

【药动学评价】

小檗碱与枳实提取物配伍在大鼠体内的药动学研究

王家龙¹, 刘 慧^{1,2}, 党蒙蒙^{1,2}, 张秋燕¹, 董 宇¹, 牟稷征¹, 刘喜明¹, 吴建华², 崔翰明^{1*}

1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053

2. 陕西中医药大学 药学院, 陕西 咸阳 712046

摘要: 目的 建立 UPLC-MS/MS 生物样品分析方法, 同时测定大鼠血浆中小檗碱、柚皮苷、橙皮苷与新橙皮苷, 测定 SD 大鼠 ig 小檗碱和枳实提取物后血药浓度及相关药动学参数的变化。方法 以 UPLC Acquity BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 为色谱柱, 含 0.05% 甲酸 2 mmol/L 甲酸铵水 (水相 A) -含 0.05% 甲酸乙腈 (有机相 B) 为流动相梯度洗脱; SD 大鼠分为 ig 小檗碱组、枳实提取物组、小檗碱和枳实提取物配伍组。结果 UPLC-MS/MS 可快速分析血浆样品中小檗碱、柚皮苷、橙皮苷与新橙皮苷, 方法学验证符合生物样品分析方法要求; SD 大鼠 ig 小檗碱与枳实提取物配伍后, 小檗碱血药浓度较单给小檗碱组明显提高, 生物利用度明显提高; 同时大鼠血浆中可检测到柚皮苷与新橙皮苷。结论 SD 大鼠给药小檗碱后, 枳实黄酮的生物利用度明显提高, 提示小檗碱与枳实黄酮有明显的药物相互作用。

关键词: UPLC-MS/MS; 小檗碱; 枳实提取物; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷**中图分类号:** R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2017) 05-0659-08**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.05.014

Pharmacokinetic study on compatibility of berberine and citrus aurantium extract in rats

WANG Jia-long¹, LIU Hui^{1,2}, DANG Meng-meng^{1,2}, ZHANG Qiu-yan¹, DONG Yu¹, MU Ji-zheng¹,
LIU Xi-ming¹, WU Jian-hua², CUI Han-ming¹

1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

2. Shaanxi University of Chinese Medicine, School of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective UPLC-MS/MS bio-analysis method was developed for the simultaneous determination of berberine, naringin, hesperidin, and neohesperidin in plasma of rats. **Methods** UPLC Acquity BEH C₁₈ (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) column was used, mobile phases were containing 0.05% formic acid and 2 mmol/L ammonium formate in water (A)-containing 0.05% formic acid in acetonitrile (B) as the mobile phase gradient elution; SD rats were randomly divided into oral administration berberine group, *Citrus aurantium* extract group, and berberine and *C. aurantium* extract compatibility group. **Results** UPLC-MS/MS method could be applied to determination of berberine, naringin, hesperidin, and neohesperidin, method validation meets the requirements of biological sample analysis. When rats were administered with berberine and *C. aurantium* extract compatibility, the plasma concentration of berberine was much more than single dose of berberine group and the bioavailability of berberine was increased. Meanwhile, naringin and neohesperidin can be detected in rat's plasma. **Conclusion** The bioavailability of flavonoids is significantly improved as well compared to the single dose of *C. aurantium* extract. This suggests that berberine and *C. aurantium* extract compatibility has significant drug-drug interaction.

Keywords: UPLC-MS/MS; berberine; *Citrus aurantium* extract; naringin; hesperidin; neohesperidin

小檗碱是黄连中分离出的天然产物, 其广泛的药理作用主要体现为: 治疗胃肠道感染、糖尿病、高血压、高胆固醇血症及抗肿瘤^[1]。相关研究表明

小檗碱具有广泛的药物-药物相互作用, 如中药复方交泰丸、黄连解毒汤、三黄泻心汤等^[2-4], 与化学药物相互作用有维拉帕米、地高辛、辛伐他汀、环丙

收稿日期: 2016-10-31

基金项目: 国家重大新药创制专项资助 (2011ZX09102-011-08); 国家自然科学基金应急管理项目 (81541083)。

*通信作者: 崔翰明, 男, 副研究员, 研究方向为中药药物分析与药代动力学研究。

沙星、氟康唑、多柔比星、普伐他汀、大黄酸、环孢素 A、酮康唑、氯沙坦、丙磺舒、氯唑西林、咪达唑仑、奎尼丁和阿托伐他汀等^[5-16]。基于本课题组前期研究发现,小檗碱可提高代谢 CYP450 3A4、1A2 的 RNA 转录酶的表达,对代谢酶产生明显的诱导作用^[17]。枳实具有抗氧化、抗炎等明显的药理作用^[17]。有关枳实以及包含枳实的复方药动力学研究表明,枳实黄酮类化合物具有较高的血药浓度^[18-20]。目前尚无有关枳实与小檗碱的配伍的药动力学研究。

本研究基于中国中医科学院广安门医院刘喜明主任医师临床验方“代综方”,其中含有黄连与枳实等配伍,主要用于调节糖脂代谢紊乱的代谢综合征的治疗^[22]。本研究以黄连代表性成分小檗碱,枳实代表性成分柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷着手,研究小檗碱与枳实配伍后药动力学参数的变化。为本方配伍的科学性与临床运用的实用性提供依据。

1 试验材料

1.1 仪器

质谱仪为 Waters Xevo TQ MS 液质联用仪;色谱柱为 UPLC Acquity BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); Sartorius ME 215P 型电子分析天平(德国); VX-III Multi-Tube 型涡旋混合器(北京踏锦科技有限公司); CT15RE-III HITACHI 冷冻离心机(日本日立公司);纯水仪为 Mill-Q (Millipore, USA)。

1.2 试药及试剂

盐酸小檗碱和新橙皮苷均购自 sigma 公司,华法林钠、橙皮苷和柚皮苷均购自中国食品药品检定研究院,质量分数分别为 92.3%、94.7%和 95.3%;化合物结构见图 1。甲醇和乙腈均购自于 Fisher Scientific 公司(USA);甲酸、甲酸铵均购自 Tedia 公司(USA)。

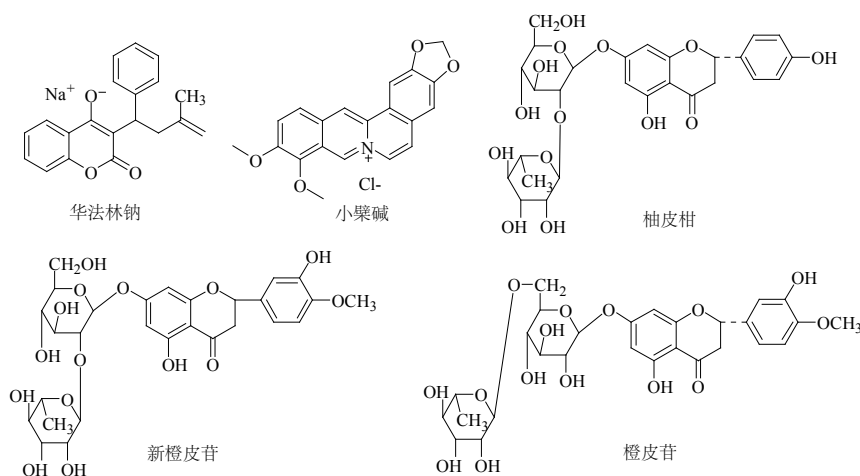


图 1 华法林钠、盐酸小檗碱、柚皮苷、新橙皮苷和橙皮苷化学结构式

Fig. 1 Chemical structures of warfarin sodium, berberine, hesperidin, naringin, and neohesperidin

1.3 实验动物

雄性 SD 大鼠,体质量 250~300 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司(许可证号 SCXK2009-0007)。

1.4 溶液的配制

内标溶液制备:精密称取华法林钠 10.01 mg,用甲醇溶解并定容到 10 mL,再用甲醇稀释至质量浓度为 80 μg/mL 的溶液,作为内标溶液。对照品溶液的制备:精确称取盐酸小檗碱、橙皮苷、柚皮苷及新橙皮苷适量,加甲醇溶解,分别制成质量浓度各为 1.0 mg/mL 的储备液,精密吸取各对照品溶液

储备液适量,用甲醇稀释制成系列浓度的混合对照品溶液,各对照品溶液浓度见表 1,其中 L1~L6 为标准曲线工作液,Qc1~Qc3 为质控样品工作液。

1.5 枳实提取物的制备

取炒枳实药材饮片 200 g,用 8 倍量 60%乙醇浸泡 30 min 后,加热回流提取 2 次,每次 2 h,合并提取液,回收乙醇,浓缩成稠膏(相对密度约为 1.25),60℃真空干燥,得干膏,称定质量,计算出膏率,并测定干膏中枳实黄酮的量。其中柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷的质量分数分别为 7.92%、8.85%、0.61%,出膏率为 42.6%。

表1 混合对照品工作液浓度系列
Table 1 Concentration of mixed reference

化合物	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)								
	L-1	Qc1	L-2	QC2	L-3	QC3	L-4	L-5	L-6
小檗碱	2.7	5.3	13.3	26.7	66.7	133.3	266.7	666.7	1333.3
橙皮苷	266.7	533.3	1 333.3	2 666.7	6 666.7	13 333.3	26 666.7	66 666.7	13 3333.3
柚皮苷	53.3	106.7	266.7	533.3	1 333.3	2 666.7	5 333.3	13 333.3	26 666.7
新橙皮苷	53.3	106.7	266.7	533.3	1 333.3	2 666.7	5 333.3	13 333.3	26 666.7

2 方法与结果

2.1 UPLC 色谱条件

色谱柱为 UPLC Acquity BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为含 0.05%甲酸 2 mmol/L 甲酸铵水 (水相 A) -含 0.05%甲酸乙腈 (有机相 B) 梯度洗脱, 流动相梯度洗脱表见表 1; 体积流量 0.25 mL/min; 进样量 5 μL; 柱温 40 °C。

2.2 MS/MS 质谱条件

质谱条件结合流动相为 0.05%甲酸 2 mmol/L 甲酸铵水 (A) -含 0.05%甲酸乙腈 (B) (50:50) 进行质谱条件优化, 以多级反应监测模式 (MRM) 定量。分别以各化合物相对分子质量进行正离子模式 (ES⁺)、负离子模式 (ES⁻) 对各化合物进行离子对选择, 分别得到锥孔电压值 (Cone voltage, V)、

碰撞能量 (Collision Energy, eV)、以及各化合物的离子对, 选择灵敏度较高的优化参数确立最终质谱条件, 试验结果见表 2。小檗碱以 ES⁺定量, 柚皮苷、新橙皮苷和橙皮苷均以 ES⁻定量。

表2 流动相梯度洗脱表

Table 2 Gradient elution of mobile phase

时间/min	A/%	B/%
0	92	8
1	80	20
2	8	92
2.4	8	92
2.9	92	8
3.5	92	8

表3 各化合物的质谱条件优化参数值

Table 3 Optimized parameters for mass spectra of compounds

化合物	相对分子质量	m/z	V	Daughters	eV	离子模式
小檗碱	335.37	336.02	38	277.98	42	ES ⁺
柚皮苷	580.54	579.08	46	150.93	42	ES ⁻
橙皮苷	610.57	609.09	34	301.04	24	ES ⁻
新橙皮苷	610.56	609.09	52	164.00	52	ES ⁻
华法林钠	307.31	306.96	34	161.02	20	ES ⁻
	330.01	330.99	32	272.95	18	ES ⁺

2.3 血浆样品制备

方法学验证血浆样品制备: 取 100 μL 血浆, 加入 10 μL 内标溶液, 涡旋 30 s, 再加入 10 μL 对照品溶液, 涡旋 30 s 后, 加入 280 μL 含 0.1%甲酸的甲醇溶液沉淀蛋白, 再涡旋 5 min 后, 置离心机中以 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清液按上述色谱条件进样测定。

2.4 质控样品

取上述 Qc1~Qc3 的混合对照品工作液, 按上

述“方法学验证血浆样品制备”方法制备供试品, 在每一次批处理分析间插入质控样品, 用于控制批处理分析的准确性, 每一批处理分析确保 Qc1、Qc2 与 Qc3 的混合对照品溶液制备的样品分析结果在合理范围内, 即质控样品的准确性范围为 80%~120%, 视为批处理分析合格。

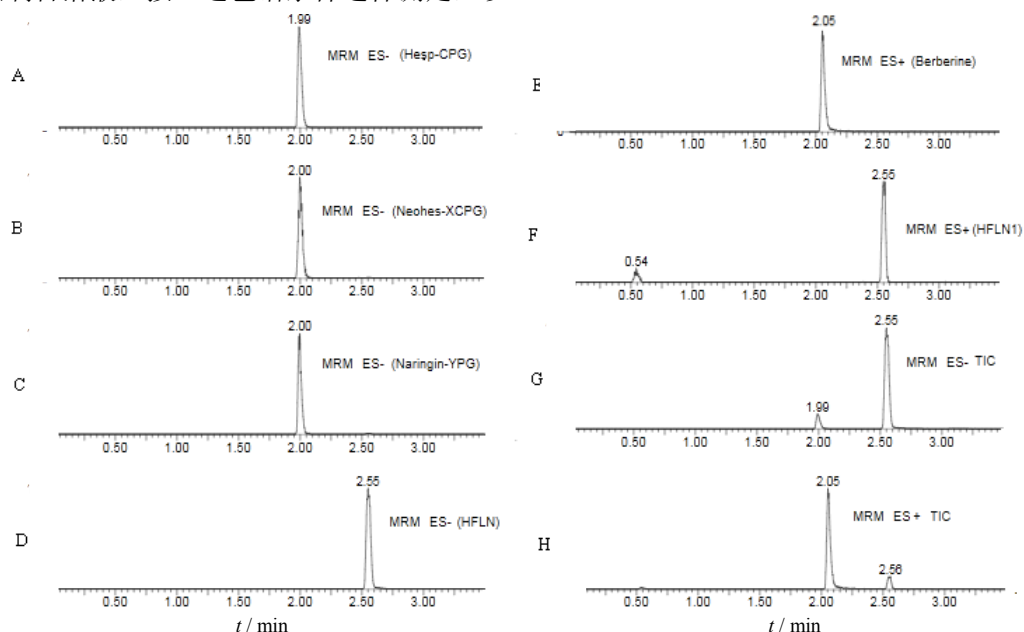
2.4 方法学考察

2.4.1 专属性 取 100 μL 空白血浆, 加入 300 μL 含 0.1%甲酸的甲醇溶液沉淀蛋白, 涡旋 5 min 后,

置离心机中以 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清液按上述色谱条件进样测定。结果显示空白血浆中无干扰峰存在, 大鼠给药后的血浆样品中可检测到目标化合物, 大鼠给药 10 min 后代表性质谱图见图 2。

2.4.2 线性与定量限范围试验考察 取 100 μL 空白血浆, 精密加入上述浓度级别为 L1~L6 的对照品工作液 10 μL , 按上述“方法学验证血浆样品制备”方法制备溶液, 按上述色谱条件进样测定, 以

各自峰面积积分值与内标的峰面积积分比值为纵坐标, 各对照品质量浓度为横坐标, 权重系数选择 1/y, 以最小二乘法进行线性回归, 绘制标准曲线, 得到各成分的标准曲线和线性范围, 线性范围与线性关系结果见表 4。将对照品溶液以甲醇逐级稀释, 使化合物的峰响应(峰高)与相邻杂峰响应(峰高)的比值约为 10:1 确定定量限(LOQ)。



A~H 分别为橙皮苷、新橙皮苷、柚皮苷、华法林钠负离子模式及小檗碱、华法林钠正离子模式和负离子总离子流、正离子总离子流

图 2 SD 大鼠给药 10 min 后各化合物采集质谱图

Fig. 2 Mass spectra of compounds in SD rats after administration of 10 min

表 4 方法学考察各化合物的线性关系及定量限

Table 4 Linear relationship and quantitative limit of different compounds

化合物	回归方程	r	r^2	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
小檗碱	$Y = 1.416\ 06\ x + 2.47864$	0.996 2	0.992 5	0.067~33.3	0.05
橙皮苷	$Y = 0.032\ 753\ 4\ x + 0.651\ 092$	0.995 1	0.990 4	6.67~3 333.3	10.0
柚皮苷	$Y = 0.020\ 066\ 3\ x + 0.030\ 263\ 3$	0.998 9	0.997 9	1.33~666.67	2.0
新橙皮苷	$Y = 0.014\ 196\ 4\ x + 0.000\ 226\ 052$	0.998 4	0.996 8	1.33~666.67	2.0

2.4.3 日内、日间精密度考察 日内精密度: 取 100 μL 空白血浆, 精密加入上述浓度级别为 L2、L3、L4 的对照品工作液 10 μL , 按上述“方法学验证血浆样品制备”方法制备溶液, 各浓度级别同法平行制备 6 份, 按上述色谱条件进样测定, 以各成分的标准曲线计算准确度, 并计算准确度相对标准偏差(RSD), 试验结果见表 5。

日间精密度: 按日内精密度制备供试品, 并制

备随性标准曲线, 连续测定 3 d, 用于评估日间测定日间精密度, 试验结果见表 5。

2.4.4 回收率与基质效应 回收率: 取 100 μL 空白血浆, 精密加入上述浓度级别为 L2、L3、L4 的对照品工作液 10 μL , 按上述“方法学验证血浆样品制备”方法制备溶液, 各浓度级别同法平行制备 6 份, 按上述色谱条件进样测定。

基质效应: 取 100 μL 空白血浆, 加入 280 μL

表5 方法学考察日内、日间精密度试验结果 (n=6)

Table 5 Results of inner- and inter-day precision test (n=6)

化合物	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内精密度		日间精密度	
		RSD/%	准确度/%	RSD/%	准确度/%
小檗碱	0.33	14.26	109.85	13.29	112.37
	1.67	11.57	95.81	8.78	98.30
	6.67	2.12	95.76	4.67	99.20
橙皮苷	33.33	7.46	104.79	11.39	98.71
	167.67	1.14	101.37	2.34	100.96
	666.67	1.27	100.79	1.10	100.49
柚皮苷	6.67	8.02	102.32	7.16	100.20
	33.33	7.48	105.99	6.93	105.77
	133.33	1.70	100.86	2.33	100.95
新橙皮苷	6.67	3.81	104.57	6.10	99.70
	33.33	5.15	103.25	7.76	105.89
	133.33	1.84	101.07	2.44	102.35

表6 方法学考察回收率与基质效应实验结果 (n=6)

Table 6 Results of recovery and matrix effect (n=6)

化合物	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	回收率		基质效应	
		RSD/%	准确度/%	RSD/%	准确度/%
小檗碱	0.33	11.00	112.00	9.96	109.00
	1.67	2.18	97.31	2.11	100.30
	6.67	3.11	97.92	1.18	100.92
橙皮苷	33.33	1.53	105.93	3.04	104.82
	167.67	1.23	100.50	0.49	99.97
	666.67	0.19	100.66	0.22	100.37
柚皮苷	6.67	4.82	98.95	3.52	98.01
	33.33	5.60	110.35	6.96	109.34
	133.33	0.53	101.24	0.19	101.48
新橙皮苷	6.67	9.57	112.16	11.62	110.66
	33.33	1.06	102.48	4.69	105.20
	133.33	0.38	101.35	1.17	100.78

含 0.1%甲酸的甲醇溶液沉淀蛋白, 涡旋 5 min 后, 加入 10 μ L 内标溶液, 涡旋 30 s, 再加入 10 μ L 上述浓度级别为 L2、L3、L4 的对照品工作溶液, 再涡旋 15 min 后, 置离心机中以 14 000 r/min 离心 15 min, 同法制备 6 份, 取上清液按上述色谱条件进样测定。

空白参照: 取 100 μ L 超纯水, 加入 280 μ L 含 0.1%甲酸的甲醇溶液, 涡旋 5 min 混合均匀, 加入 10 μ L 内标溶液, 涡旋 1 min, 再加入 10 μ L 上述浓度级别为 L2、L3、L4 的对照品工作溶液, 再涡旋 1 min 后, 置离心机中以 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清液按上述色谱条件进样测定。

回收率实验结果计算: 在相同浓度级别, 计算上述回收率测定结果与基质效应测定结果的比值, 即为回收实验结果。基质效应实验结果计算: 计算相同浓度级别基质效应测定结果与空白参照测定结果的比值, 即为基质效应实验结果。并计算 RSD 值。实验结果见表 6。

2.4.5 稳定性及冻融稳定性 取 100 μ L 空白血浆, 精密加入上述浓度级别为 L2、L3、L4 的对照品工作液 10 μ L, 分别于室温放置 12 h、1 次冻融(-40℃)循环 10 d、3 次冻融循环 1 个月(每次室温解冻放置 12 h)后, 按上述“方法学验证血浆样品制备”方法制备溶液, 各浓度级别同法平行制备 6 份, 并制备随行标准曲线, 按上述色谱条件进样测定, 实验结果见表 7。

2.5 药动力学实验研究

雄性 SD 顺应性饲养 10 d, 选取体质量(220 $\pm$ 20) g 的大鼠分为 4 组, 分别为空白组、小檗碱组、枳实提取物组、小檗碱和枳实提取物配伍组, 每组 6 只。实验前禁食 12 h 胃排空, 实验组大鼠 ig 给药量分别为 100 mg/kg (小檗碱组)、250 mg/kg (枳实提取物组)、100 mg/kg 小檗碱和 250 mg/kg 枳实提取物(小檗碱枳实提取物配伍组), 药物均以生理盐水配制, 临用新制。分别于大鼠 ig 给药 15、30 min、1、2、4、6、9、12 h, 采用乙醚麻醉, 眼眶内眦静脉采血 0.2 mL, 置于预肝素化的离心管中。将全血缓慢混匀, 置于离心机中于 6 000 r/min 离心(4℃) 15 min, 取血浆 100 μ L 于-40℃冷冻备用。

血浆样品分析及药动力学数据计算: 取 100 μ L 血浆样品, 加入 10 μ L 内标溶液, 涡旋 30 s 后, 加入 290 μ L 含 0.1%甲酸的甲醇溶液沉淀蛋白, 再涡旋 5 min 后, 置离心机中以 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清液按上述色谱条件进样测定。同时按上述方法制备并测定随行标准曲线与质控样品。以标准曲线法计算血药浓度, 将所得血药浓度对时间作图, 得血药浓度时间曲线(图 2), 将血药浓度时间数据带入 DAS 2.0 (中国数学药理专业中国委员会) 药代统计学软件, 以 AIC 最小值拟合房室模型, 拟合模型均为一室模型, 进而计算药动力学参数, 并以 SPSS13.0 统计小檗碱枳实提取物配伍组与小檗碱组主要药动力学参数差异, 药动力学参数结果见表 8。

表7 方法学考察稳定性与冻融稳定性实验结果 ($n=6$)Table 7 Stability and freeze-thaw stability ($n=6$)

化合物	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	冻融 1 次		冻融 3 次		室温 12 h	
		准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%
小檗碱	0.33	109.85	14.28	98.48	11.76	110.36	11.88
	1.67	100.30	5.29	98.05	5.59	108.77	7.96
	6.67	99.51	3.60	102.51	5.52	104.01	4.99
橙皮苷	33.33	101.15	1.48	100.96	1.94	102.01	6.08
	167.67	99.87	1.03	99.30	0.47	99.84	2.12
	666.67	100.03	0.16	99.90	0.20	99.97	0.67
柚皮苷	6.67	102.14	1.99	106.45	9.49	100.07	7.54
	33.33	101.56	2.82	100.59	2.75	103.92	4.82
	133.33	99.81	1.45	100.45	0.54	101.15	1.56
新橙皮苷	6.67	97.02	7.56	99.89	5.26	97.08	6.89
	33.33	103.17	3.34	100.32	3.60	101.56	4.34
	133.33	100.01	0.94	100.19	0.70	126.04	1.31

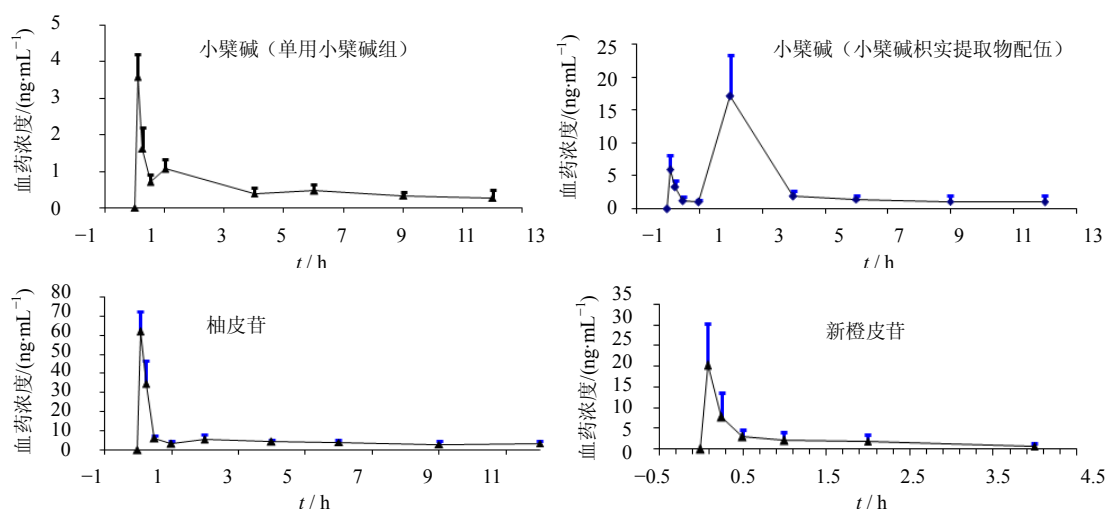


图2 小檗碱、柚皮苷与新橙皮苷血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Plasma concentration-time curves of berberine, naringin, and hesperidin

表8 小檗碱、柚皮苷与新橙皮苷药动学参数

Table 8 Pharmacokinetic parameters of berberine, naringin, and hesperidin

参数	单位	小檗碱药动学参数		小檗碱枳实提取物配伍组药动学参数	
		单用小檗碱组	小檗碱枳实提取物配伍组	柚皮苷	新橙皮苷
AUC _{0-t}	ng·mL ⁻¹ ·h	6.94±0.33	60.31±22.05**	118.05±32.16	4.96±0.55
AUC _{0-∞}	ng·mL ⁻¹ ·h	14.33±4.85	119.22±48.56**	304.48±295.31	5.39±0.68
MRT _{0-t}	h	4.64±0.63	8.32±0.46	8.45±1.84	0.89±0.11
MRT _{0-∞}	h	14.50±6.32	31.65±23.49*	45.39±71.12	1.50±0.37
t _{max}	h	0.08	2.0	0.08	0.08
C _{max}	ng·mL ⁻¹	3.57±0.62	18.20±3.11**	62.02±9.49	10.75±1.57

与小檗碱组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs berberine group

3 讨论

3.1 色谱-质谱条件

本实验建立质谱条件采用流动相为甲酸与甲酸铵的混合缓冲盐,即利于正离子模式监测化合物的离子化,又利于负离子模式监测化合物的离子化,采集同时在正离子与负离子模式之间切换,可同时监测正负离子各化合物。选择华法林为内标,即可实现正离子化,又可实现负离子化,在分析过程中同时查看正负离子的响应情况,减少分析误差的产生。相关文献报道该化合物的离子化较差^[20-21],与本实验建立的分析方法灵敏度相当(LOQ=10 ng/mL),因此橙皮苷类化合物的检测灵敏度有待进一步提高。

3.2 方法学验证

实验采用MRM模式进行了完整的方法学验证,专属性实验表明各监测化合物间相互不干扰;线性与范围实验表明各化合物在较宽的浓度范围内,经权重系数校正,线性关系良好, $r>0.995$;各化合物的日内、日间精密度在95.81%~112.37%,RSD% $<15\%$;回收率与基质效应在95%~115%,确保测定结果的准确性;稳定性试验结果表明各化合物在冻融条件下未明显降解。

3.3 药动学意义

本实验分为小檗碱组、枳实提取物组、小檗碱枳实提取物配伍组。仅给药小檗碱组较小檗碱枳实提取物配伍组小檗碱的血药浓度明显低。枳实提取物组250 mg/kg血浆样品中均为未检测到柚皮苷、新橙皮苷与橙皮苷;将小檗碱与枳实联合给药,血浆样品中均可检测到柚皮苷、新橙皮苷与橙皮苷,同时小檗碱的达峰时间延长至2 h。给药15 min检测到橙皮苷的最高血药浓度为22 ng/mL,由于检测到的血药浓度点较少无法绘制药时曲线,也无法计算其药动学参数。

通过药动学参数计算结果,发现小檗碱的生物利用度明显提高,柚皮苷与橙皮苷也可检测到。相关文献报道,连续口服给药小檗碱(300 mg/kg)诱导3 d后,相关药物代谢酶CYP 450 2D6、2C9和CYP3A4的活性明显降低^[23],相关文献报道枳实中黄酮柚皮苷为相关药物代谢酶CYP 450 3A4抑制剂^[24]。小檗碱既是CYP450 3A4的诱导剂,又是其抑制剂,在低浓度下表现为诱导,在较高浓度下标线为抑制^[17]。因此小檗碱生物利用度的提高及达峰延迟可能与CYP 450 3A4酶的抑制有关,枳实黄酮

柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷可检测出,可能也小檗碱对CYP 450 3A4酶的抑制有关。

4 结论

本研究建立分析方法符合生物样品分析方法要求,适用于小檗碱与枳实黄酮柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷的药动学研究。大鼠给药小檗碱与枳实(枳实黄酮柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷)联合给药,既可提高小檗碱的生物利用度,又可提高枳实黄酮类的生物利用度,可能与CYP 450 3A4酶的抑制有关。本研究表明枳实黄酮与小檗碱有明显的药-药物相互作用。

参考文献

- [1] Kumar A, Ekavali, Chopra K, et al. Current knowledge and pharmacological profile of berberine: An update [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 761: 288-297.
- [2] Wang Y, Jiang Y M, Wang Y T, et al. Inhibition of cytochrome P450 isoenzymes and P-gp activity by multiple extracts of Huang-Lian-Jie-Du decoction [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 156: 175-181.
- [3] Chen G, Lu F, Xu L J, et al. The anti-diabetic effects and pharmacokinetic profiles of berberine in mice treated with Jiao-Tai-Wan and its compatibility [J]. Phytomedicine, 2013, 20: 780-786.
- [4] Zhang Q, Ma Y M, Wang Z T, et al. Differences in pharmacokinetics and anti-inflammatory effects between decoction and maceration of Sanhuang Xiexin Tang in rats and mice [J]. Planta Med, 2013, 79 (17): 1666-1673.
- [5] Shi R, Zhou H, Liu Z M, et al. Influence of coptis Chinensis on pharmacokinetics of flavonoids after oral administration of radix Scutellariae in rats [J]. Biopharm Drug Dispos, 2009, 30: 398-410.
- [6] Chen J L, Zhang Y L, Dong Y, et al. CYP450 enzyme inhibition of berberine in pooled human liver microsomes by cocktail probe drugs [J]. China J Chin Mat Med, 2013, 38: 2009-2014.
- [7] Gurley B J, Swain A, Barone G W, et al. Effect of Goldenseal (*Hydrastis canadensis*) and Kava Kava (*Piper methysticum*) supplementation on digoxin pharmacokinetics in humans [J]. Drug Metab Dispos, 2007, 35: 240-245.
- [8] Kong W J, Wei J, Zuo Z Y, et al. Combination of simvastatin with berberine improves the lipid-lowering efficacy [J]. Metabolism, 2008, 57: 1029-1037.
- [9] Tong N, Zhang J, Chen Y, et al. Berberine sensitizes multiple human cancer cells to the anticancer effects of doxorubicin *in vitro* [J]. Oncol Lett, 2012, 3: 1263-1267.

- [10] Musumeci R, Speciale A, Costanzo R, et al. *Berberis aetnensis* C. Presl. extracts: antimicrobial properties and interaction with ciprofloxacin [J]. Int J Antimicrob Agents, 2003, 22: 48-53.
- [11] Quan H, Cao Y Y, Xu Z, et al. Potent *in vitro* synergism of fluconazole and berberine chloride against clinical isolates of candida albicans resistant to fluconazole [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50: 1096-1099.
- [12] Tsai P L, Tsai T H. Measurement of unbound pravastatin in rat blood and bile on the perspective of hepatobiliary excretion and its interaction with cyclosporin A and berberine [J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 548: 33-40.
- [13] Wang Z, Hu H, Chen F, et al. Reduced system exposures of total rhein and baicalin after combinatory oral administration of rhein, baicalin and berberine to beagle dogs and rats [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 145: 442-449.
- [14] Wu X C, Li Q, Xin H W, et al. Effects of berberine on the blood concentration of cyclosporin A in renal transplanted recipients: clinical and pharmacokinetic study [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2005, 61: 567-572.
- [15] Xin H W, Wu X C, Li Q, et al. The effects of berberine on the pharmacokinetics of ciclosporin A in healthy volunteers [J]. Methods Find Exp Clin Pharmacol, 2006, 28: 25-29.
- [16] Zhou Y M, He P, Liu A M, et al. Drug-drug interactions between ketoconazole and berberine in rats: Pharmacokinetic effects benefit pharmacodynamic synergism [J]. Phytother Res, 2011, 26: 772-777.
- [17] Cui H M, Zhang Q Y, Wang J L, et al. *In vitro* studies of berberine metabolism and its effect of enzyme induction on HepG2 cells [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 158: 388-396.
- [18] Parhiz H, Roohbakhsh A, Soltani F, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models [J]. Phytother Res, 2015, 29(3): 323-331.
- [19] Tong L, Zhou D, Gao J, et al. Simultaneous determination of naringin, hesperidin, neohesperidin, naringenin and hesperetin of *Fractus aurantii* extract in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 58: 58-64.
- [20] Jin Y, Tian T, Ma Y, et al. Simultaneous determination of ginsenoside Rb1, naringin, ginsenoside Rb2 and oridonin in rat plasma by LC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study after oral administration of Weifuchun tablet [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2015, 1000: 112-119.
- [21] Wen J, Qiao Y, Yang J, et al. UPLC-MS/MS determination of paeoniflorin, naringin, naringenin and glycyrrhetic acid in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study after oral administration of Si-Ni-San decoction [J]. J Pharm Biomed Anal, 2012, 66: 271-277.
- [22] 董菲菲, 朱晓云, 张俊龙, 等. 代综方对油酸诱导的 HepG2 细胞内脂质堆积的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10 (3): 330-334.
- [23] Guo Y, Chen Y, Tan Z R, et al. Repeated administration of berberine inhibits cytochromes P450 in humans [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2012, 68(2): 213-217.
- [24] Kim H J, Choi J S. Effects of naringin on the pharmacokinetics of verapamil and one of its metabolites, norverapamil, in rabbits [J]. Biopharm Drug Dispos, 2005, 26(7): 295-300.