

葛根芩连汤成分间自组装纳米粒改善伊立替康所致肠毒性作用研究

吴淑洋, 杨晓琴, 成威键, 李敏, 李楠, 章津铭*, 吴亿晗*

成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川 成都 611137

摘要: 目的 基于中药经典复方葛根芩连汤(Gegen Qinlian decoction, GQD)合煎过程中成分间相互作用, 探讨其代表性成分葛根素、小檗碱、汉黄芩苷、黄芩苷、甘草酸、巴马汀体外结合形成自组装纳米粒的性能及改善伊立替康(CPT-11)所致肠毒性作用的药理活性, 为来源于中药汤剂的活性成分间的自组装纳米粒提供参考。方法 采用溶剂挥发法分别制备小檗碱-汉黄芩苷自组装纳米粒(berberine-wogonoside nanoparticles, Ber-Wog NPs)、小檗碱-葛根素自组装纳米粒(berberine-puerarin nanoparticles, Ber-Pue NPs)、黄芩苷-葛根素自组装纳米粒(baicalin-puerarin nanoparticles, Bai-Pue NPs)、黄芩苷-巴马汀自组装纳米粒(baicalin-palmatine nanoparticles, Bai-Pal NPs)、黄芩苷-甘草酸自组装纳米粒(baicalin-glycyrrhizic acid nanoparticles, Bai-GA NPs) 5种组分自组装纳米粒, 测定其粒径分布、多分散指数(polydispersity index, PDI)、封装率、载药量, 采用透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)观察其微观形貌, 紫外光谱和傅里叶红外光谱考察成分间相互作用; 考察5种组分自组装纳米粒缓解CPT-11致小鼠迟发性腹泻的药理作用。结果 组分间按1:1投药比, 制备所得Ber-Wog NPs、Ber-Pue NPs、Bai-Pue NPs、Bai-Pal NPs、Bai-GA NPs的平均粒径分别为(198.09±4.64)、(216.29±5.31)、(173.53±5.46)、(185.75±3.38)、(242.10±12.30) nm; PDI分别为0.14±0.06、0.13±0.06、0.19±0.03、0.19±0.01、0.21±0.05, TEM观察均为球状纳米粒, 除Ber-Wog NPs外, 其余4种纳米粒封装率均较高。紫外可见吸收光谱和红外光谱提示, 5种纳米粒的组装均是通过分子间非共价键作用形成; 分子对接模型进一步提示, 其形成机制与分子间静电相互作用或氢键相关。药效试验结果显示, 制剂组可缓解小鼠体重降低, 腹泻指数降低, 结肠组织炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin, IL-1 β)含量降低, IL-10含量升高; 苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE染色)显示结肠黏膜组织病变显著缓解。结论 GQD来源的几种代表性成分可高效自组装形成纳米粒, 且具有类似GQD缓解CPT-11所致肠毒性作用, 为研究传统中药汤剂药效物质基础形态与药效的相关性提供了新思路。

关键词: 葛根芩连汤; 自组装; 纳米粒; 肠毒性; 成分互作; 葛根素; 小檗碱; 汉黄芩苷; 黄芩苷; 甘草酸; 巴马汀; 溶剂挥发法; 腹泻

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)12-3987-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.12.007

Improvement of irinotecan-induced enterotoxicity by self-assembled nanoparticles between components of Gegen Qinlian Decoction

WU Shuyang, YANG Xiaoqin, CHENG Weijian, LI Min, LI Nan, ZHANG Jinming, WU Yihan

Key Laboratory of Standardization of Chinese Materia Medica, Ministry of Education, State Key Laboratory of Southwest Specialty Chinese Medicine Resources, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective Based on the interactions among the components in the combined decoction process of the classical Chinese medicine compound Gegen Qinlian Decoction (葛根芩连汤, GQD), we investigated the performance of its representative components, puerarin, berberine, baicalin, baicalin, glycyrrhizic acid, and pamadine, in combining with each other *in vitro* to form self-assembled nanoparticles, and their pharmacological activities in ameliorating the enterotoxicity effects induced by irinotecan (CPT-11), so as to provide references for self-assembled nanoparticles among active ingredients originating from the traditional Chinese medicine broths.

Methods The five self-assembled berberine-wogonoside nanoparticles (Ber-Wog NPs), berberine-puerarin nanoparticles (Ber-Pue

收稿日期: 2024-01-15

基金项目: 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持项目(ZZYCXTD-D-202209); 国家资助博士后研究人员计划项目C档(GZC20230335)

作者简介: 吴淑洋(1999—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药新制剂研究与开发。Tel: 15583787242 E-mail: 896716899@qq.com

*通信作者: 章津铭, 教授, 主要从事中药新剂型与新制剂研究。Tel: 13551043885 E-mail: cdutcmzjm@126.com

吴亿晗, 讲师, 主要从事中药新剂型与新制剂研究。Tel: 15680803903 E-mail: yihanwuone@126.com

NPs), baicalin-puerarin nanoparticles (Bai-Pue NPs), baicalin-palmatine nanoparticles (Bai-Pal NPs), and baicalin-glycyrrhizic acid nanoparticles (Bai-GA NPs) were prepared by solvent evaporation method. Then, the particle size, polydispersity index (PDI), drug entrapment efficiency and drug loading efficiency of the nanoparticles were measured. The morphology was observed by transmission electron microscopy, and the interaction between the components was investigated by the UV-vis absorption spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy. In addition, the pharmacological effects of five self-assembled nanoparticles on alleviating delayed diarrhea mice model induced by irinotecan (CPT-11) in mice were investigated. **Results** The average particle size of Ber-Wog NPs, Ber-Pue NPs, Bai-Pue NPs, Bai-Pal NPs, Bai-GA NPs were (198.09 ± 4.64) , (216.29 ± 5.31) , (173.53 ± 5.46) , (185.75 ± 3.38) , (242.10 ± 12.30) nm, respectively. The average PDI was 0.14 ± 0.06 , 0.13 ± 0.06 , 0.19 ± 0.03 , 0.19 ± 0.01 , 0.21 ± 0.05 , respectively. Furthermore, the five self-assembled nanoparticles were spheroidal nanoparticles observed by transmission electron microscopy. The other four nanoparticles have higher encapsulation efficiency except Ber-Wog NPs. The UV-vis absorption spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy suggested that the five assembly nanoparticles were formed by intermolecular hydrophobic forces and the molecular docking modeling further suggested that the formation mechanism of nanoparticles was related to intermolecular electrostatic interactions or hydrogen bonding. The pharmacodynamic results showed that the preparation group relieved weight reduction, diarrhea index was decreased, the content of inflammatory factors tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in the colonic tissues was decreased, and interleukin-10 (IL-10) was increased; Hematoxylin-eosin staining (HE staining) showed that the lesions of the colonic mucosal tissues were significantly relieved. **Conclusion** Several representative components from GQD can efficiently self-assemble to form nanoparticles, and have similar effects to GQD in alleviating enterotoxicity caused by CPT-11, which provides a new way to study the correlation between the basic form of pharmacodynamic substances and pharmacodynamic of traditional Chinese medicine decoction.

Key words: Gegen Qinlian Decoction; self-assembly; nanoparticles; enterotoxicity; component interactions; puerarin; berberine; wogonoside; baicalin; glycyrrhizic acid; palmatine; solvent evaporation method; diarrhea

中药汤剂是中医临床用药的重要形式，由于中药成分复杂多样，化学成分存在游离态、结合态、络合态等多种化学结构形态，因此，汤液常包含了真溶液、胶体溶液、混悬液等多种相态分散体系。现代对中药汤剂质量的研究大多集中于汤液中化学成分的种类和含量，但中药成分在煎煮过程中极易发生相互作用，成分间产生范德华力、氢键、静电作用、 π - π 堆积等物理相互作用，或美拉德反应、氧化反应、水解反应等化学反应^[1]，从而形成成分聚集体，影响汤液中中药成分的形态和含量。近年来，研究者发现中药汤剂中普遍存在纳米级颗粒^[2]，尤其是中药成分在煎煮过程经非共价键作用力自组装形成的颗粒、凝胶、纤维等聚集体，常表现出抗炎、镇痛、抗菌等生物活性^[3]。如完茂林等^[4]研究发现，22种中草药水煎液中均存在大量纳米级颗粒；Zhang等^[5]研究发现黄连解毒汤（Huanglian Jiedu Decoction, HJD）中产生的聚集体主要由黄芩苷和小檗碱相互作用形成；Li等^[6]证实了小檗碱可分别与黄芩苷、汉黄芩苷通过静电作用和疏水作用共同驱动自组装成纳米粒；Tian等^[7]发现通过大黄酸氢键分层、小檗碱 π - π 堆积与静电相互作用，形成小檗碱在内、大黄酸在外的核-壳纳米结构。除此之外，有研究者证实 HJD 水煎中化学成分结合而产生的

聚集体具有确切的抗神经细胞损伤和抑制神经细胞凋亡的作用，且聚集物的效果优于上清液^[5]；葛根芩连汤（Gegen Qinlian Decoction, GQD）的组成性聚集体比可溶性成分具有更强的降血糖和抗氧化活性^[8]。关于中药汤剂成分互作形成纳米聚集体与其药效作用具有相关性，有待于进一步深入探索。

GQD 出自东汉张仲景所著的《伤寒杂病论》，该方由君药葛根、臣药黄连、黄芩，佐使药甘草组成^[9]，主要包括黄酮类、生物碱类、三萜类及三萜皂苷类等成分。GQD 临床常用于治疗急性肠炎、细菌性痢疾、肠伤寒、胃肠型感冒等属表证未解，里热甚者，现代研究发现其具有解热抗菌、抗炎止泻、降糖调脂、抗心律失常、抗缺氧和增强免疫功能等药理作用^[10-11]。抗肿瘤药物伊立替康（CPT-11）^[12]临床应用过程常引起患者严重肠毒性，即迟发性腹泻，导致病人产生脱水、营养不良、电解质失衡、感染等症状，进而可能导致肾功能障碍、心脏疾病或免疫破坏，甚至死亡。目前，临床常用洛派丁胺、醋托啡烷、布地奈德等药物缓解腹泻^[12-14]，但效果并不理想。课题组前期研究证实，GQD 可显著缓解 CPT-11 所致的迟发性腹泻，通过降低小鼠腹泻发生率和死亡率，减轻小鼠肠道损伤，抑制炎症因子及降低肠道酶活性等来发挥减毒作用^[15-16]，但其药效

物质基础及作用方式有待于深入研究。

基于中药汤剂中广泛存在成分间相互作用形成聚集体,本研究拟选用源自 GQD 的 6 种有效成分(小檗碱、巴马汀、汉黄芩苷、黄芩苷、葛根素、甘草酸),考察成分间组合形成自组装纳米粒的能力和特性,同时基于 GQD 有效缓解 CPT-11 肠毒性的药理作用,考察制备得到的几种自组装纳米粒药效作用,从成分互作角度揭示 GQD 物质基础与药效的相关性,为揭示中药配伍煎煮科学内涵提供新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Agilent1260 型高效液相色谱仪,美国安捷伦科技有限公司; DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器,上海邦西仪器科技有限公司; Litesizer 500 型纳米粒度及 ζ 电位分析仪,上海安东帕商贸有限公司; HT7800 型透射电子显微镜,日立高新技术(上海)国际贸易有限公司; Scientz-10N 型冷冻干燥机,宁波新芝生物科技有限公司; A50 型紫外分光光度计,翱艺仪器上海有限公司; Thermo Scientific Nicolet iS5 型傅里叶红外光谱仪,美国赛默飞世尔科技公司; MK3 型酶标仪,芬兰雷勃集团公司; Fresco17 型冷冻离心机,美国 Thermo Scientific 公司; UPR-II-10T 型优普系列超纯水器,四川优普超纯科技有限公司。

盐酸伊立替康(CPT-11),批号 A0813A,质量分数 $\geq 99\%$,大连美仑生物技术有限公司; 对照品小檗碱(批号 AZBI1408)、汉黄芩苷(批号 AF21110611)、黄芩苷(批号 AZCD1316)、葛根素(批号 AFBL0953)、巴马汀(批号 AFCB0951)、甘草酸(批号 AFCE1008),质量分数 $\geq 98\%$,成都埃法生物科技有限公司; 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α , 批号 20230804)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β , 批号 20230628)、IL-10 (批号 20230628) 的酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒,成都诺舟生物技术有限公司; Bradford 蛋白浓度测定试剂盒,批号 032023230523,碧云天生物技术有限公司; 水为实验室超纯水; 甲醇、甲酸、磷酸,色谱纯,上海西格玛奥德里奇贸易有限公司; 四氢呋喃、丙酮,色谱级,成都市诺尔施科技有限责任公司。

1.2 动物

ICR 种雄性小鼠,体质量(20 \pm 2) g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,生产许可证: SCXK

(京) 2019-0010。动物实验均按照中国国家科学技术委员会颁布的“实验动物管理条例”和成都中医药大学动物实验伦理委员会批准的议定书(批准文号 2020DL-126)规范执行。

2 方法与结果

2.1 组分纳米粒的制备

GQD 中有黄连、黄芩、葛根、甘草 4 种药味,黄连代表性有效成分小檗碱和巴马汀,黄芩代表性有效成分汉黄芩苷和黄芩苷,葛根代表性有效成分葛根素,甘草代表性有效成分甘草酸。采用溶剂挥发法,分别制备小檗碱-汉黄芩苷自组装纳米粒(berberine-wogonoside nanoparticles, Ber-Wog NPs)、小檗碱-葛根素自组装纳米粒(berberine-puerarin nanoparticles, Ber-Pue NPs)、黄芩苷-葛根素自组装纳米粒(baicalin-puerarin nanoparticles, Bai-Pue NPs)、黄芩苷-巴马汀自组装纳米粒(baicalin-palmatine nanoparticles, Bai-Pal NPs)、黄芩苷-甘草酸自组装纳米粒(baicalin-glycyrrhizic acid nanoparticles, Bai-GA NPs)。

精密称定小檗碱 3.36 mg 溶解于磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS),精密称定汉黄芩苷 4.60 mg 溶解于四氢呋喃,按照两者物质的量比为 1:1,将有机相缓慢匀速滴加至水相,边滴加边搅拌,滴加完毕后于在磁力搅拌器上 37 $^{\circ}$ C 恒温 400 r/min 搅拌 1 h,待有机溶剂挥尽后,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得 Ber-Wog NPs。同法,制备 Ber-Pue NPs、Bai-Pue NPs、Bai-Pal NPs、Bai-GA NPs。

2.2 组分纳米粒的表征

2.2.1 组分纳米粒理化性质 如图 1 所示,所形成的 5 种纳米粒均为透明溶液,其中 Ber-Wog NPs、Ber-Pue NPs、Bai-Pal NPs 呈淡黄色, Bai-Pue NPs 和 Bai-GA NPs 呈无色,且静置稳定性较好。取 10 μ L 样品溶液于碳膜铜网上,静置 1 min 后将多余液体从铜网边缘除去,将 3% 磷钨酸水溶液滴加 1 滴至铜网表面,负染 2 min 后用滤纸吸附多余染料,待液体挥干后采用透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)拍摄其形态,结果见图 1, TEM 显示 5 种纳米粒均呈现出球状型。量取 1 mL 纳米溶液,采用 Litesizer 500 纳米粒度仪测定纳米溶液粒径分布,如表 1 所示,结果显示 5 种纳米粒平均粒径均在 200 nm 左右,多分散指数(polydispersity index, PDI)均小于 0.25,粒径分布较均匀,分散性较好。

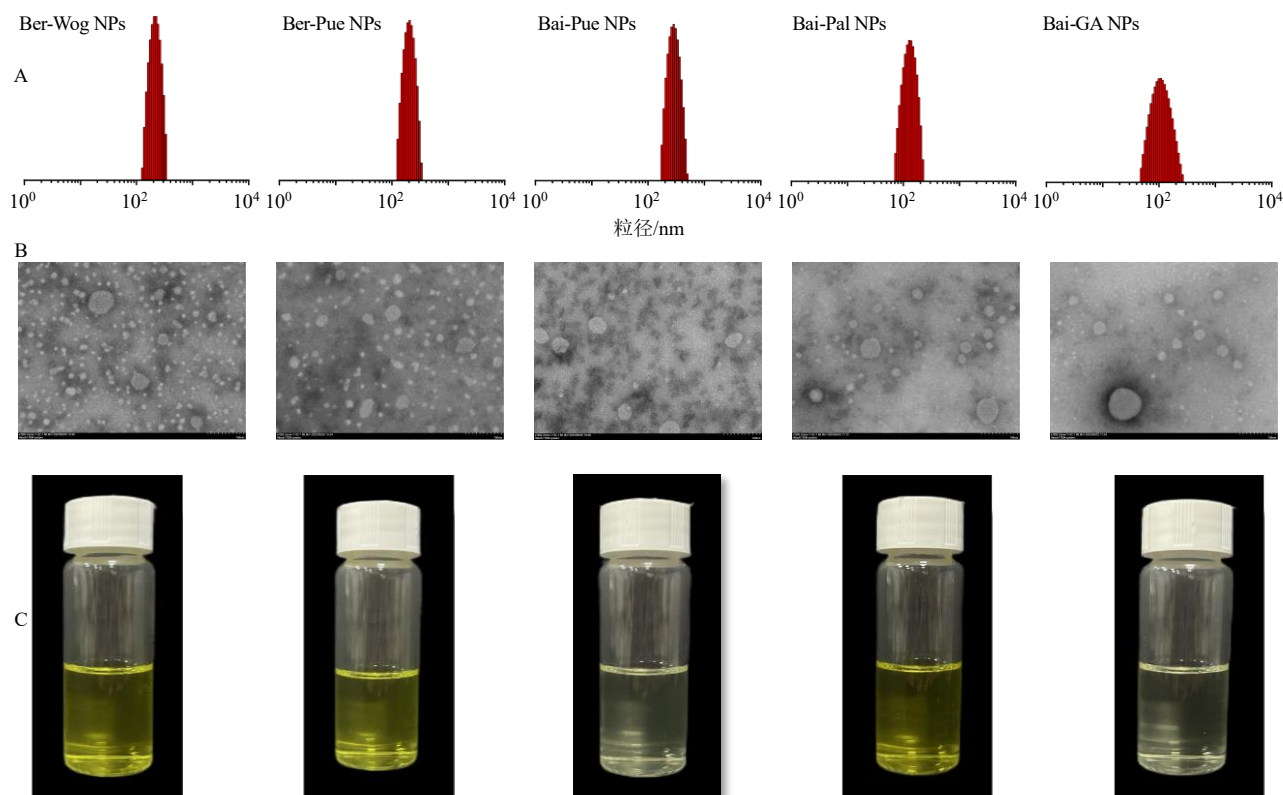


图1 5种纳米粒的粒径分布(A)、TEM形貌(B)和溶液形态(C)

Fig. 1 Size distribution (A), TEM morphology (B), and solution morphology (C) of five kinds of nanoparticles

表1 5种纳米粒的粒径及PDI ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Particle size and PDI of five nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

制剂	粒径/nm	PDI
Ber-Wog NPs	198.09 ± 4.64	0.14 ± 0.06
Ber-Pue NPs	216.29 ± 5.31	0.13 ± 0.06
Bai-Pue NPs	185.75 ± 3.38	0.19 ± 0.01
Bai-Pal NPs	173.53 ± 5.46	0.19 ± 0.03
Bai-GA NPs	242.10 ± 12.30	0.21 ± 0.05

2.2.2 包封率与载药量的测定

(1) 小檗碱、巴马汀、葛根素的HPLC色谱条件^[17]: 色谱柱为Sunfire C₁₈柱(150 mm × 3.0 mm, 3.5 μm)。流动相为水-甲醇, 检测波长: 346 nm(小檗碱、巴马汀), 250 nm(葛根素); 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μL; 柱温 25 °C; 梯度洗脱: 0~10 min, 30%甲醇; 10~15 min, 30%~82%甲醇; 15~18 min, 82%~85%甲醇; 18~20 min, 85%~30%甲醇。

(2) 甘草酸的HPLC色谱条件^[18]: 色谱柱为Sunfire C₁₈柱(150 mm × 3.0 mm, 3.5 μm); 流动相为0.1%磷酸水溶液-甲醇(25:75); 检测波长 250

nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL; 柱温 25 °C; 等度洗脱 20 min。

(3) 黄芩苷、汉黄芩苷的HPLC色谱条件^[19]: 色谱柱为Sunfire C₁₈柱(150 mm × 3.0 mm, 3.5 μm); 流动相为0.1%甲酸水溶液-甲醇(35:65); 检测波长 280 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 20 μL; 柱温 30 °C; 等度洗脱 10 min。

(4) 包封率与载药量的测定: 分别精密量取 0.5 mL Ber-Wog NPs、Ber-Pue NPs、Bai-Pue NPs、Bai-Pal NPs、Bai-GANPs于超滤离心管中, 在超速离心机上以 30 000 r/min, 离心半径为 4.44 cm, 超速离心 20 min。取外管滤液 0.2 mL, 用甲醇定容至 2 mL, 超声 20 min(频率 40 kHz、功率 100 W), 按上述色谱条件测定游离药物质量浓度。

另取未经离心的纳米溶液 0.2 mL, 至 2 mL 量瓶中, 按照“2.2.2”项下方法操作测定样品中小檗碱、汉黄芩苷、黄芩苷、葛根素、巴马汀、甘草酸的含量, 根据公式计算包封率和载药量, 结果如表 2 所示。

$$\text{包封率} = (\text{投入药量} - \text{游离药量}) / \text{投入药量}$$

$$\text{载药量} = (\text{投入药量} - \text{游离药量}) / \text{投入总药量}$$

表 2 5种纳米粒的封装率及载药量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Encapsulation rate and drug loading of five nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

制剂	成分	封装率/%	载药量/%
Ber-Wog NPs	小檗碱	23.64±0.10	5.16±0.05
	汉黄芩苷	46.30±0.17	22.04±0.18
Ber-Pue NPs	小檗碱	92.99±0.37	39.69±0.11
	葛根素	96.05±0.17	38.46±0.02
Bai-Pue NPs	黄芩苷	73.72±0.25	18.94±0.10
	葛根素	92.42±0.28	28.94±0.03
Bai-Pal NPs	黄芩苷	98.21±0.20	36.24±0.06
	巴马汀	98.03±0.18	17.95±0.09
Bai-GA NPs	黄芩苷	90.90±0.21	19.81±0.08
	甘草酸	99.71±0.39	62.82±0.32

2.2.3 组分自组装纳米的光谱特性

(1) 紫外光谱测定: 分子发生相互作用后, 会影响共轭基团电子排布, 因此可根据紫外可见光谱的变化推测物质相互作用规律^[20]。

采用紫外-可见吸收光谱在 200~500 nm 对自组装纳米进行扫描, 并与 2 种游离成分的光谱进行对比。结果如图 2 所示, 小檗碱的特征吸收峰在 228、263、344 nm, 汉黄芩苷的特征吸收峰在 205、273 nm, Ber-Wog NPs 在 206、271、343 nm 处出现较强吸收峰, 具有与游离小檗碱和汉黄芩苷的特征, 但 Ber-Wog NPs 的吸收峰出现从游离汉黄芩苷 273~271 nm 的微小蓝移, 从游离小檗碱的 344~343 nm 的微小蓝移, 表明小檗碱和汉黄芩苷在 Ber-Wog NPs 中存在非共价键作用。

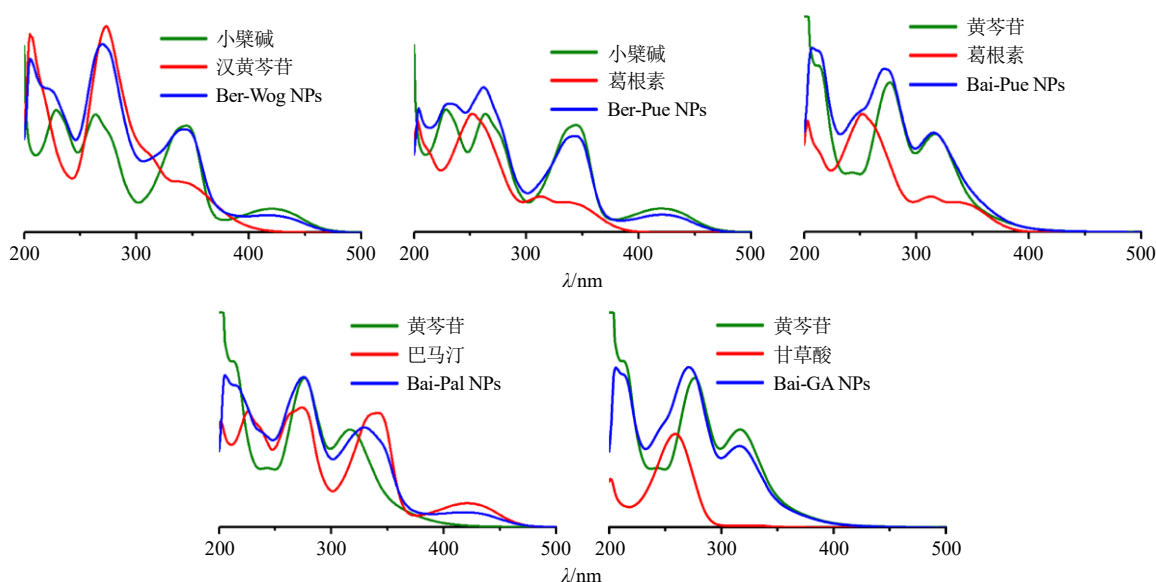


图 2 5种组分自组装纳米粒及其游离组成成分的紫外光谱

Fig. 2 UV spectra of five component self-assembled nanoparticles and their free constituents

同理, Ber-Pue NPs 紫外光谱也具有游离小檗碱和葛根素的特征吸收峰, 但存在从游离小檗碱的 228、263、344 nm 吸收峰蓝移至 204、262、331 nm 处, 而游离葛根素的 203、252 nm 红移, 表明小檗碱和葛根素在 Ber-Pue NPs 中存在非共价键作用。Bai-Pue NPs 紫外光谱也具有游离黄芩苷和葛根素的特征吸收峰, 但存在从游离黄芩苷的 286、317 nm 吸收峰蓝移至 206、271、316 nm 处, 而游离葛根素的 203、252 nm 红移, 表明黄芩苷和葛根素在 Bai-Pue NPs 中存在非共价键作用。

Bai-Pal NPs 在 205、275、329 nm 处出现较强吸收峰, 具有游离黄芩苷和巴马汀的特征吸收峰, 但存在从游离黄芩苷的 286 nm 吸收峰蓝移至 275

nm 处, 317 nm 红移至 329 nm 处, 而游离巴马汀的 201、274 nm 红移至 205、275 nm 处, 341 nm 蓝移至 329 nm 处, 表明黄芩苷和葛根素在 Bai-Pue NPs 中存在非共价键作用。Bai-GA NPs 紫外光谱也具有游离黄芩苷和甘草酸的特征吸收峰, 但存在从游离黄芩苷的 286、317 nm 吸收峰蓝移至 271、316 nm 处, 而游离甘草酸的 258 nm 红移, 表明黄芩苷和甘草酸在 Bai-GA NPs 中存在非共价键作用。由此可得, 5 种制剂自组装纳米粒存在两两成分间非共价键相互作用。

(2) 傅里叶红外光谱的测定: 采用傅里叶转换红外光谱仪对 5 种自组装纳米药物的光谱性质进行测定, 扫描范围为 4 000~400 cm^{-1} , 与其组成成分

游离形式进行对比,分析分子间非共价键力的类型。如图3所示, Ber-Wog NPs 中具有类似于游离小檗碱和汉黄芩苷的特征吸收带,但小檗碱中 C=N 伸缩振动峰在 $1\ 601.58\ \text{cm}^{-1}$ 处,在形成 Ber-Wog NPs

后向高波段移动至 $1\ 635.89\ \text{cm}^{-1}$, 汉黄芩苷中 C-O 伸缩振动峰 $1\ 129.50\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Ber-Wog NPs 后向高波段移动至 $1\ 145.97\ \text{cm}^{-1}$, 由此证明 Ber-Wog NPs 中小檗碱和汉黄芩苷存在 π - π 堆积作用。

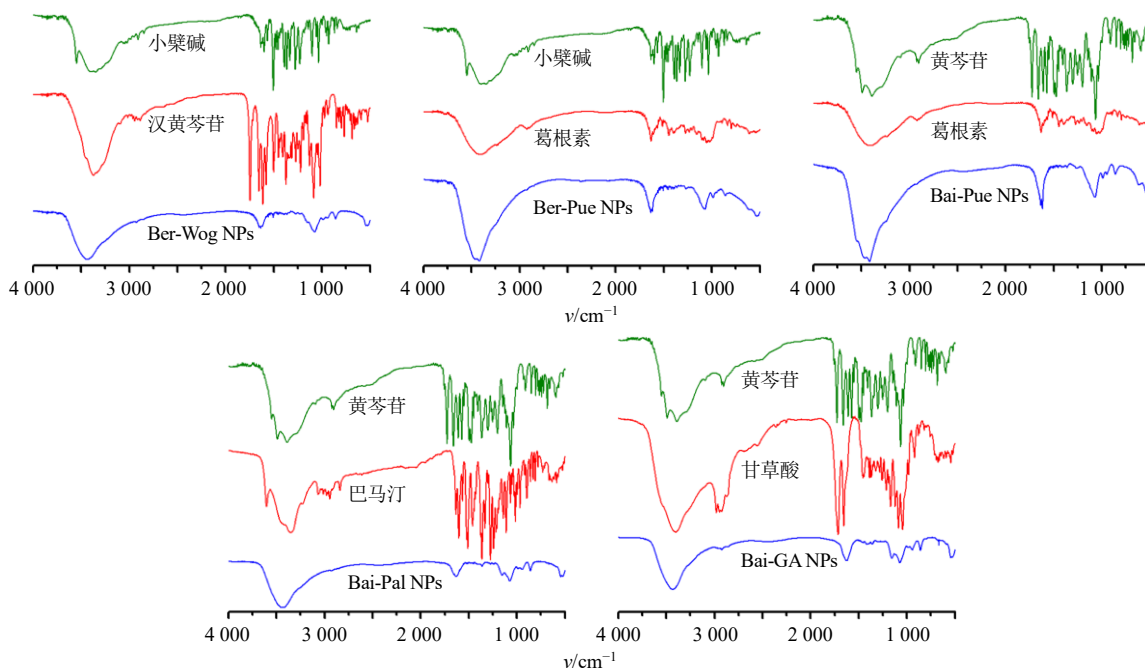


图3 5种组分自组装纳米粒及其游离组成成分的红外吸收光谱

Fig. 3 Infrared absorption spectra of five component self-assembled nanoparticles and their free constituents

同理, Ber-Pue NPs 中具有类似于游离小檗碱和葛根素的特征吸收带,但小檗碱中的 C-O 伸缩振动峰在 $1\ 103.16\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Ber-Pue NPs 后向低波段移动至 $1\ 069.33\ \text{cm}^{-1}$, 葛根素中吡喃葡萄糖上的 -OH 的弯曲振动峰在 $1\ 407.22\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Ber-Pue NPs 后向高波段移动至 $1\ 457.19\ \text{cm}^{-1}$, 由此证明 Ber-Pue NPs 中小檗碱和葛根素存在氢键和 π - π 堆积作用。Bai-Pue NPs 中具有类似于游离黄芩苷和葛根素的特征吸收带,但黄芩苷的 C=O 的伸缩振动峰在 $1\ 660.82\ \text{cm}^{-1}$, -OH 的弯曲振动峰在 $1\ 407.30\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Bai-Pue NPs 后向低波段分别移动至 $1\ 636.98\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 394.63\ \text{cm}^{-1}$, 葛根素中的 C=O 的伸缩振动峰在 $1\ 632.42\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Bai-Pue NPs 后向高波段移动至 $1\ 636.98\ \text{cm}^{-1}$, 由此证明 Bai-Pue NPs 中黄芩苷和葛根素存在氢键和 π - π 堆积作用。

Ber-Pal NPs 中具有类似游离黄芩苷和巴马汀的特征吸收带,但黄芩苷的 C=O 的伸缩振动峰在 $1\ 660.82\ \text{cm}^{-1}$, -OH 的弯曲振动峰在 $1\ 407.30\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Bai-Pal NPs 后向低波数移动至 $1\ 637.54\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 397.39\ \text{cm}^{-1}$, 巴马汀中的 C=N 的伸缩振动峰在 $1\ 604.41\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Bai-Pal NPs 后向低波段移

动至 $1\ 554.87\ \text{cm}^{-1}$, 由此证明 Bai-Pal NPs 中黄芩苷和巴马汀存在氢键和 π - π 堆积作用。Ber-GANPs 中具有类似游离黄芩苷和甘草酸的特征吸收带,但黄芩苷的 C=O 的伸缩振动峰在 $1\ 660.82\ \text{cm}^{-1}$, -OH 的弯曲振动峰在 $1\ 407.30\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Bai-Pal NPs 后向低波数移动至 $1\ 626.67\ \text{cm}^{-1}$, -OH 向高波数移动至 $1\ 418.16\ \text{cm}^{-1}$, 甘草酸中的伸缩振动峰 C=O 在 $1\ 655.10\ \text{cm}^{-1}$, 在形成 Bai-Pal NPs 后向低波数移动至 $1\ 626.67\ \text{cm}^{-1}$, 由此证明 Bai-GANPs 中黄芩苷和甘草酸存在氢键缔合。

2.3 组分自组装纳米的分子对接

PubChem 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound/>) 下载小檗碱、汉黄芩苷、黄芩苷、葛根素、甘草酸、巴马汀的 SDF 文件。用 OpenBabel-2.4.1 将 SDF 文件转换为 MOL2 文件。AutoDock Tools 1.5.7 优化小分子结构, 利用软件 AutoDock Vina 1.1.2 进行分子对接, 记录最低结合能, 一般认为结合能越低, 结合性越好, 通常认为结合能低于 0 时, 能自发进行, 且分子结合能小于 $-17.78\ \text{kJ/mol}$, 分子与靶点有一定的结合活性; 小于 $-23.01\ \text{kJ/mol}$, 分子与靶点有较好的结合活性; 小于 $-33.47\ \text{kJ/mol}$,

分子与靶点的结合具有强烈的活性。因此，选择结合自由能 (binding free energy, G) 最低的对接模型，作为最适合分子模拟的结合模型^[21]，并用 PyMOL 2.5.7 软件进行可视化处理。

结果如图 4 和表 3 所示，Ber-Wog NPs 中存在分子间 π - π 堆积相互作用，小檗碱与汉黄芩苷的 G 为-17.15 kJ/mol；Ber-Pue NPs 中存在氢键和 π - π 堆积相互作用，小檗碱与葛根素的 G 为-17.99 kJ/mol；

Bai-Pue NPs 中存在氢键和 π - π 堆积相互作用，黄芩苷与葛根素的 G 为-16.32 kJ/mol；Bai-Pal NPs 中存在氢键和 π - π 堆积相互作用，黄芩苷与巴马汀的 G 为-18.41 kJ/mol；BAI-GANPs 中存在氢键，且黄芩苷与甘草酸的 G 为-24.27 kJ/mol。因此，采用分子对接模型表明所形成的 5 种自组装纳米的自组装机制均与成分间形成氢键和 π - π 堆积等非共价键作用相关。

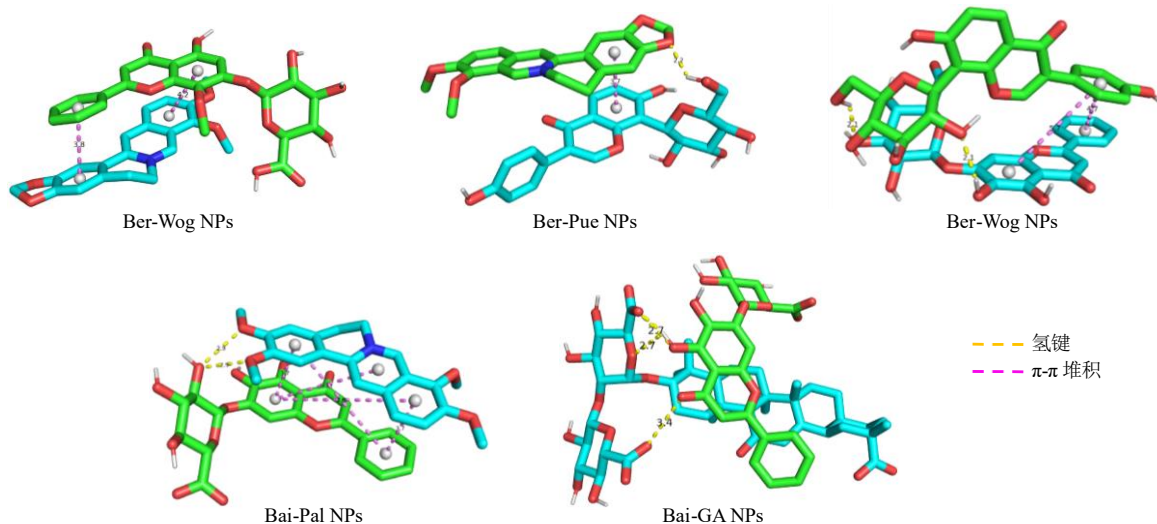


图 4 5 种组分自组装纳米粒的分子对接可视化模型

Fig. 4 Molecular docking visualization models of five-component self-assembled nanoparticles

表 3 5 种纳米粒的 G

Table 3 G of five nanoparticles

制剂	$G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	制剂	$G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
Ber-Wog NPs	-17.15	Bai-Pal NPs	-18.41
Ber-Pue NPs	-17.99	Bai-GA NPs	-24.27
Bai-Pue NPs	-16.32		

2.4 组分自组装纳米缓解 CPT-11 所致迟发性腹泻作用研究

2.4.1 CPT-11 致迟发性腹泻模型建立、分组与给药 取健康 ICR 雄性小鼠，体质量 (20 ± 2) g，实验开始前将小鼠适应性喂养 1 周，每天自由饮水、进食，随后分为 7 组，对照组、模型组、Ber-Wog NPs 组、Ber-Pue NPs 组、Bai-Pue NPs 组、Bai-Pal NPs 组、Bai-GA NPs 组，每组各 8 只。除对照组外，其余组均以 45 mg/kg 剂量连续 ip CPT-11，连续注射 4 d，每天 1 次，建立 CPT-11 致迟发性腹泻模型^[15,22]，对照组注射等量生理盐水。

自第 1 天造模开始，Ber-Wog NPs 组按照 20.0 mg/(kg·d)小檗碱和 85.4 mg/(kg·d)汉黄芩苷剂量给予

小鼠 ig；Ber-Pue NPs 组按照 20.0 mg/(kg·d)小檗碱和 19.4 mg/(kg·d)葛根素剂量 ig，Bai-Pue NPs 组按照 20.0 mg/(kg·d)黄芩苷和 30.6 mg/(kg·d)葛根素剂量 ig；Bai-Pal NPs 组按照 20.0 mg/(kg·d)黄芩苷和 9.9 mg/(kg·d)巴马汀剂量 ig；Bai-GA NPs 组按照 20.0 mg/(kg·d)黄芩苷和 63.4 mg/(kg·d)甘草酸剂量 ig，对照组和模型组 ig 等量蒸馏水，持续给药 10 d，每天 2 次，至第 11 天断颈处死小鼠，同时取结肠组织，用于后续检测。在给药期间每天记录小鼠体质量、粪便、状态等用于疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分，按照表 4 标准进行 DAI 评分，S1、S2 和 S3 分别代表体质量减轻评分、粪便状态评分和血便评分，根据下列等式计算出 DAI 评分。

$$\text{DAI} = (\text{S1} + \text{S2} + \text{S3}) / 3$$

通过 SPSS 26.0 软件分析多组数据之间的差异，实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料采用独立样本 t 检验分析；多组间两两比较采用最小显著性差异 (LSD) 法检验。若 $P < 0.05$ 说明差异有统计学意义。

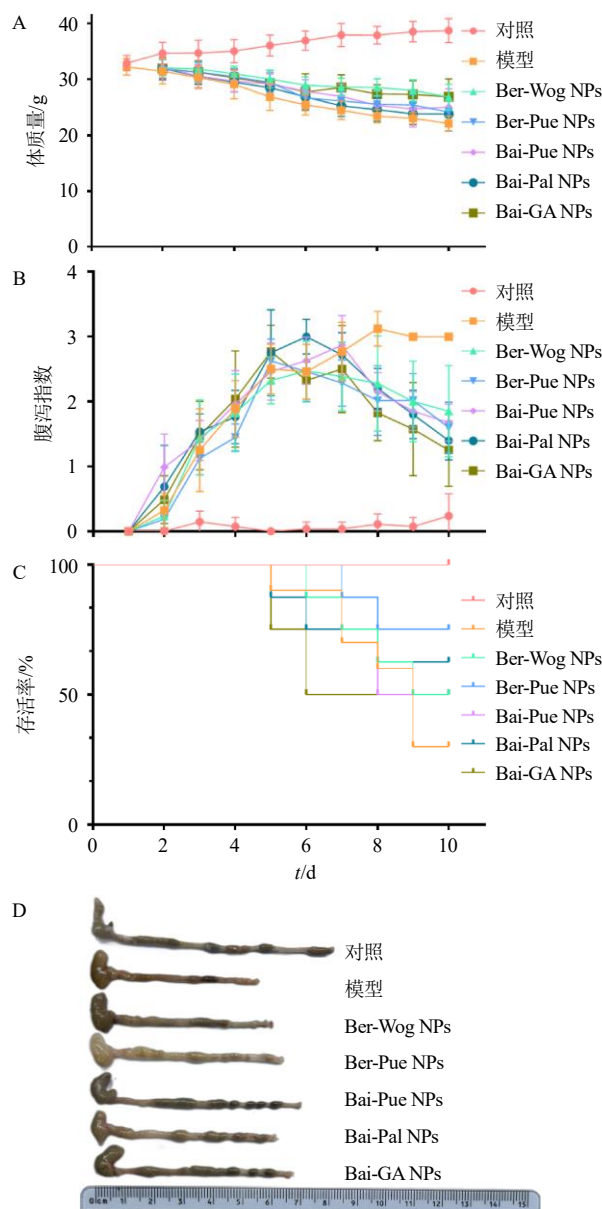
2.4.2 小鼠一般情况 如图 5-A 所示，对照组小鼠体质量在实验期间逐渐增加。与对照组比较，模型

表 4 DAI 评分标准
Table 4 DAI scoring criteria

评分	体质量下降率/%	粪便状况	便血情况
0	0	正常（成形大便）	阴性
1	0~5	介于两者之间	介于两者之间
2	5~10	松散（糊状，半成形大便）	隐血
3	10~20	介于两者之间	介于两者之间
4	>20	腹泻（伴脓血便，黏于肛门的稀便或血便）	血便

组小鼠体质量逐渐下降；与模型组比较，而各制剂组可在一定程度上减缓小鼠体质量的减少，第 10 天小鼠体质量平均值为对照组（38.71±2.13）g、模型组（22.10±1.31）g、Ber-Wog NPs 组（25.80±2.54）g、Ber-Pue NPs 组（24.10±2.79）g、Bai-Pue NPs 组（25.73±3.84）g、Bai-Pal NPs 组（23.94±3.95）g、Bai-GA NPs 组（26.53±3.97）g。如图 5-B 所示，根据 DAI 评分可得对照组小鼠大便正常，而小鼠在注射 CPT-11 的 4 d 后大便逐渐出现便稀湿软色黄，肛周污秽。各制剂组一定程度可缓解小鼠腹泻情况，未见明显便血，症状轻于 CPT-11 组。如图 5-C 所示，与对照组相比，模型组存活率为 37.5%，Ber-Wog NPs、Ber-Pue NPs、Bai-Pue NPs、Bai-Pal NPs、Bai-GA NPs 存活率分别为 50.0%、75.0%、62.5%、62.5%、50.0%。如图 5-D 所示，对照组结肠壁厚薄适中，结肠黏膜完整且清晰可见成型的粪便，无红肿、充血等肉眼可见变化；与对照组相比，模型组结肠组织肠管缩小变细，其长度变短，结肠黏膜呈暗红色，充血水肿比较明显；与模型组相比，制剂组肠管稍变细，结肠黏膜比之色淡稍红，少见有充血、水肿和溃烂情况，可一定程度抑制 CPT-11 所致结肠萎缩，其中根据测量结肠平均长度发现制剂组中抑制 CPT-11 结肠萎缩的效果由高到低分别为 Bai-Pue NPs、Ber-Pue NPs、Bai-GA NPs、Bai-Pal NPs、Ber-Wog NPs。

2.4.3 小鼠结肠组织病理形态学影响 如图 6 所示，对照组黏膜结构完整，基本无病变，细胞紧密排列，小鼠肠隐窝和绒毛清晰完整，胞核较清晰可见；模型组表示出严重的凝固性坏死，结肠黏膜可见缺损，黏膜肿胀，出血及炎性渗出，大量隐窝结构破坏，细胞核形态不一，并伴有大量细胞炎性浸润；Ber-Pue NPs 组和 Bai-GA NPs 组黏膜组织无异



A-小鼠体质量；B-小鼠肠毒性腹泻指数；C-小鼠的生存曲线；D-小鼠结肠状态。
A-mouse body weight; B-mouse enterotoxic diarrhea index; C-survival curves of mice; D-mouse colon status.

图 5 5 种制剂减轻伊立替康导致症状
Fig. 5 Reduction of symptoms due to irinotecan by five agents

常，基本无病变，且未看到黏膜中的炎性细胞浸润，隐窝及绒毛结构正常，细胞排列正常；而 Bai-Pue NPs、Bai-Pal NPs、Ber-Wog NPs 组均可见黏膜层少量细胞脱落，并伴有少量炎性细胞浸润，但与模型组相比，Bai-Pue NPs、Bai-Pal NPs、Ber-Wog NPs 组可缓解结肠黏膜的出血及炎性渗出。

2.4.4 对小鼠结肠组织中 TNF-α、IL-1β 和 IL-10 含量的影响 CPT-11 导致的迟发性腹泻发生时会有大

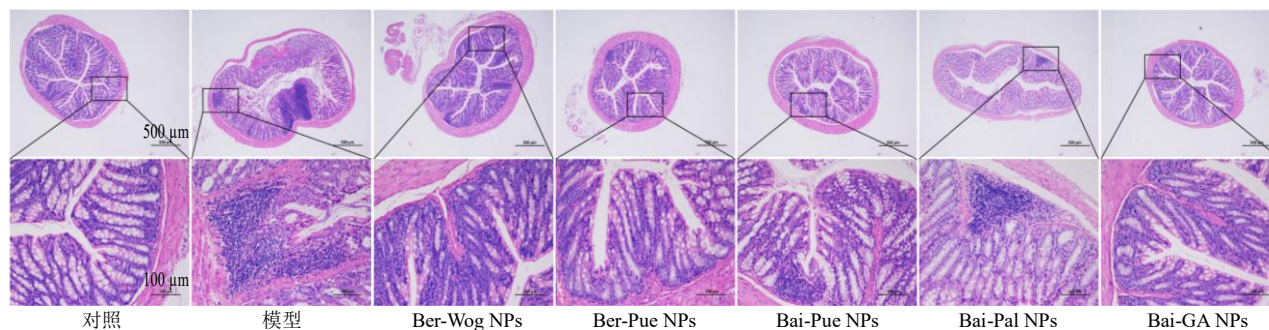


图6 HE染色后小鼠结肠黏膜组织病理图

Fig. 6 Pathologic pictures of mouse colon mucosa tissue after HE staining

量炎症细胞聚集,分泌大量炎症因子,其中TNF- α 和IL-1 β 为促炎因子,IL-10为抑炎因子。各组对CPT-11所致的炎症因子的影响如表5所示,与对照组相比,模型组中TNF- α 、IL-1 β 的表达显著升高($P < 0.05$),IL-10含量显著降低($P < 0.05$);与模型组相比,各制剂组均能降低TNF- α 的含量($P < 0.05$),其中Ber-Pue NPs组相比Ber-Wog NPs与Bai-Pal NPs这2个制剂组显著降低($P < 0.05$),Bai-GA NPs组相比Bai-Pal NPs组显著降低($P < 0.05$);与模型组相比,各制剂组均能降低IL-1 β 的含量($P <$

0.05),其中Ber-Pue NPs组相比Ber-Wog NPs与Bai-Pal NPs这2个制剂组显著降低($P < 0.05$),Bai-GA NPs相比Ber-Wog NPs与Bai-Pal NPs这2个制剂组显著降低($P < 0.05$);与模型组相比,各制剂组IL-10均显著升高($P < 0.05$),其中Ber-Pue NPs组相比Ber-Wog NPs和Bai-Pal NPs这2个制剂组显著升高($P < 0.05$)。

3 讨论

自组装纳米粒主要通过 π - π 堆积、范德华力、氢键、静电相互作用、卤键等非共价键的相互作用

表5 5种纳米粒对伊立替康所致迟发性腹泻小鼠结肠组织TNF- α 、IL-1 β 和IL-10表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of five nanoparticles on TNF- α , IL-1 β and IL-10 and expression in colonic tissues of mice with irinotecan-induced delayed diarrhea ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·mg ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mg ⁻¹)	IL-10/(pg·mg ⁻¹)
对照	-	47.74 ± 3.26	174.79 ± 13.18	624.30 ± 38.88
模型	-	138.74 ± 1.59*	598.07 ± 32.64*	251.71 ± 7.06*
Ber-Wog NPs	20	77.00 ± 5.19 ^{#&}	339.45 ± 38.67 ^{#&\Delta}	376.58 ± 33.20 ^{#&}
Ber-Pue NPs	20	67.52 ± 4.07 [#]	276.54 ± 20.70 [#]	430.48 ± 28.45 [#]
Bai-Pue NPs	20	74.56 ± 7.89 [#]	306.30 ± 58.99 [#]	385.27 ± 34.21 [#]
Bai-Pal NPs	20	81.59 ± 5.40 ^{#&\Delta}	346.46 ± 64.13 ^{#&\Delta}	371.43 ± 5.38 ^{#&}
Bai-GA NPs	20	71.19 ± 3.64 [#]	274.85 ± 6.37 [#]	412.36 ± 36.33 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与 Ber-Pue NPs 组比较: [&] $P < 0.05$; 与 Bai-GA NPs 组比较: ^{\Delta} $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs Ber-Pue NPs group; ^{\Delta} $P < 0.05$ vs Bai-GA NPs group.

力结合形成,尤其是分子间氢键,自主装作用力主要由氢键之间或其他非共价键的协同作用所构成。分子之间通过氢键作用力结合时,可形成单一氢键和多重氢键,氢键的多重性越强,分子之间的结合能和稳定性越强^[23]。如Li等^[24]通过氢键和疏水相互作用自组装形成双氢青蒿素纳米颗粒;Wang等^[25]将紫杉醇和桦木酸通过氢键和疏水作用形成自组装纳米粒。在本研究中,通过紫外可见吸收光谱和红外光谱实验表明,5种纳米粒的组装均是通过分子间非共价键作用形成;分子对接模型进一步提

示,其形成机制与分子间静电相互作用或氢键相关。

在本研究中,为证实GQD中的成分是否具有结合成纳米粒的趋向性,选取GQD中含量较高的的主要有效成分小檗碱、汉黄芩苷、葛根素、黄芩苷、巴马汀、甘草酸采用溶剂挥发法且组分间接1:1投药比,制备出5种粒径均一的自组装纳米粒,PDI均在0.3以下有较好的分散性,透射电镜观察均为球状纳米粒,除Ber-Wog NPs外,其余4种纳米粒包封率及载药量均较高。其次为了验证自组装纳米粒在体内的起效形式,通过胃肠稳定性实验发

现 5 种自组装纳米粒均在胃中被胃酸破坏，最终发挥药效的可能是由于药物的积累和成分药效的原因。目前，大多数自组装纳米药物的临床转化效果不佳，在将药物传递到作用部位之前，复杂的体内微环境和多种生物屏障是决定其治疗效果的关键因素。成分间自组装纳米粒依靠非共价相互作用来驱动它们的自组装，这些较弱的相互作用使得自组装纳米递送体系普遍难以耐受复杂胃肠道消化环境，或者血液循环，较易在到达病灶部位之前就出现体系崩解、突释、溶胀、絮凝和聚结等现象，导致实际口服生物利用度有限或血液循环时间较低^[26]。徐坠成^[27]通过比较口服黄芩苷-小檗碱自组装凝胶组和联用组在小鼠体内组织分布发现两者在胃肠道中的分布无明显差别，表明自组装组在胃肠道中已被破坏。

因此，有些研究人员采用外层包裹细胞膜，或者是自组装纳米粒中加入稳定剂，或者调节 pH 值等提高制剂的综合药物荷载率、胃肠道及血液稳定性及可控缓释特性。如 Li 等^[28]在醚键桥接的多西紫杉醇二聚体前药中加入二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000 (DSPE-PEG_{2k})，从而提高了自组装稳定性和药代动力学行为；Ye 等^[29]制备了由红细胞膜涂层的 10-羟基喜树碱 (10-HCPT) 和吡啶菁绿 (ICG) 自组装的无载体纳米药物，结果表明改性的无载体纳米药物在 PBS 和胎牛血清 (FBS) 培养基中可稳定 120 h。

本课题组前期研究发现，GQD 可显著缓解 CPT-11 所致的迟发性腹泻，可降低小鼠腹泻发生率和死亡率，减轻小鼠肠道损伤，抑制炎症因子及降低肠道酶活性，并通过下调 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch like ECH associated protein 1, Keap1) -核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2) -血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) (Keap1-Nrf2-HO-1) 通路和磷酸化磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) /磷酸化蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) /核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) (PI3K/AKT/NF- κ B) 通路发挥减毒的疗效^[30-31]。因此，为验证 5 种制剂的药效，同样选择伊立替康引起的迟发性腹泻小鼠模型，对小鼠腹泻、肠组织结构和炎症指标进行了比较，发现 5 个制剂均能不同程度的减缓由伊立替康 (CPT-11) 引起的迟发性腹泻的相关症状。对于小鼠腹泻，对照组毛发微亮有光泽，体质量持续增长，反应较

灵敏，饮食与平时相差异较小；模型组小鼠体质量在注射 CPT-11 后，体毛失去光泽，精神萎靡不振，活动较少，饮食逐渐降低，甚至出现拒绝进食；而制剂组均可一定程度上的减缓小鼠精神萎靡、体质量减少的状况。对于肠组织结构，制剂组肠管稍变细，结肠黏膜比之色淡稍红，少见有充血、水肿和溃烂情况，结肠长度虽比对照组稍短，但可一定程度抑制伊立替康所致结肠萎缩，其中制剂组中抑制 CPT-11 结肠萎缩的效果由高到低分别为 Bai-Pue NPs、Ber-Pue NPs、Bai-GA NPs、Bai-Pal NPs、Ber-Wog NPs。HE 染色显示结肠黏膜组织病变显著缓解，Ber-Pue NPs 组和 Bai-GA NPs 组黏膜组织无异常，基本无病变，且未看到黏膜中的炎性细胞浸润，隐窝及绒毛结构正常，细胞排列正常，而 Bai-Pue NPs、Bai-Pal NPs、Ber-Wog NPs 均可见黏膜层少量细胞脱落，并伴有少量炎性细胞浸润。对于结肠组织炎症因子制剂组肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-1 β 含量降低、IL-10 含量升高。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- Malik M, Velechovský J, Tlustoš P. Natural pentacyclic triterpenoid acids potentially useful as biocompatible nanocarriers [J]. *Fitoterapia*, 2021, 151: 104845.
- Zhuang Y, Yan J J, Zhu W, et al. Can the aggregation be a new approach for understanding the mechanism of traditional Chinese medicine? [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 117(2): 378-384.
- 李超, 郭玉凤, 党旭红. 基于自组装交联的水凝胶在皮肤损伤中的应用 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2024, 51(4): 839-849.
- 完茂林, 刘力, 吴鸿飞, 等. 中药水提取液中有效成分的分散行为 [J]. *中药材*, 2011, 34(3): 455-458.
- Zhang C Z, Zhao R, Yan W Q, et al. Compositions, formation mechanism, and neuroprotective effect of compound precipitation from the traditional Chinese prescription Huang-Lian-Jie-Du-Tang [J]. *Molecules*, 2016, 21(8): 1094.
- Li T, Wang P L, Guo W B, et al. Natural berberine-based Chinese herb medicine assembled nanostructures with modified antibacterial application [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(6): 6770-6781.
- Tian X H, Wang P L, Li T, et al. Self-assembled natural phytochemicals for synergistically antibacterial application from the enlightenment of traditional Chinese medicine combination [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(9):

- 1784-1795.
- [8] Lin D, Du Q, Wang H Q, *et al.* Antidiabetic micro-/nanoaggregates from Ge-Gen-Qin-Lian-Tang Decoction increase absorption of baicalin and cellular antioxidant activity *in vitro* [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 9217912.
- [9] 王婷婷, 安靓, 梁琨, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱的葛根芩连汤的化学成分分析 [J]. *中草药*, 2020, 51(6): 1498-1507.
- [10] 陈丽红, 唐于平, 王强. 葛根芩连汤的现代研究进展 [J]. *中草药*, 2010, 41(4): 676-680.
- [11] 孙婷, 李新民, 孙丹, 等. 基于整合药理学平台研究葛根芩连汤治疗小儿肺炎的作用机制 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42(1): 78-83.
- [12] Xie R, Mathijssen R H, Sparreboom A, *et al.* Clinical pharmacokinetics of irinotecan and its metabolites in relation with diarrhea. *Clin Pharmacol Ther*. 2002; 72(3): 265-75.
- [13] Li J, Lu M, Lu Z H, *et al.* Irinotecan plus cisplatin followed by octreotide long-acting release maintenance treatment in advanced gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinoma: IPO-NEC study [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15): 25669-25678.
- [14] Zhang L, Jin Y Y, Peng J, *et al.* Qingjie Fuzheng Granule attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucosal damage [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2019, 118: 109223.
- [15] Wu Y H, Wang D, Yang X Q, *et al.* Traditional Chinese medicine Gegen Qinlian Decoction ameliorates irinotecan chemotherapy-induced gut toxicity in mice [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2019, 109: 2252-2261.
- [16] 吴亿晗. 葛根芩连丸缓解伊立替康肠毒性及制剂关键质量属性研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [17] Wang X, Fu L, Cheng W J, *et al.* Oral administration of Huanglian-Houpo herbal nanoemulsion loading multiple phytochemicals for ulcerative colitis therapy in mice [J]. *Drug Deliv*. 2023, 30(1): 2204207.
- [18] 徐资怡, 陈佳美, 钟雪梅, 等. 甘草酸替代胆固醇构建载雷公藤甲素的脂质纳米粒的适宜性研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(03): 722-733.
- [19] 张舒迪. 黄芩苷自载药纳米递送系统的制备及抗肿瘤应用 [D]. 唐山: 华北理工大学, 2022.
- [20] 李文, 王志家, 林晓钰, 等. 基于弱键诱导的超分子体系探讨甘草和合黄连“性-味-效”物质基础 [J]. *药学报*, 2022, 57(6): 1901-1908.
- [21] 李江玲, 刘爽, 谢以清, 等. 基于自组装体系研究双黄连主要成分与环丙沙星的分子互作 [J]. *药学报*, 2022, 57(8): 2445-2452.
- [22] 李敏, 杨晓琴, 成颜芬, 等. 基于缓解化疗相关性腹泻作用的葛根芩连汤合煎和单煎等效性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(11): 2968-2980.
- [23] 冯星星, 谢琪, 杨丛莲, 等. 基于中药活性成分自组装的无载体纳米制剂 [J]. *药学报*, 2021, 56(12): 3203-3211.
- [24] Li Y W, Zhang W, Shi N Y, *et al.* Self-assembly and self-delivery of the pure nanodrug dihydroartemisinin for tumor therapy and mechanism analysis [J]. *Biomater Sci*, 2023, 11(7): 2478-2485.
- [25] Wang J C, Qiao W S, Zhao H T, *et al.* Paclitaxel and betulonic acid synergistically enhance antitumor efficacy by forming co-assembled nanoparticles [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 182: 114232.
- [26] Mei H, Cai S S, Huang D, *et al.* Carrier-free nanodrugs with efficient drug delivery and release for cancer therapy: From intrinsic physicochemical properties to external modification [J]. *Bioact Mater*, 2022, 8: 220-240.
- [27] 徐坠成. 黄芩苷-小檗碱联用对伊立替康诱导的化疗性肠炎的保护作用研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
- [28] Li Y Q, Li L X, Jin Q H, *et al.* Impact of the amount of PEG on prodrug nanoassemblies for efficient cancer therapy [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2022, 17(2): 241-252.
- [29] Ye S F, Wang F F, Fan Z X, *et al.* Light/pH-triggered biomimetic red blood cell membranes camouflaged small molecular drug assemblies for imaging-guided combinational chemo-photothermal therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(17): 15262-15275.
- [30] Wu Y H, Cheng Y F, Yang Y H, *et al.* Mechanisms of Gegen Qinlian Pill to ameliorate irinotecan-induced diarrhea investigated by the combination of serum pharmacology and network pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 276: 114200.
- [31] Chen J M, Li M, Chen R, *et al.* Gegen Qinlian standard decoction alleviated irinotecan-induced diarrhea via PI3K/AKT/NF- κ B axis by network pharmacology prediction and experimental validation combination [J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 46.

[责任编辑 郑礼胜]