

· 药 学 基 础 ·

## 基于超分子“气析”理论构建中药制剂靶向性 评价方法及实验验证

王敏存, 胡超, 贺玉婷, 周燕子, 刘有志, 樊启猛, 陈定芳,  
李海英, 潘雪, 周逸群, 贺福元\*

(湖南中医药大学药学院, 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室,  
中医药超分子机理与数理特征化实验室, 长沙 410208)

**[摘要]** 目的: 构建基于超分子“气析”理论的中药制剂的靶向性评价方法, 并对柴胡影响片仔癀的肝靶向性进行研究。方法: 采用分子连接性指数分析主要归肝经的药材、片仔癀中的各成分“印迹模板”特征及肝靶向趋势; 利用中药多成分“印迹模板”自主作用特征, 结合靶区动力学和总量统计矩原理建立中药制剂的靶向性评价方法, 并对片仔癀组、柴胡组、片仔癀+柴胡组、空白组4组作用的肝癌大鼠进行实验验证。结果: 扣除主要归肝经药材分子连接性指数平均值后, 片仔癀组与柴胡组的分子连接性指数相似度0.376 8, 片仔癀+柴胡组与柴胡组的分子连接性指数相似度0.988 2, 预测柴胡可增强片仔癀的肝靶向性。建立中药复方靶向性的评价体系, 包括相对总量摄取率( $RUE_T$ ), 相对总量浓度( $RC_T$ ), 相对“印迹”趋势( $RIT_T$ )及相对“印迹”方差( $RIV_T$ ); 各组织中肝脏的 $RUE_T$ 和 $RC_T$ 均为最大( $RUE_T=1.88>1$ ,  $RC_T=2.30>1$ ), 其他组织这2个参数则均 $<1$ , 说明片仔癀结合柴胡后能增加其在肝脏的分布, 肝靶向性增强; 除血浆外, 其他组织的 $RIT_T$ 及 $RIV_T$ 均在1.0附近波动, 说明靶向修饰不改变片仔癀的“印迹”作用趋势, 对成分种类也无明显影响。结论: 在超分子“气析”理论指导下, 可建立以分子连接性指数和总量统计矩参数表征中药制剂多成分“印迹”作用的靶向性评价参数体系, 实现对中药制剂靶向性的评价, 柴胡的加入可增加片仔癀的肝靶向性。

**[关键词]** 中医药; 超分子“气析”理论; 分子连接性指数; 肝靶向性; 片仔癀; 柴胡; 印迹模板

**[中图分类号]** R22;R94;R28;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)20-0113-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211451

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210413.0918.001.html>

**[网络出版日期]** 2021-04-13 11:05

### Construction of Evaluating Method and Experimental Research for Targeting of Traditional Chinese Medicine Preparations Based on Supramolecular Qi Chromatography Theory

WANG Min-cun, HU Chao, HE Yu-ting, ZHOU Yan-zi, LIU You-zhi, FAN Qi-meng, CHEN Ding-fang,  
LI Hai-ying, PAN Xue, ZHOU Yi-qun, HE Fu-yuan\*

(Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-physics Characterization for  
Traditional Chinese Medicine, Hunan Provincial Key Laboratory of  
Druggability and Preparation Modification for Chinese Materia Medica, School of Pharmacy,  
Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To construct the targeting evaluation method of traditional Chinese medicine

**[收稿日期]** 20210104(022)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81573691, 81874507, 81803729, 81903759); 湖南省自然科学基金项目(2019JJ50430); 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室开放基金项目(201705); 长沙市科技计划项目(kq1907137); 长沙市科学技术局项目(kq2004059); 湖南省教育厅优秀青年项目(20B438)

**[第一作者]** 王敏存, 在读硕士, 从事中药复方的生物有效性及其新制剂、新技术与新工艺研究, E-mail: 13312587641@163.com

**[通信作者]** \* 贺福元, 教授, 博士生导师, 从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征化研究, Tel: 0731-85381372, E-mail: pharmsharking@tom.com

(TCM) preparations based on supramolecular Qi chromatography theory, and to study the liver targeting effect of Bupleuri Radix on Pien Tze Huang. **Method:** The molecular connectivity index (MCI) was used to analyze the characteristics of imprinted template and liver targeting tendency of TCM mainly attributed to liver meridian and components of Pien Tze Huang, and combined with target dynamics and total statistical moment principle, aimed at the independent action characteristics of multi-component imprinted template of TCM, a method for evaluating the targeting of TCM preparations was established. Hepatoma rats in Pien Tze Huang group, Bupleuri Radix group, Pien Tze Huang+Bupleuri Radix group and blank group were tested and verified. **Result:** After the average value of MCI of TCM mainly attributed to liver meridian was deducted, the MCI similarity between Pien Tze Huang group and Bupleuri Radix group was 0.376 8, Pien Tze Huang+Bupleuri Radix group and Bupleuri Radix group was 0.988 2, so it was predicted that Bupleuri Radix could enhance the liver targeting of Pien Tze Huang. A system for evaluating the targeting of TCM compounds was established, including relative total uptake efficiency ( $RUE_T$ ), relative total concentration ( $RC_T$ ), relative imprinted tendency ( $RIT_T$ ) and relative imprinted variance ( $RIV_T$ ). The  $RUE_T$  and  $RC_T$  of liver were the highest in all tissues ( $RUE_T=1.88>1$ ,  $RC_T=2.30>1$ ), and the corresponding values of other tissues were all  $<1$ , indicating that Pien Tze Huang combined with Bupleuri Radix could increase its distribution in liver and enhance liver targeting. Except for plasma, the  $RIT_T$  and  $RIV_T$  of other tissues fluctuated around 1.0, indicating that targeted modification did not change imprinted tendency of Pien Tze Huang and had no significant effect on the types of components. **Conclusion:** Under the guidance of supramolecular Qi chromatography theory, a targeting evaluation parameter system can be established to characterize the multi-component imprinted effect of TCM preparations by MCI and total statistical moment parameters, so as to realize the evaluation of targeting of TCM preparations. The addition of Bupleuri Radix can increase the liver targeting of Pien Tze Huang.

**[Key words]** traditional Chinese medicine; supramolecular Qi chromatography theory; molecular connectivity index; liver targeting; Pien Tze Huang; Bupleuri Radix; imprinted template

靶向制剂是一种药物递送系统,其借助载体、配体或抗体等可将药物锁定在特定的器官、组织或细胞,并浓集有效的剂量以达到集中治疗的目的<sup>[1]</sup>。目前中药靶向制剂多由单一成分或有效部位制备而成<sup>[2-4]</sup>,如姜黄素脂质体<sup>[5]</sup>、水飞蓟宾纳米粒<sup>[6]</sup>、姜黄素胶束<sup>[7]</sup>、汉黄芩素白蛋白微球<sup>[8]</sup>等,鲜有全方成分不分离而整体制成靶向制剂的研究报道,中医药配伍特色未得到体现。实际上,中医药理论早已存在靶向这一理念,中药复方按“君臣佐使”配伍组方,其中使药有时就有引经作用,可引诸药直达病灶,类似于靶向作用;且中药归经、引经理论创立时间更早、使用更方便、作用更主动,一直为中医临床所用,可见归经、引经理论是靶向理论的先驱,可借助“引经报使”实现中药复方多成分体系自主靶向的目的。而中医药超分子“气析”理论中经络脏腑、组织器官“印迹模板”与中药成分群“印迹模板”的自主识别与结合正是这种自主靶向作用的体现,中药靶向制剂发挥药效系入血“印迹模板”群对人体经络脏腑产生选择靶向性的结果,可用分子连接性指数(MCI)及中药指纹图谱总量统计矩参数表征其

“印迹模板”特征及其“印迹”作用。

片仔癀是国家一级中药保护品种,由牛黄、麝香、三七、蛇胆等药味精制而成,现代药理研究表明其具有抑制癌细胞增殖、解热抗炎、对化学性及酒精性肝损伤有保护作用<sup>[9]</sup>,在治疗肝性疾病(如病毒性肝炎、肝损伤、原发性肝癌等)上具有显著疗效<sup>[10-12]</sup>,但片仔癀的特异性、靶向性不强,使其药效不能精准发挥,若能根据中医药理论,结合引经中药,制成适宜多成分群的靶向制剂,可进一步提高疗效,实现精准、低量及价值最大化的靶向性用药目标。柴胡作为肝经引经药的应用历史悠久<sup>[13]</sup>,若能作为片仔癀的引肝经药,将有可能增加片仔癀的临床疗效,这在一定程度上已被柴胡可作为姜黄素<sup>[14]</sup>、大黄<sup>[15]</sup>、龙胆苦苷<sup>[16]</sup>、索拉非尼<sup>[17]</sup>的肝经引经药报道所佐证。基于此,本研究以片仔癀为模型药物,将柴胡作为肝经药引,拟进行中药复方靶向性的研究,以期设计中药复方靶向性的新评价方法。

## 1 材料

2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司,包括Breeze色谱工作站和2487型双波长检测器),

TGL20型台式冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),Q/OANN10-2008型分析天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司],QT-2型旋涡混合器(上海琪特分析仪器有限公司),MTN-2800W型氮吹仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。片仔癀(漳州片仔癀药业股份有限公司,批号1504017,1509051),人参皂苷Rg<sub>1</sub>和Rb<sub>1</sub>对照品(北京赛百草科技有限公司,批号分别为SH0762,SH0759,纯度均≥98%),二乙基亚硝酸胺(美国Sigma公司,批号N0756),生理盐水(辰欣药业股份有限公司,批号1801030729),水为纯净水,甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯;柴胡饮片购于湖南中医药大学含浦校区周边药店,经湖南中医药大学石继连教授鉴定为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* 的干燥根。

SPF级雄性SD大鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,体质量(200±20)g,合格证号SCXK(湘)2011-0003。本文涉及的动物实验经湖南中医药大学实验动物伦理委员会批准,批准号LL2019092502。

## 2 方法

### 2.1 基本原理

**2.1.1 基于MCI的组织靶向性预测** “印迹模板”是主客分子间有效原子基团的空间点阵结构,概念虽抽象,但可用MCI进行定量表征。MCI可用各原子点价乘积平方根的倒数来表示,分零阶、一阶、二阶及多阶指数,计算原理及方法见文献[18],本课题组前期用MCI表征金银花、山银花体外成分“印迹模板”,实现了对中药质量稳定性与均一性的宏观控制<sup>[19]</sup>。本研究以片仔癀加肝引经药柴胡后的肝靶向性研究为例,基于拓扑指数近、化学结构似的理论指导,结合前期归肝经中药成分“印迹模板”特征的相关研究<sup>[20]</sup>,通过收集全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材《中药学》中主要归肝经的中药,计算各成分MCI及平均MCI,再计算片仔癀组、柴胡组及片仔癀+柴胡组各成分MCI及平均MCI,将后三组平均MCI扣除主要归肝经中药的平均MCI后,再进行片仔癀配伍柴胡前后成分群“印迹模板”与柴胡成分群“印迹模板”结构相似性的比较,从而预测片仔癀靶向肝经的可能性。其中,多阶MCI的相似度按夹角余弦法计算<sup>[21]</sup>。

**2.1.2 基于总量统计矩参数的组织靶向性评价方法建立** 总量统计矩法是将一张完整的色谱指纹图谱看作由n个特征峰响应值曲线的叠加而成,用统计矩原理来分析其内在特征的一种方法。由于

各成分在色谱柱上的动力学行为实质上可看成是成分对色谱柱的印迹行为,也就是成分分子以随机的角度方向接触色谱柱固定相的分子,两者发生超分子主客体“印迹模板”的“印迹”作用,这种作用关系最终反映到整个色谱柱对药物分子的“印迹”综合作用结果,以保留时间体现出来,若采用总量统计矩原理进行计算,可求得总量零阶矩,即总体“印迹”强度,用AUC<sub>T</sub>表示;总量一阶矩,即总体“印迹”作用趋势,用MCRT<sub>T</sub>表示;总量二阶矩,即总体“印迹”方差,用VCRT<sub>T</sub>表示,具体原理及计算方法见文献<sup>[22]</sup>。当遇到基质组成较中药成分复杂的血样及组织指纹图谱时,可根据总量统计矩的加合性<sup>[23]</sup>,将含药生物样品总量统计矩参数扣除空白生物样品的相应参数,即可减少生物基质的干扰,并用测量“印迹模板”的作用特征。

结合药物动力学,药物血管外给药后被吸收进入全身循环,药物的吸收和消除速率用一级速率过程描述,而靶区作用的动力学示意图见图1。图中X<sub>0</sub>为给药剂量;X<sub>a</sub>为吸收部位可被吸收进入全身循环的药量;K<sub>a</sub>为一级吸收速率常数;X为体内药量;X<sub>b</sub>为吸收进入靶组织药量;K<sub>r</sub>为从全身循环吸收进入靶组织的吸收速率常数;K为一级消除速率常数。

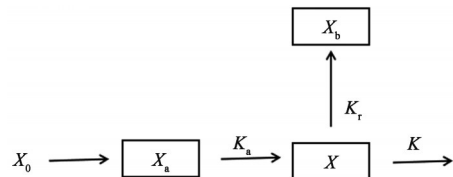


图1 中药制剂血管外给药的单室模型靶向动力学数学模型

Fig. 1 Mathematical model of Targeting kinetics in a single-compartment model for extravascular administration of traditional Chinese medicine preparations

综上所述,中药复方制剂的靶向性评价指标有4个。①相对总量摄取率(RUE<sub>T</sub>)。单成分靶部位的相对摄取率(RUE)用公式  $RUE = (AUC_j)_m / (AUC_j)_s$  计算。式中m表示加以靶向修饰的制剂,s表示未进行靶向修饰的同一试药,j代表第j个组织或器官,AUC表示靶区成分浓度-时间曲线下面积。RUE代表2组药物的分布情况,RUE>1表示靶向修饰的制剂对靶器官或组织有靶向增强作用,数值越大,靶向增强效果越好。由图1可知,单成分制剂血管外给药靶区浓度-时间曲线函数的拉氏象函数为  $L[C(t)] = X_0 \times F \times K_a / [V \times (S + K_a) \times (S + K) \times (S + K_r)]$ ,式中F表示吸收率,S为参变量或拉氏运算符,V表示

表观分布容积,  $t$  表示时间,  $C$  表示靶区药物浓度,  $L$  为拉普拉斯变换符号。当  $S=0$  时, 可得  $AUC=X_0 \times F / (V \times K \times K_r)$ ,  $RUE=[X_0 \times F / (V \times K \times K_m)] / [X_0 \times F / (V \times K \times K_{rs})]=K_{rs} / K_m$ ; 同理, 当  $S=0$  时,  $n$  个成分的  $RUE_T = \sum_{i=1}^n [X_0 \times F / (V \times K \times K_m)] / \sum_{i=1}^n [X_0 \times F / (V \times K \times K_{rs,i})] \propto \sum_{i=1}^n K_{rs,i} / \sum_{i=1}^n K_{m,i}$ 。②相对总量浓度 ( $RC_T$ )。单成分的靶部位稳态浓度 ( $C_r^{ss}$ ) 之比为  $RC=(C_r^{ss})_m / (C_r^{ss})_s$ 。应用拉氏变换表, 得靶部位药物浓度 ( $C_r$ ) 与时间间隔  $\tau$  的稳态关系式为  $C_r^{ss}=(F \times X_0 \times K_a / V) \times \{e^{-K_a \tau} / [(K - K_a) \times (K_r - K_a) \times (1 - e^{-K_a \tau})] + e^{-K_r \tau} / [(K_r - K) \times (K_a - K) \times (1 - e^{-K_r \tau})] + e^{-K \tau} / [(K_a - K_r) \times (K - K_r) \times (1 - e^{-K \tau})]\}$ , 则靶区单成分  $RC = \{e^{-K_a \tau} / [(K - K_a) \times (K_r - K_a) \times (1 - e^{-K_a \tau})] + e^{-K_r \tau} / [(K_r - K) \times (K_a - K) \times (1 - e^{-K_r \tau})] + e^{-K \tau} / [(K_a - K_r) \times (K - K_r) \times (1 - e^{-K \tau})]\} / \{e^{-K_a \tau} / [(K - K_a) \times (K_r - K_a) \times (1 - e^{-K_a \tau})] + e^{-K_r \tau} / [(K_r - K) \times (K_a - K) \times (1 - e^{-K_r \tau})] + e^{-K \tau} / [(K_a - K_r) \times (K - K_r) \times (1 - e^{-K \tau})]\} \propto (K_{rs} / K_m)$ 。同理, 多成分靶部位的稳态浓度比则为  $RC_T \propto \sum_{i=1}^n K_{rs,i} / \sum_{i=1}^n K_{m,i}$ 。在指纹图谱中, 各峰响应面积  $A_i$  与各成分浓度  $C_i$  成线性关系, 故可用各峰响应面积  $A_i$  之和 (总量零阶矩, 用  $\sum_{i=1}^n A_i$  表示) 的变化衡量各成分浓度之和的变化, 即总量稳态浓度可用各峰面积之和表示, 定义为  $\sum_{i=1}^n A_i = f_i C_i$ , 其中  $f$  为活度系数, 即  $\sum_{i=1}^n A_i$  越大, 表示药物各成分在组织中浓集越多, 成分群“印迹模板”的作用强度越大, 故多成分体系靶向性的  $RUE_T$  可用相对总量稳态浓度的累积面积 (一个稳态给药周期  $\tau$  的曲线总面积) 表示, 用最大和最小总量统计矩的梯形法确定;  $RC_T$  可用相对  $\sum_{i=1}^n A_i$  表示。③相对“印迹”趋势 ( $RIT_T$ ) 为靶部位各成分的“印迹”平均驻留时间, 用指纹图谱相对总量一阶矩表示, 可反映多成分构成比的变化情况, 有  $RIT_T = (MCRT_T)_m / (MCRT_T)_s = [\sum_{i=1}^n (MCRT_i)_m \times (f_i \times C_i)_m] / [\sum_{i=1}^n (MCRT_i)_s \times (f_i \times C_i)_s]$ 。④相对“印迹”方差 ( $RIV_T$ ) 为靶部位各成分的“印迹”驻留时间方差, 用指纹图谱  $VCRT_T$  表示, 可反映多成分“印迹”作用的离散情况, 即  $RIV_T = (VCRT_T)_m / (VCRT_T)_s = \{[\sum_{i=1}^n (MCRT_i^2 + VCRT_i)_m \times (f_i \times C_i)_m] / \sum_{i=1}^n (f_i \times C_i)_m - (MCRT_T)_m^2\} / \{[\sum_{i=1}^n (MCRT_i^2 + VCRT_i)_s \times (f_i \times C_i)_s] / \sum_{i=1}^n (f_i \times C_i)_s - (MCRT_T)_s^2\}$ 。

$(MCRT_T^2 + VCRT_T)_s \times (f_i \times C_i)_s] / \sum_{i=1}^n (f_i \times C_i)_s - (MCRT_T)_s^2\}$ 。 $RUE_T$  代表两组药物的分布情况,  $RUE_T > 1$  表示靶向修饰的制剂对某器官或组织有靶向增强作用, 数值越大, 靶向增强效果越好;  $RC_T > 1$  表示药物对组织或器官有选择性, 即靶向性越大, 数值越大, “印迹”作用强度增强越大, 靶向效果越好;  $RIT_T$  用于表征“印迹”趋势, 若  $RIT_T$  近似于 1, 表明靶向修饰不改变药物的“印迹”作用趋势, 药理作用不改变;  $RIV_T$  表示“印迹”作用成分的分散性, 可用来量化靶向修饰前后“印迹模板”的成分差异程度。

## 2.2 药液配制

**2.2.1 片仔癀混悬液的制备** 取片仔癀适量, 研钵粉碎, 研细 (过 60 目筛), 取约 13 g, 精密称定, 置于 100 mL 棕色量瓶中, 加水适量, 超声 (功率 300 W, 频率 40 kHz, 下同) 使溶解, 放冷, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.2.2 柴胡提取液的制备**<sup>[24]</sup> 取柴胡约 120 g, 加入 8 倍量水回流提取 2 次, 每次 30 min, 纱布过滤, 合并 2 次滤液, 减压浓缩至生药质量浓度为 0.48 g·mL<sup>-1</sup>。

**2.2.3 混合对照品溶液的制备** 分别精密称取人参皂苷  $Rg_1$  和  $Rb_1$  对照品 7.5, 5.0 mg, 置 10 mL 具塞量瓶中, 加甲醇超声使溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得。

**2.3 动物分组及给药** 将二乙基亚硝胺诱导造模成功的 24 只肝癌模型大鼠<sup>[25]</sup> 随机分为 4 组, 分别为片仔癀组、柴胡组、片仔癀+柴胡组、空白组, 每组各 6 只, 分别灌胃给予片仔癀混悬液 (0.324 g·kg<sup>-1</sup>), 柴胡提取液 (1.2 g·kg<sup>-1</sup>), 片仔癀混悬液 (0.324 g·kg<sup>-1</sup>) + 柴胡提取液 (1.2 g·kg<sup>-1</sup>) 及等体积的水。早晚各给药 1 次 (间隔 12 h), 连续给予 3 d 后, 在第 7 次给药前 12 h 禁食, 自由饮水, 并于第 7 次给药前及给药后 20 min 眼眶取血, 采血后即刻处死大鼠, 立刻解剖采集心、肝、脾、肺、肾组织, 生理盐水洗净, 滤纸吸干, 于 -20 °C 冷冻保存, 备用。

**2.4 生物样品处理** 血浆样品于 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min (离心半径 93 mm, 下同), 取上清液 0.3 mL, 加入 4 倍量甲醇, 涡旋 5 min, 离心 (13 000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min, 下同), 取上清液, 氮吹仪吹干, 加入甲醇 100  $\mu$ L 复溶, 超声 2 min, 离心, 取上清液 20  $\mu$ L 进行高效液相色谱法 (HPLC) 分析。称取各组组织 0.5 g, 加入 3 倍量生理盐水, 于冰浴中制成组织匀浆, 其余步骤同血浆样品处理方式。

**2.5 色谱条件** Ultimate AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm ×

250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.5%磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~5 min, 5%~20%A; 5~20 min, 20%~36%A; 20~45 min, 36%~80%A; 45~50 min, 80%~100%A), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 检测波长 203 nm。

### 3 结果

**3.1 基于MCI的组织靶向性预测** 检索到《中药学》教材中主要归肝经的中药共26味, 其中包括植物药14味, 动物药10味, 矿物药2味。植物药分别为密蒙花、青葙子、青黛、重楼、赤芍、海风藤、桑枝、臭梧桐、海桐皮、茜草、月季花、刺蒺藜、罗布麻叶、

天麻; 动物药分别为蕲蛇、乌梢蛇、五灵脂、土鳖虫、水蛭、虻虫、紫贝齿、石决明、全蝎、蜈蚣; 矿物药为花蕊石和自然铜。由于动物药中主要含有蛋白质、氨基酸、肽类、脂肪及其多种微量元素, 结构较为复杂, 而矿物药中主要含有多种金属元素, 暂无法计算其MCI, 故选择以上述植物药中的成分为主要研究对象, 通过文献研究<sup>[26-34]</sup>结合中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP), 收集主要归肝经植物药、片仔癀组及柴胡组中的化学成分, 结果发现三者分别有586, 279, 175个成分, 各类成分的具体占比见表1。

表1 主要归肝经植物药、柴胡组、片仔癀组中各类成分占比

Table 1 Percentages of various ingredients in phytomedicines mainly distributed to liver meridian, Bupleuri Radix and Pien Tze Huang %

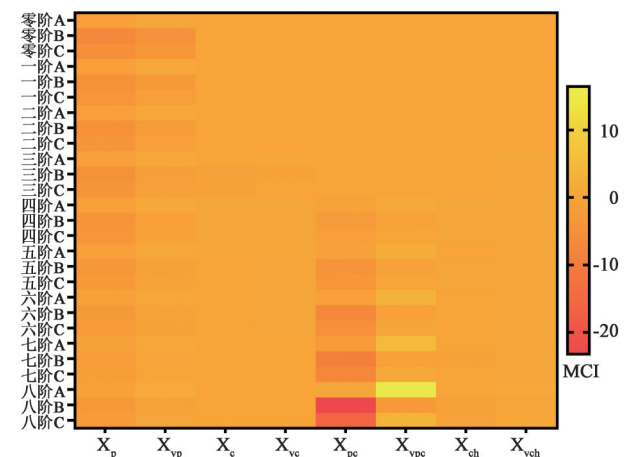
研究对象	黄酮	糖及其苷	生物碱	萜类	甾体	鞣质	醌类	木脂素	苯丙素	香豆素	有机酸	其他
主要归肝经植物药	16.55	24.06	5.46	10.41	2.56	1.37	4.61	4.44	0.51	1.37	0.85	27.82
柴胡	7.89	10.75	1.43	34.41	0.72	-	-	-	4.66	-	6.81	33.33
片仔癀	1.71	13.14	10.86	21.14	18.29	-	-	-	1.14	-	5.71	28.00

计算主要归肝经植物药、片仔癀组、柴胡组及片仔癀+柴胡组中各成分MCI及平均MCI, 将后三组平均MCI扣除主要归肝经植物药的平均MCI后, 见图2。结果显示, 片仔癀组与柴胡组的MCI相似度0.3768, 片仔癀+柴胡组与柴胡组的MCI相似度0.9882, 说明片仔癀配伍柴胡后, 与柴胡的相似度显著增大, 结合前期“由主要归肝经中药的平均MCI与黄酮苷类和萜类成分的MCI相近推出这两类成分与肝经的‘印迹模板’匹配性最强”这一理论基础<sup>[21]</sup>, 同理可预测柴胡结合片仔癀成分群可能为肝经超分子“印迹模板”的模板分子, 可能是由柴胡成分群通过修饰片仔癀成分群构成的“印迹模板”(客体)的主体框架结构, 使之与肝经的“印迹模板”(主体)更好地匹配或嵌合, 从而增强片仔癀对肝脏的靶向作用。

### 3.2 方法学考察

**3.2.1 专属性** 分别取空白血浆及组织、加入混合对照品溶液的空白血浆及组织、各给药组血浆及组织, 按2.4项下方法处理后进样分析, 色谱图见图3, 结果发现血浆及各组织中内源性物质无明显干扰, 人参皂苷R<sub>g1</sub>(峰1)与人参皂苷R<sub>b1</sub>(峰2)的分离度良好。

**3.2.2 线性关系考察** 取大鼠空白血浆及各空白组织匀浆, 分别加入适量人参皂苷R<sub>g1</sub>和R<sub>b1</sub>混合对照品溶液, 按2.4项下方法处理, 配制成6个质量浓度的标准血浆样品和标准组织样品, 以人参皂苷



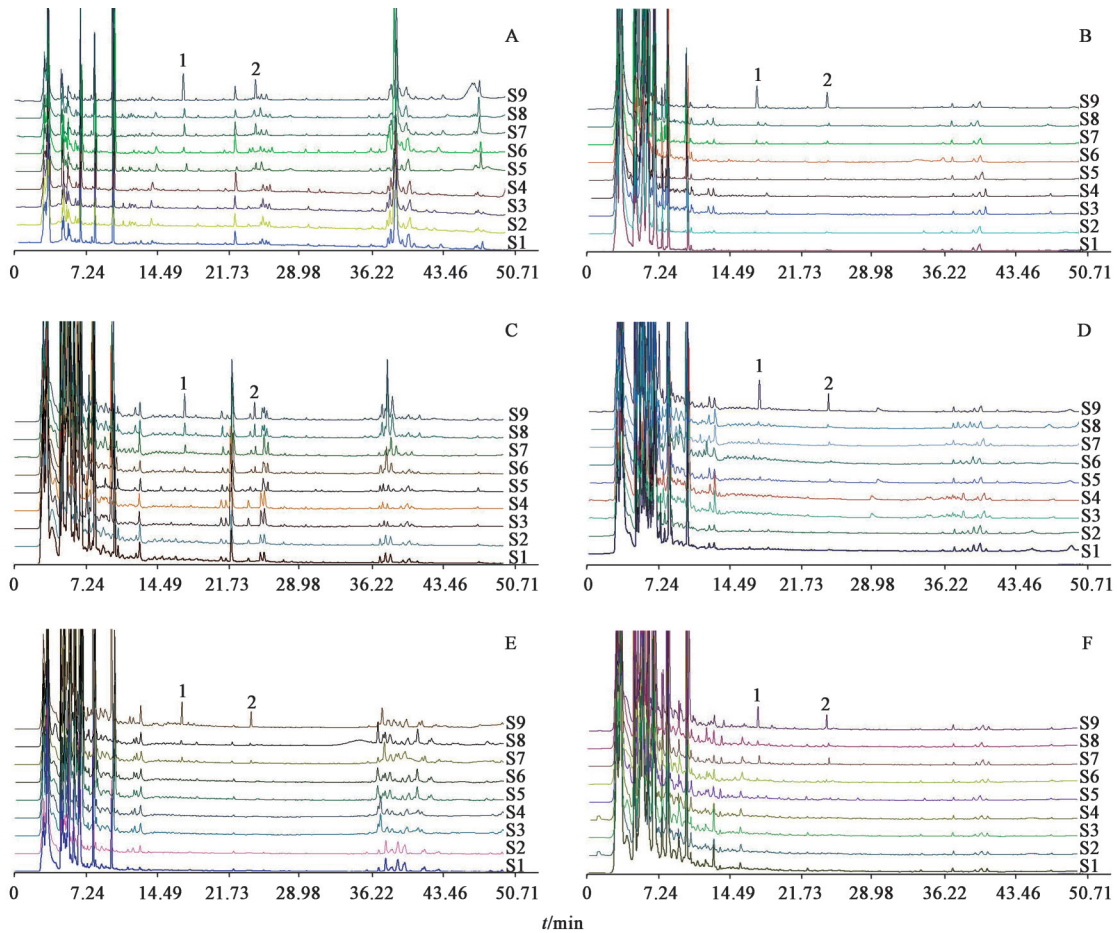
A. 片仔癀组; B. 柴胡组; C. 片仔癀+柴胡组; X表示MCI, 分为p, c, pc, ch四大类(p. 路径; c. 簇; pc. 路径簇; ch. 链; v. 校正)

图2 扣除归肝经植物药平均MCI后各组平均MCI比较

Fig. 2 Comparison of average MCI of each group after deducting average MCI of phytomedicines mainly distributed to liver meridian

R<sub>g1</sub>和R<sub>b1</sub>峰面积对血药浓度进行回归计算, 见表2, 结果显示在不同样品中, 上述2种成分在相应线性范围内呈良好线性关系, 相关系数(r)均>0.99。

**3.2.3 回收率** 取大鼠空白血浆及各空白组织匀浆, 精密加入人参皂苷R<sub>g1</sub>和R<sub>b1</sub>混合对照品溶液适量, 制成二者质量浓度分别为15, 75, 375 mg·L<sup>-1</sup>及10, 50, 250 mg·L<sup>-1</sup>的质控样品, 按2.4项下方法处理, 各质量浓度重复5份, 按2.5项下条件测定, 计算方法的提取回收率。结果显示, 人参皂苷R<sub>g1</sub>和R<sub>b1</sub>



A~F 分别表示血浆、心、肝、脾、肺、肾; S1, S2, S5, S6 分别为末次给药前空白组、柴胡组、片仔癀组、片仔癀+柴胡组的相应样品; S3, S4, S7, S8 分别为末次给药 20 min 后空白组、柴胡组、片仔癀组、片仔癀+柴胡组的相应样品; S9. 空白样品+混合对照品

图3 各组血浆及各组织样品的 HPLC

Fig. 3 HPLC chromatograms of plasma and tissue samples from each group

表2 大鼠血浆及各组织中人参皂苷 R<sub>g1</sub> 和 R<sub>b1</sub> 的线性关系考察  
Table 2 Linear relation investigation of ginsenoside R<sub>g1</sub> and R<sub>b1</sub> in plasma and tissues of rats

成分	样品	线性范围/mg·L <sup>-1</sup>	标准曲线	r
人参皂苷 R <sub>g1</sub>	血浆	6~600	Y=4 529X+43 479	0.999
	心	15~600	Y=4 518X+47 919	0.999
	肝	6~600	Y=4 513X+39 985	0.999
	脾	6~375	Y=4 615X+37 042	0.998
	肺	15~375	Y=4 604X+40 078	0.998
人参皂苷 R <sub>b1</sub>	肾	15~600	Y=4 520X+40 581	0.999
	血浆	4~400	Y=4 648X+20 256	0.999
	心	4~250	Y=4 867X+9 385	0.997
	肝	4~400	Y=4 652X+19 828	0.999
	脾	10~400	Y=4 622X+27 899	0.998
	肺	10~250	Y=4 837X+14 686	0.999
	肾	4~400	Y=4 659X+17 861	0.999

在血浆及各组织中的提取回收率在 77.5%~93.9%, RSD 均<10%。

3.2.4 精密度 分别取 3.2.3 项下各样品,于同日内重复测定 5 次,连续测定 5 d,计算不同质量浓度样品日内、日间精密度的 RSD 均<5%。

3.3 总量统计矩参数及靶向性评价 根据总量统计矩的加合性,将血浆及组织样品总量统计矩参数扣除空白生物样品参数后,整理得总量统计矩参数见表 3,各数据均已换算成单位体质量大鼠单位体积血浆或单位质量组织的数值。靶向性评价数据见表 4。多剂量给药时,在末次给药前血浆及组织中药物浓度为最低,记为  $\sum_{i=1}^n A_{i,\min}$ ,末次给药 20 min 后,此时药物浓度达到稳态,记为  $\sum_{i=1}^n A_{i,\max}$ ,由梯形法计算给药总 AUC,即  $AUC = (\sum_{i=1}^n A_{i,\max} - \sum_{i=1}^n A_{i,\min}) \times 12/2 + [\sum_{i=1}^n A_{i,\min} \times (12+20/60)]$ 。

由表 4 可知,各组织中肝脏的 RUE<sub>T</sub> 和 RC<sub>T</sub> 最大,且均>1,其他组织的 RUE<sub>T</sub> 则均<1,说明配伍柴

表3 片仔癀成分群在血浆及各组织中的总量统计矩参数

Table 3 Total statistical moment parameters of component groups of Pien Tze Huang in plasma and tissues

样品	$\sum_{i=1}^n A_i$				MCRT <sub>T</sub> /min				VCRT <sub>T</sub> /min <sup>2</sup>			
	片仔癀组		片仔癀+柴胡组		片仔癀组		片仔癀+柴胡组		片仔癀组		片仔癀+柴胡组	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
血浆	1.918×10 <sup>3</sup>	1.899×10 <sup>4</sup>	2.415×10 <sup>3</sup>	2.689×10 <sup>4</sup>	20.670	23.180	19.720	17.340	232.60	261.70	288.00	218.30
心	1.375×10 <sup>3</sup>	4.649×10 <sup>3</sup>	1.213×10 <sup>3</sup>	2.786×10 <sup>3</sup>	6.327	6.785	6.767	6.683	31.52	33.78	35.29	32.43
肝	2.229×10 <sup>3</sup>	1.295×10 <sup>4</sup>	5.121×10 <sup>3</sup>	2.342×10 <sup>4</sup>	8.616	8.629	9.227	9.856	64.32	57.86	73.16	84.17
脾	1.321×10 <sup>3</sup>	2.784×10 <sup>3</sup>	1.015×10 <sup>3</sup>	2.124×10 <sup>3</sup>	8.284	8.144	8.921	8.611	51.19	55.00	54.79	59.16
肺	8.171×10 <sup>2</sup>	2.077×10 <sup>3</sup>	5.983×10 <sup>2</sup>	1.572×10 <sup>3</sup>	9.306	9.688	9.628	9.433	92.89	104.00	104.00	92.37
肾	1.885×10 <sup>3</sup>	5.480×10 <sup>3</sup>	1.582×10 <sup>3</sup>	3.129×10 <sup>3</sup>	6.989	7.173	7.238	7.282	28.48	31.63	29.33	31.50

注:末次给药前血浆及组织中药物浓度为最低,用Min表示;末次给药20 min后药物浓度达到稳态,用Max表示。

表4 片仔癀成分群在血浆及各组织中的AUC, RUE<sub>T</sub>, RC<sub>T</sub>, RIT<sub>T</sub>及RIV<sub>T</sub>

Table 4 AUC, RUE<sub>T</sub>, RC<sub>T</sub>, RIT<sub>T</sub> and RIV<sub>T</sub> of component groups of Pien Tze Huang in plasma and tissues

参数	血浆	心	肝	脾	肺	肾
AUC <sub>1</sub>	1.26×10 <sup>5</sup>	3.66×10 <sup>4</sup>	9.18×10 <sup>4</sup>	2.51×10 <sup>4</sup>	1.76×10 <sup>4</sup>	4.48×10 <sup>4</sup>
AUC <sub>2</sub>	1.77×10 <sup>5</sup>	2.44×10 <sup>4</sup>	1.73×10 <sup>5</sup>	1.92×10 <sup>4</sup>	1.32×10 <sup>4</sup>	2.88×10 <sup>4</sup>
RUE <sub>T</sub>	1.40	0.67	1.88	0.76	0.75	0.64
RC <sub>T</sub>	1.26	0.88	2.30	0.77	0.73	0.84
RIT <sub>T</sub>	0.95	1.07	1.07	1.08	1.03	1.04
RIV <sub>T</sub>	1.24	1.12	1.14	1.07	1.12	1.03

注:AUC<sub>1</sub>表示AUC<sub>片仔癀组</sub>;AUC<sub>2</sub>表示AUC<sub>片仔癀+柴胡组</sub>。

胡后,片仔癀在肝脏中的药物浓度显著增加,对肝的靶向性增强,能更好地发挥治疗肝癌的作用;另外,合用柴胡后各组织的RIT<sub>T</sub>及RIV<sub>T</sub>均在1.0附近波动,血浆中RIV<sub>T</sub>波动稍大,说明配伍柴胡后基本不改变片仔癀成分群的“印迹”作用趋势,除血浆中可能有新增成分外,在各组织中分布的成分种类数量也无显著变化。

#### 4 讨论

本研究基于超分子“气析”理论,以片仔癀为模型药物,提出中药复方制剂靶向性评价方法,可突破以中药制剂多成分体系的整体研究进行靶向性评价这一难题。片仔癀物质基础较为复杂,按药剂学中传统单成分评价模式难以明确其靶向行为,故本文根据指纹图谱总量统计矩结合药物动力学的方法进行研究,可整体评价其靶向性。将片仔癀与柴胡合用后,在肝脏中AUC明显增大,在其他组织的分布则降低,验证了引经药可实现中药复方制剂的自主靶向作用,另外,可望提高片仔癀药物治疗指数,降低用量,达到精准用药的目标。片仔癀

方中三七和蛇胆剂量较大,尤其是三七,故实验前期主要选用三七及蛇胆中的成分作为对照,但蛇胆中牛磺胆酸钠在生物样品中响应值较低,故最终选用人参皂苷Rg<sub>1</sub>与Rb<sub>1</sub>这2个成分进行指纹图谱分析方法的专属性考察。基于药量效关系,药物效应与靶组织分布浓度呈正相关,故本文以组织分布相关参数作为靶向评价指标,初步建立中药制剂的靶向性评价体系。片仔癀与柴胡合用后,各组织中以肝脏的RUE<sub>T</sub>和RC<sub>T</sub>为最大,其他组织相应值均<1,表明柴胡增加了片仔癀成分群在肝脏的分布,这与药剂学上单成分靶向性评价方法有类似之处,可为其他中药复方制剂的靶向性评价提供有益借鉴。

中药及其制剂为多成分体系,仅考虑将中药或复方中某一活性成分进行靶向修饰,以单一成分的整体观念脱节,只有结合组方和使用原理,从中医药整体观出发,才能揭示中药多成分的靶向性原理,建立正确的中药复方靶向性评价方法。由于中药复方成分复杂,要完整测定所有成分还存在困难,但用指纹图谱与药物动力学模型结合测定总量统计矩参数,可实现靶向性评价的目标。

总量统计矩分析法具有抗干扰性、加合性和偶联性的特点,不仅可对以指纹图谱表达的多成分量效体系进行全面、动态监控,还可以与药效学、药物动力学、谱药学关联进行中药复方的定量研究,故本研究将其用于靶向性相关参数研究。在超分子“气析”理论的指导下,本研究首先借助MCI及相似度算法,预测经修饰后的药物靶向分布的可能性,从而为后期实验的可行性做出了一定指导,说明该方法对实验结果具有一定的预测作用。结合药物动力学模型,通过从单成分到多成分体系的相关参

数的公式推导,初步建立 $RUE_T$ , $RC_T$ , $RIT_T$ 及 $RIV_T$ 的靶向性评价指标,可表征中药复方制剂多成分间超分子“印迹”靶向性作用的综合效应。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] 周丽华. 靶向制剂的研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2012, 31(23): 118-120.

[2] 周世月, 邵莹莹, 李媛, 等. 中药有效成分纳米制剂抗肿瘤的研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2020, 39(4): 374-380.

[3] 向燕, 龙宇, 谭裕君, 等. 新剂型和新技术在中药有效成分经鼻脑靶向给药系统中的应用[J]. 中成药, 2020, 42(4): 991-995.

[4] 章越. 具磁靶向作用的中药多组分程序性递释PLGA纳米给药系统的构建[D]. 广州: 广东药科大学, 2016.

[5] MARADANA M R, YEKOLLU S K, ZENG B, et al. Immunomodulatory liposomes targeting liver macrophages arrest progression of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Metabolism*, 2018, 78: 80-94.

[6] LIU C H, LIN C C, HSU W C, et al. Highly bioavailable silibinin nanoparticles inhibit HCV infection[J]. *Gut*, 2017, 66(10): 1853-1861.

[7] SCHIBORR C, KOCHER A, BEHNAM D, et al. The oral bioavailability of curcumin from micronized powder and liquid micelles is significantly increased in healthy humans and differs between sexes [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58(3): 516-527.

[8] 陈永顺, 吴珍. 汉黄芩素白蛋白微球在大鼠体内的药代动力学及组织分布[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 137-140.

[9] 黄秋妹, 许文, 沙玫, 等. 片仔癀的药理及临床研究进展[J]. 海峡药学, 2017, 29(5): 60-64.

[10] 钟蕊, 段钟平, 陈煜, 等. 片仔癀治疗慢性乙型肝炎的临床研究[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2017, 26(11): 1290-1293.

[11] 赖文芳, 黄鑫, 刘俊杰, 等. 片仔癀调控膜联蛋白A1/VEGF通路对人肝癌细胞系HepG2作用的影响[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(11): 1534-1538.

[12] 孟丽萍, 顾雪峰. 片仔癀联合TACE治疗毒热瘀结型原发性肝癌免疫指标变化的临床观察[J]. 九江学院学报: 自然科学版, 2008, 23(1): 31-32.

[13] 吴娟, 谢晋, 张群林, 等. 中药引经理论的现代研究进展和思路[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(13): 2428-2434.

[14] 李娇. 引经药柴胡促姜黄素及纳米粒肝靶向作用研究[D]. 昆明: 云南中医药大学, 2020.

[15] 王嘉琛. 肝引经药柴胡对大黄引药入肝作用影响的

研究[D]. 晋中: 山西中医药大学, 2018.

[16] 赵莹, 赵瑞芝, 陈有军, 等. 醋柴胡对龙胆苦苷在小鼠体内分布的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17): 71-74.

[17] 何春晓, 张贝贝, 郑蕾, 等. 引经药醋柴胡对索拉非尼在大鼠血液和肝脏中药物浓度的影响[J]. 医学研究杂志, 2014, 43(6): 62-66.

[18] 单俐经. 分子连接性指数计算软件制作及应用[D]. 上海: 华东理工大学, 2011.

[19] 李海英, 樊启猛, 贺玉婷, 等. 金银花、山银花动态挥发性成分的质量控制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(22): 148-155.

[20] 范诗琪, 李森, 刘金玲, 等. 基于分子连接性指数探归肝经中药成分“印迹模板”的特征[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(2): 390-395.

[21] 吴瑞军, 钟国跃, 曾金祥, 等. 基于全二维液相色谱的牛黄上清丸指纹图谱研究[J]. 中草药, 2019, 50(3): 588-597.

[22] 贺福元, 周宏灏, 邓凯文, 等. 指纹图谱的一种定性定量研究新方法: 总量统计矩分析法[J]. 药学报, 2008, 43(2): 195-201.

[23] 段晓鹏, 贺福元, 周晋, 等. 补阳还五汤指纹图谱总量统计矩加合性的研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(23): 3247-3252.

[24] 霍务贞, 孙严彤, 朱盛山. 柴胡有效成分提取条件的研究[J]. 广东药学, 2005, 15(4): 6-7.

[25] 周侗, 陈勇, 尤楠, 等. 二乙基亚硝酸诱导大鼠肝癌模型的建立及评价[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(20): 3812-3815.

[26] 呼谧允. 月季花化学成分及凝血作用研究[D]. 开封: 河南大学, 2020.

[27] 吴钰颖, 金琳, 马永军, 等. 大理不同产地多叶重楼与云南重楼HPLC指纹图谱及7种主要甾体皂苷成分的比较研究[J]. 中国药学杂志, 2020, 55(11): 875-882.

[28] 刘芳. 密蒙花化学成分的研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2020.

[29] 司马全, 徐贵丽. 丫蕊花与重楼化学成分及药理学研究进展比较[J]. 西南国防医药, 2020, 30(4): 359-361.

[30] 柳立新, 单锋, 季婷婷, 等. 天麻的主要成分及体内代谢机制研究进展[J]. 北方药学, 2019, 16(8): 134-135.

[31] 李赛男. 液相色谱-质谱联用测定罗布麻叶化学成分[J]. 当代化工研究, 2017(2): 114-115.

[32] 王彪. 青黛活性物质结构改造与体外抗肿瘤活性研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.

[33] 宋敬丽, 袁林, 刘艳菊, 等. 海风藤化学成分和药理作用的研究进展[J]. 湖北中医学院学报, 2007, 9(3): 70-72.

[34] 刘杰, 陈海生, 徐一新, 等. 中药刺蒺藜化学成分的研究[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24(2): 221-222.

[责任编辑 刘德文]