

◇ 药物分析 ◇

# 平衡透析并液质联用法同时测定度洛西汀、氟西汀和阿戈美拉汀的人血浆蛋白结合率

王猛猛<sup>1</sup>, 张全英<sup>1,2</sup>, 牛广豪<sup>2</sup>, 俞蕴莉<sup>1</sup>, 朱艺芳<sup>1</sup>

(1. 苏州大学附属第二医院临床药理实验室, 江苏 苏州 215004; 2. 苏州大学医学部药学院, 江苏 苏州 215123)

**摘要:**目的 建立平衡透析并液质联用法(HPLC-MS/MS),同时测定度洛西汀、氟西汀和阿戈美拉汀在人血浆中的蛋白结合率。方法 用平衡透析法处理血浆得透析内液和透析外液。以地西洋作为内标,色谱柱为 WATERS Xterra® RP<sub>18</sub>(4.6 mm × 100 mm, 3.5 μm),以甲醇-水(5 mmol · L<sup>-1</sup> 醋酸铵-0.3% 甲酸)为流动相,梯度洗脱,用电喷雾离子源,正离子多反应监测。考察该方法的特异性、标准曲线与最低定量限、精密度与回收率、基质效应以及稳定性。结果 在血浆和磷酸盐缓冲液(PBS)中,度洛西汀、氟西汀和阿戈美拉汀的标准曲线线性良好,批内、批间精密度均 < 15%,提取回收率 85.89% ~ 106.86%,内标归一化基质效应在 86.55% ~ 104.94%,且稳定性均较好。结论 该方法准确、灵敏、简便,可用于度洛西汀、氟西汀和阿戈美拉汀的人血浆蛋白结合率的研究。

**关键词:**度洛西汀;氟西汀;阿戈美拉汀;血浆蛋白结合率;高效液相色谱串联质谱

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.06.008

## Simultaneous determination of human plasma protein binding of duloxetine, fluoxetine and agomelatine by equilibrium dialysis combined with HPLC-MS/MS

WANG Mengmeng<sup>1</sup>, ZHANG Quanying<sup>1,2</sup>, NIU Guanghao<sup>2</sup>, YU Yunli<sup>1</sup>, ZHU Yifang<sup>1</sup>

(1. Department of Clinical Pharmacology Research Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215004, China; 2. College of Pharmaceutical Science, Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China)

**Abstract: Objective** To establish an equilibrium dialysis combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method(HPLC-MS/MS) for the determination of human plasma protein binding of duloxetine, fluoxetine and agomelatine.

**Methods** The plasma samples were prepared by equilibrium dialysis methods. Diazepam was used as internal standard. The separation was achieved on a WATERS Xterra® RP<sub>18</sub> column(4.6 mm × 100 mm, 3.5 μm) with gradient elution by a mobile phase consisting of methanol and 0.3% formic acid containing 5 mmol · L<sup>-1</sup> ammonium acetate. Electrospray ionization source was applied and operated in the positive multiple reaction monitoring mode. The specificity, standard curve and lower limit of quantitation, precision and recovery, the matrix effect as well as stability were investigated. **Results** In plasma and PBS buffer, the good linear relationship of duloxetine, fluoxetine and agomelatine were obtained. The inter-batch and intra-batch precision were all less than 15%, respectively. The average recovery rate was ranged from 85.89% to 106.86%. The matrix factor normalized by internal standard was ranged from 86.55% to 104.94%.

**Conclusion** The method is accurate, sensitive, simple and suitable for the study of plasma protein binding of duloxetine, fluoxetine and agomelatine in human plasma.

**Key words:** Duloxetine; Fluoxetine; Agomelatine; Plasma protein binding; HPLC-MS/MS

度洛西汀(DUL)<sup>[1]</sup>是一种选择性5-羟色胺(5-HT)和去甲肾上腺素(NE)再摄取双重抑制剂(SNRIs);氟西汀(FLU)<sup>[2]</sup>是首个选择性5-HT再摄取抑制剂(SSRI);阿戈美拉汀(AGO)<sup>[3]</sup>是褪黑素受

体的选择性及特异性激动剂,同时还是5-HT<sub>2c</sub>受体的竞争性拮抗剂。临床上DUL和FLU联用治疗重度抑郁症<sup>[4]</sup>,DUL和AGO联用治疗抑郁失眠症状<sup>[5]</sup>,另外DUL和AGO还可协同抑制神经PC<sub>12</sub>细胞的氧化应激和凋亡<sup>[6]</sup>。随着抑郁症病人的增多,上述3种药物联合应用的案例及不良反应报道也不断增多,甚至有严重不良反应的发生,如肝损伤<sup>[7]</sup>。临床药代动力学研究表明,上述3种药物不

基金项目:江苏省自然科学基金(BK20150302);常州四药临床药学会科研基金(SYSD2015142)

通信作者:张全英,女,主任药师,硕士生导师,研究方向:临床药学, E-mail:sdfeyyq@163.com

存在代谢性相互作用,然而,它们的血浆蛋白结合率都很高(>90%),且都主要结合于白蛋白和 $\alpha_1$ -酸性糖蛋白<sup>[2,8-9]</sup>。高血浆蛋白结合率高的药物联合用药时可能会竞争性和血浆蛋白结合,一旦血浆蛋白结合率稍有变化,便会对游离药物的浓度产生较大的影响,进而产生药效或毒性的改变<sup>[10-11]</sup>。目前没有研究探讨DUL和FLU、DUL和AGO联合应用时血浆蛋白结合的相互作用。本研究旨在建立平衡透析法结合平衡透析并液质联用法(HPLC-MS/MS)测定DUL、FLU、AGO在人血浆中的蛋白结合率,并探讨药物间血浆蛋白结合相互作用。

## 1 仪器与试剂

DUL(迈基生物,批号DHS151012Y,含量99%);AGO(安耐吉化学,批号DG230120,含量99%);FLU(上海中西制药有限公司,批号141001,含量99.66%);地西洋(DIA内标),购自中国药品生物制品检定所,含量100%。LC-MS/MS系统:Agilent 1260高效液相色谱仪,Agilent公司;API-4000型三重四极杆串联质谱仪,Applied Biosystem Sciex公司。透析袋:MD25,截留分子量8~14 kDa,联合碳化。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱及质谱条件** (1)色谱条件。色谱柱:WATERS Xterra<sup>®</sup> RP<sub>18</sub>(4.6 mm×100 mm,3.5  $\mu$ m),预柱:Phenomenex Security Guard TM C<sub>18</sub>(4 mm×3.0 mm);流动相:甲醇(A)和含0.3%甲酸的5 mmol·L<sup>-1</sup>醋酸铵水溶液(B),梯度洗脱(0~0.1 min,65% A;0.1~2.5 min,65%~80% A;2.5~4.5 min,80% A;4.6~10.0 min,65% A);柱温20℃;流速0.5 mL·min<sup>-1</sup>;进样体积10  $\mu$ L;每个样本的分析时间为10.0 min。(2)质谱条件。电喷雾(ESI)离子源,正离子电离模式,多反应监测(MRM)扫描方式,碰撞气:6

psi,气帘气:10 psi,雾化气:60 psi,加热辅助气:50 psi,电喷雾电压:3 500 V,离子源温度(TEM):550℃;待测物和内标(IS)的检测离子分别为:DUL:m/z 298.2→154.0;FLU:m/z:310.1→148.2;AGO:m/z 244.1→185.0;DIA(IS):m/z 285.5→154.0。

**2.2 样本处理** 血浆样本:吸取血浆样本(或透析内液)200  $\mu$ L至1.5 mL塑料离心管中,加入内标工作液50  $\mu$ L,涡旋混匀后加入甲醇610  $\mu$ L沉淀蛋白,涡旋1 min,于15 000 r·min<sup>-1</sup>、4℃离心10 min,吸取上清液200  $\mu$ L,进样测定。磷酸盐缓冲液(PBS)样本:吸取PBS溶液样本(或透析外液)250  $\mu$ L至1.5 mL塑料离心管中,加入内标工作液50  $\mu$ L,涡旋混匀后吸取200  $\mu$ L,进样测定。

**2.3 平衡透析装置** 将透析袋剪成每段10 cm,加入含药血浆1 mL,两端夹紧后悬于PBS缓冲溶液19 mL中,使内外液面相平且透析袋不贴壁,于4℃放置。

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 特异性** 分别考察以下样本的特异性:空白血浆样本(A)、空白血浆加入内标样本(B)、含药血浆样本(C)、空白PBS样本(D)、空白PBS加入内标样本(E)、含药PBS样本(F)。空白基质中的内源性物质与3种待测物和内标互不干扰测定。结果见图1。

**2.4.2 标准曲线与最低定量限** 取空白血浆200  $\mu$ L(或空白PBS 250  $\mu$ L),加入DUL、FLU、AGO的血浆(或PBS)混合标准曲线系列工作液10  $\mu$ L,得到混合标准曲线血浆(或PBS)系列样本,混合标准曲线系列样本中3种药物的浓度见表1。按“2.2”项操作,记录色谱图,以待测物样本浓度(C)为X轴,以待测物与内标的峰面积比值(f)为Y轴进行权重回归(权重系数为1/C<sup>2</sup>)。在血浆和PBS样本中,标准曲线的线性良好,线性回归结果见表2。

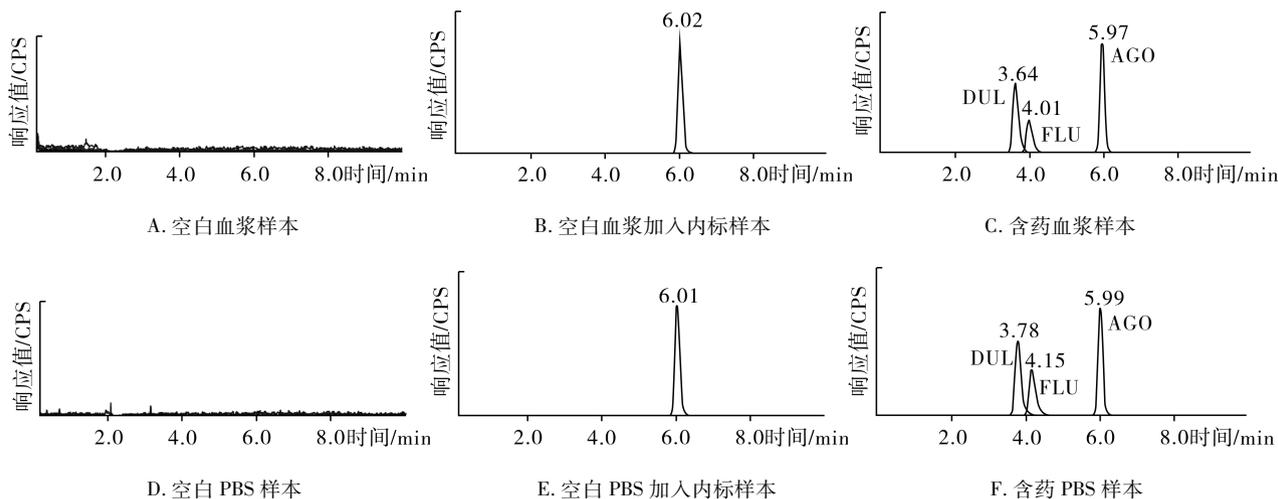


图1 3种待测物的血浆和PBS样本色谱图

表2 典型的标准曲线方程与线性范围

基质	待测物	标准曲线方程	r 值	线性范围/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
血浆	DUL	$Y=0.0177X-0.00139$	0.9994	4.0~1200
	FLU	$Y=0.00638X-0.00173$	0.9990	4.0~1200
	AGO	$Y=0.0413X+0.000485$	0.9990	0.5~1200
PBS	DUL	$Y=0.0223X+0.0000563$	0.9984	0.4~20
	FLU	$Y=0.00678X+0.0000433$	0.9992	0.4~20
	AGO	$Y=0.0564X+0.0000436$	0.9993	0.05~30

**2.4.3 精密度** 按照表1的浓度分别配置血浆和PBS缓冲液的低、中、高质控样本,每个浓度制备6个样本,按照“2.2”项操作,每天1批,测定3批,记录色谱图,计算批内和批间精密度(RSD),结果见表3。血浆与PBS样本中,3种待测物的批内和批间精密度良好(RSD < 15%)。

**2.4.4 回收率** 按照“2.2”项操作,分别配制低、中、高质控样本,每个浓度配制6份,作为血浆提取样本;另取200  $\mu\text{L}$  空白血浆,加入600  $\mu\text{L}$  甲醇沉淀

蛋白,涡旋离心后,取尽上清分别在其中加入血浆样本的低、中、高3种质量浓度的混合质控工作液10  $\mu\text{L}$  以及内标工作液50  $\mu\text{L}$ ,涡旋混匀后离心取上清作为对照样本进样,记录色谱图计算血浆样本的提取回收率。PBS样本则以实测值与加入值的比值计算PBS样本的回收率。在血浆和PBS缓冲液中,3种待测物的回收率范围为85.89%~106.86%。结果见表3。

**2.4.5 基质效应** 取空白血浆(6种不同来源,每种来源5份样本)200  $\mu\text{L}$ ,加入甲醇600  $\mu\text{L}$  沉淀蛋白,涡旋离心取上清液得到空白血浆基质溶液,取上述基质溶液800  $\mu\text{L}$ ,分别加入血浆样本的低、中、高3种质量浓度的混合质控工作液10  $\mu\text{L}$  及内标工作液50  $\mu\text{L}$ ,以其进样得到的待测物峰面积除以同种操作下以水代替空白血浆的待测物峰面积,计算血浆中内源性物质对待测物和内标的绝对基质效应,再以待测物的绝对基质效应除以内标的绝对基质效应,得到待测物的内标归一化基质效应因子。

表1 血浆和PBS溶液混合标准曲线样本和质控样本浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 

基质	待测物	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	低质控	中质控	高质控
血浆	DUL	4	12	40	120	400	800	1200	10	200	1000
	FLU	4	12	40	120	400	800	1200	10	200	1000
	AGO	0.5	2	10	50	200	800	1200	1	100	1000
PBS	DUL	0.4	1	2	5	10	15	20	0.8	4	16
	FLU	0.4	1	2	5	10	15	20	0.8	4	16
	AGO	0.05	0.2	1	3	10	20	30	0.1	2	25

表3 度洛西汀、氟西汀、阿戈美拉汀在血浆和PBS缓冲液中的精密度和提取回收率

基质	待测物	浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	批内		批间		提取回收率/%
			浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}, \bar{x} \pm s)$	RSD/%	浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}, \bar{x} \pm s)$	RSD/%	
血浆	DUL	10	9.456 $\pm$ 0.28	3.83	9.853 $\pm$ 0.55	12.63	89.16 $\pm$ 5.91
		200	188.4 $\pm$ 4.45	1.81	197.0 $\pm$ 9.05	12.44	85.89 $\pm$ 4.05
		1000	950.3 $\pm$ 28.60	2.48	997.1 $\pm$ 41.70	10.14	86.77 $\pm$ 4.54
	FLU	10	9.543 $\pm$ 0.29	2.67	9.978 $\pm$ 0.51	12.96	96.44 $\pm$ 5.22
		200	187.5 $\pm$ 4.04	2.34	194.8 $\pm$ 9.00	11.85	91.16 $\pm$ 4.24
		1000	1006 $\pm$ 37.40	3.26	1024 $\pm$ 35.4	4.71	90.81 $\pm$ 4.83
	AGO	1	1.005 $\pm$ 0.03	2.83	0.989 $\pm$ 0.044	10.49	105.13 $\pm$ 7.73
		100	95.32 $\pm$ 2.30	3.55	97.87 $\pm$ 5.58	13.49	98.00 $\pm$ 3.65
		1000	934.4 $\pm$ 20.40	2.09	965.1 $\pm$ 35.6	9.11	95.11 $\pm$ 4.77
PBS	DUL	0.8	0.7879 $\pm$ 0.04	4.09	0.7606 $\pm$ 0.04	7.63	93.26 $\pm$ 3.66
		4	4.078 $\pm$ 0.22	4.47	4.030 $\pm$ 0.26	14.45	94.29 $\pm$ 5.28
		16	17.03 $\pm$ 0.47	3.59	16.43 $\pm$ 0.90	12.59	96.63 $\pm$ 5.11
	FLU	0.8	0.8028 $\pm$ 0.06	5.18	0.7924 $\pm$ 0.05	12.19	103.20 $\pm$ 4.98
		4	3.965 $\pm$ 0.25	5.12	4.101 $\pm$ 0.23	7.78	102.81 $\pm$ 4.45
		16	16.20 $\pm$ 0.89	4.20	16.54 $\pm$ 0.77	7.23	106.86 $\pm$ 2.25
	AGO	0.1	0.1058 $\pm$ 0.001	2.79	0.1064 $\pm$ 0.003	1.63	106.21 $\pm$ 4.50
		2	2.132 $\pm$ 0.04	2.75	2.130 $\pm$ 0.06	0.46	106.67 $\pm$ 3.64
		25	26.22 $\pm$ 0.76	2.53	25.84 $\pm$ 0.81	6.03	100.43 $\pm$ 1.94

PBS溶液的基质效应按照上述同样方法分析计算。在血浆基质中,3种待测物的内标归一化基质效应为89.45%~113.29%,RSD≤6.99%;在PBS基质中,3种待测物的内标归一化基质效应为89.39%~109.81%,RSD≤8.80%,说明基质不影响结果测定。

**2.4.6 稳定性** 根据样本制备与分析过程,分别考察了血浆与PBS的低、中、高3种质量浓度的质控样品在-30℃冷冻10d、-30℃反复冻融3次、4℃放置96h、室温(25℃)放置6h的稳定性,其中每个条件下每种浓度的样品平行制备3份。稳定性考察结果显示,所有稳定性考察样品实测浓度与加入浓度比较,相对误差的范围为-14.81%~13.81%,RSD≤8.82%,说明DUL、FLU、AGO在本实验所考察的条件下稳定性均良好。

**2.5 透析平衡时间** 按照“2.3”项操作,分别考察1000 μg·L<sup>-1</sup>的DUL、FLU和AGO含药血浆的透析平衡时间,每种药物平行做3份,于3、6、12、24、36、48、72、96h分别吸取透析外液250 μL待测,并补充等量的空白PBS缓冲溶液。以测得透析外液的药物浓度作为纵坐标,透析时间作为横坐标进行曲线拟合,见图2。结果显示72h后透析达到平衡,故选取72h作为透析结束时间。

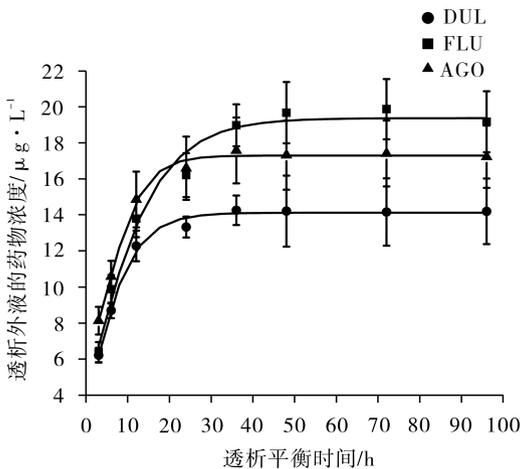


图2 透析平衡时间比较

**2.6 血浆蛋白结合率的测定** 在低、中、高3种浓度梯度下(低、中、高浓度分别为不同批次),分别配制DUL(72、200、1000 μg·L<sup>-1</sup>)、FLU(72、200、1000 μg·L<sup>-1</sup>)、AGO(9、200、1000 μg·L<sup>-1</sup>)的含药血浆,以及同时含有DUL和FLU的血浆、DUL和AGO的血浆,每种浓度制备3份,按照“2.3”项操作,4℃下放置72h后,分别取透析内液和透析外液按照“2.2”项操作,测定透析内液药物浓度(C<sub>1</sub>)和透析外液药物浓度(C<sub>2</sub>)<sup>[12]</sup>,并计算药物的血浆蛋白结合率=(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)/C<sub>1</sub>×100%。结果显示,DUL、FLU和AGO血浆蛋白结合率的分别为(96.59±0.47)%,(94.54±0.22)%,(95.61±1.11)%,且不具有浓度依赖性,该结果与文献报道结果一致<sup>[5]</sup>。FLU、AGO分别和DUL相互作用的血浆蛋白结合率和血浆中单一药物存在时的蛋白结合率相比,差异无统计学意义(P>0.05,单因素方差分析)。测定结果见表4~6。

表5 FLU的血浆蛋白结合率及其相互作用

FLU 浓度/ μg·L <sup>-1</sup>	对照	加入 DUL	
	FLU/(%, $\bar{x} \pm s$ )	DUL 浓度/μg·L <sup>-1</sup>	FLU/(%, $\bar{x} \pm s$ )
72	94.68 ± 0.30	72	94.74 ± 0.60
200	94.42 ± 0.13	200	94.55 ± 0.25
1000	94.52 ± 0.18	1000	94.12 ± 0.30

注:经单因素方差分析:加入后与加入前相比,差异无统计学意义(P>0.05)。

表6 AGO的血浆蛋白结合率及其相互作用

AGO 浓度/ μg·L <sup>-1</sup>	对照	加入 DUL	
	AGO/(%, $\bar{x} \pm s$ )	DUL 浓度/μg·L <sup>-1</sup>	AGO/(%, $\bar{x} \pm s$ )
9	96.96 ± 0.43	72	96.65 ± 0.16
200	95.33 ± 0.05	200	95.20 ± 0.22
1000	94.54 ± 0.37	1000	95.13 ± 0.17

注:经单因素方差分析:加入后与加入前相比,差异无统计学意义(P>0.05)。

表4 DUL的血浆蛋白结合率及其相互作用

DUL 浓度/ μg·L <sup>-1</sup>	对照	加入 FLU		加入 AGO	
	DUL/(%, $\bar{x} \pm s$ )	FLU 浓度/μg·L <sup>-1</sup>	DUL/(%, $\bar{x} \pm s$ )	AGO 浓度/μg·L <sup>-1</sup>	DUL/(%, $\bar{x} \pm s$ )
72	96.96 ± 0.38	72	97.04 ± 0.21	9	96.95 ± 0.31
200	96.51 ± 0.61	200	95.83 ± 0.37	200	95.99 ± 0.04
1000	96.32 ± 0.24	1000	96.42 ± 0.34	1000	96.56 ± 0.11

注:经单因素方差分析:加入后与加入前相比,差异无统计学意义(P>0.05)。

### 3 讨论

当几种高血浆蛋白结合率的药物联合用药时,可能存在游离药物量变化的现象<sup>[10-11]</sup>。DUL、FLU、AGO 都是高血浆蛋白结合率药物,但是当他们联合用药时的血浆蛋白结合率却未见报道。FLU、AGO 分别和 DUL 相互作用体外试验的初步结果表明,它们在血浆中相互作用的血浆蛋白结合率,和单独作用时的相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。尽管它们都主要结合于血浆白蛋白和  $\alpha_1$ -酸性糖蛋白,但血浆蛋白的含量较多,药物间未发生蛋白结合的相互作用可能是由于药物的结合未达到饱和,没有出现明显的结合型药物被置换出来的现象。本研究结果提示,DUL 在与 FLU 或 AGO 在临床联合用药过程中,不存在血浆蛋白结合的相互作用,故临床联合用药过程中产生的不良反应并不是源于血浆蛋白结合率的变化。已有的文献研究<sup>[13]</sup>结果表明,DUL 与 FLU、AGO 不存在代谢性相互作用,故在今后的临床研究中不良反应发生原因需更多的从药理学作用机制上做进一步探索。

平衡透析法是测试药物血浆蛋白结合率的经典方法。笔者在建立方法时,试验过超滤法,超滤法相比平衡透析法具有方便省时的优点,但是超滤管(Pall 公司, Omega™ 滤膜, 10 kDa)对 3 种药物的非特异性吸附较大,且超滤法的分离结果受离心力和离心时间的影响<sup>[14]</sup>。相比超滤法,平衡透析法的吸附效应较小,并且由于存在透析膜内外的平衡作用,经过较长时间的平衡,少量的吸附并不会影响血浆蛋白结合率的测定。因此,本研究选择平衡透析法。处理血浆(透析内液)样本时,本文采用甲醇直接沉淀蛋白法;处理 PBS 溶液(透析外液)样本则采用直接加内标测定法,操作简便高效。

本研究采用平衡透析法结合 HPLC-MS/MS 法,同时测定了 DUL、FLU、AGO 在人血浆中的蛋白结合率,并对它们的相互作用进行初步探索,所建方法准确、灵敏、简便,可以满足 3 种药物血浆蛋白结合率的研究。

### 参考文献

[1] U. S. Food and Drug Administration. Highlights of prescribing in-

- formation, Cymbalta (duloxetine hydrochloride) Delayed-Release Capsules for Oral Use, Reference ID:3009610 [EB/OL]. (2011-09-07) [2016-10-15]. [http://101.96.10.43/www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2011/021427s039lbl.pdf](http://101.96.10.43/www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/021427s039lbl.pdf).
- [2] U. S. Food and Drug Administration. Highlights of prescribing information, PROZAC (fluoxetine hydrochloride) Pulvules for oral use, Reference ID:2960507 [EB/OL]. (2011-06-17) [2016-10-15]. [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2011/018936s096,021235s018lbl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/018936s096,021235s018lbl.pdf).
- [3] OWEN RT. Agomelatine: a novel pharmacological approach to treating depression[J]. *Drugs Today*, 2009, 45(8): 599-608.
- [4] VOICAN CS, CORRUBLE E, NAVEAU S, et al. Antidepressant-induced liver injury: a review for clinicians[J]. *Am J Psychiatry*, 2014, 171(4): 404-415.
- [5] SPINA E, DE LEON J. Clinically relevant interactions between newer antidepressants and second-generation antipsychotics[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2014, 10(5): 721-746.
- [6] AKPINAR A, UĞUZ AC, NAZIROĞLU M. Agomelatine and duloxetine synergistically modulates apoptotic pathway by inhibiting oxidative stress triggered intracellular calcium entry in neuronal PC12 cells: role of TRPM2 and voltage-gated calcium channels[J]. *J Membr Biol*, 2014, 247(5): 451-459.
- [7] VUPPALANCHI R, HAYASHI PH, CHALASANI N, et al. Duloxetine hepatotoxicity: a case-series from the drug-induced liver injury network[J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2010, 32(9): 1174-1183.
- [8] LIPP HP. Posaconazole: clinical pharmacokinetics and drug interactions[J]. *Mycoses*, 2011, 54(Suppl 1): 32-38.
- [9] DE BERARDIS D, FORNARO M, SERRONI N, et al. Agomelatine beyond borders: current evidences of its efficacy in disorders other than major depression[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(1): 1111-1130.
- [10] SCHNEIDER EK, HUANG JX, CARBONE V, et al. Drug-drug plasma protein binding interactions of ivacaftor[J]. *J Mol Recognit*, 2015, 28(6): 339-348.
- [11] LIN JH, LU AY. Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development[J]. *Pharmacol Rev*, 1997, 49(4): 403-449.
- [12] 章海鑫. 双氟沙星血浆蛋白结合率及其与药代动力学关系的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012: 12-13.
- [13] KNADLER MP, LOBO E, CHAPPELL J, et al. Duloxetine Clinical Pharmacokinetics and Drug Interactions [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2011, 50(5): 281-294.
- [14] TANG DQ, LI YJ, LI Z, et al. Study on the interaction of plasma protein binding rate between edaravone and taurine in human plasma based on HPLC analysis coupled with ultrafiltration technique [J]. *Biomed Chromatogr*, 2015, 29(8): 1137-1145.

(收稿日期: 2016-12-12, 修回日期: 2017-02-24)