

枳壳对丁螺环酮在健康大鼠体内药物动力学的影响

姚佳梅¹, 邱新建^{2,3}, 黄惠勇^{2*}, 赵琳琳³, 王文波³, 周露³, 王胜³, 陈琼¹, 胡随瑜³(1. 中南大学湘雅医院老年病科, 湖南长沙 410008; 2. 湖南中医药大学中医诊断研究所, 湖南长沙 410208;
3. 中南大学湘雅医院中西医结合研究所, 湖南长沙 410008)

[摘要] **目的** 研究枳壳对丁螺环酮在健康大鼠体内药物动力学的影响。**方法** 将SD大鼠随机分为丁螺环酮组, 丁螺环酮加枳壳低剂量组(15 g/kg), 丁螺环酮加枳壳高剂量组(30 g/kg), 测定给药后5、10、20、30、45、60、90、120、240、360、480、600 min 丁螺环酮的血药浓度, 计算并比较其药动学参数。**结果** 与丁螺环酮组比较, 丁螺环酮加枳壳低剂量组和高剂量组中丁螺环酮 AUC₍₀₋₄₎ 分别增加 2.49 和 4.18 倍, C_{max} 分别增加 1.63 和 2.57 倍, T_{max} 从 0.28 h 分别延长至 0.52 和 1.06 h, t_{1/2} 从 0.96 h 分别延长至 2.18 和 4.87 h, 差异具有统计学意义 (P<0.05)。**结论** 枳壳可增加同服药物丁螺环酮的 AUC₍₀₋₄₎ 和 C_{max}, 提高丁螺环酮生物利用度, 并有剂量依赖性趋势, 枳壳与丁螺环酮发生显著的药动学相互作用。

[关键词] 枳壳; 丁螺环酮; 药物动力学; 药动学相互作用**[中图分类号]** R285.6; R969.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.09.004**Effects of *Fructus aurantii* on Pharmacokinetics of Buspirone in Healthy Rats**YAO Jiamei¹, QIU Xinjian^{2,3}, HUANG Huiyong^{2*}, ZHAO Linlin³, WANG Wenbo³, ZHOU Lu³,
WANG Sheng³, CHEN Qiong¹, HU Suiyu³

(1. Department of Gerontology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China; 2 Institute of TCM Diagnostics, Hunan University of Chinese medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 3 Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of *Fructus aurantii* on the pharmacokinetics of buspirone in healthy rats. **Methods** SD rats were randomly divided into buspirone group, the low dose group of *Fructus aurantii* (15 g/kg) plus buspirone, and the high dose group of *Fructus aurantii* (30 g/kg) plus buspirone, respectively. The blood concentrations of buspirone were determined after 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 240, 360, 480, 600 min and their pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** Compared with the buspirone group, the AUC₍₀₋₄₎ of the low dose group and high dose group were increased by 2.49 and 4.18 time and the C_{max} were increased by 1.63 and 2.57 time, respectively. The T_{max} of the low dose group and high dose group were extended from 0.28 h to 0.52 h and 1.06 h and the t_{1/2} were extended from 0.96 h to 2.18 h and 4.87 h, respectively. The differences were statistically significant (P<0.05). **Conclusion** *Fructus aurantii* can increase the AUC₍₀₋₄₎ and C_{max} of buspirone, improve the bioavailability of buspirone, and the changes of parameters show the dependence tendency. *Fructus aurantii* and buspirone have significant pharmacokinetic interactions.

[Keywords] *Fructus aurantii*; buspirone; pharmacokinetics; pharmacokinetic interactions

丁螺环酮为非苯二氮卓类抗焦虑药, 主要用于治疗广泛性焦虑, 亦可辅助治疗抑郁症。焦虑患者常伴有功能性消化不良等胃肠道动力障碍, 长期服用丁螺环酮等抗焦虑药物常导致胃肠道不适^[1]。疾病的中西医结合治疗是临床最常用的方法之一, 丁螺环酮常与抗焦虑抑郁复方柴胡疏肝散、四逆散等复方

协同治疗焦虑症, 增强抗焦虑且改善胃肠道不适^[2]。

枳壳首载于《雷公炮炙论》, 为临床最常用的理气药物之一, 具理气宽中, 行滞消胀之功, 为柴胡疏肝散、四逆散等常用抗焦虑抑郁方的重要组成中药。现代医学研究表明, 枳壳具有调节胃肠动力、抗抑郁、抑菌^[3-5]等药理作用。枳壳为酸橙干燥未成熟

[收稿日期] 2016-06-29**[基金项目]** 国家中医药管理局全国名老中医专家胡随瑜传承工作室建设项目(国中医药人教发[2014]20号); 国家自然科学基金青年基金资助项目(81202807); 中国博士后科学基金第57批面上资助项目(2015M572254)。**[作者简介]** 姚佳梅, 女, 主治医师, 研究方向: 老年医学。**[通讯作者]** * 黄惠勇, 男, 教授, 博士研究生导师, E-mail: tony27000@aliyun.com。

果实入药,酸橙和葡萄柚同属芸香科,柑橘亚科,柑橘属,柑橘亚属^[6-7]。文献报道:葡萄柚汁可与40多种临床常用药物(丁螺环酮、辛伐他汀等)发生药动学相互作用甚至毒副反应^[8]。枳壳与葡萄柚汁富含大量相同黄酮类成分^[6-7],枳壳是否与葡萄柚汁一样影响丁螺环酮的代谢并发生显著药动学相互作用有待研究,柴胡疏肝散等抗焦虑抑郁复方是否因含枳壳与丁螺环酮联用发生药动学相互作用亦有待研究。

本研究通过建立高选择性、高灵敏度 HPLC-MS/MS 分析方法,检测并比较丁螺环酮单独服用和联用枳壳后丁螺环酮血药浓度及药动学参数,阐明枳壳对丁螺环酮药物动力学的影响,为枳壳及其复方与西药安全、有效的临床联用提供实验参考。

1 材料

1.1 药品及试剂

枳壳购自中南大学湘雅医院中药房(产地:湖南,编号:2013040611),盐酸丁螺环酮片(江苏恩华药业股份有限公司,批号:20121201),丁螺环酮标准品(纯度>98%,中国药品生物制品检定所,批号:101059-201101),磺胺甲噁唑(纯度>99%,中国药品生物制品检定所,批号:100025-200904),甲醇和乙腈为色谱纯(美国 Tedia 公司),冰醋酸和乙醇为分析纯(天津市恒兴化学试剂制造有限公司),纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

1.2 主要仪器

LC-MS 液相色谱质谱联用仪(日本岛津有限公司);API 3200 三重四极质谱仪(加拿大应用生物系统公司);Zorbax Eclipse C₁₈ 反相色谱柱(德国安捷伦科技有限公司);BP211D 电子分析天平(德国赛多利斯公司);SIGMA2-16K 高速冷冻离心机(德国 SIGMA 公司);HGC-12A 氮吹仪(北京成萌伟业科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 药物制备

枳壳汤剂制备:称取枳壳 350 g 置于不锈钢锅中,加入 8 倍水浸泡 30 min,电磁炉加热至沸腾后,文火煎煮 30 min,过滤,药渣再加入 6 倍水加热至沸腾后文火煎煮 30 min,过滤,合并两次滤液,旋转蒸发仪浓缩至生药浓度 1.7 g/mL,-20℃冰箱保存。丁螺环酮:盐酸丁螺环酮片(5 mg/片)溶于纯净水中,超声 30 min,配制成浓度为 0.5 mg/mL 溶液。

2.2 动物及分组

SD 大鼠,SPF 级,雄性,体质量 200~250 g,由中

南大学实验动物中心提供,实验动物许可证号:SYXK(湘)2011-0001。将 24 只 SD 大鼠随机分为 3 组:丁螺环酮组(0.9%生理盐水 10 mL/kg 灌胃 8 d,前 7 天,2 次/d,第 8 天上午灌胃生理盐水 1 次,灌胃 30 min 后再予丁螺环酮 5 g/kg),枳壳 15g/kg 加丁螺环酮组(枳壳 15 g/kg 灌胃 8 d,前 7 天,2 次/d,第 8 天灌服枳壳 1 次,30 min 后予丁螺环酮 5 g/kg),枳壳 30 g/kg 加丁螺环酮组(枳壳 30 g/kg 灌胃 8 d,具体灌胃方法同枳壳低剂量组)。分别于灌胃丁螺环酮后 5、10、20、30、45、60、90、120、240、360、480、600 min 尾静脉取血 500 μL,4000 r/min 离心 15 min,取血浆上清液 200 μL,-20℃冰箱保存待测。

2.3 血样本预处理方法

将 200 μL 血浆置入 5 mL 的 EP 管中,加入 50 μL 的内标磺胺甲噁唑(SMZ,3.775 μg/mL),加入 2 mL 乙酸乙酯和 0.5 mL 二氯甲烷,超声溶解混合 5 min,10000 r/min 离心 10 min,取上清液于另一 EP 管,置 40℃水浴,氮气流吹干。残留物加入 1 mL 甲醇复溶,超声溶解 5 min 后,10000 r/min 离心 10 min,上清液中加入 1 mL 蒸馏水,超声溶解 5 min,LC-MS 分析前用 0.22 μm 过滤膜过滤。

2.4 色谱及质谱条件

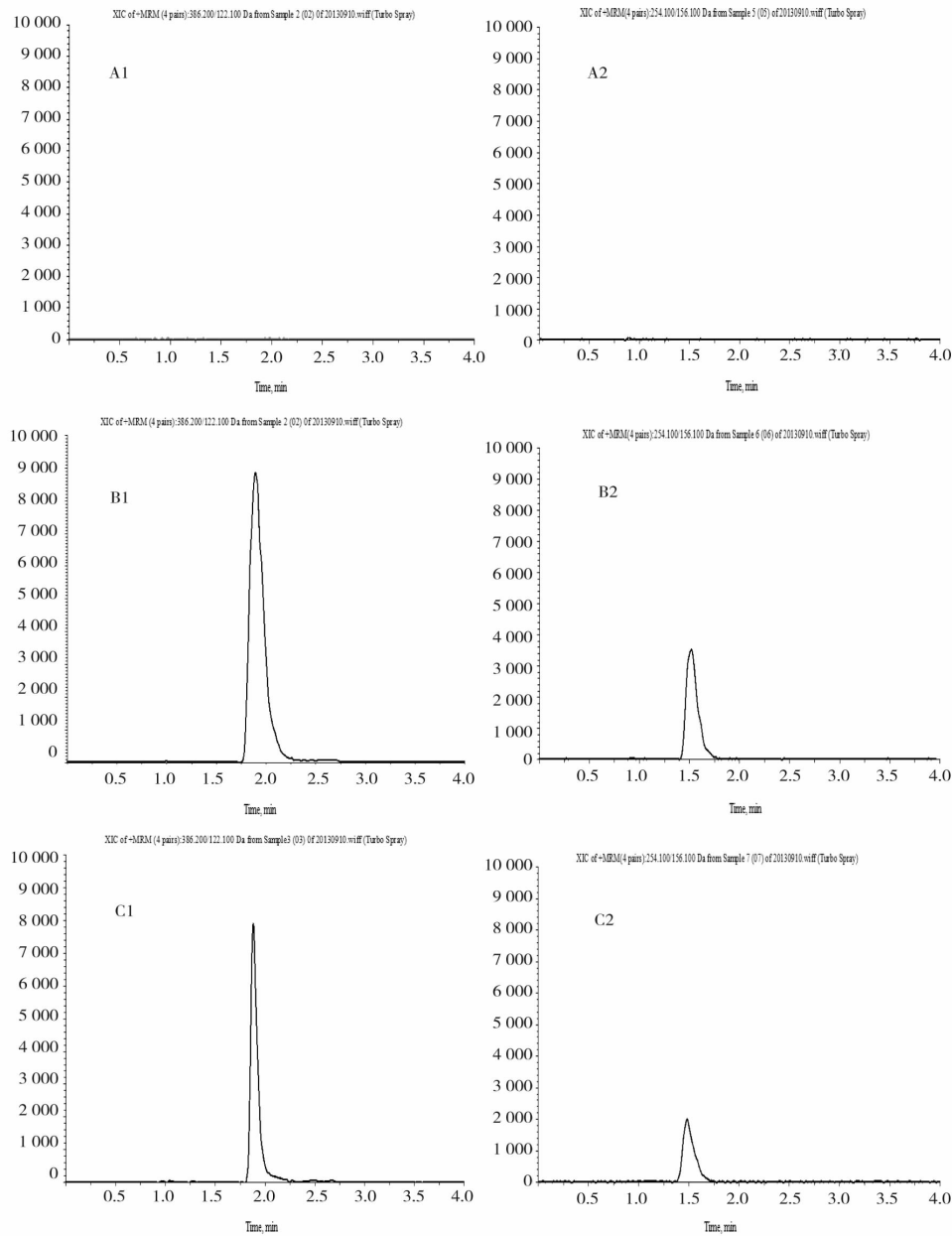
反相色谱柱:Zorbax Eclipse C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 3.5 μm),温度保持在 40℃,流动相:甲醇:0.1%甲酸(40:60, v/v);流速:0.3 mL/min;进样量:10 μL;整个分析流程用时 2 min。碰撞能量(CE):丁螺环酮 43 V,SMZ 22 V。正离子模式优化去簇电压(DP):丁螺环酮 65V,SMZ 50 V。氮气作为雾化气和辅助气,质谱采用 ESI 正离子多反应(MRM)方式检测:离子选择通道分别为 m/z386→121.7(丁螺环酮)和 m/z 409→237.7(SMZ)。其他离子喷雾电压:5500 V;离子源温度(TEM):500℃;气帘气(CUR):20 psi;碰撞气体(CAD):5 psi,雾化气(GS1):50 psi;辅助气(GS2):50 psi。

2.5 数据统计方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件,数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组间比较先进行单因素方差分析(one-way ANOVA),差异有显著性时采用 LSD 进行组间比较。采用药物动力学软件 DAS 3.2.8 分析枳壳对丁螺环酮的药动学影响。

2.6 方法学评价

2.6.1 专属性 在上述色谱条件下,分别取空白血浆、空白血浆加标准品溶液、大鼠灌胃丁螺环酮 30 min 后血浆,进行专属性测定。丁螺环酮和内标 SMZ 保留时间分别为 2 min 和 1.5 min,峰形良好,分离完全无杂峰,不受血浆内源性物质干扰,结果见图 1(A-C)。



注:A空白血浆(A1 丁螺环酮, A2 内标);B标准品加空白血浆(B1 丁螺环酮, B2 内标);C 丁螺环酮服药后血浆(C1 丁螺环酮, C2 内标)。

图1 丁螺环酮与内标 SMZ 的色谱图

2.6.2 标准曲线和与最低定量下限 取空白血浆 200 μL , 加入丁螺环酮标准品溶液, 按“2.3”项下方法制备血浆样品, 配制成浓度为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、4.8、14.4、43.2、129.6 ng/mL 血浆样本。以丁螺环酮与 SMZ 峰面积比为横坐标 (x), 丁螺环酮浓度为纵坐标 (y), 加权最小二乘法 $1/x^2$ 进行回归运算, 丁螺环酮线性回归方程:

$$y=26.16x+0.69$$

结果表明: 丁螺环酮血药浓度的线性范围 0.05~129.60 ng/mL , $r=0.9984$, 线性关系良好。信噪比 $S/N=10$ 时的浓度为最低定量下限 (Lower Limit of Quantita-

tion, LLOQ), 本方法中丁螺环酮 LLOQ 为 0.05 ng/mL 。

2.6.3 精密度 按“2.3”项下方法制备成丁螺环酮血浆浓度分别为 0.8、4.8 和 43.2 ng/mL , 各浓度均制备 5 个样本, 同一天测定 5 次以检测日内精密度, 连续测定 5 d 以检测日间精密度, RSD 均小于 2%, 结果表明该方法日内、日间精密度良好。

2.6.4 加样回收率 按“2.3”项下方法制备浓度为 0.8、4.8 和 43.2 ng/mL 血浆样品 5 份, 通过比较实测浓度与标测浓度的浓度比计算加样回收率, 结果显示样品加样回收率均在 99% 以上, RSD 小于 5%。

2.6.5 稳定性 按“2.3”项下方法制备低、中、高 3

个浓度的血浆质控样本,分别于室温下放置4 h,反复冻融3次,-20℃冰箱保存7天,考查丁螺环酮的稳定性。结果表明在上述3种条件下,样本的稳定性均良好,RSD小于3%。

2.6.6 质谱结果 质谱采用ESI正离子多反应(MRM)方式检测,丁螺环酮和内标SMZ分别选择m/z 386.2/122.1和254.1/156.1。丁螺环酮和内标SMZ的质谱图见图2。

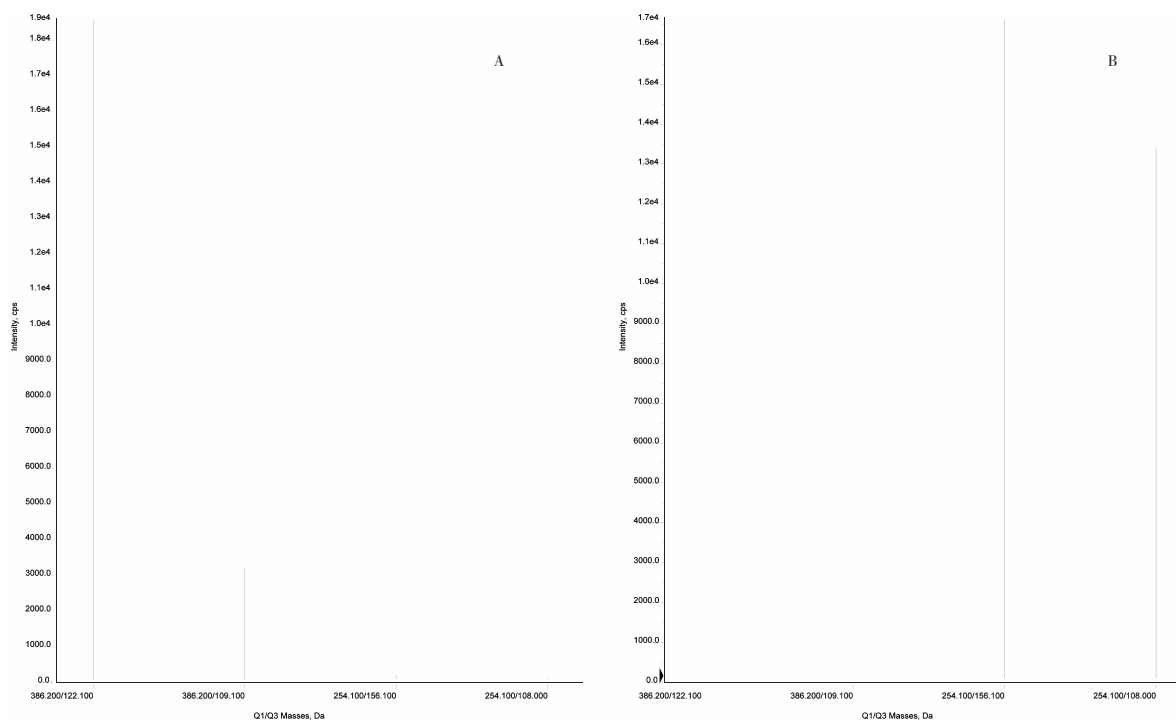


图2 丁螺环酮(A)与内标SMZ(B)的质谱图

2.7 药动力学研究

大鼠灌服丁螺环酮后不同时间点取血,绘制药-时曲线(见图3)。使用DAS药代动力学数据分析程序,统计药动力学参数(见表1)。丁螺环酮加枳壳低剂量组(15 g/kg)和高剂量组(30 g/kg)中丁螺环酮AUC₍₀₋₄₎分别增加2.49和4.18倍,C_{max}分别增加1.63和2.57倍,T_{max}从0.28 h分别延长至0.52和1.06 h,t_{1/2}从0.96 h分别延长至2.18和4.87 h,与丁螺环酮组比较有统计学意义(P<0.05),说明丁螺环酮与枳壳联用可显著增加丁螺环酮的血药浓度及生物利用度,延长半衰期,且呈剂量依赖性趋势。

表1 丁螺环酮的主要药动力学参数 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

药动力学参数	丁螺环酮组	丁螺环酮+枳壳 (15 g/kg)组	丁螺环酮+枳壳 (30 g/kg)组
AUC ₍₀₋₄₎ [ng/(mL·h)]	21.55±4.96	53.67±12.30*	90.08±21.62*#
MRT ₍₀₋₄₎ (h)	3.53±0.33	3.75±0.36	3.40±0.20
t _{1/2} (h)	0.96±0.11	2.18±0.35*	4.87±0.64*#
T _{max} (h)	0.28±0.10	0.52±0.21*	1.06±0.34*#
C _{max} (ng/mL)	7.43±3.15	12.11±2.18*	19.09±3.36*#

注:与丁螺环酮组比较,*P<0.05,**P<0.01;与丁螺环酮组+枳壳15 g/kg比较,#P<0.05,##P<0.01。

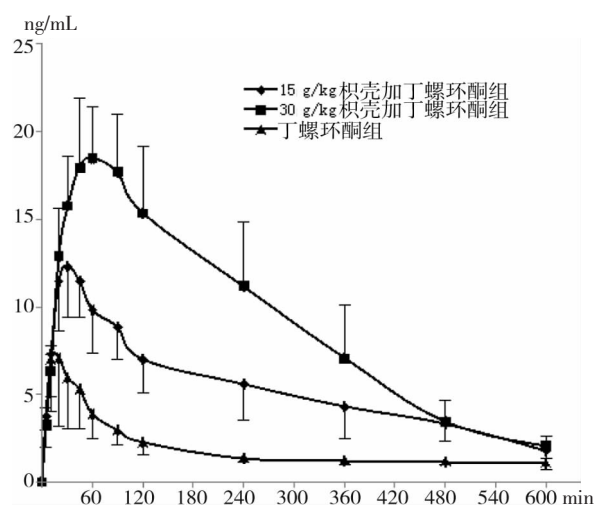


图3 各组大鼠丁螺环酮药物浓度-时间曲线

3 讨论

药物相互作用(drug-drug interaction, DDI)是指几种药物同时服用,药物的效应加强或削弱甚至发生毒副反应。DDI包括药动力学和药效学相互作用,药动力学相互作用是指一种药物改变同服药物的吸收、分布和代谢,引起药效改变或发生不良反应。本实验基于枳壳与葡萄柚汁同科同属,且含有大量相同黄

酮类成分,葡萄柚汁可与大量同服药物发生药动学相互作用的特性,进行了枳壳与丁螺环酮的药动学相互作用研究,结果表明,与丁螺环酮组相比较,丁螺环酮加枳壳(15 g/kg)低剂量组丁螺环酮 $AUC_{(0-4)}$ 和 C_{max} 分别增加了 2.49 倍和 1.63 倍($P<0.05$);丁螺环酮加枳壳(30 g/kg)高剂量组丁螺环酮 $AUC_{(0-4)}$ 和 C_{max} 分别增加了 4.18 倍和 2.57 倍($P<0.05$)。不同剂量枳壳与丁螺环酮联用,丁螺环酮的 T_{max} 明显延长,消除半衰期 $t_{1/2}$ 显著增加,有剂量依赖性趋势。枳壳与丁螺环酮发生了显著的药动学相互作用,提示枳壳可能与大量常用西药发生药动学相互作用甚至毒副反应。

药动学相互作用的机理是中西药相互作用研究的热点,CYP450 酶是人体主要的药物代谢酶,绝大多数药物经 CYP450 酶代谢,主要包括 CYP3A4、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 等,约有 50% 以上的药物经 CYP3A4 代谢。CYP450 酶可被许多临床药物抑制和诱导,导致药物代谢减少或增加^[9]。P-gp 是与代谢密切相关的药物转运蛋白,肠黏膜 P-gp 可将底物从肠上皮细胞泵回肠腔从而限制药物的吸收^[10]。CYP450 和 P-gp 介导了绝大多数药物的药动学相互作用,鉴于两者在 DDI 中的重要性,美国 FDA 规定新药需进行与药动学相关的 CYP450 和 P-gp 研究^[11]。课题组前期研究表明,枳壳中成分水合橙皮内酯为可抑制 CYP1A2 和 CYP2C9 酶,具有发生药动学相互作用的潜质^[12],另有文献报道,枳壳成分柚皮苷通过抑制 CYP3A4 活性增加他莫昔芬的 AUC 和 C_{max} ($P<0.01$)^[13]。柚皮素和橙皮素可同时抑制 CYP3A4 与 P-gp 使非洛地平生物利用度成倍增加^[14-15]。枳壳与丁螺环酮发生药动学相互作用的机理可能与所含成分对 CYP450 和 P-gp 的作用相关。

中西医结合治疗焦虑症是临床常用方法之一,丁螺环酮常与柴胡疏肝散、四逆散等含枳壳复方协同抗焦虑,增强抗焦虑作用且改善胃肠动力。枳壳为上述复方的重点组成中药,枳壳复方协同抗焦虑可能与枳壳显著增加丁螺环酮血药浓度,提高其生物利用度,延长半衰期有关,改善胃肠动力可能与枳壳具有行气导滞之功有关。中西药联用的药物相互作用研究一方面有利于阐明中西药联用增效的作用机理,另一方面提高联合用药的安全性,避免毒副作用的产生。课题组将进一步研究复方与丁螺环酮的药物相互作用,为临床安全、有效的中西药联用提供

实验参考。

参考文献:

- [1] Cubala WJ, Landowski J. Prolactin response to buspirone is not impaired in drug-naïve first episode patients with major depressive disorder[J]. *J Affect Disord*, 2014, 1:152-154.
- [2] 杨瑞玲,吴成翰.广泛性焦虑障碍的中西医治疗[J].*现代中西医结合杂志*,2006,15(4):549-550.
- [3] Jiang Y, Bai X, Zhu X, et al. The effects of Fructus Aurantii extract on the 5-hydroxytryptamine and vasoactive intestinal peptide contents of the rat gastrointestinal tract [J]. *Pharm Biol*, 2014, 52(5): 581-585.
- [4] Xie Y, Huang X, Hu SY, et al. Meranzin hydrate exhibits anti-depressive and prokinetic-like effects through regulation of the shared alpha 2-adrenoceptor in the brain-gut axis of rats in the forced swimming test [J]. *Neuropharmacology*, 2013, 67(5): 318-325.
- [5] 施学骄,张杰红,樊丹青,等.枳实、枳壳挥发油化学成分及抑菌活性的比较研究[J].*中药与临床*,2013,3(2):25-27.
- [6] 舒尊鹏,胡书法,翟亚东,等.中药枳壳化学成分及药理作用研究[J].*科技创新与应用*,2012(17):8-9.
- [7] 张兰华,邓 鸣.葡萄柚汁对药物代谢动力学的影响[J].*解放军药学报*,2013,29(5):471-475.
- [8] 李功奇.药物与葡萄柚汁的相互作用[J].*中国药师*,2004,7(8):590-591.
- [9] Samer CF, Lorenzini KI, Rollason V, et al. Applications of CYP450 testing in the clinical setting[J]. *Mol Diagn Ther*, 2013, 17(3): 165-184.
- [10] Huo X, Liu Q, Wang C, et al. Enhancement effect of P-gp inhibitors on the intestinal absorption and antiproliferative activity of bestatin[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 50(3/4):420-428.
- [11] Drug metabolism/drug interaction studies in the drug development process: studies in vitro [EB/OL]. <http://www.fda.gov/cder/guidance.htm>.
- [12] Huang X, Guo Y, Huang WH, et al. Searching the cytochrome p450 enzymes for the metabolism of meranzin hydrate: a prospective antidepressant originating from Chaihu-Shugan-San [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): 113819-113829.
- [13] Choi JS, Kang KW. Enhanced tamoxifen bioavailability after oral administration of tamoxifen in rats pretreated with naringin [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(12): 1631-1636.
- [14] Surya Sandeep M, Sridhar V, Puneeth Y, et al. Enhanced oral bioavailability of felodipine by naringenin in Wistar rats and inhibition of P-glycoprotein in everted rat gut sacs in vitro[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2014, 40(10): 1371-1377.
- [15] Sridhar V, Surya Sandeep M, Ravindra Babu P, et al. Evaluation of First-Pass Cytochrome P4503A (CYP3A) and P-glycoprotein Activities Using Felodipine and Hesperetin in Combination in Wistar Rats and Everted Rat Gut Sacs in Vitro[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(5): 699-705.

(本文编辑 苏 维)