

多维空间三角形面积法研究中药多组分释放-吸收相关性的思路与方法

李海燕¹, 顾景凯², 郭 桢^{1,3}, 石森林³, 张继稳^{1*}

(1. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203; 2. 吉林大学, 吉林 长春 130021; 3. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: 提出评价中药多组分释放-吸收体内外相关性的一种新方法, 并用示例说明方法的可行性。传统中药一般含有众多组分, 不应套用西药制剂的释放-吸收相关性方法进行评价。任一时间点, 多组分释放度或多组分吸收度是多维空间中的一个点, 连续 3 个时间点连线的三角形面积反映了多组分释放或吸收的动力学变化特征。计算多维空间中点与点的距离, 得到任意连续 3 个时间点 (释放/吸收) 形成三角形的 3 个边长, 进而计算其面积。以释放度三角形面积累计值-吸收度三角形面积累计值的相关性来表征中药的多组分释放-吸收体内外相关性。示例表明, “多维空间三角形面积法” 能将多组分作为一个整体进行释放动力学-吸收动力学相关性评价。该法体现了中药的整体性, 为中药多组分释放动力学-多组分吸收动力学的相关性评价提供了新方法。

关键词: 中药; 多组分释放; 多组分吸收; 体内外相关性

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 07-0895-06

Multidimensional spatial triangular area as an index for the evaluation of the release-absorption correlation of multiple component traditional Chinese medicines

LI Hai-yan¹, GU Jing-kai², GUO Zhen^{1,3}, SHI Sen-lin³, ZHANG Ji-wen^{1*}

(1. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China;

2. Jilin University, Changchun 130021, China; 3. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract: The paper is aimed to provide a novel index, named as multidimensional spatial triangular area, for the evaluation of the release-absorption correlation of multiple component traditional Chinese medicines (TCMs). The applicability of the method was demonstrated by the example data. The method and standard practice for evaluation of the release-absorption correlation for western medicines with single compound could not be applied to TCMs with multiple components. The release percentage or absorption percentage of the multiple components for TCMs at the sampling time was a point in the multidimensional space. The area of the triangle formed by the sequential three points represented the changing characteristics of the components' release and absorption kinetics. The side lengths of the triangle could be calculated from the spatial distances between each two of the sequential three points. Then the triangle area could be obtained by the side lengths. The *in vitro* release-*in vivo* absorption correlation of the multiple components could be represented by the correlation between the integrating values of the release triangle areas and that of the absorption triangle areas. The results of the examples indicated that the multidimensional spatial triangular area method could treat the multiple components in a holistic way, in line with the holism of the TCMs. Therefore, the multidimensional spatial triangular area method provided new methodology for the release-absorption correlation of the TCMs with

收稿日期: 2010-01-21.

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2008BAI51B03, 2006BAI11B07); 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-YW-R-205); 上海市科委科研计划项目 (09dZ1973300); 国家科技重大专项课题 (2009ZX09301-001, 2008BAI51B03).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-50805901, E-mail: jwzhang@mail.shnc.ac.cn

multiple components.

Key words: traditional Chinese medicine; multiple components release; multiple components absorption; *in vitro-in vivo* correlation

药物的体外释放/溶出度试验是预测和控制体内生物利用度的可靠方法。在药物的体外释放/溶出动力学与体内吸收动力学性质之间建立相关性,就可以用相对简便的体外释放/溶出度试验预测和控制药物的体内生物利用度。因此,体内外相关性评价的意义在于把体外释放/溶出度试验作为制剂的质量控制手段,确保药物具有理想的体内行为;通过释放/溶出度质量标准,控制不同批次制剂间的重现性,以免体内生物利用度发生变化。此外,还用于指导处方设计,以获得具有理想的体内药动力学行为的新剂型与给药系统。

中国药典(2005年版)将制剂的体内外相关性归纳为3种^[1]:①体外释放曲线与体内吸收曲线对应的各个时间点分别相关,简称点对点相关;②应用统计矩分析原理,建立体外释放的平均时间与体内平均滞留时间之间的相关;③将一个释放时间点(如 T_{50} , T_{90} 等)与一个药代动力学参数(如AUC, $C_{\max}$ 或 $T_{\max}$ 等)之间单点相关,该法只说明部分相关。

多组分中药的体内外相关性评价不同于单组分的化学药品,目前尚无多组分体内外相关性评价方法和模式,也没有相应的新药审评指南与规范。中药的体内外相关性评价不应孤立地评价单一组分,而应该采用能体现中药整体性的多组分体内外相关性评价方法,建立相应的参数进行表征^[2]。中药多为复方制剂,其含有的众多组分的药代动力学特征复杂,使得中药的体内外相关性研究具有很大难度^[3]。将中药的多组分视为动态的整体进行动力学分析,与中药整体观一致,成为中药药物动力学评价的一个重

要趋势,面向多组分的中药物质组释放动力学表征方法取得了一定进展^[4-9],为进一步开展多组分中药的释放-吸收相关性研究奠定了基础。

组分数为2时,释放度和吸收度相关性可以在二维空间展现;组分数为3时,可以在三维空间展现;但当组分数大于3时,采用类似于单组分化学药物的释放度和吸收度数值本身相关的方法,难以表征多维空间中多组分释放度和吸收度的变化及相关关系。因此,本文根据多组分释放和吸收动力学过程的动态、连续、累积变化特点,提出“多维空间三角形面积法”,对中药的多组分释放动力学-多组分吸收动力学相关性进行评价,希望为中药的体内外相关性评价提供新的思路。

方法与原理

多组分释放度的空间位置表征 在 m 个组分经过 n 个时间点得到的多组分释放度的多维空间中,在取样时间点 t_i 处, m 个组分的释放度可以看作是 m 维空间(由 m 个组分构成)中的一个点 R_i 。显然,这个点在空间中的位置取决于各组分的释放度。当组分数 >3 时,各组分的释放度和吸收度为维数大于3的空间内的点,难以直观地表述。因此,本文以2个组分为例进行说明。例如,当组分数 $m=2$ 时,组分1在1h的释放度 R 为0.28,组分2在1h的释放度为0.35(图1A)。那么1h时,多组分释放度 R_i 在组分1和组分2构成的二维空间中的位置为(0.28, 0.35),见图1B中的点 R_i 。故多组分在第 i 个时间点的释放度 R_i 在 m 维空间的空间位置表征如下:

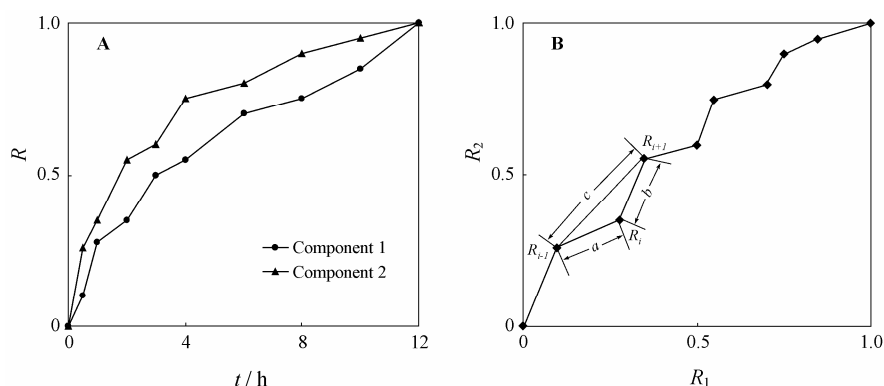


Figure 1 Schematic diagram of cumulative release curves (A) and a typical multidimensional spatial triangle (B) of a demo TCM ($m=2$)

$$R_i = [R_{i,1} R_{i,2} \cdots R_{i,j} \cdots R_{i,m-2} R_{i,m-1} R_{i,m}] \quad (1)$$

在取样时间点 t_{i-1} 处时, 即空间中 R_i 的前一个点, 多组分释放度 R_{i-1} 在 m 维空间的空间位置为:

$$R_{i-1} = [R_{i-1,1} R_{i-1,2} \cdots R_{i-1,j} \cdots R_{i-1,m-2} R_{i-1,m-1} R_{i-1,m}] \quad (2)$$

在取样时间点 t_{i+1} 处时, 即空间中 R_i 的后一个点, 多组分释放度 R_{i+1} 在 m 维空间的空间位置为:

$$R_{i+1} = [R_{i+1,1} R_{i+1,2} \cdots R_{i+1,j} \cdots R_{i+1,m-2} R_{i+1,m-1} R_{i+1,m}] \quad (3)$$

时间 t 由 t_0 到 t_i 变化时, 多组分释放度在 m 维空间中的位置也随时间在发生变化, 并且这一位置变化反映了多组分的释放动力学过程。 $m=2$ 时, 如图 1 所示, A 为两个组分常规的释放度曲线图, B 为组分 2 的释放度对组分 1 的释放度作图, 即 2 个组分在二维空间的释放度 (位置) 变化图。时间由 t_{i-1} 到 t_i 再到 t_{i+1} , 多组分释放度的空间位置由 R_{i-1} 到 R_i 再到 R_{i+1} 。这期间, 多组分释放度不但发生了量变, 而且具有一定的轨迹特征, 即从 R_{i-1} 到 R_{i+1} , 不是简单的状态变化, 而是具有一定轨迹特征的过程变化。因此, 在表征多组分的释放度变化时, 不仅要考虑释放度数值本身的变化, 同时还要考虑过程变化中的轨迹和路径。而连续 3 个时间点的多组分释放度, 即多维空间中连续 3 个点形成了一个三角形, 其三边长分别为多维空间中三点间距离 a 、 b 和 c (图 1B), 可由多维空间中点的距离公式计算求得^[10], 分别为公式 4~6。

由三角形面积公式可知释放度三角形面积 ($S_{R,i}$) 为:

$$S_{R,i} = \frac{1}{2} ab \sin \theta \quad (7)$$

其中, a 和 b 可由公式 4 和 5 计算求得。因三角形的任意内角 $<180^\circ$, 所以 $\sin \theta > 0$ 且 $\sin \theta = \sqrt{1 - \cos^2 \theta}$ 可由下式计算:

$$\sin \theta = \sqrt{1 - \left(\frac{a^2 + b^2 - c^2}{2 \times a \times b} \right)^2} \quad (8)$$

释放度变化特征的描述归于多维空间中 3 个点围成的三角形面积的计算, 这个三角形的面积可以定量描述上述多组分释放度变化, 且能够体现多组分释放动力学的动态、连续、累积变化特点。

多组分吸收度的空间位置表征 在 m 个组分经过 n 个时间点得到的多组分吸收度的多维空间中, 在取样时间点 t_i 处, m 个组分的吸收度可以看作是 m 维空间 (由 m 个组分构成) 中的一个点 A_i , 这个点在空间中的位置取决于各组分的吸收度 (图 2)。与释放度类似, 如组分数 $m=2$ 时, 组分 1 在 2 h 的吸收度 A 为 0.35, 组分 2 在 2 h 的吸收度 A 为 0.40。2 h 时, 多组分吸收度 A_i 在组分 1 和组分 2 构成的二维空间中的位置为 (0.35, 0.40)。故多组分在第 i 个时间点的吸收度 A_i 在 m 维空间的空间位置表征同释放度 (公式 1~3)。

与释放度相似, 时间 t 由 t_0 到 t_i 变化时, 多组分吸收度在 m 维空间中的位置也随时间发生变化, 并且这一位置变化反映了多组分的吸收行为。以组分数

$$a = \sqrt{(R_{i,1} - R_{i-1,1})^2 + (R_{i,2} - R_{i-1,2})^2 \cdots + (R_{i,j} - R_{i-1,j})^2 \cdots + (R_{i,m} - R_{i-1,m})^2} \quad (4)$$

$$b = \sqrt{(R_{i+1,1} - R_{i,1})^2 + (R_{i+1,2} - R_{i,2})^2 \cdots + (R_{i+1,j} - R_{i,j})^2 \cdots + (R_{i+1,m} - R_{i,m})^2} \quad (5)$$

$$c = \sqrt{(R_{i+1,1} - R_{i-1,1})^2 + (R_{i+1,2} - R_{i-1,2})^2 \cdots + (R_{i+1,j} - R_{i-1,j})^2 \cdots + (R_{i+1,m} - R_{i-1,m})^2} \quad (6)$$

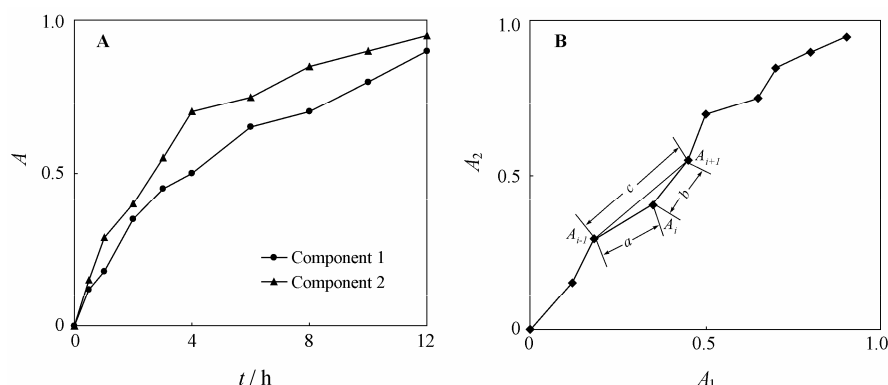


Figure 2 The schematic diagram of cumulative absorption curves (A) and a typical multidimensional spatial triangle (B) of a demo TCM ($m=2$)

$m = 2$ 来说明此过程 (图 2): 时间由 t_{i-1} 到 t_i 再到 t_{i+1} , 多组分吸收度的空间位置由 A_{i-1} 到 A_i 再到 A_{i+1} 。期间, 多组分吸收度是有一定轨迹特征的过程变化。多组分吸收度空间位置点形成的三角形面积可以描述在 t_i 前后吸收度的变化。因此, 吸收度的变化特征归于多维空间三点形成三角形面积的计算。三角形三边的长度及面积计算同释放度, 以吸收度值 A 代替公式 4~8 中的释放度 R 进行计算, 即得。

多组分释放度-吸收度的相关性

释放度三角形面积-吸收度三角形面积相关性用释放度三角形面积数列 $S_{R,i}$ 表示时间 t_i 时多维释放度的变化, 吸收度三角形面积数列 $S_{A,i}$ 表示多维吸收度的变化。由于释放度和吸收度均为无量纲参数, 上述面积参数也为无量纲参数。采用最小二乘法, 对 $S_{R,i}$ 和 $S_{A,i}$ 进行相关性分析, 得到相关性方程 $S_{A,i} = a S_{R,i} + b$ 及其相关系数 r 。该相关性反映多组分释放度变化特征与多组分吸收度变化特征间的相关性。相关系数 r 越接近于 1, 表明多组分的释放度的数值变化与吸收度的数值变化越接近; 反之, 若相关系数 r 越接近于 0, 表明多组分的释放度的数值变化与吸收度的数值变化相差越大。

释放度三角形面积累计值-吸收度三角形面积累计值相关性 药物的体外释放与体内吸收都属于连续变化、累积的过程, 上述 $S_{A,i}$ 和 $S_{R,i}$ 反映的是各时间点的量变, 两者之间的相关性可能较差。而第一类体内外相关性 (单组分) 研究中, 也是将累积释放度与累积吸收度进行相关性分析。因此, 对于多组分的释放与吸收相关性而言, 前述释放度三角形面积的累计值和吸收度三角形面积的累计值具有更重要的意义, 用于评价多组分释放度与吸收度之间的相关性更合理, 计算公式如下:

$$\sum_{i=1}^p S_{R,i} = S_{R,1} + S_{R,2} \cdots + S_{R,p-1} + S_{R,p} \quad (p \leq n) \quad (9)$$

$$\sum_{i=1}^p S_{A,i} = S_{A,1} + S_{A,2} \cdots + S_{A,p-1} + S_{A,p} \quad (p \leq n) \quad (10)$$

采用最小二乘法, 对多维释放度变化三角形面积累计值 $\sum_{i=1}^p S_{R,i}$ 和 多维吸收度三角形面积累计值 $\sum_{i=1}^p S_{A,i}$ 进行相关性分析, 得到相关性方程 $\sum_{i=1}^p S_{A,i} = a \sum_{i=1}^p S_{R,i} + b$ 及其相关系数 r 。该相关性反映了多组分的累积释放度特征与多组分的累积吸收度特征间的

相关性。相关系数 r 越接近 1, 表明多组分的累积释放与累积吸收行为越接近, 相关性越好; 反之, 若相关系数 r 越接近于 0, 表明多组分的累积释放与累积吸收行为相差较大, 相关性可能越差。

示例结果

1 组分数 $m = 2$

1.1 数据

当组分数大于 3 时, 各组分的释放度和吸收度为多维空间内的点, 难以直观展现。因此, 本文以 2 个组分为例进行说明。2 个组分释放度和吸收度的示例数据如表 1 所示。其中, 组分 1 和组分 2 的释放度曲线见图 1A, 二维空间中组分 1 和组分 2 的释放度的位置变化见图 1B, 组分 1 和组分 2 的吸收曲线见图 2A, 二维空间中组分 1 和组分 2 的吸收度的位置变化见图 2B。

Table 1 Cumulative release and absorption data for multiple components ($m = 2$)

t/h	Cumulative release percents		Cumulative absorption percents	
	$R_{i,1}$	$R_{i,2}$	$A_{i,1}$	$A_{i,2}$
0	0.00	0.00	0.00	0.00
0.5	0.10	0.26	0.12	0.15
1	0.28	0.35	0.18	0.29
2	0.35	0.55	0.35	0.40
3	0.50	0.60	0.45	0.55
4	0.55	0.75	0.50	0.70
6	0.70	0.80	0.65	0.75
8	0.75	0.90	0.70	0.85
10	0.85	0.95	0.80	0.90
12	1.00	1.00	0.90	0.95

1.2 相关性计算

1.2.1 单组分累积释放度-吸收度相关性 采用最小二乘法对表 1 中组分 1 的累积释放度和累积吸收度进行线性回归, 得其回归方程为 $A = 0.92R - 0.003$ ($r = 0.995$, $P < 0.001$); 组分 2 的累积释放度和累积吸收度线性回归方程为 $A = 1.00R - 0.062$ ($r = 0.992$, $P < 0.001$)。

1.2.2 多组分释放度-吸收度三角形面积相关性 按照公式 4~8 计算表 1 中多组分的释放度三角形面积和吸收度三角形面积 (表 2)。采用最小二乘法对表 2 中两个组分的释放度三角形面积和吸收度三角形面积进行线性回归, 得其回归方程为 $S_A = 0.35S_R + 0.002$ ($r = 0.619$, $P = 0.076$)。

多组分释放度-吸收度三角形面积累计值相关性: 按照公式 9 和 10 计算表 1 中多组分的释放度三角形面积累计值和吸收度三角形面积累计值 (表 3)。采用最小二乘法对表 3 中两个组分的吸收度三角形面积累计值和释放度三角形面积累计值进行线性回归, 得其回归方程为 $\sum_{i=1}^p S_{A,i} = 0.60 \sum_{i=1}^p S_{R,i} - 0.005$ ($r = 0.981, P < 0.001$)。

单独计算组分 1 和组分 2 的释放度-吸收度相关性时, 相关系数 r 均比较理想 ($r > 0.95$), 表明这两个组分的释放-吸收相关性均较好。假设由组分 1 和组分 2 构成多组分, 按照前述多组分释放度和吸收度三角形面积法, 计算表征此多组分的释放和吸收动力学变化参数, 即释放度三角形面积 ($S_{R,i}$) - 吸收度三角形面积 ($S_{A,i}$), 见表 2。然后考察多组分释放度和吸收度变化间的相关性。结果 $S_{A,i}$ 与 $S_{R,i}$ 回归的相关系数 r 为 0.619, 偏离 1 较远, 二者相关性较差, 与预期一致。与之相反, 按照前述多组分释放度和吸收度三角形面积法, 计算表征此多组分的释放和吸收动力学连续、累积特征的三角形面积参数, 即释放度三角形面积累计值 ($\sum_{i=1}^p S_{R,i}$) - 吸收度三角形面积累计值 ($\sum_{i=1}^p S_{A,i}$) (表 3)。然后考察多组分释放度和吸收度累

积特征的相关性。结果 $\sum_{i=1}^p S_{A,i}$ 与 $\sum_{i=1}^p S_{R,i}$ 回归的相关系数 r 为 0.981 接近于 1, 二者相关性较好, 与各个单组分相关性结果一致。

因此, 本文提出的“多维空间三角形面积法”宜采用累计值进行多组分释放动力学-吸收动力学相关性评价。

2 组分数 $m = 15$

当组分数 $m = 15$ 时, 多组分的释放度曲线和吸收度曲线十分复杂, 如图 3A 和 3B 所示。而任一时间的释放度或吸收度点, 在 m 维空间中的位置很难甚至无法用直观的图形表示。采用本文提出的“多维空间三角形面积法”, 计算 15 个组分的释放度和吸收度三角形面积后, 进行线性回归, 就可以对这 15 个组分的释放度-吸收度动力学相关性进行评价。15 个组分的吸收度三角形面积 ($S_{A,i}$) - 释放度三角形面积 ($S_{R,i}$) 间的回归方程为 $S_A = 1.00S_R + 0.006$ ($r = 0.935, P < 0.001$, 图 3C); 吸收度三角形面积累计值 ($\sum_{i=1}^p S_{A,i}$) 与释放度三角形面积累计值 ($\sum_{i=1}^p S_{R,i}$) 间的回归方程为 $\sum_{i=1}^p S_{A,i} = 1.09 \sum_{i=1}^p S_{R,i} + 0.007$ ($r = 0.999, P < 0.001$, 图 3D)。

Table 2 $S_{A,i}$ and $S_{R,i}$ values for the release and absorption process of multiple components ($m = 2$)

t/h	0.5	1	2	3	4	6	8	10	12
$S_{A,i} \times 10^2$	0	1.84	1.43	1.32	1.00	1.00	0.63	0.38	0.12
$S_{R,i} \times 10^2$	0	0.39	0.86	0.73	0.38	1.00	0.63	0.38	0.00

Table 3 $\sum_{i=1}^p S_{A,i}$ and $\sum_{i=1}^p S_{R,i}$ for the release and absorption process of multiple components ($m = 2$)

t/h	0.5	1	2	3	4	6	8	10	12
$\sum_{i=1}^p S_{A,i} \times 10^2$	0.00	1.84	3.27	4.58	5.58	6.58	7.21	7.58	7.71
$\sum_{i=1}^p S_{R,i} \times 10^2$	0.00	0.39	1.25	1.98	2.35	3.35	3.98	4.35	4.35

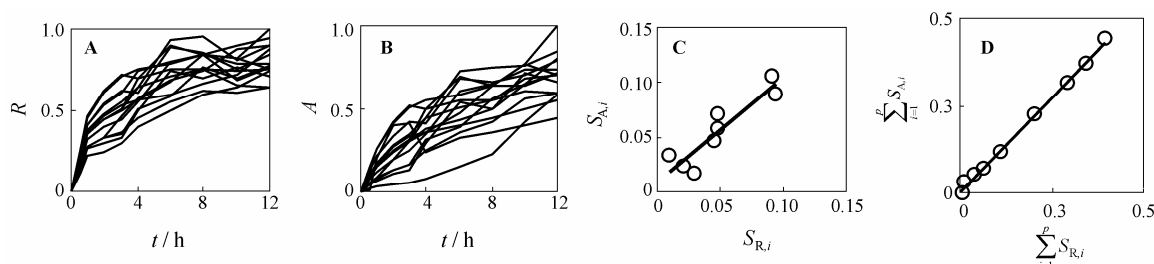


Figure 3 Schematic diagram of cumulative release profiles (A), cumulative absorption profiles (B), correlation of $S_{A,i}$ and $S_{R,i}$ (C), and correlation of and (D) for a TCM with 15 components

讨论和结论

本文提出了“多维空间三角形面积法”，用于评价复杂中药的多组分释放动力学-多组分吸收动力学相关性，而多组分中药的体内外相关性评价可用于指导中药给药系统的开发，为中药给药系统设计和评价提供基本的方法学依据。建立了多组分中药的体内外相关性后，就可采用体外释放/溶出度试验代替体内试验，为生产过程的质量控制创造有利条件，保证产品体内外行为一致。需要指出的是，本文提出的方法在研究多组分中药的体内外相关性时，限于研究物质组分比较明确，且组分在体内外均可检测到的多组分中药。因此，本文提出“多维空间三角形面积法”进行中药多组分体外释放度-多组分体内吸收度的相关性评价，是中药体内外相关性评价方法的一个尝试，期望对传统中药剂型的再评价和中药现代给药系统的设计与评价的方法学基础进行探讨。

References

- [1] China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2005 ed. Beijing: Beijing Chemical Industry Press, 2005: appendix 5–6.
- [2] Liu CX. Systems biology and modern research of traditional Chinese medicines [J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med (天津中医药大学学报), 2006, 25: 115–118.
- [3] Chen LH, Xu DS, Feng Y. Advances in research on *in vivo-in vitro* correlation of sustained-release oral dosage forms in traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2008, 33: 333–338.
- [4] Zhang JW, Chen LB, Gu JK, et al. Novel theory and methods for chemomic multi-component release/dissolution kinetics of traditional Chinese medicines [J]. Chin J Nat Med (中国天然药物), 2008, 6: 48–52.
- [5] Chen LB, Wang ZH, Fu DD, et al. Application of chemomic release kinetics to evaluation of the release characteristics of Yinqiaojiedu tablets [J]. Chin J Nat Med (中国天然药物), 2008, 6: 450–455.
- [6] Chen LB, Zhang JW, Gu JK, et al. Principles of chemomic release/dissolution kinetics for traditional Chinese medicines in conventional dosage forms or drug delivery systems [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2008, 39: 641–644.
- [7] Ling D, Zhang JW, Chen LB, et al. Application of the theories of materiomic release kinetics to the evaluation of the sustained release kinetics and synchronicity of Yinqiaojiedu honeyed pills [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2008, 43: 1140–1146.
- [8] Zhang JW, Chen LB, Gu JK, et al. Novel method for the evaluation of the synchronicity of the chemomic release/dissolution of multi-component traditional Chinese medicines [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2008, 43: 647–651.
- [9] Fu DD, Ling D, Chen LB, et al. Stability of materiomic release kinetics of Yinqiaojiedu tablets and its synchronicity evaluation with visualization method [J]. J Chin Med Univ (中国药科大学学报), 2009, 40: 125–130.
- [10] Gao HX. Applied Multivariate Statistical Analysis (应用多元统计分析) [M]. Beijing: Peking University Press, 2005.