

急进高原后肠道菌群介导的溴吡斯的明体内代谢研究

张娟红^{1, 2, 3}, 张雅婷^{2, 3}, 张军民^{3*}, 王 荣^{1, 2, 3*}

1. 西北师范大学 生命科学院, 甘肃 兰州 730070

2. 中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院 药剂科 全军高原损伤防治重点实验室, 甘肃 兰州 730050

3. 兰州大学 药学院, 甘肃 兰州 730000

摘要: **目的** 探讨肠道菌群是否参与溴吡斯的明的代谢及急进高原后肠道菌群对其代谢产生的影响。**方法** 将大鼠随机分为平原给药组、平原空白组、高原给药组、高原空白组, 共4组, 每组6只大鼠。平原给药组大鼠禁食12 h后于上海(中国人民解放军海军军医大学)进行实验, 分别将10.2 mg(约含溴吡斯的明2.3 mg)溴吡斯的明片剂粉末用水溶解后ig给药, 于给药前(0 h)及给药后0.33、0.66、1.00、1.50、2.00、3.00、4.00、6.00、8.00、12.00、24.00 h由眼眶后静脉丛取血进行药动学分析。高原给药组大鼠于碌曲县海拔为4 300 m的高原地区, 大鼠禁食12 h后开始药动学实验, 过程同平原给药组。收集平原空白组和高原空白组大鼠的粪便, 通过16S rRNA法分析急进高原后肠道菌群的变化情况; 体外孵育实验结合LC-MS/MS法分析肠道菌群与溴吡斯的明的代谢关系。**结果** 急进高原后大鼠肠道菌群组成发生了变化, 菌群种类和数量均减少; 溴吡斯的明与小鼠粪便体外孵育实验结果表明肠道微生物群参与溴吡斯的明吸收前的代谢, 且在高原缺氧条件下, 肠道微生物群对其代谢减慢; 急进高原后溴吡斯的明药动学参数药时曲线下面积(AUC₀₋₁)增加了57.60%, 清除率(CL)降低了35.94%。**结论** 肠道菌群参与溴吡斯的明吸收前代谢, 可能与其生物利用度低有关; 并且急进高原后肠道菌群介导的溴吡斯的明代谢减慢, 从而增加其吸收。

关键词: 溴吡斯的明; 急进高原; 肠道菌群; 16S rRNA; 生物利用度

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)03-0428-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.03.004

In vivo metabolism of pyridostigmine bromide mediated by intestinal flora in condition of high altitude

ZHANG Juanhong^{1, 2, 3}, ZHANG Yating^{2, 3}, ZHANG Junmin³, WANG Rong^{1, 2, 3}

1. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

2. Key Laboratory for Prevention and Remediation of Plateau Environmental Damage, 940th Hospital of Joint Logistics Support Force of CPLA, Lanzhou 730050, China

3. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To investigate whether the intestinal flora is involved in the metabolism of pyridostigmine bromide and the effect of intestinal flora on its metabolism after entering the plateau. **Methods** Rats were randomly divided into four groups: administration group at low altitude, blank group at low altitude, administration group at high altitude and blank group at high altitude, with six rats in each group. After fasting for 12 h, the rats in the administration group at low altitude were tested in Shanghai (Naval Military Medical University). Pyridostigmine bromide tablet powder of 10.2 mg (about 2.3 mg of pyridostigmine bromide) were dissolved in water and ig administered, blood was taken from the retroorbital venous plexus before administration (0 h) and 0.33, 0.66, 1.00, 1.50, 2.00, 3.00, 4.00, 6.00, 8.00, 12.00 and 24.00 h after administration for pharmacokinetic analysis. The rats in the administration group at high altitude were in the plateau area with an altitude of 4 300 m in Luqu county. The rats began the pharmacokinetic experiment after fasting for 12 h. The process was the same as that in the administration group at low altitude. The

收稿日期: 2021-08-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82001995); 甘肃省科技计划基金项目(20JR10RA010); 澳门青年学者计划项目(AM2020018)

第一作者: 张娟红, 女, 博士, 主要研究方向为体内药物代谢。E-mail: jhzhzhang@nwnu.edu.cn

*共同通信作者: 王 荣, 男, 教授, 主要研究方向为高原药理学。E-mail: wangrong-69@163.com

张军民, 男, 副教授, 主要研究方向为药物化学生物学。E-mail: zhangjunmin@lzu.edu.cn

feces of rats in blank group at low altitude and blank group at high altitude were collected, and the changes of intestinal flora after entering the plateau were analyzed by 16S rRNA method. *In vitro* incubation experiment combined with LC-MS/MS method was used to analyze the relationship between intestinal flora and pyridostigmine bromide. **Results** After acute exposure to high altitude, the composition of intestinal flora changed, and the species and quantity of flora decreased. The results showed that the intestinal microbiota participated in the metabolism of pyridostigmine bromide before its absorption, and the intestinal microbiota slowed down its metabolism under high altitude hypoxia. After entering the plateau, the pharmacokinetic parameter AUC of pyridostigmine bromide increased by 57.60% and CL decreased by 35.94%. **Conclusion** Intestinal flora is involved in the pre absorption metabolism of pyridostigmine bromide, which may be related to its low bioavailability. After acute exposure to high altitude, the metabolism of pyridostigmine bromide mediated by intestinal flora slows down, which will increase its absorption.

Key words: pyridostigmine bromide; acute exposure to high altitude; gut microbiota; 16S rRNA; bioavailability

机体胃肠道内寄居着种类繁多、数量庞大的微生物群落,对口服药物等外来化合物的代谢至关重要,近年来肠道菌群作为机体“隐形器官”被广泛关注^[1]。饮食结构、药物、外界环境等的变化极有可能引起肠道菌群失调^[2],菌群结构的改变会影响药物的药动学特征^[3]。有报道称高原低氧会导致肠道菌群失调^[4],可能会对口服药物尤其是生物利用度低的药物的疗效产生影响。

本课题组前期研究工作表明急进高原后大多数药物的体内药动学特征会发生变化,进而影响药物的生物利用度^[5-7]。溴吡斯的明是一种在临床上广泛应用的胆碱酯酶抑制剂,主要用于治疗重症肌无力、改善术后腹胀气及尿潴留、室上型心动过速等疾病^[8-9]。服用过量常表现为恶心、心动过缓、肌肉震颤等不良反应^[10-11]。溴吡斯的明口服胃肠道吸收差,生物利用度低,血药浓度波动大。急进高原后肠道菌群的具体变化及这种变化对溴吡斯的明体内代谢过程的影响尚未见相关研究,故本实验对急进高原后肠道菌群介导的溴吡斯的明的代谢过程进行研究,为溴吡斯的明的体内代谢过程研究提供更多参考。

1 材料

1.1 仪器与试剂

UFLC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司); API3200 三重四极杆串联质谱仪(美国应用生物系统公司);高速离心机(上海安亭科学仪器厂);超声波清洗器(奥特赛恩斯仪器有限公司);涡旋混匀器(金坛市金城教学仪器厂)。溴吡斯的明对照品(批号 101201-201101,中国食品药品检定研究院,质量分数 99%);溴吡斯的明片(批号 20110221,上海中西三维药业有限公司);磷酸盐缓冲液(pH 7.2~7.4)购自北京索莱宝生物科技有限公司;甲酸(批号 14117,色谱纯,美国 DIMA 公司);0.9%氯化钠溶液(浙江国镜药业有限公司,批号

C215113002);乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);灭菌注射用水(批号 110128112,西安京西双鹤药业有限公司)。

1.2 动物实验

健康雄性 Wistar 大鼠 24 只,体质量 200 g 左右,购于中国上海斯莱克实验动物有限责任公司。所有动物均在温度 20~25 °C、湿度(50±10)%的环境中标准饲养,经中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院伦理委员会批准且所有实验均按照相关指导原则和规定进行。

2 方法

2.1 分组及给药

将大鼠随机分为平原给药组、平原空白组、高原给药组、高原空白组,共 4 组,每组 6 只大鼠。平原给药组大鼠禁食 12 h 后于上海(中国人民解放军海军军医大学)进行实验,分别将 10.2 mg(约含溴吡斯的明 2.3 mg)溴吡斯的明片剂粉末用水溶解后 ig 给药,于给药前(0 h)及给药后 0.33、0.66、1.00、1.50、2.00、3.00、4.00、6.00、8.00、12.00、24.00 h 由眼眶后静脉丛取血 0.3 mL,迅速加入盛有肝素的 0.5 mL 塑料离心管中,4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取血浆于 -20 °C 贮存,待用。高原给药组大鼠经上海航空托运至甘肃兰州后立即由货车转运至碌曲县海拔为 4 300 m 的高原地区,大鼠禁食 12 h 后开始药动学实验,过程同平原给药组。平原空白组和高原空白组大鼠分别于平原、急进高原后 24 h 收集粪便于粪便收集盒,迅速置于液氮罐保存,用于 16S rRNA 分析及体外孵育实验。

2.2 16S rRNA 法分析肠道菌群的变化

为了表征急性高原缺氧对肠道微生物群的影响,分别将平原空白组和高原空白组大鼠粪便样品均匀混合,各取 3 份,用于 16S rRNA 分析。大鼠的冷冻粪便样品在磷酸盐缓冲盐水中以 1:10(质量体积比)稀释并在 4 °C 解冻,通过文献报道的方法^[12]

提取DNA,检测合格的DNA构建文库。进行融合引物PCR时以基因组DNA为模板,磁珠筛选目的扩增子片段,用合格的文库测序,然后进行相应的生物信息分析。此部分实验与华大基因合作完成。

2.3 粪便孵育液的制备

分别称取平原空白组和高原空白组大鼠粪便标本约0.5 g,悬浮在4.5 mL冷盐水中。将粪便悬浮液以4 000 r·min⁻¹离心5 min。将所得上清液超声处理10 min,以13 000 r·min⁻¹离心20 min,取上层提取液为粪便孵育液^[13]。

2.4 体外孵育实验

为了确定溴吡斯的明是否经肠道菌群代谢,进行体外孵育实验。孵育体系:0.1 mL粪便孵育液,0.1 mL溴吡斯的明对照品溶液(0.25 mol·L⁻¹)和0.3 mL磷酸缓冲液(0.1 mol·L⁻¹, pH 7.0),在37℃分别孵育12、24 h^[14]。孵育结束后,加入冷冻的乙腈9.5 mL以终止反应。

2.5 质谱色谱条件

全程使用Shim-pack XR-ODS柱(75.0 mm×3.0 mm, 2.0 μm)色谱柱,以乙腈-水-甲酸(55:45:0.1)为流动相,体积流量为0.40 mL·min⁻¹,进样体积为10 μL,分析单个样品用时3.0 min。质谱喷雾电压为4 500 V,雾化温度为250℃,溴吡斯的明检测离子对 m/z 181.0→71.8,碰撞诱导解离电压为186.165 kPa(27 psi),碰撞能量为27 eV。

2.6 血浆及粪便样品处理

准确吸取30 μL血浆样品或粪便孵育终止后溶液置于0.5 mL塑料离心管中,加入75 μL乙腈,涡旋振荡1 min,13 000 r·min⁻¹离心5 min后取上清液于进样瓶,LC-MS/MS法按“2.5”项条件进样分析,测定溴吡斯的明质量浓度。

2.7 标准曲线的制备

称取溴吡斯的明对照品0.002 0 g于10 mL量瓶中,甲醇溶解并定容,得200 μg·mL⁻¹储备液。将储备液用大鼠空白血浆或粪便提取液依次稀释成质量浓度分别为1.0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0、160.0、320.0、640.0、1 280.0 ng·mL⁻¹的血浆溶液或粪便溶液,即得系列标准曲线溶液,按“2.6”项方法处理,按“2.5”项条件进样分析,以测得溴吡斯的明峰面积对质量浓度进行线性回归,分别得到血浆样品及粪便样品标准曲线。

2.8 方法学考察

分别按“2.7”项方法配制标准血浆溶液或粪便溶液,质量浓度为2.0、40.0、1 100.0 ng·mL⁻¹,处理后

进行回收率试验和日内、日间精密度试验。同法配制质量浓度为1 100.0 ng·mL⁻¹的样品对稳定性进行考察,分别于配制后24 h、3次反复冻融、4℃下保存1个月后进行分析。

2.9 数据统计分析

将所得血药浓度-时间数据用DAS 2.0软件计算溴吡斯的明药动学参数。实验结果均采用SPSS 13.0软件进行单因素方差分析, $P<0.05$ 为具有显著性差异。

3 结果

3.1 方法学考察结果

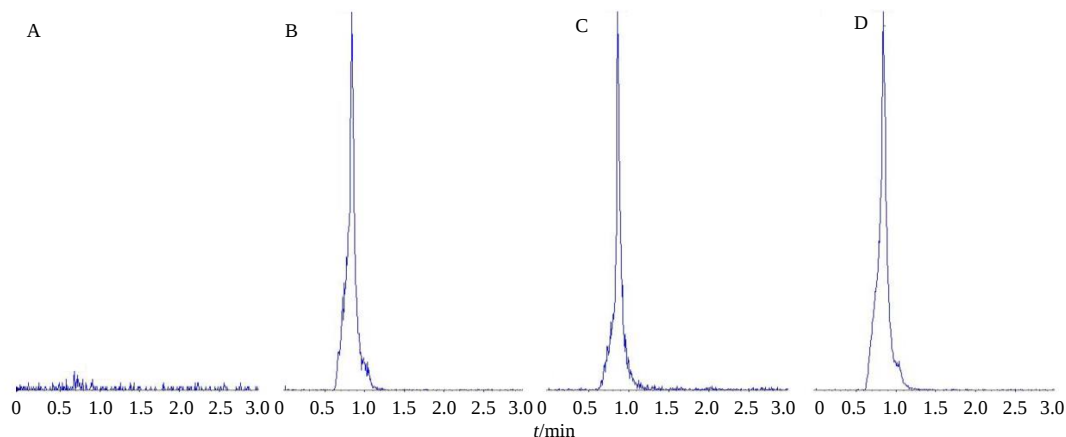
分别进样分析空白血浆样品、配制的含溴吡斯的明的血浆样品、大鼠血浆样品以及空白粪便提取液、配制的含溴吡斯的明的粪便提取液样品、粪便孵育体系样品。结果表明,血浆及粪便提取液中杂质不干扰样品的测定,血浆中溴吡斯的明的保留时间为0.84 min(图1),粪便样品色谱图和血浆样品基本一致(图略)。标准曲线溶液处理后分析,以溴吡斯的明峰面积对质量浓度进行线性回归,血浆样品及粪便样品标准曲线分别为 $Y=0.027 X-0.039 2$ ($r=0.999 2$), $Y=0.024 3 X+0.001 8$ ($r=0.998 4$)。溴吡斯的明质量浓度在1.0~1 280.0 ng·mL⁻¹内线性关系良好。分别配制标准血浆溶液或粪便溶液,质量浓度为2.0、40.0、1 100.0 ng·mL⁻¹,处理后分析得回收率均大于97.0%。日内、日间精密度的RSD均小于4.0%。以质量浓度为1 100.0 ng·mL⁻¹的样品对稳定性进行考察,分别于配制后24 h、3次反复冻融、4℃下保存1个月其RSD均小于5.6%,可用于生物样品分析。

3.2 急进高原后肠道菌群的变化

16S rRNA分析平原空白组和高原空白组大鼠肠道微生物群的变化。Venn图反映多样品共有及各自特有的OTU数目,能够直观地显示各组菌群的数量(图2-A)。结果表明,两组之间的菌群组成不同,平原空白组大鼠的菌群更丰富。热图是数据的图形表示形式,根据每个样品中每种物种的相对丰度进行分析,如图2-B所示,两组间肠道菌群组成存在差异。这部分实验结果表明高原环境会导致大鼠肠道菌群发生变化。

3.3 肠道菌群代谢溴吡斯的明

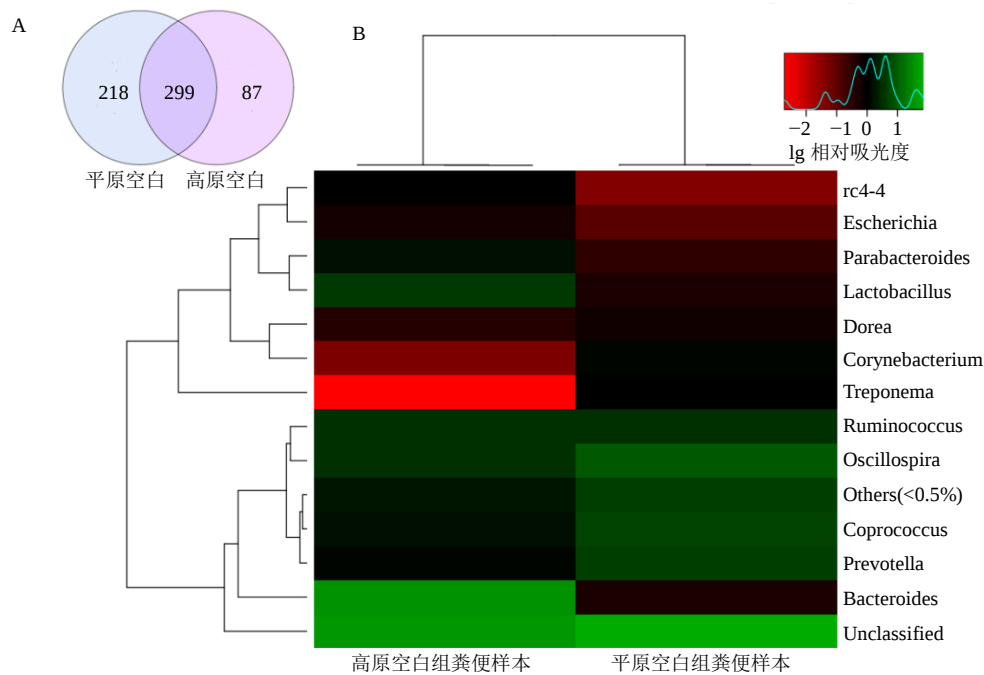
溴吡斯的明与大鼠粪便提取液孵育12、24 h后,通过LC-MS/MS法测量剩余量的溴吡斯的明。如图3所示,0 h时,平原空白组和高原空白组大鼠粪便孵育液中剩余的溴吡斯的明的量均为



A-平原空白组血浆样品;B-平原空白组血浆样品+对照品;C-平原给药组给药后6 h血浆样品;D-高原给药组给药后6 h血浆样品
A-Plasma sample of blank group at low altitude; B-Plasma sample of blank group at low altitude spiked with standard pyridostigmine bromide;
C-Rat plasma sample of 6 h after administration at low altitude; D-Rat plasma sample of 6 h after administration at high altitude

图1 溴吡斯的明色谱图

Fig. 1 The chromatograms of pyridostigmine bromide



A-基于OTU数目的韦恩图;B-基于物种对数百分比的热图

A-Venn diagram were shared OTU across different groups; B-Lg-scaled percentage heat map of species level

图2 16S rRNA分析结果

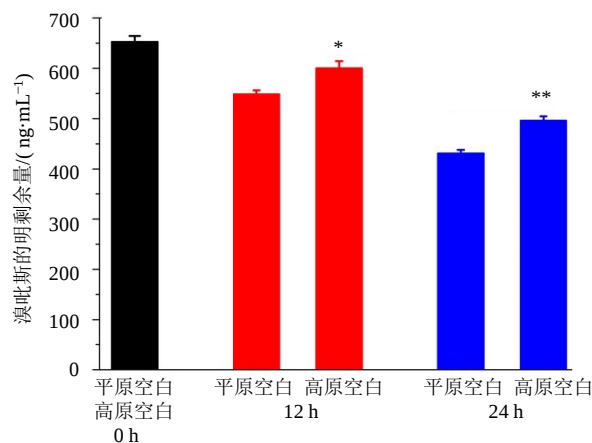
Fig. 2 16S rRNA analysis results

652.50 ng·mL⁻¹,孵育12 h后,平原空白组和高原空白组溴吡斯的明的剩余量分别为548.10、600.30 ng·mL⁻¹,孵育24 h后,平原空白组和高原空白组溴吡斯的明的剩余量分别为430.65、495.90 ng·mL⁻¹,孵育后溴吡斯的明的量减少,表明粪便微生物会代谢溴吡斯的明。与平原空白组相比,随着孵育时间的延长,高原空白组溴吡斯的明的量下降缓慢(24 h后平原空白组和高原空白组分别减少了34.0%和24.0%),说

明急进高原后,肠道菌群对溴吡斯的明代谢减慢。这一结果表明,肠道微生物群参与溴吡斯的明吸收前的代谢,且在高原缺氧条件下,肠道微生物群对其代谢减慢。

3.4 平均血药浓度-时间曲线

大鼠单剂量ig给予溴吡斯的明片后,取不同时间点血浆样品,LC-MS/MS法测定血药浓度,根据每组血药浓度均值绘制药-时曲线(图4)。



与同一时间点平原空白组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs blank group at low altitude at same time point

图3 大鼠粪便孵育12 h和24 h后溴吡斯的明剩余量
($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Remaining amount of pyridostigmine bromide after incubation 12 h and 24 h by rat feces ($\bar{x} \pm s, n=6$)

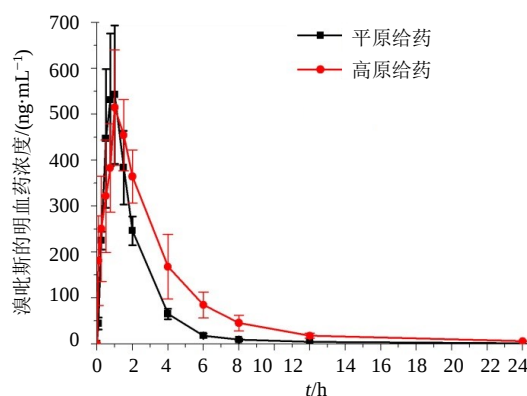


图4 溴吡斯的明血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Plasma concentration-time curve of pyridostigmine bromide ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.5 药动学参数分析

采用 DAS 2.0 软件对两组血药浓度值进行分析,发现急进高原后溴吡斯的明药时曲线下面积 ($AUC_{0 \sim t}$) 比在平原时增加了 57.60%,清除率 (CL) 降低了 35.94% ($P < 0.05$),药动学参数结果见表1。表明高原缺氧环境会增加溴吡斯的明的体内吸收,同时减慢其在体内的消除过程。

4 讨论

肠道微生物群作为机体重要的微生态系统,不仅在维持宿主生理功能方面发挥重要作用,与免疫性疾病、代谢性疾病、肿瘤等的发生发展密切相关,同时也在药物和异生素的代谢中作用显著,且对于药物生物利用度及治疗效果具有重要意义^[15-16]。本实验中,溴吡斯的明与粪便悬浮液共同孵育结果表

表1 溴吡斯的明平原给药组和高原给药组药动学参数比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table1 Pharmacokinetic parameters of pyridostigmine bromide at low altitude and high altitude ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	平原给药组	高原给药组
$AUC_{0 \sim t}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	1 233.954 $\pm$ 194.081	1 944.674 $\pm$ 381.043*
$AUC_{0 \sim \infty}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	1 241.528 $\pm$ 195.016	1 962.471 $\pm$ 388.931*
$MRT_{0 \sim t}$	h	2.288 $\pm$ 0.294	3.882 $\pm$ 0.492
$MRT_{0 \sim \infty}$	h	2.473 $\pm$ 0.303	4.267 $\pm$ 0.55
$t_{1/2}$	h	5.288 $\pm$ 0.646	3.497 $\pm$ 1.356
$t_{\max}$	h	0.938 $\pm$ 0.125	1.25 $\pm$ 0.289
CL	$\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$	8.366 $\pm$ 1.276	5.359 $\pm$ 1.092*
$C_{\max}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	564.375 $\pm$ 136.749	533.875 $\pm$ 103.551

与平原给药组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs administration group at low altitude

明肠道微生物群在溴吡斯的明的生物转化过程中发挥重要作用,导致其吸收前发生代谢,影响其吸收入血的量,这可能是其生物利用度低的一个重要的影响因素,最终影响该药物的疗效。

比较溴吡斯的明平原组和急进高原组药动学实验结果发现:急进高原后其 AUC 增加明显,提高了母体药物的血浆水平,生物利用度增加。16S rRNA 检测结果显示急进高原后肠道菌群的组成和数量均发生变化,急进高原后明显减少。这无疑会影响经肠道菌群代谢的溴吡斯的明的吸收前代谢。孵育实验进一步证明急进高原后肠道菌群对其代谢减慢。因此,急进高原后大鼠血浆中溴吡斯的明浓度的升高可能是胃肠道中微生物被抑制的结果,其药动学的改变与肠道菌群的变化关系密切。

溴吡斯的明的药动学特征比较明确,口服后生物利用度仅为 11%~20%。血浆中的胆碱酯酶可以水解溴吡斯的明,部分经肝脏代谢,主要以原药及代谢物经尿排泄^[8]。由此看来,胆碱酯酶及肝脏对其代谢固然重要,但是口服进入肠道后,吸收前肠道菌群对其代谢直接影响生物利用度,影响其治疗效果。而急进高原后,肠道菌群数量的减少导致其吸收前代谢减慢,以致吸收入血的量增加,使其药动学特征发生变化,提示急进高原后溴吡斯的明的生物利用度会增加,可能会增加其疗效,应该重视这一现象。在药物代谢研究中,大多比较重视代谢酶及转运体对药物代谢的影响,虽然肝酶系统是代谢的主要系统,转运体在药物体内过程中作用显著,但对于口服药物来说,肠道微生物的作用同样不容忽视。有文献报道抗生素减少大鼠体内肠道菌群后,氨氯地平、洛伐他汀、阿司匹林等的药动学

特征会发生变化,影响其生物利用度及治疗效果^[13-14,17-20]。本研究也证明肠道微生物群对药物生物利用度会产生影响,随后影响药物治疗效果。本研究结果提示,肠道微生物群对药物的代谢不容忽视,这可能是影响药物疗效的另一重要因素,值得研究者深入探讨。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Koppel N, Maini Rekdal V, Balskus E P. Chemical transformation of xenobiotics by the human gut microbiota [J]. *Science*, 2017, 356(6344): eaag2770.
- [2] Delzenne N M, Bindels L B. Contribution of gut microbiota-host cooperation to drug efficacy [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(2):69-70.
- [3] Javdan B, Lopez J G, Chankhamjon P, et al. Personalized mapping of drug metabolism by the human gut microbiome [J]. *Cell*, 2020, 181(7): 1661-1679.
- [4] Jia W, Xie G X. Probiotics, bile acids and gastrointestinal carcinogenesis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(4): 205.
- [5] 张娟红, 王 荣, 王立娟, 等. 急进高原对甲氧氯普胺蛋白结合率及药代动力学参数的影响 [J]. *兰州大学学报: 医学版*, 2017, 43(3): 13-17.
Zhang J H, Wang R, Wang L J, et al. Effect of "acute exposure to high altitude" on the protein binding and pharmacokinetics of metoclopramide [J]. *J Lanzhou Univ: Med Sci*, 2017, 43(3): 13-17.
- [6] Luo B F, Wang R, Li W B, et al. Pharmacokinetic changes of norfloxacin based on expression of MRP2 after acute exposure to high altitude at 4 300 m [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 1078-1085.
- [7] 张娟红, 王 荣, 谢 华, 等. 急进高原对普萘洛尔和美托洛尔在大鼠体内药代动力学的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(11): 1616-1620.
Zhang J H, Wang R, Xie H, et al. Effect of acute exposure to high altitude on pharmacokinetics of propranolol and metoprolol in rats [J]. *J South Med Univ*, 2014, 34(11): 1616-1620.
- [8] Schreglmann S R, Büchele F, Sommerauer M, et al. Pyridostigmine bromide versus fludrocortisone in the treatment of orthostatic hypotension in Parkinson's disease-a randomized controlled trial [J]. *Eur J Neurol*, 2017, 24(4): 545-551.
- [9] 王 红, 谭群友, 张 梨, 等. 溴吡斯的明在大鼠离体肠的吸收动力学 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2012, 31(6): 317-321.
- Wang H, Tan Q Y, Zhang L, et al. Intestinal absorption kinetics of pyridostigmine bromide in rat intestine *in vitro* [J]. *Chin J New Drugs Clin Remedies*, 2012, 31(6): 317-321.
- [10] Tan Q Y, Jiang R, Xu M L, et al. Nanosized sustained-release pyridostigmine bromide microcapsules: Process optimization and evaluation of characteristics [J]. *Int J Nanomed*, 2013, 8: 737-745.
- [11] Nutter T J, Cooper B Y. Persistent modification of Nav1.9 following chronic exposure to insecticides and pyridostigmine bromide [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 277(3): 298-309.
- [12] Leser T D, Lindecrone R H, Jensen T K, et al. Changes in bacterial community structure in the colon of pigs fed different experimental diets and after infection with *Brachyspira hyodysenteriae* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(8): 3290-3296.
- [13] Kim D H. Gut microbiota-mediated drug-antibiotic interactions [J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(10): 1581-1589.
- [14] Yoo H H, Kim I S, Yoo D H, et al. Effects of orally administered antibiotics on the bioavailability of amlodipine: Gut microbiota-mediated drug interaction [J]. *J Hypertens*, 2016, 34(1): 156-162.
- [15] Carmody R N, Turnbaugh P J. Host-microbial interactions in the metabolism of therapeutic and diet-derived xenobiotics [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(10): 4173-4181.
- [16] Wu D, Yang J J, Yang F, et al. Analysis of alkaline and neutral volatile metabolites in feces by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2017, 45(6): 837-843.
- [17] Kim I S, Yoo D H, Jung I H, et al. Reduced metabolic activity of gut microbiota by antibiotics can potentiate the antithrombotic effect of aspirin [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 122: 72-79.
- [18] Zhang J H, Zhang J M, Wang R. Gut microbiota modulates drug pharmacokinetics [J]. *Drug Metab Rev*, 2018, 50(3): 357-368.
- [19] Zhang J H, Sun Y M, Wang R, et al. Gut microbiota-mediated drug-drug interaction between amoxicillin and aspirin [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 16194.
- [20] Zhang J H, Chen Y Y, Sun Y M, et al. Plateau hypoxia attenuates the metabolic activity of intestinal flora to enhance the bioavailability of nifedipine [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1175-1181.

[责任编辑 刘东博]