

## 栀子厚朴汤配伍变化对柚皮素与橙皮素药代动力学的影响

孙丽丽<sup>1</sup>, 冯芳<sup>1,2\*</sup>, 赵孝蕊<sup>1</sup>(中国药科大学<sup>1</sup>药物分析教研室; <sup>2</sup>药物质量与安全预警教育部重点实验室, 南京 210009)

**摘要** 研究大鼠灌胃给予枳实、枳实-栀子、枳实-厚朴和栀子厚朴汤 4 种配伍汤剂后柚皮素与橙皮素在血浆中的药代动力学。将 SD 大鼠随机分为 4 组, 分别灌胃枳实、枳实-栀子、枳实-厚朴、栀子厚朴汤剂 10.83 mL/kg, 采用 HPLC 法测定各汤剂给药后的血药浓度, 计算药代动力学参数。结果表明 4 种不同配伍方给药后, 柚皮素与橙皮素的药代动力学参数有差异。栀子厚朴汤不同配伍对柚皮素与橙皮素在大鼠血浆中的药代动力学存在不同的影响。栀子或厚朴能够延缓柚皮素与橙皮素的达峰时间; 厚朴能够显著地增加橙皮素的  $AUC_{0-24h}$ ; 枳实、栀子、厚朴 3 味药材共同配伍应用时减少了柚皮素与橙皮素的达峰时间, 使柚皮素的  $AUC_{0-24h}$  降低, 同时使橙皮素的  $AUC_{0-24h}$  增加, 但增加程度低于枳实-厚朴组。实验结果显示药材配伍对相同成分的药代动力学行为有影响。

**关键词** 栀子厚朴汤; 配伍; 柚皮素; 橙皮素; HPLC; 药代动力学

**中图分类号** R969 **文献标识码** A **文章编号** 1000-5048(2011)05-0431-05

Effect of different formula compatibility of *Zhizi Houpu* decoction on the pharmacokinetics of naringenin and hesperetinSUN Li-li<sup>1</sup>, FENG Fang<sup>1,2\*</sup>, ZHAO Xiao-rui<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmaceutical Analysis; <sup>2</sup> Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance (Ministry of Education), China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** The objective of this paper was to obtain pharmacokinetic parameters from concentration-time data of naringenin and hesperetin in rat plasma after oral administration of different recipes of *Zhizi Houpu* decoction (ZZHPD) which contained HP (Magnoliae Officinalis Cortex), ZS (Aurantii Fructus Immaturus) and ZZ (Gardeniae Fructus), including ZS, ZS-ZZ (ZS and ZZ), ZS-HP (ZS and HP) and ZZHPD (ZS, ZZ and HP). The effects of different recipes of ZZHPD on the pharmacokinetics of naringenin and hesperetin in rat plasma were investigated. Twenty-four rats were randomly divided into four groups, and treated with ZS, ZS-ZZ, ZS-HP and ZZHPD (10.83 mL/kg), respectively. The plasma concentrations of four recipes were determined by HPLC, and the pharmacokinetic parameters of naringenin and hesperetin in these recipes were evaluated. The pharmacokinetic parameters of naringenin and hesperetin were different after oral administration of four decoctions according to ZS combined with different herbal medicines. ZZ and HP could delay the absorption of naringenin and hesperetin, and HP could significantly increase the  $AUC_{0-24h}$  of hesperetin; the compatible effect of herbs in ZZHPD could accelerate the absorption rate of naringenin and hesperetin, reduce the  $AUC_{0-24h}$  of naringenin and increase the  $AUC_{0-24h}$  of hesperetin with the enhance extend less than that of ZS-HP group. The pharmacokinetic parameters of the two compounds obtained in this work showed that the pharmacokinetics of naringenin and hesperetin were influenced diversely when ZS was combined with different herbal medicines.

**Key words** *Zhizi Houpu* decoction; compatibility; naringenin; hesperetin; HPLC; pharmacokinetics

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30973858)

抑郁症是一种以心境持续性低落、抑郁悲观为基本特征的情感性精神障碍。世界卫生组织预测,到2020年重症抑郁症将成为影响人类健康的第二大疾病。栀子厚朴汤剂出自《伤寒论》为治疗抑郁症的经验方,由枳实、栀子、厚朴3味药材组成,因此深入研究栀子厚朴汤对于抑郁症的治疗具有重要的意义<sup>[1]</sup>。

栀子厚朴汤中主要的黄酮类成分为柚皮苷、橙皮苷与新橙皮苷<sup>[2]</sup>,其苷元分别为柚皮素与橙皮素。研究表明经口服后,柚皮苷具有抗抑郁<sup>[3]</sup>、抗焦虑<sup>[4]</sup>的作用;橙皮苷具有抗焦虑的活性<sup>[5]</sup>。经口服后的黄酮苷类化合物,首先被肠道水解酶或肠道菌群代谢成苷元(柚皮素与橙皮素)吸收进入体内<sup>[6-7]</sup>。因此,其起效的主要形式可能为以游离形式存在的柚皮素与橙皮素。研究也进一步证实柚皮素具有抗抑郁的作用<sup>[8]</sup>;橙皮素能够作用于血脑脊液屏障<sup>[9]</sup>,具有神经保护的作用<sup>[10]</sup>。此外,这些化合物对临床上常用的一些药物会发生相互作用,影响药物的疗效<sup>[11-13]</sup>。因此,有必要以血浆中柚皮素与橙皮素为活性标志物,通过比较枳实、枳实-栀子、枳实-厚朴、栀子厚朴汤4个配伍组中柚皮素与橙皮素在大鼠体内的药代动力学变化规律,探讨栀子厚朴汤配伍的合理性,并为栀子厚朴汤抗抑郁机制研究与临床合理用药提供指导。

## 1 材料

### 1.1 药材与试剂

橙皮苷与柚皮素(纯度大于98%,泽朗医药科技有限公司);橙皮素与新橙皮苷(纯度大于98%,成都普思生物科技有限公司);柚皮苷(纯度大于98%),黄芩素(纯度大于98%)购自中国药品生物制品检定所;厚朴(*Magnoliae Officinalis Cortex*,产地四川,批号:100109),枳实(*Aurantii Fructus Immaturus*,产地江西,批号:100118)购于健军药店;栀子(*Gardeniae Fructus*,产地江西,批号:091222),购于先声药店。以上药材经中国药科大学中药学院秦民坚教授鉴定,栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis (*Rubiaceae*) 的干燥果实;枳实为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantii* L. (*Rutaceae*) 的干燥幼果;厚朴为木兰科植物厚朴 *Magnoliae officinalis* (*Magnoliaceae*) 的干燥树皮、根

皮及枝皮。以上三味药材粉碎,过60目筛,待用。

甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司);水为纯净水;其余试剂均为市售分析纯。

### 1.2 仪器

LC-2010C 高效液相色谱仪, LC-Solution 工作站(日本岛津公司); AB135-S 电子天平(美国梅特勒-托利多公司); AEU-210 电子天平(日本岛津公司)。

### 1.3 动物

健康SD大鼠(普通级),雄性,200~250 g,购自南京青龙山动物养殖中心。动物合格证号: SCXK(苏)2010-0009。

## 2 方法

### 2.1 汤剂的准备

2.1.1 栀子厚朴汤 取栀子9 g、枳实10 g、厚朴62.4 g,加10倍质量的水浸泡0.5 h后,武火煮沸,文火煎煮1 h,如此再分别以8倍质量、5倍质量水同法煎煮,合并3次滤液,适当浓缩,转移至100 mL量瓶中,用水定容,即得栀子厚朴汤(ZZHPD)。

2.1.2 方药不同配伍汤剂 具体制备如下:A:枳实10 g; B:枳实(10 g)-栀子(9 g); C:枳实(10 g)-厚朴(62.4 g)。分别按与ZZHPD相同的煎煮方法制备,即得枳实汤剂(ZS),枳实-栀子汤剂(ZS-ZZ)与枳实-厚朴汤剂(ZS-HP)。

2.1.3 灌胃汤剂中柚皮苷、橙皮苷与新橙皮苷的含量测定 ZZHPD及其不同配伍汤剂中柚皮苷、橙皮苷与新橙皮苷的含量测定参考文献[3]。

2.2 柚皮素、橙皮素血药浓度及药代动力学参数的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Lichrospher C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 磷酸水溶液(A)-甲醇(B), 梯度洗脱; 洗脱程序如下: 48% B(0~20 min); 48%~52% B(20~25 min); 52% B(25~30 min)。流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 288 nm; 柱温: 40 °C; 进样量: 40 μL。

### 2.2.2 溶液的配制

内标溶液的配制 取黄芩素适量,精密称定,置10 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释配置成1.060 μg/mL的内标储备液。取一定量的内标储

备液, 稀释至 26.50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  黄芩素内标溶液。

**标准溶液的配制** 精密称定柚皮素对照品 10.00 mg, 橙皮素对照品 10.08 mg, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 配制成 1.000 mg/mL 的柚皮素标准品储备液与 1.008 mg/mL 的橙皮素标准品储备液。分别取储备液适量并混合, 用甲醇稀释成柚皮素与橙皮素的系列标准溶液备用。

**2.2.3 动物分组与给药** 24 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后, 随机等分为 4 组。实验前 12 h 禁食, 自由饮水。4 组大鼠分别给予 ZS, ZS-ZZ, ZS-HP 与 ZZHPD (10.83 mL/kg)。其中, 灌胃的体积按与临床等效的枳实生药材量计算。各组大鼠分别于给药前采空白血并于给药后 0.25, 0.5, 1.5, 3, 5, 7, 9, 12, 14, 16, 18, 24 h 眼眶静脉丛取血于肝素化的 1.5 mL 离心管中, 轻轻混匀, 离心 (5 000 r/min) 5 min, 分离血浆置  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。

**2.2.4 血浆样品处理** 取 10 mL 刻度离心管, 依次加入大鼠血浆 0.1 mL, 26.50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  黄芩素内标溶液 10  $\mu\text{L}$ , 抗坏血酸水溶液 (200 mg/mL) 10  $\mu\text{L}$ , 涡旋混合, 再加入 10 mol/L HCl 溶液 50  $\mu\text{L}$ , 涡旋混合。最后加入乙醚 1 mL, 涡旋萃取 5 min, 4 000 r/min 离心 5 min, 转移乙醚层置另一干净的离心管中。将乙醚挥干后, 用 48% 甲醇水溶液 100  $\mu\text{L}$  复溶, 16 000 r/min 离心 10 min, 取上清 40  $\mu\text{L}$  进样。

**2.2.5 大鼠体内药代动力学参数计算与统计分析**

将血浆样品按“2.2.4”项下方法处理, 进样, 记录色谱图, 按内标法计算各时间点血浆药物浓度。采用软件 BAPP 3.1 对大鼠体内的药时曲线进行非房室模型拟合, 并采用 SPSS 11.5 软件 One-way ANOVA 对 ZS, ZS-ZZ, ZS-HP 和 ZZHPD 4 组之间的药代动力学参数进行比较。

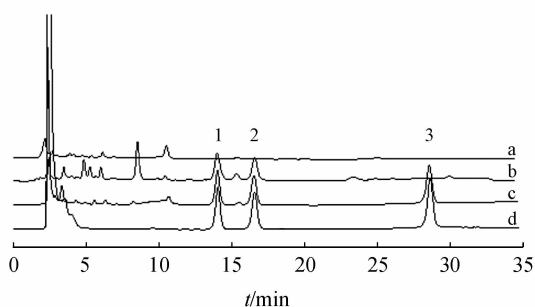
## 3 结果

### 3.1 方法专属性考察

分别取大鼠空白血浆、加入柚皮素与橙皮素及内标黄芩素的加药血浆、灌胃栀子厚朴汤后大鼠血浆各 100  $\mu\text{L}$ , 按“2.2.4”项下方法处理, 进样, 记录色谱图。结果表明: 血浆中内源性物质与其他药物代谢物不干扰测定 (见图 1)。

### 3.2 标准曲线的绘制与方法的最低定量限

取大鼠空白血浆 7 份, 每份 100  $\mu\text{L}$ , 分别加入



**Figure 1** Chromatograms of blank plasma (a), plasma sample obtained at 7 h after oral administration of Zhizi Houpu decoction (ZZHPD) (b), blank plasma spiked with standard solution (c) and standard solution of naringenin, hesperetin and baicalein (d)  
1: Naringenin; 2: Hesperetin; 3: Baicalein

柚皮素与橙皮素系列标准混合液使柚皮素血药浓度为 0.100 0, 0.200 0, 1.250, 2.500, 5.000, 10.00, 20.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 橙皮素血药浓度为 0.100 8, 0.201 6, 1.260, 2.520, 5.040, 10.08, 20.16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。按“2.2.4”项下操作, 同法处理空白血浆进样, 记录色谱图。以血浆中待测物的质量浓度为横坐标 ( $x$ ), 待测物与内标物的峰面积比为纵坐标 ( $y$ ), 用加权最小二乘法进行回归运算, 得线性方程为: 柚皮素:  $y = 0.349 7x + 0.011 05, r = 0.999 7$ ; 橙皮素:  $y = 0.336 7x + 0.002 6, r = 0.999 2$ 。柚皮素与橙皮素的最低定量限分别为: 100.0 ng/mL 与 100.8 ng/mL。

### 3.3 准确度、精密度试验与提取回收率

配制低、中、高 3 个浓度柚皮素 (0.200 0, 2.000, 16.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 与橙皮素 (0.216 0, 2.016, 16.13  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的含药血浆样品各 15 份, 按“2.2.4”项下方法处理, 分别于 1 日内连续 3 次和连续 3 d (每天 1 次) 进样测定, 计算日内、日间精密度和准确度。结果表明: 本方法精密度和准确度符合生物样品分析要求 (表 1)。

取大鼠空白血浆, 按“2.2.5”项下方法分别配制低、中、高 3 个浓度柚皮素与橙皮素的血浆样品各 5 份, 按“2.2.4”项下方法处理, 进样, 以测得的峰面积与相应浓度标准品溶液峰面积计算提取回收率。结果, 柚皮素在各质量浓度下的提取回收率 (%) 为 75.91, 77.23, 80.97; 橙皮素在各质量浓度下的提取回收率 (%) 分别为 69.53, 74.89, 79.54; 内标物黄芩素的提取回收率为 (%) 71.6。且测定结果的 RSD 均符合要求。

**Table 1** Intra-day and inter-day precision and accuracy for determination of naringenin and hesperetin in rat plasma by HPLC ( $n=5$ )

Compd.	$c$ (nominal)/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Intra-day precision			Inter-day precision		
		Observed/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Accuracy/%	RSD/%	Observed/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Accuracy/%	RSD/%
Naringenin	0.200 0	0.214 0	104.7	8.50	0.198 6	99.32	11.0
	2.000	2.181	108.8	2.40	2.018	100.9	8.31
	16.00	16.39	102.4	3.50	16.00	100.0	7.67
Hesperetin	0.216 0	0.220 2	109.2	3.00	0.201 6	93.35	9.60
	2.016	2.203	109.3	3.30	2.052	101.8	8.08
	16.13	15.97	99.04	3.40	15.79	97.91	7.47

### 3.4 稳定性试验

分别考察了血浆样品  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ /室温反复冻融 3 次及  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  放置 2 周的稳定性,同时考察了样品残渣在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下放置 36 h 与样品处理好后在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  进样器中的稳定性,结果表明:样品在储存及测定过程中均稳定。样品残渣在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下放置 36 h 与样品处理好后放置  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  进样器 8 h 均无明显变化。

### 3.5 灌胃汤剂中柚皮苷、橙皮苷与新橙皮苷的含量与给药剂量

ZZHPD、ZS、ZS-HP 与 ZS-ZZ 中柚皮苷的含量分别为:5.574,5.614,5.973,5.654 mg/mL,折算为苷元柚皮素后各组相应的给药剂量为 28.28,28.48,29.39,28.68 mg/kg;橙皮苷与新橙皮苷的总含量分别为:4.725,4.812,4.866,4.768 mg/mL,折算为苷元橙皮素后各组相应的给药剂量为 25.31,25.78,26.07,25.54 mg/kg。

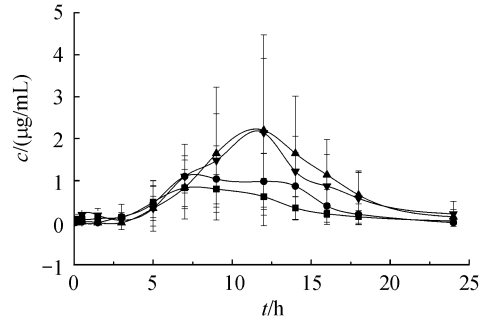
### 3.6 大鼠灌胃给予配伍汤剂后血浆中柚皮素与橙皮素的药代动力学

大鼠灌胃给予 ZS、ZS-ZZ、ZS-HP 与 ZZHPD 汤剂后,各组的血药浓度-时间曲线见图 2,3。从图中可以看出 ZS-ZZ 组与 ZS-HP 组的柚皮素与橙皮素的血药浓度-时间曲线相近;ZZHPD 组与 ZS 组的柚皮素与橙皮素的血药浓度-时间曲线相近。采用 BAPP 软件计算相应的药动参数,结果见表 2。

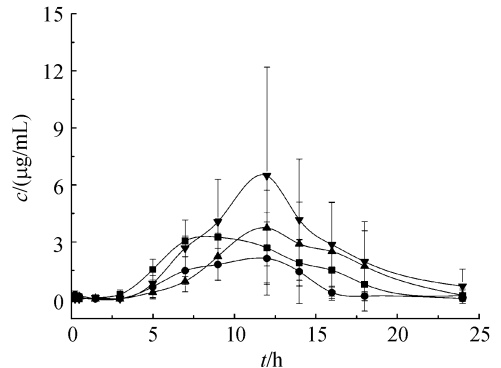
**Table 2** Pharmacokinetic parameters of naringenin and hesperetin in rat plasma after oral administration of ZS, ZS-ZZ, ZS-HP and ZZHPD preparations ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Group	Naringenin				Hesperetin			
	$t_{\max}/\text{h}$	$c_{\max}/(\mu\text{g/mL})$	$t_{1/2}/\text{h}$	$\text{AUC}_{0-24\text{h}}/(\mu\text{g}\cdot\text{h/mL})$	$t_{\max}/\text{h}$	$c_{\max}/(\mu\text{g/mL})$	$t_{1/2}/\text{h}$	$\text{AUC}_{0-24\text{h}}/(\mu\text{g}\cdot\text{h/mL})$
ZS	$9.33 \pm 3.01$	$1.59 \pm 0.660$	$2.28 \pm 0.870$	$12.0 \pm 5.14$	$9.83 \pm 2.48$	$2.93 \pm 1.15^{\#}$	$1.88 \pm 0.510$	$19.70 \pm 10.4^{\#}$
ZS-ZZ	$12.2 \pm 2.20^*$	$2.46 \pm 2.10$	$3.47 \pm 2.75$	$21.0 \pm 17.3$	$12.0 \pm 2.8^*$	$4.83 \pm 2.06$	$3.22 \pm 3.35$	$36.3 \pm 15.9$
ZS-HP	$11.4 \pm 2.60$	$2.32 \pm 1.66$	$3.61 \pm 1.34$	$19.6 \pm 14.0$	$11.4 \pm 3.7$	$6.99 \pm 5.51^{\#}$	$4.14 \pm 2.15$	$55.8 \pm 37.2^{\#}$
ZZHPD	$8.40 \pm 2.20^*$	$0.960 \pm 0.460$	$5.42 \pm 4.47$	$8.16 \pm 4.07$	$8.40 \pm 2.2^*$	$3.66 \pm 1.21$	$3.66 \pm 1.64$	$34.9 \pm 14.5$

\*  $P < 0.05$  for ZZHPD group vs ZS-ZZ group;  $^{\#}P < 0.05$  for ZS group vs ZS-HP group



—■— ZZHPD; —●— ZS; —▲— ZS-ZZ; —▼— ZS-HP

**Figure 2** Plasma concentration-time profile of naringenin after oral administration of ZZHPD, Zhishi decoction (ZS), Zhishi-Zhizi decoction (ZS-ZZ) and Zhishi-Houpu decoction (ZS-HP) in rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

—■— ZZHPD; —●— ZS; —▲— ZS-ZZ; —▼— ZS-HP

**Figure 3** Plasma concentration-time profile of hesperetin after oral administration of ZZHPD, Zhishi decoction (ZS), ZS-ZZ and ZS-HP in rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

## 4 讨论

根据预实验结果,当采用等度洗脱时,50 min 保留时间处血浆样品中有干扰物,且柚皮素、橙皮素与内标黄芩素峰形较宽(2 min 左右),故本实验采用了梯度洗脱系统。另外由于柚皮素、橙皮素与黄芩素均为弱酸性化合物,为进一步改善峰形,考察了含乙酸、磷酸、甲酸等3种流动相体系,结果发现0.1%磷酸水溶液-甲醇体系能够明显地改善色谱峰形。

大鼠灌胃 ZS、ZS-ZZ、ZS-HP、ZZHPD 汤剂后所得的药代动力学结果表明,药材配伍对药代动力学参数有影响。文献中关于大鼠灌胃给予柚皮苷、橙皮苷与新橙皮苷后,游离柚皮素与橙皮素在体内的药理学研究的报道较少。大鼠灌胃给予枳实汤剂与栀子厚朴汤剂后,柚皮素的  $t_{\max}$  与 Fang 等<sup>[14]</sup>进行的大鼠口服 746.7 mg/kg 柚皮苷后的  $t_{\max}$  (9 h) 相近,但是其  $AUC_{0-24h}$  ( $1\ 252.24 \pm 461.66$  ng/mL) 比本实验的结果低,可能为栀子厚朴汤或枳实汤剂中的共存成分对柚皮素的生物利用度产生了影响。在研究大承气汤在大鼠体内的药代动力学研究中<sup>[15]</sup>,测得的柚皮素与橙皮素的达峰时间为 6 h 左右,均比本实验的研究结果低。

柚皮素与橙皮素两个成分的药代动力学行为在同一个汤剂中基本一致,但相同成分在不同的汤剂中则因配伍的影响各不相同。虽然柚皮苷的给药剂量比橙皮苷与新橙皮苷总的给药剂量大,但是各组大鼠体内柚皮素的  $c_{\max}$  与  $AUC_{0-24h}$  均显著地低于橙皮素相应参数。枳实-栀子组的柚皮素与橙皮素的  $t_{\max}$  均显著大于栀子厚朴汤组,表明厚朴、栀子与枳实合用后,可增加柚皮素与橙皮素的吸收速度。枳实-厚朴组的  $c_{\max}$  与  $AUC_{0-24h}$  显著大于枳实组,说明厚朴可显著提高橙皮素的生物利用度。其余的药代动力学参数无显著性差异。

当枳实与栀子、厚朴共同配伍时,柚皮素的  $c_{\max}$  与  $AUC_{0-24h}$  均小于其他配伍组;栀子厚朴汤组橙皮素的生物利用度与单味枳实组相比,虽然一定程度增加了,但其增加的程度低于枳实-厚朴配伍对橙皮素生物利用度的增加程度,推测可能栀子厚朴汤中3味药材共同配伍时产生了某种药物相互作用部分抵消了厚朴或栀子对橙皮素吸收量增加的作用,这个推论还有待于进一步的实验验证。

## 参考文献

- [1] Kulkarni SK, Dhir A. Current investigational drugs for major depression[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2009, **18**(6):767-788.
- [2] 朱兰(Zhu L),冯芳(Feng F),任杨帆(Ren YF),等. 多种色谱-波谱联用技术分析栀子厚朴汤中特征成分及其配伍前后的溶出变化[J]. *中国药科大学学报(J China Pharm Univ)*, 2009, **40**(5):426-430.
- [3] Aggarwal A, Gaur V, Kumar A. Nitric oxide mechanism in the protective effect of naringin against post-stroke depression (PSD) in mice [J]. *Life Sci*, 2010, **86**(25/26):928-935.
- [4] Fernandez SP, Nguyen M. Flavonoid glycosides, myricitrin, gossypin and naringin exert anxiolytic action in mice [J]. *Neurochem Res*, 2009, **34**(10):1867-1875.
- [5] Martínez MC, Fernández SP, Loscalzo LM. Hesperidin, a flavonoid glycoside with sedative effect, decreases brain PERK1/2 levels in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2009, **92**(2):291-296.
- [6] Erlund I, Meririnne E, Alftan G, et al. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanone naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice [J]. *J Nutr*, 2001, **131**(2):235-241.
- [7] Manach C, Morand C, Gil-Izquierdo A, et al. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2003, **57**(2):235-242.
- [8] Yi LT, Li CF, Zhan X, et al. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of the flavonoid naringenin in mice [J]. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry*, 2010, **34**(7):1223-1228.
- [9] Youdim KA, Dobbie MS, Kuhnle G, et al. Interaction between flavonoids and the blood-brain barrier: *in vitro* study [J]. *J Neurochem*, 2003, **85**(1):180-192.
- [10] Rainey-Smith S, Schroetke LW, Bahia P, et al. Neuroprotective effects of hesperetin in mouse primary neurones are independent of CREB activation [J]. *Neurosci Lett*, 2008, **438**(1):29-33.
- [11] Uesawa Y, Mohri K. Hesperidin in orange juice reduces the absorption of celirolol in rats [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2008, **29**(3):185-188.
- [12] Zhang H, Wong CW, Coville PF, et al. Effect of the grapefruit flavonoid naringin on pharmacokinetics of quinine in rats [J]. *Drug Metabol Drug Interact*, 2000, **17**(1/4):351-363.
- [13] Fernández SP, Wasowski C, Paladini AC, et al. Synergistic interaction between hesperidin, a natural flavonoid, and diazepam [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, **512**(2/3):189-198.
- [14] Fang T, Wang Y, Ma Y, et al. A rapid LC/MS/MS quantitation assay for naringin and its two metabolites in rats plasma [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2006, **40**(2):454-459.
- [15] Liu Y, Xu F, Zhang Z. Simultaneous determination of naringenin and hesperetin in rats after oral administration of *Da-Cheng-Qi* decoction by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, **22**(7):736-745.