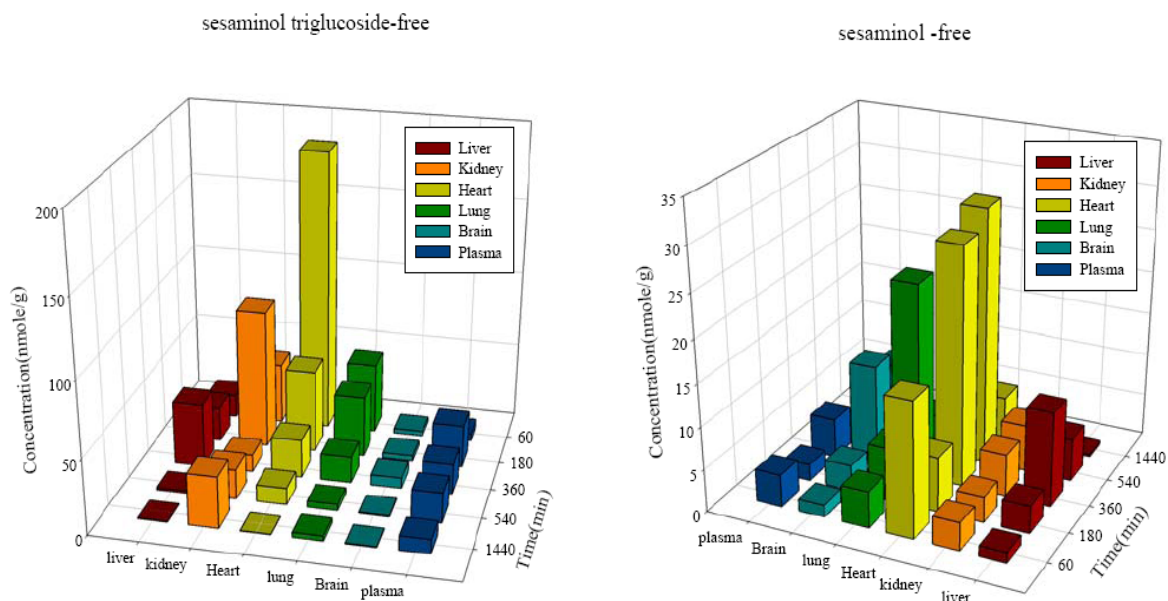
Data are expressed as mean±S.D. (n=4)

表二十四、總 sesaminol 在大白鼠組織之回收率

Table 24. Recovery of total form sesaminol in rat tissue

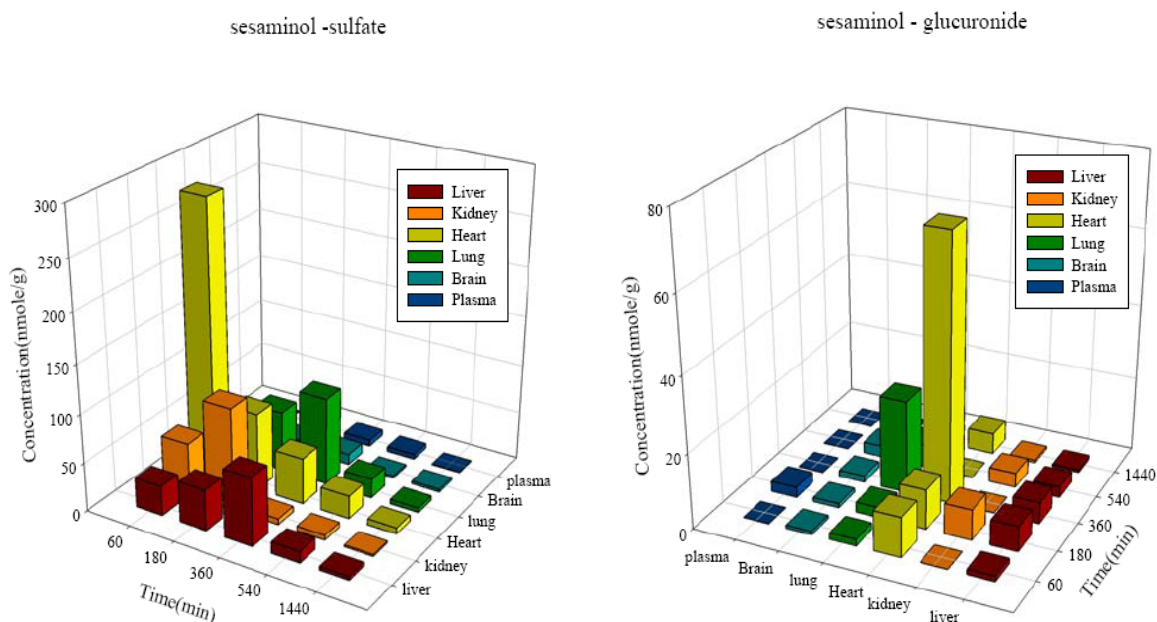
Concentration (µg/ml)	Liver	Heart	Lung	Kidney	Brain	Feces	Urine	Plasma	Cecum	Rectum	Large intestines	Small intestines
150	85.8±0.07	85.3±0.18	84.9±0.12	85.9±1.22	88.0±0.21	84.5±0.01	89.9±0.27	86.2±0.25	85.2±0.79	86.3±0.15	82.9±1.16	71.9±0.08
75	86.7±0.52	86.8±0.45	84.6±1.79	86.5±0.33	91.3±0.37	86.4±0.28	90.3±0.13	85.4±0.43	85.3±0.11	85.0±0.08	86.3±0.90	73.8±0.03
37.5	86.6±2.19	88.0±0.62	89.2±0.96	88.8±0.16	94.1±0.74	91.8±0.32	96.2±0.15	85.9±1.08	85.3±0.4	79.2±0.95	84.6±3.20	73.4±0.21
Average	86.4±0.50	86.7±1.37	86.3±2.57	87.1±1.54	91.1±3.07	87.6±3.78	92.1±3.54	85.8±0.40	85.3±0.03	83.5±3.78	84.6±1.69	73.0±1.02

Data are expressed as mean±S.D. (n=4)



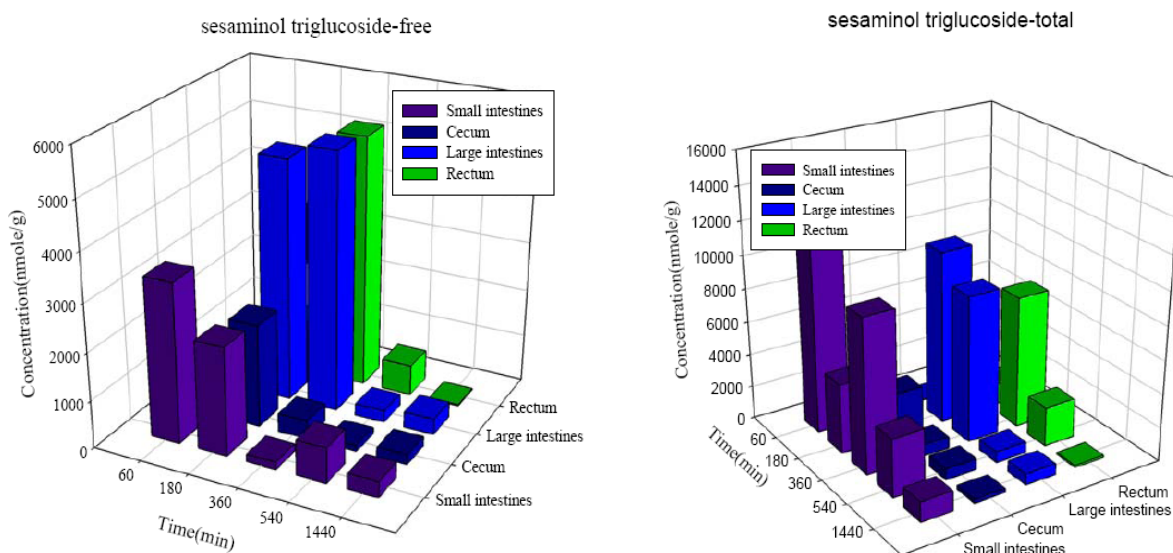
圖十五、大鼠灌食 sesaminol triglucoside (500 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各組織中 sesaminol triglucoside 代謝物(free 及 total form)濃度

Figure 15. Time-dependent changes of sesaminol triglucoside (free form and metabolites) and its concentration in rat tissues after oral administration. Sesaminol triglucoside (free form and metabolites) were extracted from the tissues collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



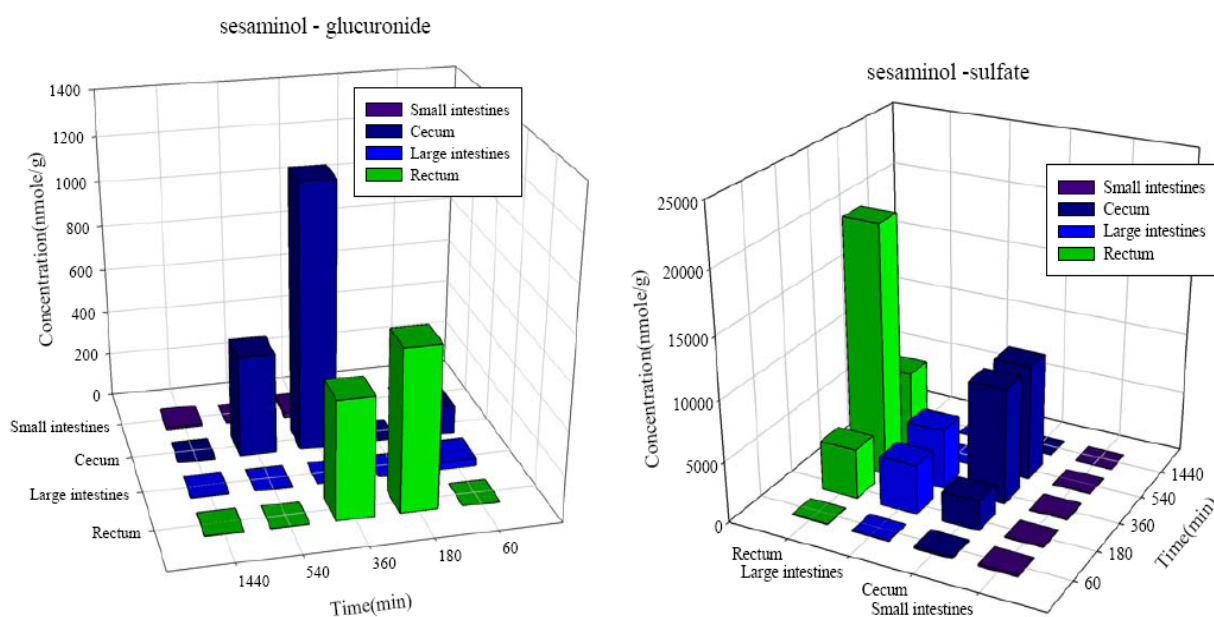
圖十六、大鼠灌食 sesaminol triglucoside (500 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各組織中 sesaminol triglucoside 代謝物(glucuronides 及 sulfates)濃度

Figure 16. Time-dependent changes of sesaminol triglucoside metabolites (glucuronide and sulfate) and its concentration in rat tissues after oral administration. Sesaminol triglucoside metabolites (glucuronide and sulfate) were extracted from the tissues collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



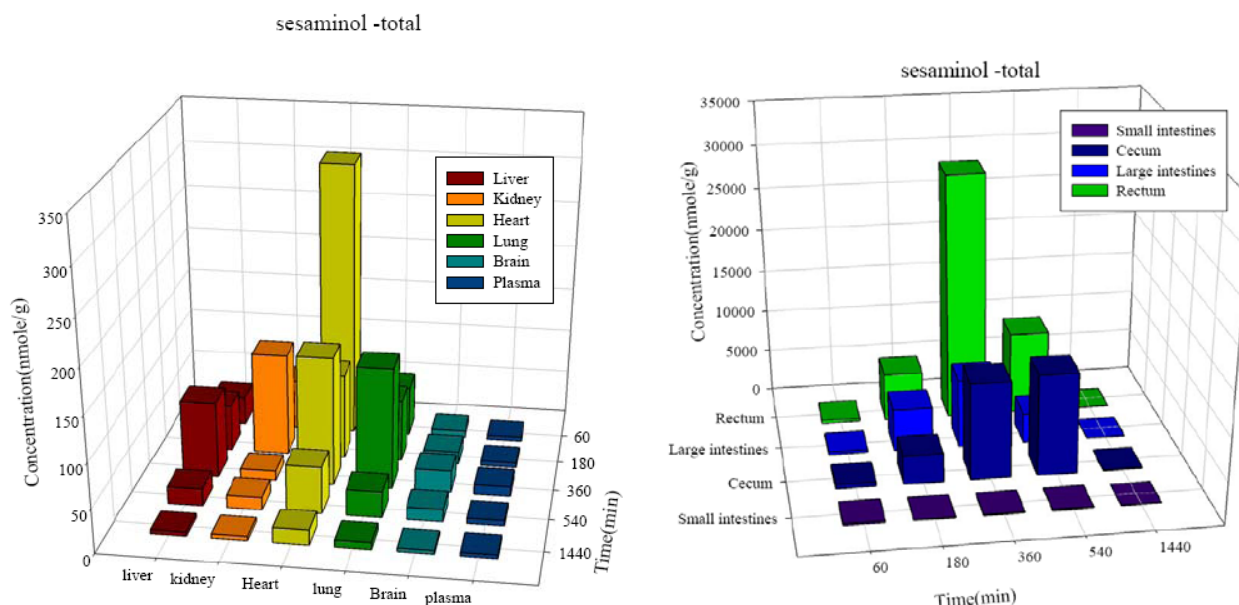
圖十七、大鼠灌食 sesaminol triglucoside (500 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在大鼠各腸道中 sesaminol triglucoside 代謝物(free 及 total form)濃度

Figure 17. Time-dependent changes of sesaminol triglucoside (free form and metabolites) and its concentration in rat intestines after oral administration. Sesaminol triglucoside (free form and metabolites) were extracted from the intestines collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



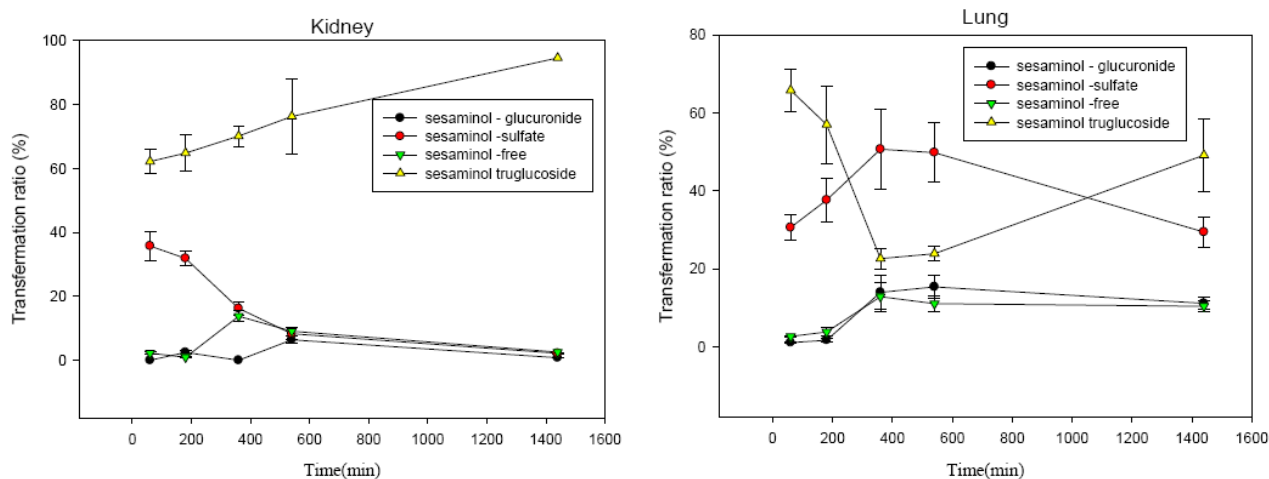
圖十八、大鼠灌食 sesaminol triglucoside (500 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在大鼠各腸道中 sesaminol triglucoside 代謝物(glucuronides 及 sulfates)濃度

Figure 18. Time-dependent changes of sesaminol triglucoside metabolites (glucuronide and sulfate) and its concentration in rat intestines after oral administration. Sesaminol triglucoside metabolites (glucuronide and sulfate) were extracted from the intestines collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



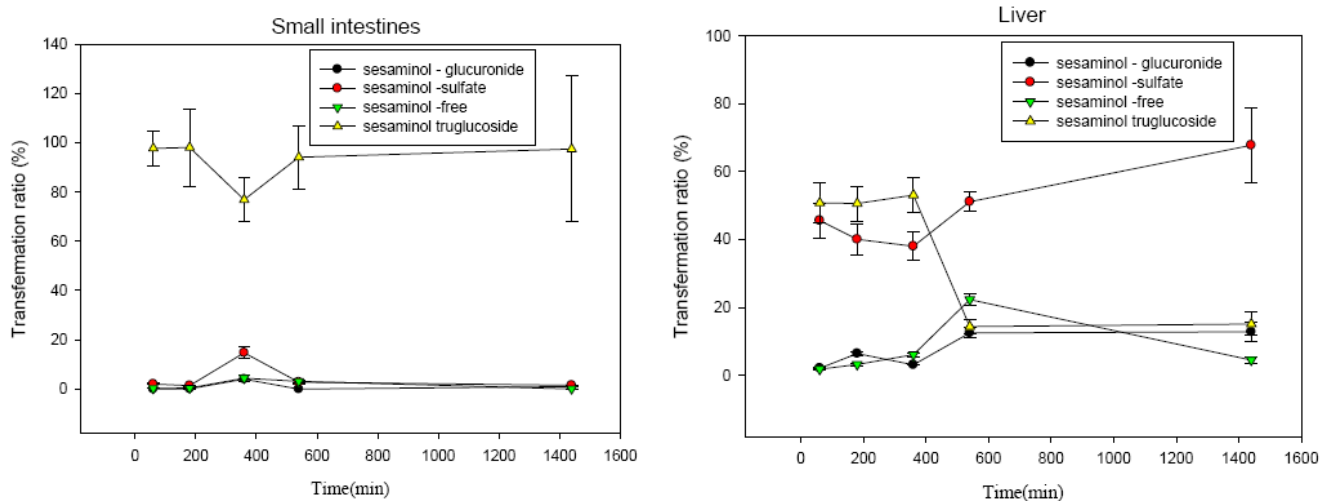
圖十九、大鼠灌食 sesaminol triglucoside (500 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各組織及腸道中 sesaminol triglucoside 代謝物(free 及 total form)濃度

Figure 19. Time-dependent changes of sesaminol triglucoside (free form and metabolites) and its concentration in rat tissues and intestines after oral administration. Sesaminol triglucoside (free form and metabolites) were extracted from the tissues and intestines collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



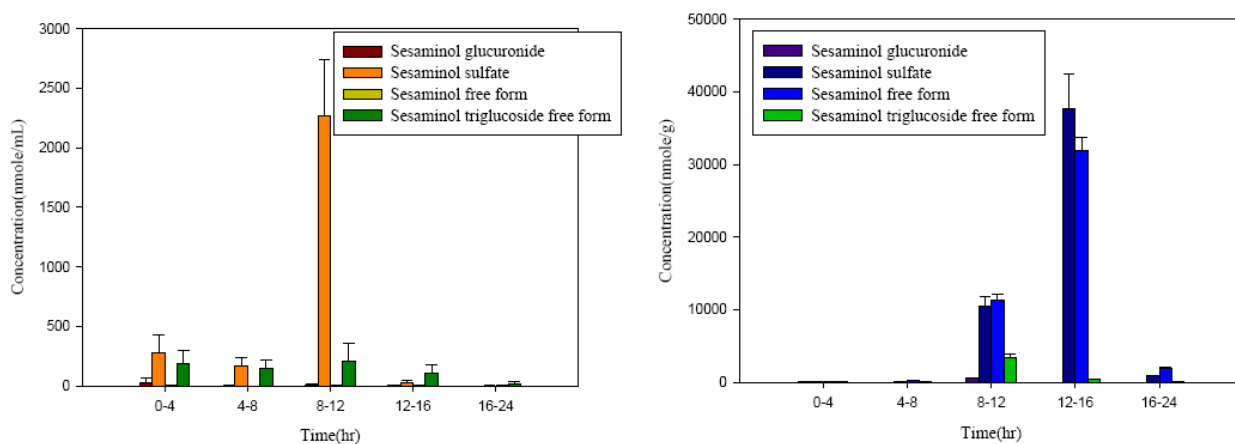
圖二十、大鼠灌食 sesaminol triglucoside (500 mg/kg)在每段時間下 sesaminol triglucoside 及其代謝物在腎臟及肺臟轉化率之變化

Figure 20. Time-dependent changes of sesaminol triglucoside (free form and metabolites) and its transformation ratio in rat intestines after oral administration. Sesaminol triglucoside (free form and metabolites) were extracted from the tissue collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration.



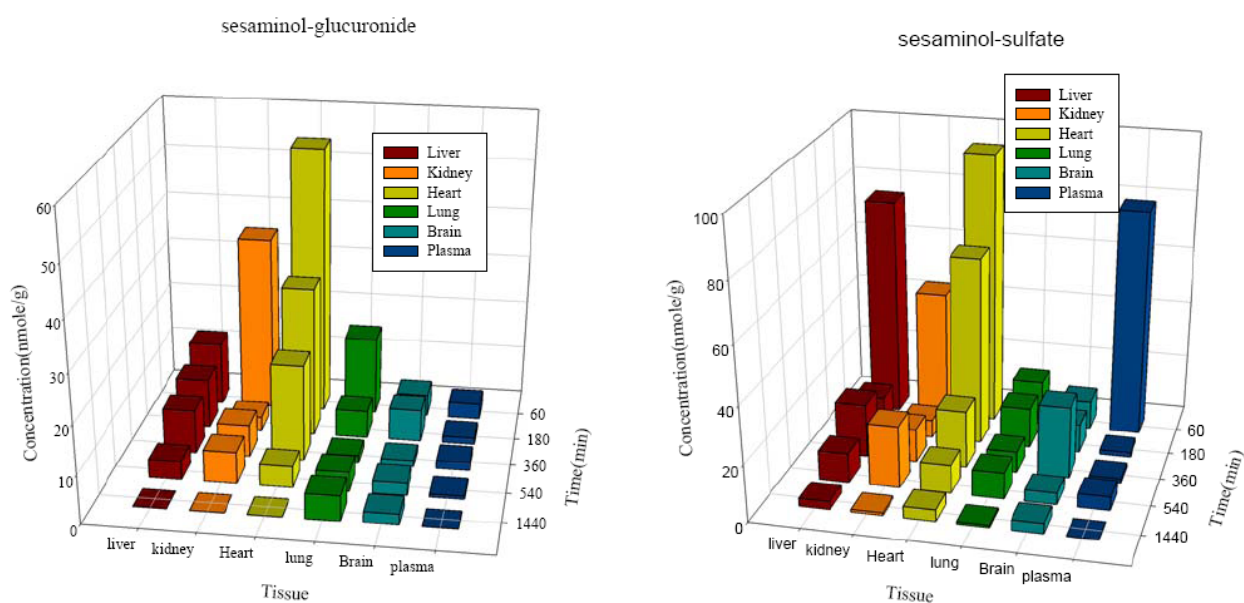
圖二十一、大鼠灌食 sesaminol triglucoside (500 mg/kg)在每段時間下 sesaminol triglucoside 及其代謝物在小腸及肝臟轉化率之變化

Figure 21. Time-dependent changes of sesaminol triglucoside (free form and metabolites) and its transformation ratio in rat intestines after oral administration. Sesaminol triglucoside (free form and metabolites) were extracted from the tissue collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration.



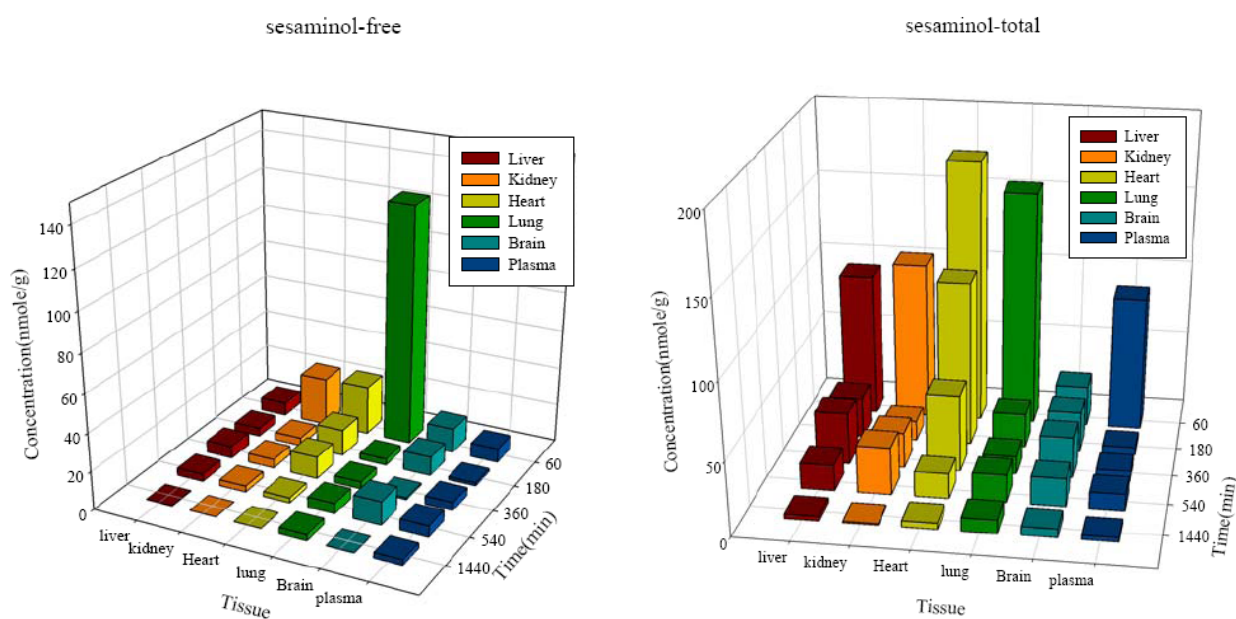
圖二十二、大鼠灌食 sesaminol triglucoside (500 mg/kg)在每段時間下尿液及糞便排除以 HPLC 分析 sesaminol triglucoside 及其代謝物

Figure 22. Individual urinary and fecal excretion of sesaminol triglucoside metabolites in during each time interval after analyzed by HPLC.



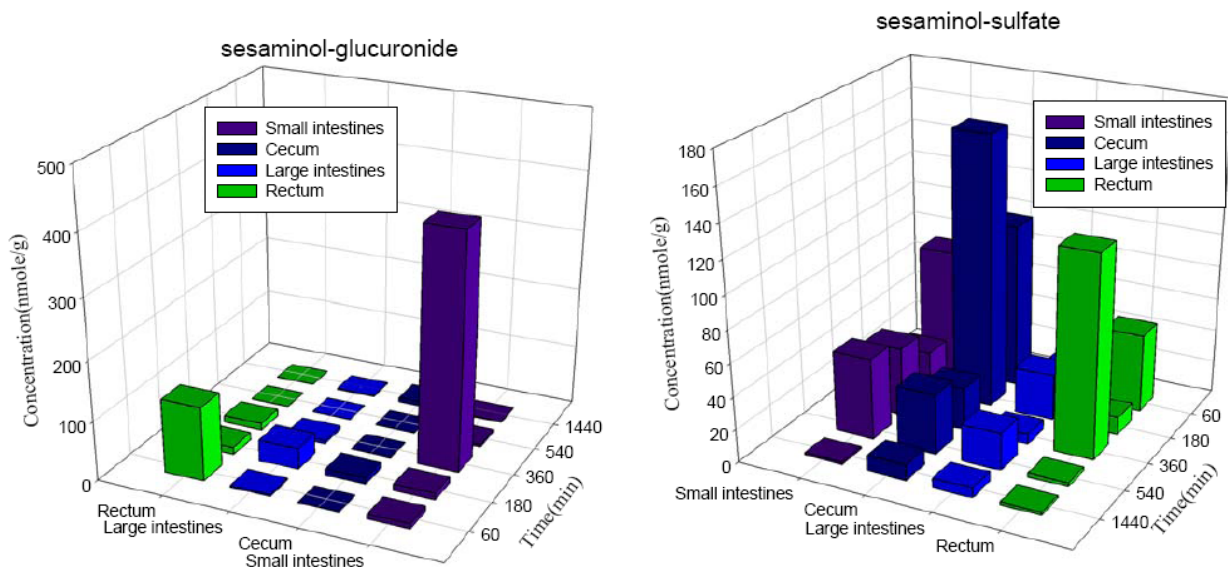
圖二十三、大鼠灌食 sesaminol (220 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各組織中 sesaminol 代謝物(glucuronides 及 sulfates)濃度

Figure 23. Time-dependent changes of sesaminol glucuronide and its concentration in rat tissues after oral administration. Sesaminol glucuronide was extracted from the tissues collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



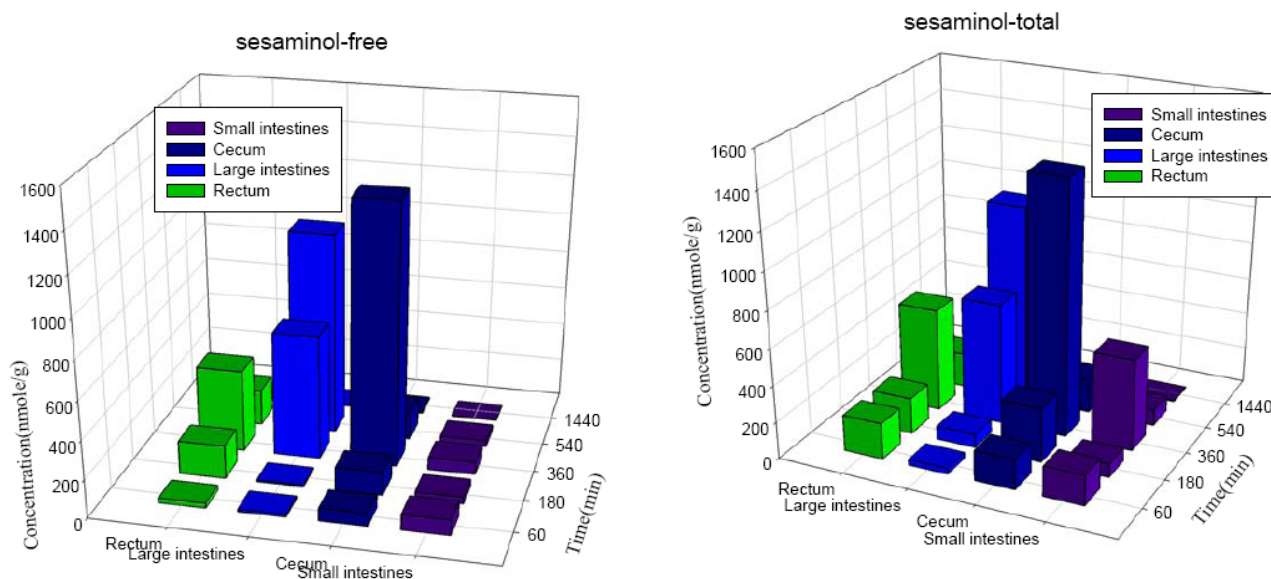
圖二十四、大鼠灌食 sesaminol (220 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各組織中 sesaminol 代謝物(free 及 total form)濃度

Figure 24. Time-dependent changes of sesaminol (free and total form)and its concentration in rat tissues after oral administration. Sesaminol (free and total form) was extracted from the tissues collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



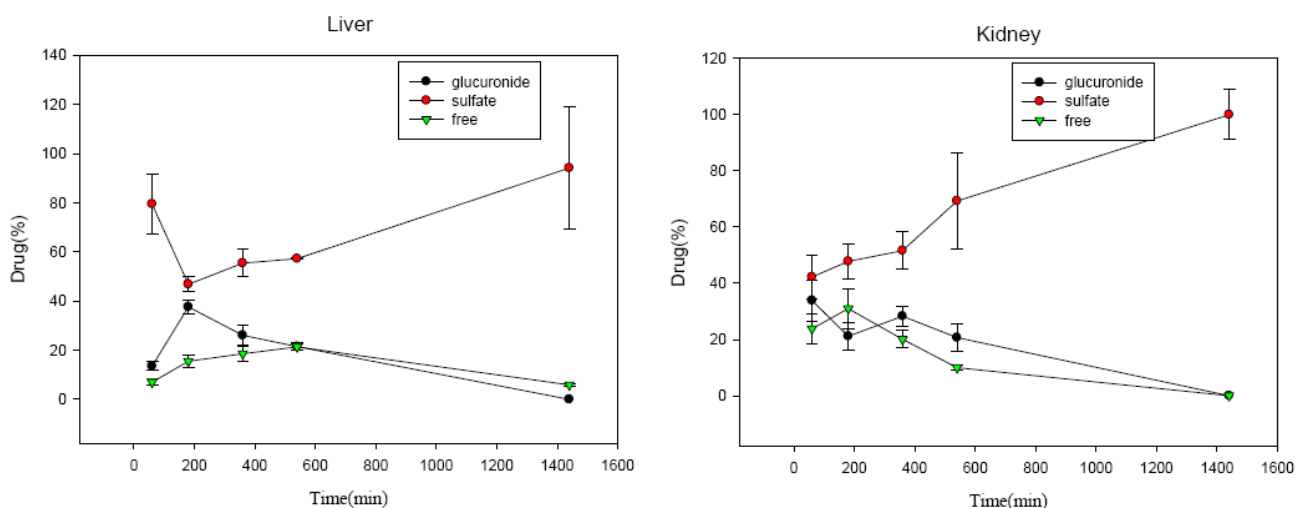
圖二十五、大鼠灌食 sesaminol (220 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各腸道中 sesaminol 代謝物(glucuronides 及 sulfates)濃度

Figure 25. Time-dependent changes of sesaminol glucuronide and its concentration in rat intestines after oral administration. Sesaminol glucuronide was extracted from the intestines collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



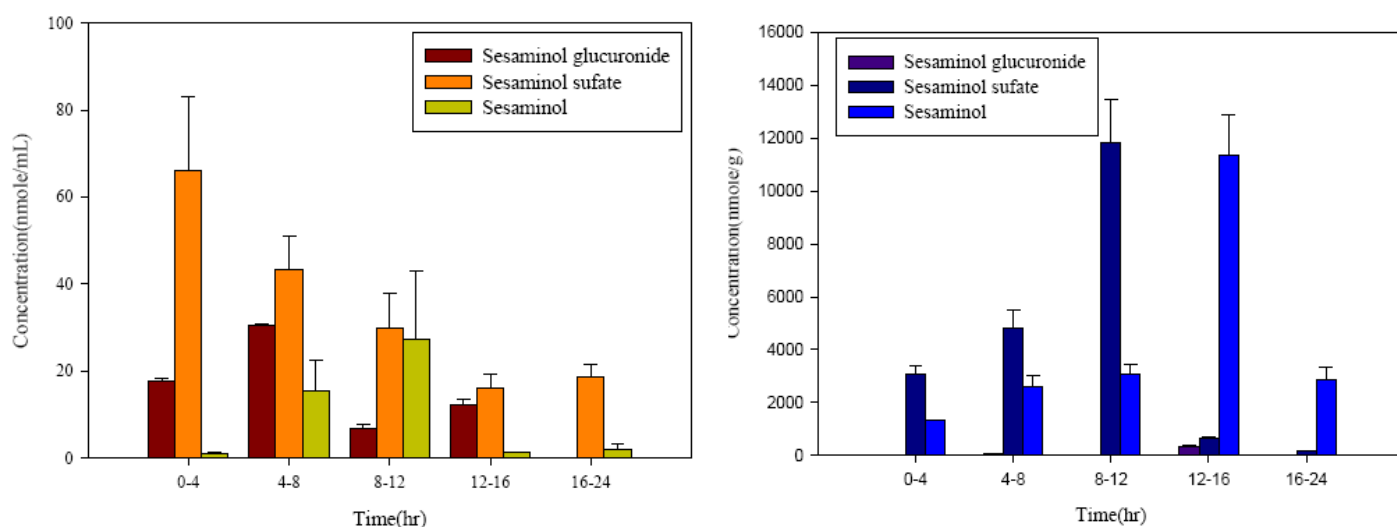
圖二十六、大鼠灌食 sesaminol (220 mg/kg)後於不同時間下犧牲以 HPLC 分析在老鼠各腸道中 sesaminol 代謝物(free 及 total form)濃度

Figure 26. Time-dependent changes of sesaminol (free and total form)and its concentration in rat intestines after oral administration. Sesaminol (free and total form) was extracted from the intestines collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



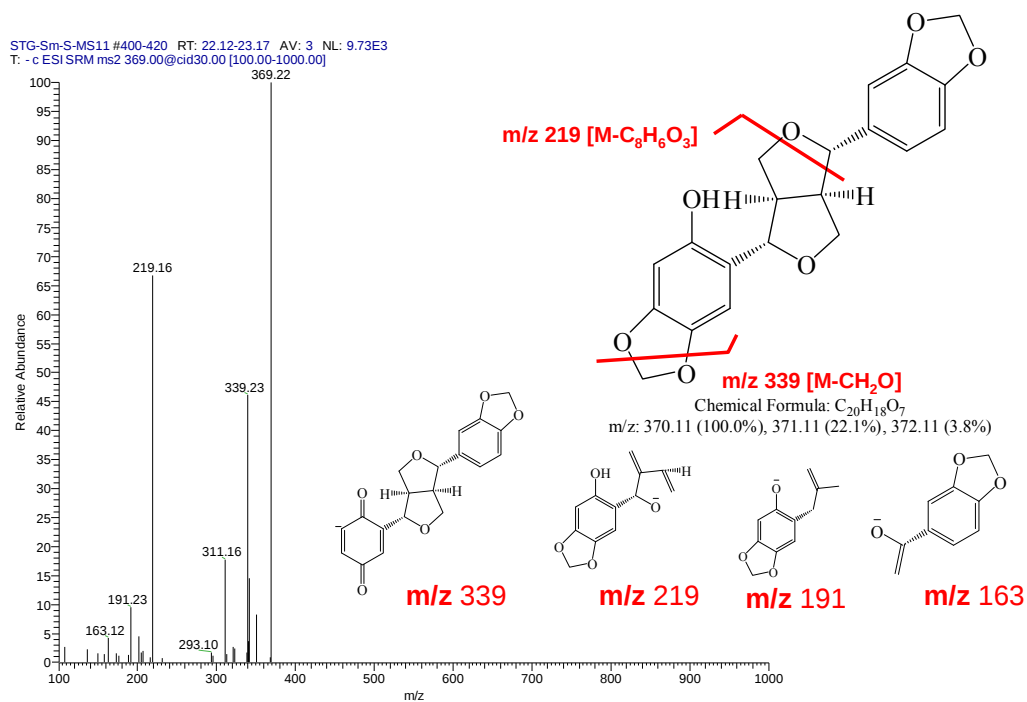
圖二十七、大鼠灌食 sesaminol (220 mg/kg)在每段時間下 sesaminol 及其代謝物在肝臟及腎臟所佔藥物比率(drug %)之變化

Figure 27. Time-dependent changes of sesaminol and its concentration ratio (drug %) in rat tissue (liver, kidney) after oral administration. Sesaminol was extracted from the intestines collected at 60, 80, 360, 540, 1440 min after their administration and analyzed by HPLC.



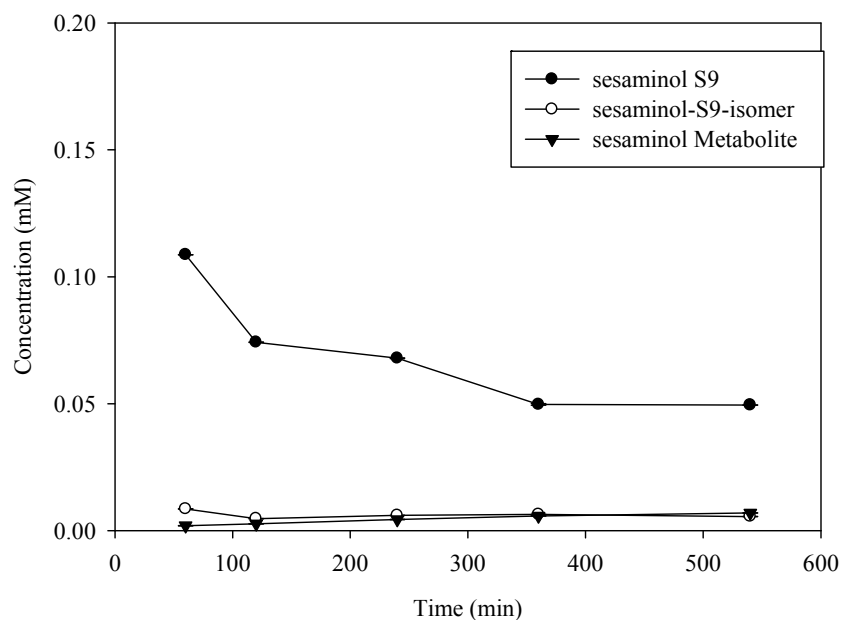
圖二十八、大鼠灌食 sesaminol (220 mg/kg)在每段時間下尿液及糞便排除以 HPLC 分析 sesaminol 及其代謝物

Figure 28. Individual urinary and fecal excretion of sesaminol and sesaminol metabolites in during each time interval after analyzed by HPLC.



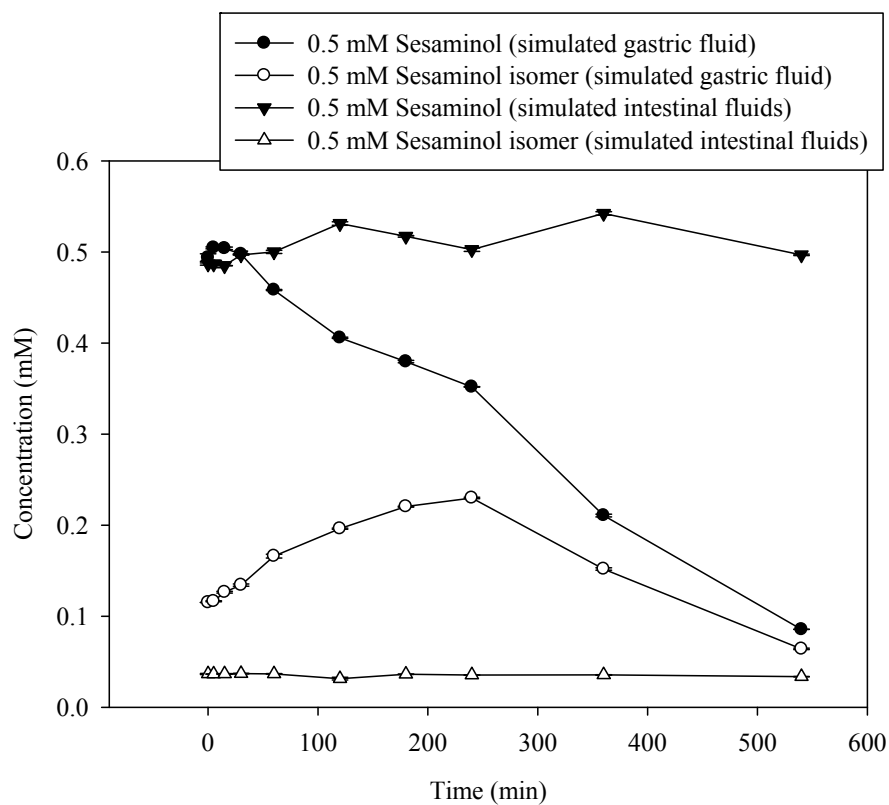
圖二十九、Sesaminol LC/MS/MS 圖譜

Figure 29. Chromatograms of sesaminol by LC/MS/MS.



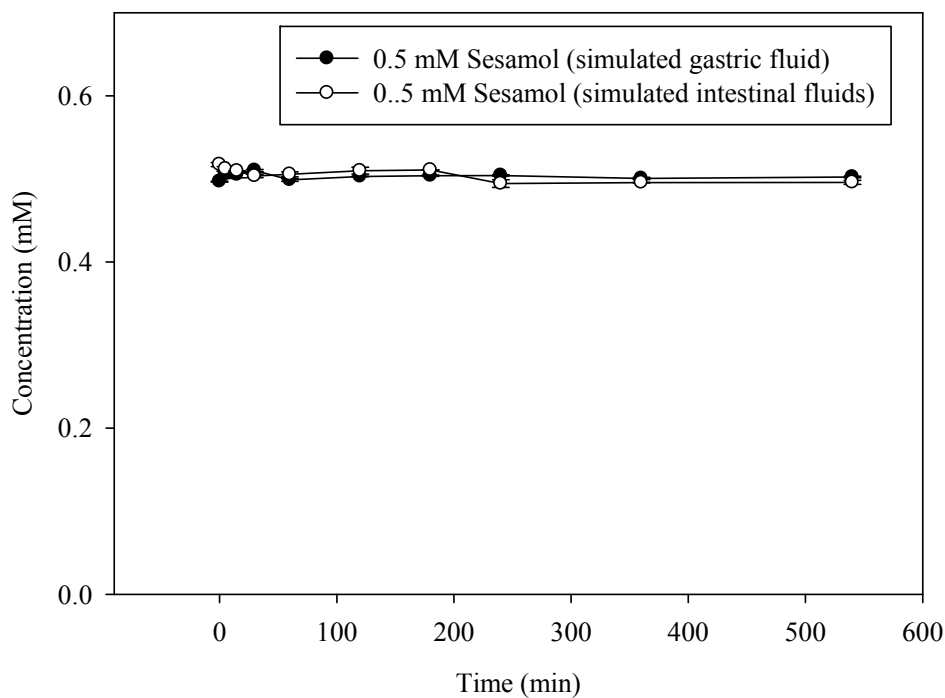
圖三十、Sesaminol 及其代謝物在肝臟酵素 S9 試驗之變化

Figure 30. Time-dependent changes of sesaminol and its concentration in liver S9enzyme assay.



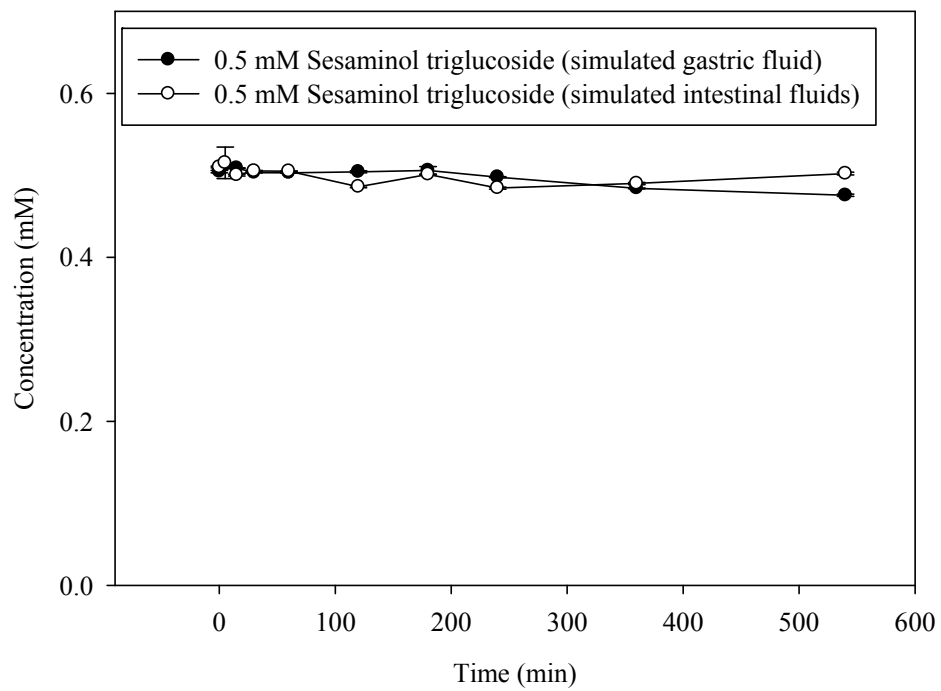
圖三十一、Sesaminol 及其代謝物於消化穩定試驗(模擬胃液及腸液)之變化

Figure 31. Time-dependent changes of sesaminol and its concentration in digestion stability assay (simulated gastric fluid and intestinal fluids).



圖三十二、Sesamol 及其代謝物於消化穩定試驗(模擬胃液及腸液)之變化

Figure 32. Time-dependent changes of sesamol and its concentration in digestion stability assay (simulated gastric fluid).



圖三十三、Sesaminol triglucoside 及其代謝物於消化穩定試驗(模擬胃液及腸液)之變化

Figure 33. Time-dependent changes of sesaminol triglucoside and its concentration in digestion stability assay (simulated gastric fluid).

表二十四、芝麻 lignan(Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol)在大鼠排出物已鑑定代謝物之 LC/MS/MS 數據

Table 24. LC/MS/MS data of identified sesame lignan metabolites (Sesaminol triglucoside and Sesaminol) in rat excreta

Compound	Excrement of rat	Metabolite number	LC/MS/MS [M-H] ⁻ parent ion selection	Fragment ions, negatively charged
Sesaminol	Urine	MS-2	359	191, 203, 221, 311
		MS-7	301	253, 271, 283
		MS-1	357	189, 207, 309, 327
	Feces	MS-2	359	191, 203, 221, 311
		MS-8	297	107, 189, 253
		MS-7	301	253, 271, 283
		MS-6	377	283, 271, 257, 231
			369	163, 191, 219, 339
Sesaminol triglucoside	Urine	MST-3	359	191, 203, 221, 311
		MST-5	361	175, 221, 313, 331
		MST-2	357	189, 207, 309, 327
		MST-7	297	107, 189, 253
		MST-6	301	253, 271, 283
		MST-1	369	191, 163, 219, 339
	Feces	MST-3	359	191, 203, 221, 311
		MST-2	357	189, 207, 309, 327
		MST-7	297	107, 189, 253
		MST-6	301	253, 271, 283
		MST-4	377	283, 271, 257, 231
		MST-1	369	163, 219, 339

表二十五、芝麻 lignan(Sesaminol triglucoside)在大鼠體內已鑑定代謝物之 LC/MS/MS 數據
Table 25. LC/MS/MS data of identified sesame lignan (Sesaminol triglucoside) metabolites in rat tissue

Compound	Tissues of rat	Metabolite number	LC/MS/MS [M-H] ⁻ parent ion selection	Fragment ions, negatively charged
Sesaminol triglucoside	Liver	MST-7	297	107, 189, 253
		MST-1	369	163, 219, 339
	Kidneys	MST-1	369	163, 219, 339
		MST-3	359	191, 203, 221, 311
	Heart	MST-1	369	163, 219, 339
		MST-3	359	191, 203, 221, 311
	Lung	MST-1	369	191, 219, 339
		MST-3	359	191, 203, 221, 311
	Brain	MST-1	369	191, 219, 339
		MST-3	359	191, 203, 221, 311
	Plasma	MST-5	361	175, 221, 331, 313
		MST-7	297	107, 189, 253
		MST-1	369	191, 219, 339
		MST-3	359	191, 203, 221, 311
	Cecum	MST-2	357	189, 207, 309, 327
		MST-7	297	107, 189, 253
		MST-1	369	191, 219, 339
		MST-3	359	191, 203, 221, 311
	Colon	MST-2	357	189, 207, 309, 327
		MST-7	297	107, 189, 253
		MST-1	369	163, 219, 339
		MST-3	359	191, 203, 221, 311
	Rectum	MST-7	297	107, 189, 253
		MST-1	369	163, 219, 339
		MST-3	359	191, 203, 221, 311

表二十六、芝麻 lignan(Sesaminol)在大鼠體內已鑑定代謝物之 LC/MS/MS 數據

Table 26. LC/MS/MS data of identified sesame lignan (Sesaminol) metabolites in rat tissue

Compound	Tissues of rat	Metabolite number	LC/MS/MS [M-H] ⁻ parent ion selection	Fragment ions, negatively charged
Sesaminol	Kidneys	MS-2	359	191, 203, 221, 311
	Brain	MS-2	359	191, 203, 221, 311
	Cecum	MS-2	359	191, 203, 221, 311
		MS-4	345	235, 297
		MS-3	373	217, 307, 325
		MS-5	361	175, 271, 313, 331
		MS-1	357	189, 207, 309, 327
		MS-8	297	107, 189, 253
		Colon	MS-2	359
	Rectum	MS-2	359	191,203, 221, 311
	Small intestine	MS-2	359	191, 203, 221, 311
		MS-3	373	217, 307, 325
		MS-4	345	235, 297
		MS-4	361	175, 271, 313, 331
		MS-1	357	189, 207, 309, 327
		MS-8	297	107, 189, 253

表二十七、芝麻 lignan(sesamol)在大鼠尿液已鑑定代謝物之 GC/MS 數據

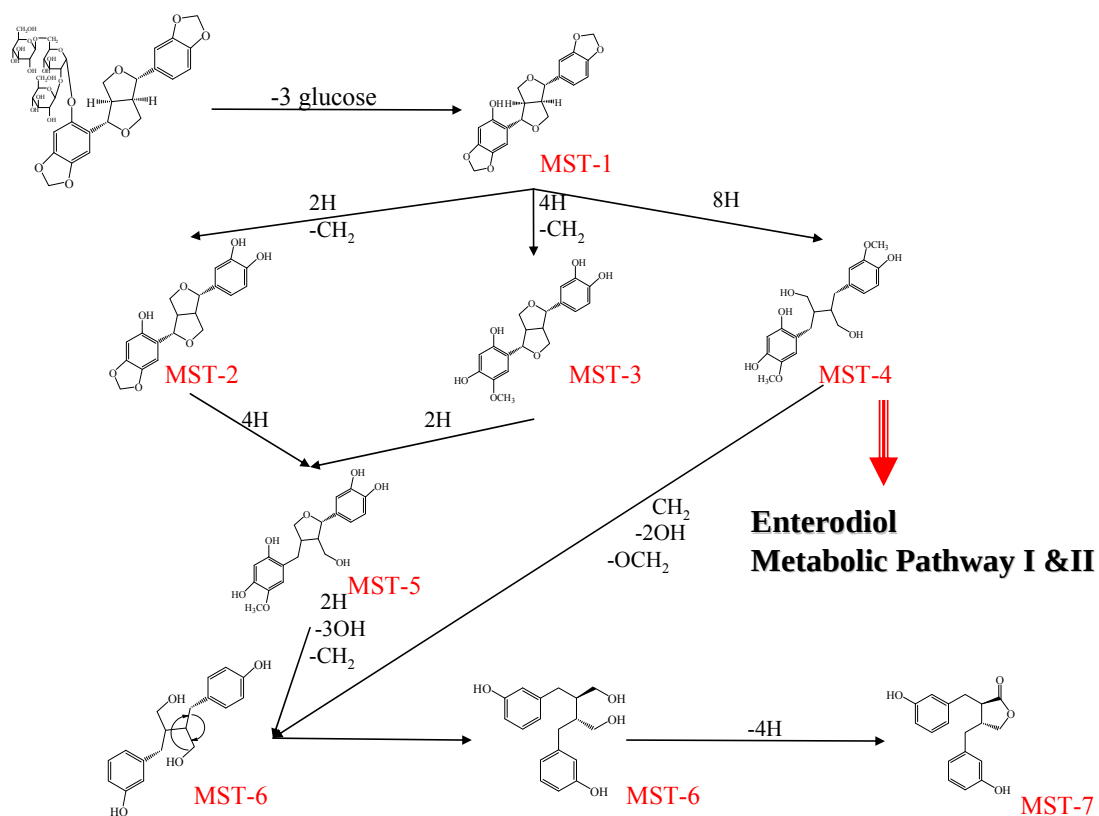
Table 27. GC/MS data of identified sesame lignan (sesamol) metabolites in rat urine

Compound	Tissues of rat	Metabolite number	parent ion selection	Fragment ions (m/z)
Sesamol	urine	M1	210	195, 165, 137, 97, 73
		M2	284	241, 185, 129, 73
		M3	342	327, 267, 254, 239, 211, 179, 73

表二十八、芝麻 lignan(Sesaminol triglucoside 及 Sesaminol)在大鼠排出物已鑑定代謝物之 LC/MS/MS 數據

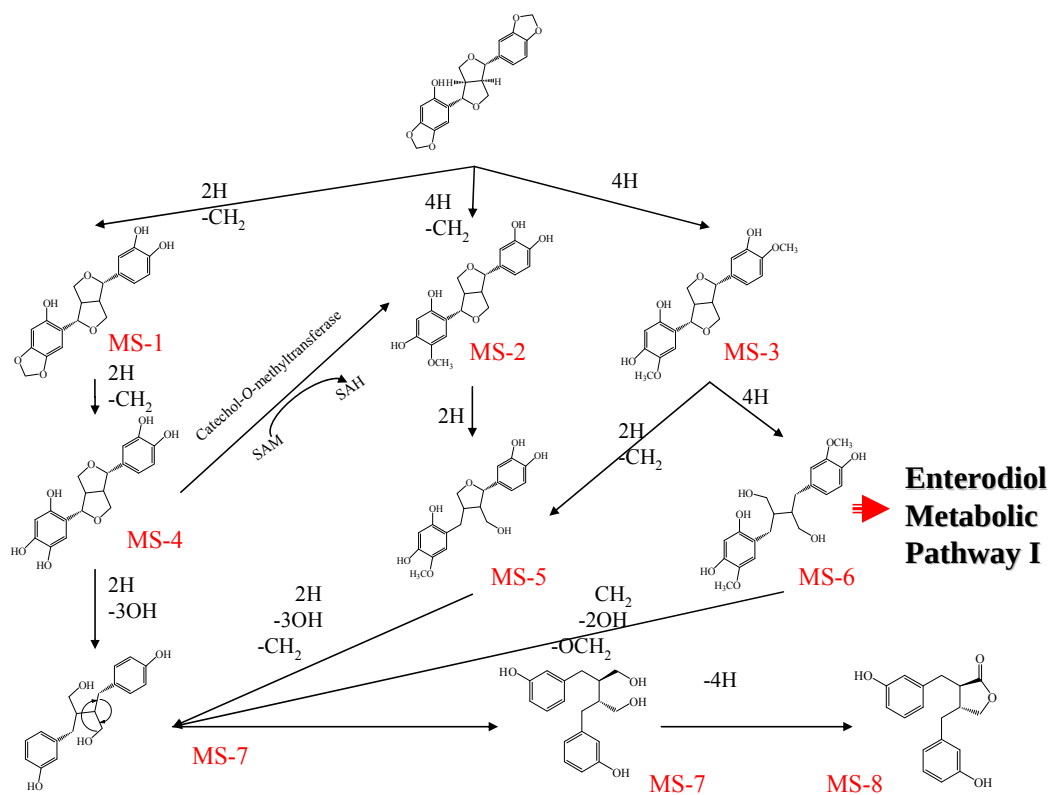
Table 28. LC/MS/MS data of identified sesame lignan metabolites (Sesaminol triglucoside and Sesaminol) in rat excreta

Compound	Excrement of rat	Metabolite number	LC/MS/MS [M-H] ⁻ parent ion selection	Fragment ions, negatively charged
Sesaminol	Urine	M I-1	377	283, 271, 257, 231
		M I-2	359	341, 329, 311, 221, 203, 191
		M I-3	373	343, 325, 306, 293, 265, 233, 218, 203
		M I-4	389	307, 263, 229
		M I-5	309	310, 282, 159
Sesaminol triglucoside		M I-1	377	283, 271, 257, 231
		M I-2	359	341, 329, 311, 221, 203, 191
		M I-3	373	343, 325, 306, 293, 265, 233, 218, 203
		M I-4	389	307, 263, 229
		M I-5	309	310, 282, 159
		M II-1	377	283, 271, 257, 231
		M II-2	359	341, 329, 311, 221, 203, 191
		M II-3	373	343, 325, 306, 293, 265, 233, 218, 203
		M II-4	389	307, 263, 229
		M II-5	355	355, 308, 292, 252
		M II-6	325	315, 297



圖三十四、Sesaminol triglucoside 在大鼠體內可能生物轉換路徑

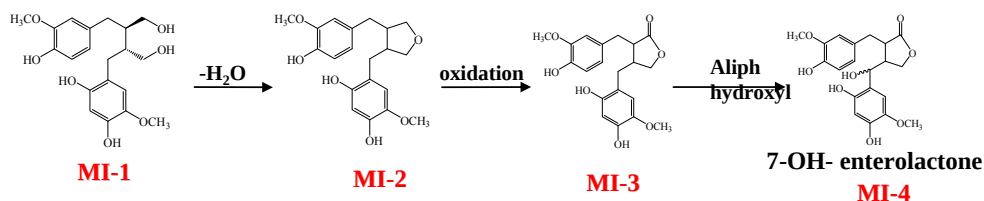
Figure 34. Possible pathway for the biotransformation of sesaminol triglucoside by rat.



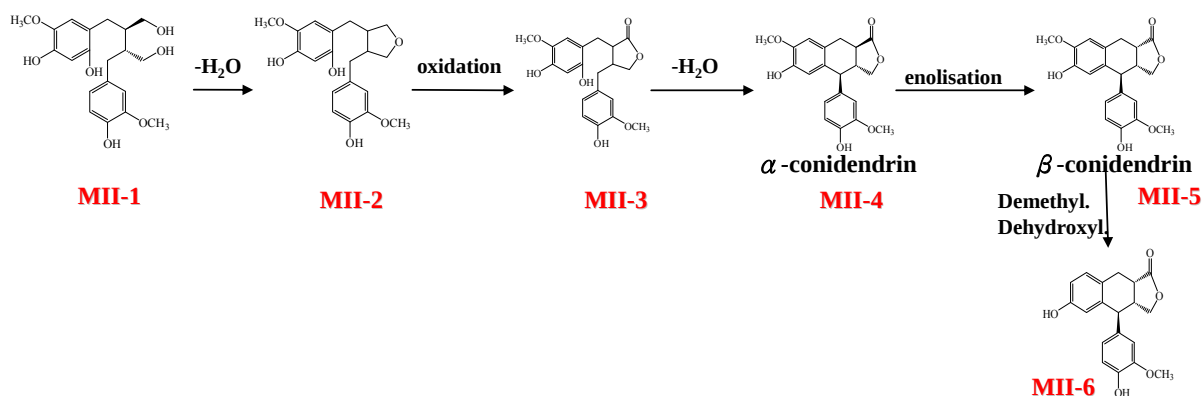
圖三十五、Sesaminol 在大鼠體內可能生物轉換路徑

Figure 35. Possible pathway for the biotransformation of sesaminol by rat.

Enterodiol Metabolic Pathway I

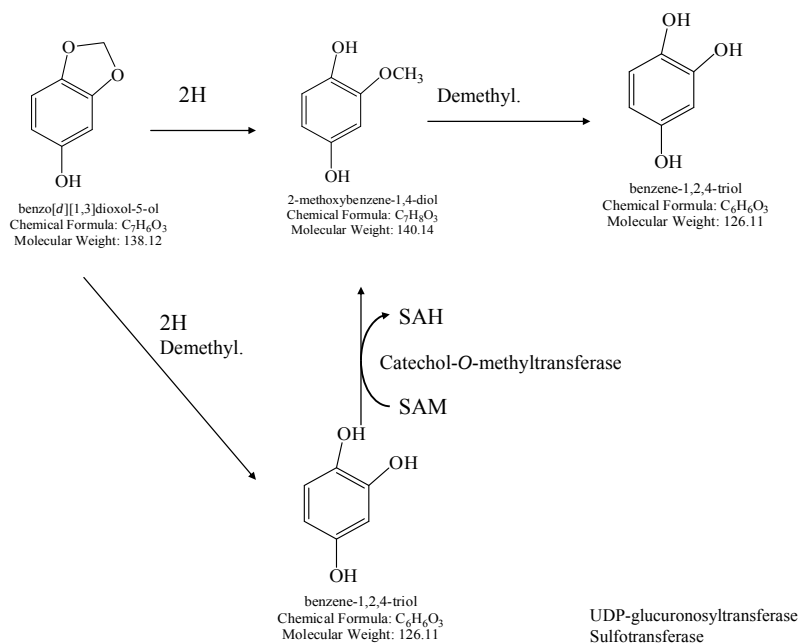


Enterodiol Metabolic Pathway II



圖三十六、Enterodiol 在大鼠體內可能生物轉換路徑

Figure 36. Possible pathway for the biotransformation of enterodiol by rat.



圖三十七 Sesamol 在大鼠體內可能生物轉換路徑

Figure 37. Possible pathway for the transformation of sesamol by rat.

行政院國家科學委員會補助國內專家學者出席國際會議報告

96 年 12 月 18 日

報告人 姓名	孫璐西	服務機構 及職稱	國立台灣大學 食品科技研究所 教授
會議 時間 地點	2007 年 3 月 7 日~3 月 9 日 泰國曼谷	本會核定 補助文號	NSC 95-2313-B-002-001
會議名稱	(中文) 第七屆國際黃豆研討會 (英文) 7 th International Soy Symposium		
發表論文題目	(中文) 以黃豆為基質之靈芝發酵物具有抗氧化及抗動脈硬化活性 (英文) Soybean-containing medium can produce Lingzhi (a medicinal fungus) with antioxidative and anti-atherogenic activities		

報告內容應包括下列各項：

一、參加會議經過

國際黃豆研討會自 1994 年舉辦第一次會議，至今年(2007 年)為第七屆，本屆研討會乃由美國黃豆協會(American Soybean Association)與 Soy Food Forum of South East Asia 及地主國之 Mahidol University 共同主辦，為此項國際會議首次於亞洲國家舉行。本次大會之主題為“Role of Soy in Health and Disease Prevention”。與會者包括產官學研各界，來自歐亞美澳等四大洲共 25 個國家，將近 300 位代表。

本屆大會會期共有三天，第一天開幕典禮安排一場大會演講(Keynote Address)由 Mahidol University 的 Dr. K. Tontisirin 主講“Role of Soy in Nutrition and Health Promotion in Asia”揭開大會之序幕。大會共有六個分組，分別為“Soy and Health-An Overview”，“Soy and Cardiovascular Diseases”，“Soy and Cancer Prevention”，“Soy and Bone Health”，“Soy and Menopause”及“Soy and Other Health Aspects”。各分組皆邀請到國際知名之學者提出報告，將黃豆對人體健康之各種影響層面分別予以詳盡的陳述，並提出各方專家之看法與意見，皆引起熱烈之討論。

本人此次參加會議是以海報方式發表，論文題目為“Soybean-containing medium can produce Lingzhi (a medicinal fungus) with antioxidative and anti-atherogenic activities”。

二、與會心得

1. 本研討會之特色為主題明確且集中，以黃豆對人體健康之影響為主軸，針對具有科學證據之保健功效包括心臟病、癌症、更年期症候群及骨質疏鬆症加以討論。
2. 黃豆的保健功效在不同人種、不同性別與不同年齡層都可能有所不同，因此會中建議將黃豆視為富含蛋白質之食品而多加食用是良好的方式。至於將其所含大豆異黃酮萃取出製成膳食補充品，則宜有食用上限，日本訂為 30 mg/day (aglycone 型式)。

3. 大豆異黃酮在人體之利用性因人種而異，必須為 equol producer 才具有植物雌激素活性。

三、建議

1. 本次國際會議只有 3 位來自台灣的與會者，本人為唯一來自學界且有論文發表者，令人遺憾。
2. 黃豆為國人的重要食物，且各種黃豆製品甚多，建議下屆於日本東京召開的第 8 屆黃豆研討會中能多些研究人員參加，報告台灣在黃豆方面的研究現況。

四、攜回資料名稱及內容

1. 大會議程：刊登本研討會每日各時段之演講者、講題及演講廳。
2. 大會論文摘要：刊登本研討會各場次專題演講、口頭及海報式論文發表之摘要。
3. 大會出席者名冊：刊登出席本研討會之學者專家之姓名、國家、機構、地址、電話、傳真及 e-mail 等。
4. 未來重要國際會議之資料：
 - (1) 第 19 屆國際營養學大會(19th International Congress of Nutrition)。
 - (2) 第 8 屆國際黃豆研討會(8th International Symposium on the Role of Soy in Health Promotion and Chronic Disease Prevention and Treatment)。
5. 第 5 屆東南亞黃豆食品研討會之光碟。
6. 參展業者之資料：
 - (1) American Soybean Association 出版品。
 - (2) Green Spot Co. Ltd. (Soymilk)。
 - (3) Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd. (Nutraceutical research institute)。