

## 基于超分子“印迹模板”分析的中药毒与效整合模式探讨

周 晋<sup>1,2,3</sup>, 刘 惠<sup>1,2,3</sup>, 刘文龙<sup>1,2,3</sup>, 唐 宇<sup>1,2,3</sup>, 周逸群<sup>1,2,3</sup>,  
唐 昱<sup>1,2,3</sup>, 肖美凤<sup>1,2,3</sup>, 贺福元<sup>1,2,3\*</sup>, 邓凯文<sup>3,4\*</sup>

(湖南中医药大学 1. 药学院, 2. 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 3. 中医药超分子机理与数理特征化实验室, 湖南 长沙 410208; 4. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007)

**摘要:** 中药是中医治病的物质基础, 既遵循中医基础理论指导, 也遵循药物作用普遍规律, 毒与效并存。其毒与效的整合规律彰显于方剂学中, 以“七情”和“阴阳”和合的配伍经验定性表征。当按中医药理论遣方口服用药仍产生毒性, 或传统中药给药方式被打破, 其靠经验来维系的中草药毒与效的整合规律就显得束手无策, 特别是近年来随着中药现代化和中药新药创制不断推进, 中药安全性事件频发, 建立一套适用多成分中药的毒与效的整合方法非常迫切。随着生物超分子化学不断与中医药基础理论结合, 一种基于中药超分子“印迹模板”毒与效的整合模式初见端倪。中药与人体都是生物超分子体, 应遵循超分子“印迹模板”自主作用规律, 其所产生毒与效的整合效果是建立在单味中药成分基础上按中医药基础理论据证依法遣药组方治病的整合结果, 亦是各单味中药有效成分群按“印迹模板”综合作用的结果, 通过对各成分群超分子“印迹模板”特征、作用规律及其网络药(毒)理谱学的定性定量研究, 建立以整合成分“治疗窗”表征的毒与效整合分析方法, 并找出高溢、进入和低溢“治疗窗”成分的分布规律。

**关键词:** 超分子; “印迹模板”; 毒与效; 定量网络药(毒)理谱学; 治疗窗

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 11-1808-09

## Developing an integrated model of toxicity and efficacy of Chinese medicine based on supramolecular “imprinting template” analysis

ZHOU Jin<sup>1,2,3</sup>, LIU Hui<sup>1,2,3</sup>, LIU Wen-long<sup>1,2,3</sup>, TANG Yu<sup>1,2,3</sup>, ZHOU Yi-qun<sup>1,2,3</sup>,  
TANG Yu<sup>1,2,3</sup>, XIAO Mei-feng<sup>1,2,3</sup>, HE Fu-yuan<sup>1,2,3\*</sup>, DENG Kai-wen<sup>3,4\*</sup>

(1. College of Pharmacy, 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Drugability and Preparation Modification of TCM, 3. Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Characterization for Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 4. The First Affinity Hospital, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

**Abstract:** Chinese material medica (CMM) is the foundation for treating disease using traditional Chinese medicine (TCM), which is not only guided by the basic theory of TCM but also follows the general rules of drug action. There are both toxicity and efficacy in TCM. For TCM the integrated regularities of its toxicity and efficacy were demonstrated in their prescription, which were qualitatively characterized by compatible experiences such as “seven emotions”, “Yin” and “Yang” compatibility, etc. When the toxicity is still produced

收稿日期: 2018-06-06; 修回日期: 2018-07-18.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573691, 81703824, 81503492); 湖南省自然科学基金资助项目 (2017JJ3236, 2016JJ4065); 湖南省教育厅基金 (17B200); 湖南省药学重点学科; 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室 (2016TP1017); 湖湘中药资源保护与利用 2011 协同创新中心等项目平台资助; 国家留学基金资助。

\*通讯作者 Tel: 86-731-88458232, Fax: 86-731-88458227, E-mail: pharmsharking@tom.com; dkaiwen03@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0532

by oral administration according to the prescription of TCM theory or administration is not abided by original requirement, the integral regularities of toxicity and efficacy that depends on experience appears to be at a loss what to do. Especially in recent years, with the modernization of TCM and the continuous advantages in new medicinal innovation, the CMM safety incidents occurred frequently. It is very urgent for us how to establish a set of integrated methods that are adequately situated to multiple components for TCM. With the combination of the biological supramolecular chemistry and the basic theory of TCM, an integrated model of toxicity and efficacy based on TCM supramolecular “imprinting template” has begun to take shape. The CMM and the human body are both biological supramolecular bodies that follow the autonomic action rules of their “imprinting template”. The integrated trends of toxicity and efficacy are able to build on systematical results of single components in CMM based on the theory of TCM to treat diseases by prescription on syndromes. It is also the systematic actions resulting from single effective components in CMM by the supramolecular “imprinting template” self-acted regularities. Through the qualitative and quantitative analysis of supramolecular “imprinting templates” characteristics and actions and their network chromatotoxicometry (chromatopharmacometry), a toxic and effective integrated analysis methods will be established on an integrated “therapeutic window” for components in the CMM. This effort will finally permit the description of the components of the pharmacokinetic overlaid law of “therapeutic window”, plotted to lower-overflow, entering and higher-overflow profiles.

**Key words:** supramolecular; “imprinting template”; toxicity and efficacy; network quantitative chromatotoxicometry (chromatopharmacometry); therapeutic window

“有毒中药”是中医药宝库的重要组成部分,几千年来,历代医家利用“有毒中药”治愈了无数的顽症痼疾。临床上常用的有毒中药有126种,但凡使用得当,可以“趋利避害”,若使用失当,则可危及生命<sup>[1]</sup>。近年来中药安全性事件频发,越来越成为社会关注的焦点。除了中药注射剂容易发生安全性事件外,一批按照中医药理论组方的口服中药制剂也会产生毒性反应,如龙胆泻肝丸、排石丸和耳聋丸等含马兜铃属的中药制剂,可引起急性肾衰竭、慢性肾衰竭和肾小管中毒等<sup>[1]</sup>;此外,《中国药典》也收录了含毒性药制剂7类320余种,如果使用失当,也存在安全风险。这使得人们对中药安全性与药效产生了许多疑问和误区,其中怎样进行中药毒与效的整合分析,“药”“证”吻合,实现“有故无殒,亦无殒也”的目标最为重要。

众所周知,中药毒与效的整合关系受到药材品种、产地、炮制、剂型、配伍、煎煮方法及制备工艺等诸因素的影响,然而当制剂学因素得到控制后,大家最为关心的是药物配伍的毒理学与药理学整合关系,也就是中药配伍后体内的量-时-毒(效)关系。由于中药成分复杂,其有效性与安全性现多凭经验,其定性、定量研究方法尚未建立,面对一批中药制剂出现的毒性仍按“成分或组方有毒—中药材有毒—饮片有毒—复方制剂有毒”的单成分毒与效的整合思路来推断中药毒与效整合规律显然是存在问题的<sup>[2]</sup>,那么怎样在单成分毒与效关系的基础上进行中

药多成分毒与效的整合分析研究就显得迫在眉睫<sup>[3]</sup>,这不仅关系到中医药学术的发展,更关系到中药用药的社会信誉和国际化进程。

### 1 单成分毒与效的整合分析方法成熟,以“治疗窗”表征

“是药三分毒”高度说明了毒与效的整合分析关系。任何药物都会表征出毒与效的作用,区别在于各种药物的“治疗窗”的大小差异,窗口低者表现为效应强;窗口窄者表现为毒性大<sup>[4]</sup>。单成分的毒与效的关系是一个浓度阶梯层次关系,当药物浓度低于最低有效浓度(minimum effective concentration, MEC)时,无法产生治疗作用;当药物血药浓度超过最低毒性浓度(minimum toxic concentration, MTC)时,药物将呈现出毒副作用,介于MEC与MTC之间的药物浓度就是“治疗窗”,可用安全指数表征。尽管药物的“治疗窗”受到药物性质、剂型、配伍及生物因素等影响,但单个成分的毒与效作用呈阶梯性递增关系,可通过“治疗窗”进行监控给药,如强心苷类、抗心律失常药、抗肿瘤药和免疫抑制剂等。而怎样进行多成分的中药毒效整合却是亟待解决的科学难题。

### 2 传统的中药毒与效的整合分析彰显于方剂学中,以“七情”和“阴阳”和合的配伍的经验定性表征,若采用超分子“印迹模板”自主作用规律易整合

中药的毒与效除受到药材产地、炮制加工和制剂工艺等制剂因素影响外<sup>[3]</sup>,其毒与效整合关系更攸

关于配伍, 彰显于方剂学的“七情”与“阴阳”和合的配伍经验中, 以“十八反”“十九畏”“妊娠禁忌”定性表达, 这虽能从宏观的角度经验性地掌握中药毒与效整合趋势, 但当出现仍按中医药理论组方遣药而产生毒性, 或按单成分毒效理论来推断中药整合后的毒效关系不准确时就会显得束手无策<sup>[2]</sup>。因此, 怎样建立以“治疗窗”定量表征的中药定量毒(药)理学理论与测算技术研究是其核心科学问题。

中药与人体均为自然界生物超分子体, 其产生毒与药效的成分都是生物超分子“印迹模板”的聚集体, 进入人体后能按超分子“印迹模板”自主进行作用<sup>[5-7]</sup>。“印迹模板”概念来源于 Fischer 的酶与底物作用的“锁与钥匙模型”, 以及 Pauling 提出的抗体形成学说, 与药理学经典的受体-配体理论具有极大的相似性, 能解释受体-配体理论, 但又与其有不同之处。“印迹模板”是指以某一特定的目标分子(模板分子、印迹分子和烙印分子)为模板, 制备对该分子具有特异选择性聚合物的空间结构, 属于超分子化学中主客体化学研究范畴, 体现自组织、自组装、自识别与自复制的特点<sup>[4, 5, 8]</sup>。超分子“印迹模板”是“在空间结构和结合位点上能完全匹配的模板物”, 对中药成分来说既是其分子结构的空间活性结构, 也可以说是活性原子团的空间排列点阵, 能从化学物质的本源上说明主客体分子自主作用的普遍规律, 包括药理学上的受体-配体理论的普遍作用规律。例如吗啡、喷他佐辛、哌替啶、芬太尼和美沙酮等均可与脑啡肽竞争性结合作用于大脑阿片受体, 起到相同的中枢镇痛作用, 然而这些镇痛药的结构与由酪氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸与亮氨酸组成的亮氨酸脑啡肽和由酪氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸与蛋氨酸组成甲硫氨酸脑啡肽的结构相差很多<sup>[9]</sup>。这说明产生同样的毒(药)理作用可以由不同的物质组成, 因此单用受体-配体、结构-配体理论不能作深层次解析, 自然只能将吗啡肽受体的三点结合抽象成“印迹模板”的空间结构进行表达。

大量的生物超分子化学表明, 来源于动植物生命体中药是一个巨大的超分子体系, 是自然界分子社会按“印迹模板”自主作用的结果<sup>[10]</sup>。如其中的糖类、氨基酸、蛋白质、生物碱、醌类、香豆素、木脂素、黄酮类、萜类、挥发油、脂肪油、甾体、三萜和鞣质等有效成分群既体现客体分子“印迹模板”的特性, 又可通过复合、络合、螯合和传荷等作用形成超分子主体; 糖类、氨基酸和核苷酸主要作为功能

单体合成超分子聚合物, 亦细胞组织结构<sup>[5]</sup>。因此, 中药的各种小分子之间及聚合物都是按“印迹模板”形成生物超分子体。同样, 人体也是生物巨复超分子体系, 包括了单分子、超分子、聚合超分子及巨复超分子构成的复杂超分子体, 各级分子按“印迹模板”产生“气析”作用, 这决定了中药产生毒与效的超分子机制。

中药成分进入人体后, 需经 ADME 过程, 按“印迹模板”产生药效与毒效, 宏观上表现出中药药性与功效。当带有“印迹模板”<sup>[5, 10]</sup>的中药成分进入人体, 与具有相似或相同“印迹模板”的主体分子(靶点、经络脏腑)产生毒效与药效。相似或相同的“印迹模板”成分的谱动学、谱毒(效)学、谱毒(效)动力学行为类似或相同, “治疗窗”相近, 可以整合简化, 极大降低解决中药复杂问题的难度, 这便是中药毒与效整合分析研究中最明显的地方。因此, 中药单个成分浓度低而宏观显效; 单个成分纯度高而毒性强; 多个成分纯度低而毒性弱等现象都可用超分子“印迹模板”整合研究。故中药毒与效的整合分析, 从定性的角度来讲, 就是研究各成分群“印迹模板”特征及其对病证药(毒)靶点(指标)作用的综合选择性; 从定量来讲, 就是测算这种综合选择性的整合“治疗窗”及其变化与受控规律。由此, 便可以知晓中药“印迹模板”特征对其毒与效的整体分析作用重要性<sup>[11]</sup>。

### 3 中药毒与效整合超分子化学的定性分析研究

对中药超分子“印迹模板”特征及其综合选择性作用规律的分析, 就是如何锁定成分与效(毒)靶点的作用关系, 完成“说得清”的工作。

#### 3.1 中药成分群及其作用病证(靶点)的“印迹模板”特征规律的研究

采用中药与人体的生物超分子“印迹模板”特征及其自主作用规律, 结合中医脏象规律进行研究。常用的方法有: ① 量子化学方法: 包括 Abinitio Hartree-Fock (HF) SCF、MP 和 DFT 等方法, 但多适用于分子较小的超分子体系, 对于大分子量化学体系多采用分子对接和 Wiener、Hosoya、Randic 等分子拓扑学指数理论进行研究; ② 波谱方法: 包括 UV、IR、NMR 及 NMR 光谱法, 比较不同分子组成情况下其波谱峰的变化, 从而推断其印迹模板特征的变化; ③ 微量热测定法: 采用微量热仪器, 测定不同组分的吸附热法、滴定热, 从而推知“印迹模板”结合稳定性和化学键类型; ④ 色谱法: 比较在薄层层析板中加与不加客分子情况下各斑点层析行为的

影响; 比对分析不同分子组成情况下各特征峰的波数变化, 从中分析超分子结构信息; ⑤ 测定表观分子质量: 按冰点下降法测定不同组分的表观分子质量, 从而确定是否形成超分子; ⑥ 电镜观察法: 包括采用电镜扫描观察超分子产物特征等<sup>[12]</sup>; ⑦ 代谢组学: 分析代谢产物结构特征, 获得成分与靶点的“印迹模板”关系<sup>[13]</sup>; ⑧ 其他方法: 包括化学动力学法、网络拓扑学法和谱效动力学法, 可测定分子间的作用参数来探讨形成超分子的可能性及稳定状态性。例如采用超分子“印迹模板”技术成功地解决了金银花与山银花的“异质等效”之争<sup>[14]</sup>, 采用超分子“印迹模板”技术初步阐明了鱼腥草注射剂产生(类)致敏性和有效性原因<sup>[15]</sup>。在完成了中药成分、毒与效的靶点超分子化学定性分析后, 再进行化学对接和网络药理学研究。

### 3.2 中药网络药理学研究

中药成分众多, 产生毒与效的成分为其中的一部分, 全部进行定量药理学与毒理学测算, 一则工作量太大, 无法实现目标; 二则也没有必要, 可先采用网络药理学方法关联成分与靶点进行初筛。

**3.2.1 中药成分与毒(效)靶点拓扑网络关联** 采用理论计算化学和统计学方法研究化合物的结构与其活性之间的定量构效关系(quantitative structure-activity relationship, QSAR)进行化学对接<sup>[16]</sup>, 同时结合“印迹模板”特征及大型文献库的数据, 以无尺度、相似度、贝叶斯概率、空间与时间等参数形式关联成拓扑网络<sup>[17-21]</sup>, 可完成大样本信息的整合。再分析成分与靶点的网络特征, 浓集成分与靶点。

**3.2.2 中药成分与毒(效)靶点拓扑网络分析** 经拓扑网络特征计算, 包括网络节点间团聚(与一定方向性节点连接构成的网络团伙)、子群(网络群体中的子集)、中心性测度(包括节点度、紧密度、介数、核数、子图数、偏心度、特征向量、点覆盖性等)、网络整体特征(度分布、聚集系数、特征路径长度、最大节点流量路径、节点重要性、中间态集中度、联接集中度)、网络比较和 PPI 网络中功能模块识别等特征参数分析, 了解成分靶点间作用的毒与效总体规律, 阐明成分与靶点作用的有效性。但这种研究方法获得的拓扑网络复杂, 难以直接被临床所采用, 不能描述成分靶点间的量-时-效(毒)关系, 需以平衡常数表征的网络动力学方法验证并建立量-时-效关系。

中药网络药理学研究已成为中医药领域近年研究的热点, 已在速效救心丸、清开灵、左归丸和补阳

还五汤等名方中得到了广泛的应用, 其中以心血管疾病方面的研究报道最多<sup>[22]</sup>, 尽管该法能从跨数据平台的角度阐明中药成分与靶点的有效性, 关联成分群与靶点的拓扑网络, 实现中药多成分群作用的定性表征, 但缺少全面验证的实验方法。

## 4 中药毒与效整合超分子化学的定量网络谱学的研究

由以平衡常数表征的网络动力学和谱动力学、谱效学与谱效动力学组成。

### 4.1 网络动力学验证

运用网络化学动力学原理, 对成分群与靶点间的作用平衡常数进行研究, 能实验验证网络药理学所构建的拓扑网络, 阐明拓扑网络特征, 进一步锁定成分与靶点的作用关系。本法是在 James 和 Prater<sup>[23]</sup>复杂化学反应系统结构与分析方法研究的基础上, 基于网络节点(成分或靶点)的流量平衡建立, 按式(1)建立以平衡常数表征“印迹模板”间作用的网络动力学方程, 据此可获得成分与网络靶点的作用平衡常数。

$$\frac{dc_i}{dt} = \sum_{j=1, j \neq i}^{m+n} (-k_{i0} + k_{ij})c_i + k_{ji}c_j \quad (1)$$

$$f(c_i, c_j) = 0 \quad (2)$$

其中,  $m$  为成分总数;  $n$  为靶点总数;  $c_i$  为第  $i$  个节点(成分或靶点)质量浓度;  $j$  为除  $i$  节点的其他节点;  $c_j$  为第  $j$  个节点(成分或靶点)质量浓度;  $K_{i0}$  为第  $i$  节点的网外消除平衡常数;  $K_{ij}$  为第  $i$  节点向第  $j$  节点转化的平衡常数;  $K_{ji}$  为第  $j$  节点向第  $i$  节点转化的平衡常数。由成分与靶点组成网络节点, 由成分靶点间平衡常数组成网络的边, 由网络微分方程(1)与约束式(2)构成约束式网络动力学数学模型组, 当没有约束式(2)时, 则称无约束网络动力学或简称网络动力学, 式(1)为齐次方程, 当方程加上常数项或  $c_i$ 、 $c_j$  项为代数式时, 则为非齐次方程。由此可构建以成分靶点间作用平衡常数的二元组拓扑网络, 其拓扑网络数学模型为式(3):

$$A = (n, K) \quad (3)$$

二维数组  $A(n, K)$ , 其中  $v = (v_1, v_2, \dots, v_{m+n})$  为节点集,  $K \in V \times V$  是边集;  $V$  中元素称为节点或顶点,  $K$  中元素称为边, 且  $K$  中每条边  $K_{ij}$  有  $V$  的一对节点  $(v_i, v_j)$  与之对应。A 用平衡常数表达, 这时可反应成分靶点间的影响空域。众所周知, 平衡常数越大, 表明成分靶点间的作用越快, 影响越大, 距离越近, 其“印迹模板”越互补, 可以在体内形成超分子。当

$K_{ij}$  为 0 时, 表示成分与靶点间没有“印迹模板”作用, 因此通过对式 (3) 的拓扑结构特征分析, 能验证成分靶点间作用真实“印迹模板”作用关系, 分析出中药成分群作用哪些相似, 哪些不相似, 亦形成超分子的可能性, 从而实现毒与效成分整体分析的聚焦和整合。通过对式 (3) 的主要成分分析、因子分析, 建立主要成分与主要靶点的层次关系, 寻找成分与靶点的作用域。

因此, 矩阵 (1) 的平衡求算最为核心, 具体有 3 种求算方法: ① 单剂量给药时 AUC 法: 利用各节点质量浓度无限累积量变 (AUC, 为质量浓度用时间从 0 至  $\infty$  积分) 与网络外消除平衡常数 (网络内节点向网络外节点转变常数) 之积的代数和等于各节点初始浓度质量总和, 建立节点 AUC、平衡常数与初始浓度的线性方程组, 求解获得平衡常数。特点是需多次取血测 AUC; ② 多剂量给药 AUC 法: 利用 AUC、平衡常数与初始浓度的线性方程组, 多次给药, 达 7 个半衰期以上, 取最高与最低稳态浓度算得 AUC, 再计算出平衡常数, 特点是两点取血确定 AUC。③ 静脉滴注稳态浓度法: 利用各节点质量稳态浓度与网络外消除平衡常数之积的代数和等于各节点质量给药速度, 建立节点稳态浓度、平衡常数与浓度速度的线性方程组, 求解获得平衡常数, 特点是一点确定稳态浓度 (可认为给药周期为零时的 AUC)。

在小样本实验条件下, 以单次给药 AUC、多次给药稳态 AUC 与静脉滴注 (或零级缓释给药) 的稳态浓度与初始给药量、速度就能精确求算各节点间的作用平衡常数, 建立以平衡常数表征的网络药效动力学 (与指纹图谱关联构成网络谱效动力学) 的研究方法。从理论上说, 根据所纳入的成分与网络靶点数量 ( $n$  为网络节点数,  $m$  为求得 AUC 样点数),  $s$  为重复数,  $l$  为网络节点的测量次数, 以  $n$  个不同比例的成分组进行实验, 按  $n \times m \times s \times l$  计算动物数, 实现小样本实验数据测定与验证复杂网络毒 (效) 动力学, 构建网络毒 (药) 理学。上述的数学模型及参数测算详细过程可参见文献<sup>[24, 25]</sup>。

本团队运用上述方法初步锁定了补阳还五汤主要成分与靶点的作用关系<sup>[24]</sup>。在阐明成分与靶点的作用关系, 再进行定量毒 (药) 理学规律研究。

## 4.2 中药定量谱学研究

对于上述锁定的成分与毒 (效) 靶点可进行定量谱学研究, 包括谱动力学、谱效学与谱效动力学, 从而测算出毒 (效) 应的量-时-效关系, 获得成分“治疗窗”、安全指数、治疗指数和入窗指数, 并探讨处

于“治疗窗”以下、中间及以上成分的 AUC 和总量统计矩参数, 结合成分的含量, 综合确定中药毒与效的整合趋势。

**4.2.1 中药谱动学的研究** 中药谱动学 (multiple component PK, polypharmacokinetics) 数学模型及参数的整合可在单成分的药理学数学模型及参数计算基础上进行。采用总量药理学进行研究<sup>[26]</sup>: ① 药物浓度累加法: 按对应时间点进行药物浓度直接累积叠加, 再按经典的药物动力学进行整体药理学参数求算。本法与单成分同样研究, 易于测算, 各参数结果明确, 但会丢失单个成分的药理学参数, 不能与多指标 (靶点) 拟合建立谱效学、谱效动力学, 难实现多成分整体量-时-效偶联<sup>[27]</sup>; ② 单个成分的药理学解析式的叠加: 由于各成分的房室模型不同, 指数项不能合并, 采用单成分解析式叠加表达过于冗长复杂; ③ 泰勒展开成级数后叠加: 采用泰勒展开公式, 将各解析式展开成级数形式, 再进行指数项合并, 由于泰勒展开的级数也是无穷项, 一则比较难确定满足实验精度要求的项数, 更重要的是不能给出的泰勒展开级数各参数的药理学意义; ④ 总量统计矩叠加<sup>[28]</sup>: 采用统计矩原理将单成分的线性与非线性药理学解析式统计矩参数化, 构建单成分药理学参数与统计矩参数, 再利用统计矩的加合性建立各单个成分统计矩参数与总量统计矩参数的关系, 包括总量零阶矩、一阶矩和二阶矩; 由总量零阶矩、一阶矩可获得总量消除常数、总量半衰期、总量表观体积和总量清除率等整合的总量药理学参数; 由总量二阶矩获得多成分代谢的离均差, 从而可以建立与单成分药物动力学关联, 用总量零阶矩表示总生物利用度; 用总量一阶矩表示多成分的平均驻留时间; 用总量二阶矩表示总成分代谢的离散程度, 从而可解决中药多成分药物动力学的计算理论难题。运用本方法已成功地进行了补阳还五汤、金银花与山银花谱动学研究, 获得了多成分整合后量-时-效关系<sup>[29, 30]</sup>, 在进行中药谱动学时, 可结合超分子化学与代谢组学进行研究, 建立谱动学与代谢产物超分子“印迹模板”的体内的作用规律。也可在完成中药谱毒 (效) 学后进行谱动学研究, 更能针对有效或毒性成分进行研究。

**4.2.2 中药谱毒 (效) 学的研究** 中药谱毒学 (multiple component toxicometry, MCTM) 与谱效学 (multiple component pharmacometry, MCPM) 可在单成分的 Hill 量-毒 (效) 关系基础上进行非线性叠加。单成分的 Hill 量-毒 (效) 参数, 如  $E_{\max}$ 、 $EC_{50}$ 、 $n$  可采用

Lineweaver-Burk、Scott 比值法、Scatchard 法、Hill 对数法及加权回归法等<sup>[28,31]</sup>方法进行确定。对于中药的谱毒(效)学研究,本课题组撰文详细阐明了其研究方向和方法,可采用中药指纹图谱的“谱”信息与对机体的“效”作用之间的对应关系进行中药有效成分效应的归属研究。目前,中药谱效学一般进行原药成分与固定效应的谱效学研究,多采用多元统计的方法探讨中药成分与效应靶点(指标)的相关性,或对大数据库样本进行网络拓扑学分析<sup>[32-36]</sup>,目的在于阐明中药成分群的有效性。但由于缺乏量效关系数学模型的研究,没有从药物与靶点(指标)的 Michaelis-Menten 动力学原理建立多成分多靶点整合的量效数学模型,难与谱动力学关联形成较为完整的中药谱效动力学研究方法。为此,本课题组建立了基于经典的 Michaelis-Menten 动力学原理,又能与谱动力学关联的体外与体内都适用的谱毒(效)学研究方法<sup>[37]</sup>。对于体外的谱毒(效)学研究应防止共线性和药物浓度应跨越毒(效)的整个范围问题;而体内的谱毒(效)关系研究为谱毒(效)动力学研究,可测定一定药物剂量下不同时间代谢物的浓度与毒(效)应的关系。谱毒(效)学的重点在于怎样整合单个成分的量-毒(效)关系构建多成分总量谱毒(效)学,可采用两种方法:第一种方法是先建立多成分与单个靶点的 Hill 量效关系,可直接采用叠加再整合构成,为了防止出现成分众多而代数式复杂冗长的问题,可以采用主成分分析降维的办法解决<sup>[38,39]</sup>;第二种方法采用主成分分析方法对药物成分、靶点数目降维处理,再建立基于主要成分的谱毒(效)学<sup>[40]</sup>。本团队利用该法成功地进行了补阳还五汤体外、体内谱效(毒)研究,获得了各主成分与主要靶点的 Hill 量效参数<sup>[41-43]</sup>。

**4.2.3 中药谱(毒)效动力学的研究** 中药谱毒动力学(multiple component PK/TD, MCPK/TD)和中药谱效动力学(multiple component PK/PD, MCPK/PD)可以在单成分毒(药)效动力学(PK/PD)研究基础上进行整合<sup>[37,44-46]</sup>。采取下列方法:① 效应靶点(指标)在同一个微观水平,药物能很快与靶点接触而产生疗效,可采用直接反应的软连接或硬连接,不考虑时滞,不考虑效应学参数随时间变化建立谱毒(效)动力学模型进行研究;② 效应靶点(指标)在同一个微观水平,药物与靶点按一定时滞产生疗效,可采用直接反应的软连接或硬连接,考虑时滞,不考虑参数随时变建立谱效动力学模型进行研究;③ 效应靶点(指标)在同一个微观水平,药物与靶点作用参数

随时间变化,可采用稳态血药浓度方法,直接反应的软连接或硬连接,考虑时滞,考虑参数随时间变化建立谱毒(效)动力学模型进行研究;④ 效应靶点(指标)不在同一个观察水平,药物浓度微观而效应靶点(指标)处于宏观,可模仿温度、压力与微观分子的统计热力学原理建立数学模型<sup>[47]</sup>,或采用药物对数浓度建立谱毒(效)动力学,如按一定时滞产生疗效,可采用直接反应的软连接,考虑时滞,不考虑参数随时间变化建立谱毒(效)动力学模型进行研究;⑤ 效应靶点(指标)的网络谱毒(效)动力学数学模型。归根结底,药物成分与靶点的作用基于 Michaelis-Menten 动力学原理,不管是否同在一个水平,采用 Hill 形式的动力学模型基本上能满足大部分药物与靶点的作用关系,可以在单成分的非线性药物动力学模型的基础上建立非线性多成分多靶点的动力学方程,再采用扰动再平衡动力学方法,结合克莱姆(Cramer)法可建立单个成分与总量成分整体的 Hill 关系,再将成分与效应靶点(指标)合并建立适用于复杂谱效动力学体系。当药物浓度远大于半数毒(效)浓度时, Hill 量-毒(效)关系可变为线性网络动力学方程,这时采用 AUC、稳态周期下面积、静脉滴注时稳态药物浓度可获得网络平衡常数<sup>[24]</sup>。

中药谱毒(效)动力学的数学模型复杂,应采用多目标非线性拟合获得参数,可采用 Matlab 软件编程运行<sup>[48]</sup>。据此可确定各成分体内量-时-毒(效)曲线与“治疗窗”内外围成的面积,就能定量分析中药各成分群的毒与效整合作用的强度与程度。

对中药定量毒(药)理谱学可进行总量统计矩分析,可获得总量零、一、二阶矩坐标等参数;再利用误差传递关系求得总量消除常数、总量半衰期和总量清除率的标准差;利用均数加减 1.96 倍标准差就能获得整体量-时(谱动力学)、量-毒(效)[谱毒(效)学]、量-时-毒(效)[谱毒(效)动力学]参数的 95% 作用跨度,亦作用 5%~95% 所对应的总量时间或浓度跨度;再由总量零、一阶矩可求出总量清除率、消除常数和表观体积等谱动力学参数。

同时,进行中药谱动力学、谱毒(效)学与谱毒(效)动力学研究时,根据其定量毒(药)理谱学参数与“印迹模板”相似叠加性规律,简并成分,又会促进中药毒与效超分子“印迹模板”自主作用定性研究的进一步简化。

对中药复方成分经过多轮的超分子“印迹模板”定性定量毒与效的研究,最大程度地简并效应成分群和效(毒)靶点作用关系。本团队运用本法进

行了鱼腥草注射剂谱效动力学研究获得了量-时-效参数<sup>[49]</sup>。

## 5 中药毒与效整合的“治疗窗”的测定、变化及受控成分分布规律研究

在获得各成分及简并后整合的 Hill 量-毒(效)关系式后,可按各自最大效应系数的 95% 来确定最低有效浓度,按最大毒效系数的 5% 来确定最低中毒浓度,算得安全指数,确定“治疗窗”,结合该剂量下各成分的药物动力学曲线,分析其在“治疗窗”的分布规律<sup>[50,51]</sup>:分低溢、入窗、高溢成分,亦毒与效成分的整合分布规律,并与单成分的治疗指数比较,能定量表征中药配伍后毒与效整合规律;再结合各成分“印迹模板”与毒(效)浓度的关系研究,结合总量统计矩方法,分析各成分相互受控影响规律,特别是毒(药)效、增毒(效)成分“印迹模板”影响规律的研究,探讨“单独毒性成分与方中毒性成分”整合受控规律。

在获得各成分的“治疗窗”后,还应考虑各药材及制剂中成分含量与体内药物浓度的相关性,探讨哪些毒性成分易高溢、进入和低溢“治疗窗”,得出给药制剂的毒与效整合分析规律,并分析成分与靶点的“印迹模板”作用特征。

从中药超分子“印迹模板”定性定量分析的层面建立了毒与效整合的研究方法,实现中药复方“七情”和“阴阳”和合配伍规律“道得清”的定量科学表征,达到“有故无殒,亦元殒也”的临床治疗与监测用药,趋利避害的目的。

## 6 展望

中药毒与效整合为中药药性研究的重要内容,在超分子“印迹模板”基础上实现整合,实质上是遵循了中药自然生长和进入人体产生生物作用的生物规律,真正能体现“天人合一”观,这些研究工作将会极大地降低中医药基础理论研究方法的难度,对促进中医药现代化起到重要的示范性作用。

## References

[1] Song SJ, Peng Y, Wang SJ. Toxic Chinese Medicine Pharmacology and Clinical Application (有毒中药药理与临床应用) [M]. Beijing: People's Military Medical Publishing, 2008.

[2] Ye ZG. Inheriting the innovative Chinese medicine theory and improving the clinical efficacy and safety of toxic Chinese medicine [J]. World Chin Med (世界中医药), 2014, 9: 127–128.

[3] Zhang GP, Ye ZG. Theory and methods on toxicity control of

toxic Chinese materia medica [J]. World Chin Med (世界中医药), 2014, 9: 132–136.

- [4] Yu M, Han JR, Jiao YZ, et al. Construction and thinking of the dose threshold and therapeutic window of traditional Chinese medicine and traditional Chinese medicine prescription [J]. J Tradit Chin Med (中医杂志), 2011, 52: 1793–1794.
- [5] He FY, He H, Deng KW, et al. Exploration of research approaches of Chinese medicine's pharmacology based on “imprinting templates” (medical element) of supramolecules [J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2015, 40: 4313–4318.
- [6] Sambrook MR, Notman S. Supramolecular chemistry and chemical warfare agents: from fundamentals of recognition to catalysis and sensing [J]. Chem Soc Rev, 2013, 42: 9251–9267.
- [7] Ariga K, Kunitake T. Supramolecular Chemistry-Fundamentals and Applications [M]. Berlin: Springer, 2006.
- [8] Yin XY, Zhong YQ, Jiang YF, et al. Spectral analysis of the interaction between functional monomers and template molecules in molecularly imprinted polymerization [J]. Spectrosc Spect Anal (光谱学与光谱分析), 2010, 30: 2211–2214.
- [9] Simantov R, Snyder SH. Morphine-like peptides in mammalian brain: isolation, structure elucidation, and interactions with the opiate receptor [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1976, 73: 2515–2519.
- [10] Park S, Lee SY, Park KM, et al. Supramolecular networking of macrocycles based on exo-coordination: from discrete to continuous frameworks [J]. Acc Chem Res, 2012, 45: 391–403.
- [11] Zhou CH, Zhang FF, Gan LL, et al. Research in supramolecular chemical drugs [J]. Sci China Chem Ser B (中国科学-化学), 2009, 39: 208–252.
- [12] Liao H, Jin C, He YQ, et al. Preparation and characterization of quercetin molecularly imprinted polymer microspheres [J]. Chin Tradit Herbal Drugs (中草药), 2017, 48: 1537–1543.
- [13] Wang Z, Zhang QS, Mao Q, et al. Application of metabolomics in the toxicity assessment of traditional Chinese medicine [J]. Acta Chin Med Pharmacol (中药学报), 2014, 42: 85–89.
- [14] He FY, He H, Deng KW, et al. Dispute for Japanese (wild) honeysuckle flower based on supermolecular imprinting templates [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2016, 41: 1152–1160.
- [15] Zhou YQ. Study on the Relationship Between Supramolecules of Houttuynia Injection, Shuang Huanglian Injection and Anaphylactoid Reaction (鱼腥草注射液、双黄连注射液中超分子物质与类过敏反应的关联性研究) [D]. Changsha:

- Hunan University of Chinese Medicine, 2014: 46.
- [16] Han WJ. Application of QSAR and Molecular Docking Studies in Medicinal Analytical Chemistry (定量构效关系和分子对接在药物分析化学中的应用) [D]. Lanzhou: Northwest Normal University, 2011.
- [17] He FY, Zhou HH, Luo JY, et al. Mathematical model establishment and parameter analysis of multi-component pharmacokinetic metabolic network dynamics [J]. Chin J Clin Pharm Therapeut (中国临床药理学与治疗学), 2007, 12: 1321-1331.
- [18] Zhao J, Zhang WD. Advances in multi-target and multi-component drug research based on systems biology [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2010, 45: 1121-1126.
- [19] Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery [J]. Nat Chem Biol, 2008, 4: 682-690.
- [20] Hopkins AL. Network pharmacology [J]. Nat Biotechnol, 2007, 25: 1110-1111.
- [21] Wei S, Niu M, Wang J, et al. A network pharmacology approach to discover active compounds and action mechanisms of san-cao granule for treatment of liver fibrosis [J]. Drug Des Devel Ther, 2016, 10: 733-743.
- [22] Xue XC, Hu JH. Research methods and applications in network pharmacology [J]. J Pharm Pract (药学实践杂志), 2015, 33: 401-405.
- [23] James W, Prater CD. The Structure and analysis of complex reaction systems [J]. Adv Catal, 1962, 13: 203-392.
- [24] Yang YT. Study on the Characteristics of the Anti-cerebral Ischemia Target Network System of Buyang Huanwu Decoction (补阳还五汤抗脑缺血靶点网络系统的特征研究) [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2015.
- [25] He FY, Deng KW, Liu WL, et al. The establishment of mathematical model and parameter determination of network pharmacodynamics for Chinese materia medica formula (中药复方网络药效动力学数学模型的建立及参数测算) [C]. Nanjing: Chinese Pharmacological Society Chinese Medicine Pharmacology Committee, 2012: 2.
- [26] Bertera FM, Mayer MA, Opezzo JA, et al. Comparison of different pharmacodynamic models for PK-PD modeling of verapamil in renovascular hypertension [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2008, 57: 212-219.
- [27] He FY. Establishment of Mathematical Model of Chinese Medicine Compound Pharmacokinetics and Study on Buyang Huanwu Decoction (中药复方药物动力学数学模型的建立及对补阳还五汤的研究) [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2006.
- [28] He FY, Deng KW, Liu WL, et al. Experimental studies on pharmacokinetics of three components in Buyanghuanwu injection on base of total quantum statistical moment [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2013, 38: 253-262.
- [29] Zhang YT, Xiao MF, Liao Q, et al. Application of TQSM polypharmacokinetics and its similarity approach to ascertain Q-marker by analyses of transitivity *in vivo* of five candidates in Buyanghuanwu injection [J]. Phytomedicine, 2018, 45: 18-25.
- [30] He H, Yang J, Hu C, et al. Bioequivalability research between *Lonicerae japonicae* Flos and *Lonicerae Flos* based on chromatokinetics [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2016, 22: 1-5.
- [31] Feng K, Liu HG, Lei XC, et al. Research on spectroscopy of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Info Tradit Chin Med (中国中医药信息杂志), 2012, 19: 103-105.
- [32] Van den Hoven AF, Rosenbaum CEMM, Elias S, et al. Insights into the dose-response relationship of radioembolization with resin 90Y-microspheres: a prospective cohort study in patients with colorectal cancer liver metastases [J]. J Nud Med, 2016, 57: 1014-1019.
- [33] Zhang Y. The status quo and prospect of the spectrum-effect of traditional Chinese medicine in traditional Chinese medicine [J]. Heilongjiang Med J (黑龙江医药), 2010, 23: 755-758.
- [34] Wang J, Hao H, Huang L, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic integration and modeling of enrofloxacin in swine for *Escherichia coli* [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 36.
- [35] Shi J. Application of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the development and clinical treatment of new antibacterial drugs [J]. Chin J Clin Pharm Therapeut (中国临床药理学与治疗学), 2007, 12: 1099-1113.
- [36] Xie C, Ding XL, Xue L, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel in patients with acute coronary syndrome [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2014, 49: 1426-1432.
- [37] He FY, Zhou HH, Deng KW, et al. A new qualitative and quantitative analytical method of chromatographic fingerprints total quantum statistical moment [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2008, 43: 195-201.
- [38] He FY, Deng KW, Shi JL, et al. Study of the chromatodynamics, a pharmacodynamic approach for the validation of *Herba Houttuyniae* injection (鱼腥草注射剂的谱效动力学研究) [C]. Yuncheng: Chinese Medicine Association Branch of Chinese Medicine Association, 2009: 15.
- [39] A JY, He J, Sun RB. Multivariate statistical analysis for metabolomic data: the key points in principal component analysis [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2018, 53: 929-937.
- [40] Mcardle A, Kruger U, Hahn J. Multivariate statistical analysis applied to an IL6 signal transduction model in hepatocytes [J].

- Stat Med, 2009, 28: 2401–2434.
- [41] Deng JL. The Study on the Relationship Between the BYHWD's Efficiency and PMCF on Resistance to Nerve Cells Injury of Brain Ischemia Symptomatic (补阳还五汤抗脑缺血症神经细胞损伤谱效学体内外关联性研究) [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2013: 57.
- [42] Duan XP. The Spectroscopy of BYHWD on Resistance to Nerve Cells Injury of Brain Ischemia Symptomatic (补阳还五汤抗脑缺血症神经细胞损伤的谱效学研究) [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2012: 11.
- [43] Sun QH. Anti-early Pregnancy, Cell Respiratory Inhibition and Hemolytic Toxicology Study of Buyang Huanwu Decoction (补阳还五汤抗早孕、细胞呼吸抑制及溶血谱毒学研究) [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2013: 40.
- [44] Selvarasu S, Kim DY, Karimi IA, et al. Combined data preprocessing and multivariate statistical analysis characterizes fed-batch culture of mouse hybridoma cells for rational medium design [J]. J Biotechnol, 2010, 150: 94–100.
- [45] Akashita G, Hosaka Y, Noda T, et al. PK/PD analysis of biapenem in patients undergoing continuous hemodiafiltration [J]. J Pharm Health Care Sci, 2015, 1: 31.
- [46] Wang T, Xie J, Wang Y, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral voriconazole in patients with invasive fungal infections [J]. Pharmacotherapy, 2015, 35: 797–804.
- [47] Zhu MY. Enzyme activity from statistical thermodynamics [J]. Biol Teach (生物学教学), 2015, 40: 73.
- [48] Hao HX. Put non-linear curve fit of data processing in practice [J]. Intell Comput Appl (智能计算机与应用), 2013, 3: 78–81.
- [49] He FY, Deng KW, Shi JL, et al. Study of chromatodynamics, a pharmacodynamic approach for the CMMF with fingerprint chromatography and validation of Herba Hououyniae injection (中药及复方药效动力学: 谱效动力学数学模型的建立及对鱼腥草注射剂的研究) [C]. Xining: Modern Chinese Medicine Development Association and Chinese Pharmacology Research Association, 2009, 22: 11.
- [50] Yu M, Jiao YZ, Tong XL, et al. Progress and thinking on the dose-effect relationship of traditional Chinese medicine compound research [J]. J Tradit Chin Med (中医杂志), 2011, 52: 1517–1520.
- [51] Gao J, Li YX, Sun XY, et al. Clinical study of cyclosporine a treatment window concentration after renal transplantation [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2002, 22: 292–293.