

基于数据挖掘的四妙丸类方临床应用配伍规律分析

梁欣仪¹, 梅志刚², 闻晓东^{1*}

1. 中国药科大学中药学院 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 江苏 南京 211198

2. 湖南中医药大学 中西医结合心脑血管疾病防治湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

摘 要: **目的** 运用数据挖掘技术探明四妙丸类方临床应用配伍规律。**方法** 以中国知网、万方和维普为检索数据库, 分别以“四妙丸”“四妙汤”“四妙方”为主题、篇名和关键词进行检索四妙丸类方的临床应用相关文献, 运用 Excel 2019、IBM SPSS Modeler 18.0 和 IBM SPSS 25.0 软件进行频数分析和聚类分析, 借助 Cytoscape 3.8.2 软件构建加味中药中最高频药物的成分-交集靶点-通路图。**结果** 共筛选到 220 篇文献, 包含 44 种病名、72 种主治症状和 30 种配伍比例; 245 首方剂涉及 240 味加味中药, 共 1783 频次, 以土茯苓为首的高频药物 33 味, 加味中药按功效分类可分为 18 种, 药味共 373 频次, 药性共 239 频次, 归经共 590 频次; 关联规则分析得到 14 组关联规则, 高频中药聚类分析得到 7 个聚类方。共收集四妙丸活性成分 42 个, 土茯苓活性成分 15 个, 筛选四妙丸-急性痛风性关节炎交集靶点 31 个, 通路 29 条, 四妙丸-土茯苓-急性痛风性关节炎交集靶点 26 个, 通路 38 条。**结论** 频数分析和聚类分析等数据挖掘技术有助于对四妙丸类方的临床应用配伍规律进行总结, 为指导四妙丸类方临床合理应用提供依据, 并为研发相关创新药物提供数据参考。

关键词: 四妙丸; 数据挖掘; 配伍规律; 成分-靶点-通路; 土茯苓; 急性痛风性关节炎

中图分类号: R283 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)02-0507-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.02.021

Analysis of clinical compatibility rules of modified Simiao Pill based on data mining

LIANG Xin-yi¹, MEI Zhi-gang², WEN Xiao-dong¹

1. State Key Laboratory of Natural Medicines, School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

2. Key Laboratory of Hunan Province for Integrated Traditional Chinese and Western Medicine on Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral Diseases, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: **Objective** To analyze of compatibility rules in clinical application of modified Simiao Pill based on data mining. **Methods** In the databases of CNKI, Wanfang, VIP, literatures were searched from January 2010 to September 2021 with “Simiao Pill”, “Simiao Decoction” and “Simiao Recipe” as the topic, article summary and key words respectively. Excel 2019, IBM SPSS Modeler 18.0 and IBM SPSS 25.0 software were used for frequency analysis and cluster analysis. With the help of Cytoscape 3.8.2 software, the ingredients-intersection target-path diagram of the most high-frequency drugs in additional integrant was constructed. **Results** A total of 220 literatures were screened, involving 44 main diseases name, 72 main symptoms, and 30 compatibilities. A total of 245 formulas included 240 added Chinese medicines, with a total using frequency of 1783. A total of 33 high-frequency drugs, including the top frequency of *Smilaxis Glabrae Rhizoma*, can be divided into 18 types according to their TCM functions, the frequency of medicine flavors was 373 times, the frequency of medicine properties was 239 times, and the frequency of meridians was 590 times. Association rule analysis was carried out to obtain 14 groups of association rules. High-frequency drug cluster analysis was performed for getting seven clustering prescriptions. A total of 42 active ingredients of Simiao Pill and 15 active ingredients of *Smilaxis Glabrae Rhizoma* were screened out. A total of 31 common targets, 29 pathways between Simiao Pill and acute gouty arthritis, 26 common targets, 38 pathways between Simiao Pill-*Smilaxis Glabrae Rhizoma*-acute gouty arthritis were screened out respectively. **Conclusion** Data

收稿日期: 2021-11-13

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1704503)

作者简介: 梁欣仪 (1998—), 女, 中药学硕士, 研究方向为中药质量评价与资源开发。Tel: 18846838125 E-mail: 2286950593@qq.com

*通信作者: 闻晓东, 教授, 博士生导师。Tel: (025)86185102 E-mail: xiaodongwen@cpu.edu.cn

mining including frequency analysis and cluster analysis are helpful for summarizing the compatibility rules in clinical application of modified Simiao Pill, and play an important role in guiding the clinically rational usage of the formula, providing reference data for research and development of the related innovative drugs.

Key words: Simiao Pill; date mining; compatibility rule; ingredient-target-pathway; *Smilacis Glabrae Rhizoma*; acute gouty arthritis

四妙丸出自清代张秉承所著的《成方便读》，由黄柏、苍术、牛膝和薏苡仁 4 味药组成，是在元代朱丹溪的《丹溪心法》二妙散的基础上，增加牛膝和薏苡仁 2 味，水泛为丸，化裁而成。原方有云：“以邪之所凑，其气必虚，若肝肾不虚湿热决不流入筋骨。牛膝补肝肾强筋骨，领苍术黄柏，入下焦而祛湿热也，再加苡仁，……苡仁独入阳明，去湿热而利筋络，故四味合用之，为治痿之妙药也”^[1]。四妙丸具有清热利湿之功效，广泛用于湿热下注所致之痹病，症见足膝红肿、筋骨疼痛等。新近报道，四妙丸可调和肾脏之阴阳失衡，蒸化、开阖、推动肾气以升清降浊^[2]。现代临床应用该方多以四妙丸类方如与中药加味、联合化学药等形式，治疗湿热下注所致的多种疾病，如痛风性关节炎、膝骨性关节炎、高尿酸血症、肾病以及慢性盆腔炎等，其药理机制可能与抗炎、镇痛、抗氧化、促尿酸排泄等相关^[3]。尽管四妙丸临床应用报道较多，但至今其临床用药规律却知之甚少。本研究拟利用数据挖掘技术对四妙丸类方临床主治疾病、加味中药用药规律等进行系统分析，以期对四妙丸类方的现代临床应用及衍生产品研发提供参考。

1 资料与方法

1.1 数据来源

以中国期刊全文数据库 (CNKI)、万方数据库 (Wanfang) 和中文科技期刊全文数据库 (VIP) 为搜索数据库，分别以“四妙丸”“四妙散”“四妙汤”和“四妙方”为主题、篇名和关键词进行检索，检索年限为 2010 年 1 月 1 日至 2021 年 9 月 1 日。

1.2 处方筛选

1.2.1 纳入标准 临床用药案例和名医经验；有明确的药方记载，且除使用的中成药外，其他组方必须要有明确的剂量。

1.2.2 排除标准 细胞实验、动物实验等基础研究；中药质量控制研究；与化学药联合应用；与四妙勇安汤有关；发表在不同期刊上的重复性研究等。

1.3 数据处理

1.3.1 建立数据库 将文献中的中药处方录入 Excel 2019 中建立数据库，将符合标准的文献进行

数据提取，对文献名称、药物剂量、主治疾病、主要病名、加味中药等内容进行整理。

1.3.2 中药标准化 以《中国药典》2020 年版^[4]的中药命名为标准，对涉及的中药药名进行统一，如将“银花”统一为金银花，“丹皮”统一为牡丹皮，“生地”统一为生地黄，“灵仙”统一为威灵仙。将不同炮制品且药物功效发生变化的归为不同药物，如将“甘草”和“炙甘草”划分为不同药物，并统计药性、药味和归经，若一味中药有多种药性、药味及归经，则全部记录在内。

1.3.3 数据分析 采用 IBM SPSS Modeler18.0 和 IBM SPSS 25.0 统计软件进行关联规则分析和聚类分析，并绘制网络关系图和聚类树状图，关联规则是反映一个事物与其他事物之间的相互依存性，支持度反映了 2 种药同时出现的概率，置信度反映了一种药出现后另一种药出现的概率，提升度反映了一种药物的出现对另一种药物的出现概率产生的变化，因此提升度大于 1 才有意义，关联规则说明了药物之间的关联性。聚类分析是将数据分类到不同的类或者簇的过程，同一个簇中的对象有很大的相似性，而不同簇间的对象有很大的相异性，因此聚类分析说明了几种药物之间的共性。

1.4 活性成分-靶点-信号通路网络构建

在中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>) 中查找四妙丸中的 4 味药及加味中药中高频药物所含的全部活性成分，通过评价成分的体内过程，用口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (drug like, DL) ≥ 0.18 筛选中药的活性成分^[5]。在 TCMSP 中收集成分对应的靶蛋白，并通过 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 查询靶蛋白所对应的基因，进行归纳整理^[6-7]。在 OMIM (<http://www.omim.org/>)、Genecard (<https://www.genecards.org/>) 和 Drugbank (<https://go.drugbank.com/>) 数据库采集四妙丸临床治疗的疾病中频次最高的病名所对应的靶点。利用 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>) 构建交集靶点的蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络，生

物种属选择“homo sapiens”，将最低相互作用阈值设置为“medium confidence”(>0.400)，其他参数的设置保持默认。通过 DAVID 6.8 数据平台(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行信号通路富集分析，并利用 Cytoscape 3.8.2 软件绘制最高频药物的成分-靶点图。

2 结果

2.1 文献纳入情况

根据纳排标准进行筛选，本研究共纳入 220 篇文献，均为四妙丸类方在临床上治疗相关疾病的研究，有 6 篇文献使用中成药，其余文献中筛选出中

药组方共计 251 首，其中使用加味中药的组方共有 245 首。

2.2 四妙丸基本方配伍比例分析

220 篇文献中涉及到四妙丸类方的配伍比例共 30 种 242 个(除去使用中成药和四妙丸减味的组方)，其中基本方中黄柏：苍术：牛膝：薏苡仁占比较高的 4 种配伍比例为 1：1：1：2(60 次，24.8%)、1：1：2：3(35 次，14.5%)、1：1：1：1(32 次，13.2%)、1：1：1：3(26 次，10.7%)，其中四妙丸来源典籍《成方便读》中黄柏：苍术：牛膝：薏苡仁的配伍比例为 1：1：1：1，具体见表 1。

表 1 四妙丸基本方配伍比例统计

Table 1 Statistics of compatibility proportion of four medicines in Simiao Pill

配伍比例 (黄柏：苍术：牛膝：薏苡仁)	频数	占比/%	配伍比例 (黄柏：苍术：牛膝：薏苡仁)	频数	占比/%
1：1：1：2	60	24.8	1：1：3：3	7	2.9
1：1：2：3	35	14.5	1：2：2：3	6	2.5
1：1：1：1	32	13.2	1：1：2：1	5	2.1
1：1：1：3	26	10.7	1：2：1：2	3	1.2
1：2：2：2	23	9.5	1：2：2：5	3	1.2
1：2：1：3	10	4.1	1：3：3：3	3	1.2
1：1：2：2	9	3.7	1：1：3：1	2	0.8

2.3 四妙丸加味方主治病名频数分析

对 220 篇文献中涉及的疾病名称进行整理，将文献中的痛风都统一为急性痛风性关节炎，按文献中病程描述和临床表现分为急性痛风性关节炎和慢性痛风性关节炎；将膝骨性关节炎统一为膝骨性关节炎，急性和慢性盆腔炎统一为盆腔炎，共得到 44 种病名，总频数为 256，其中频数>15 的为高频病名有 3 种，见表 2。在排名前 3 位的主治病名中，治疗急性痛风性关节炎的最常用配伍比例为 1：1：1：2，治疗膝骨性关节炎最常用配伍比例为 1：2：2：2，治疗慢性痛风性关节炎最常用比例为 1：2：1：3，见图 1。

2.4 加味中药使用频数分析

所纳入的 245 首含有加味中药的组方中共涉及加味中药 240 味，频数共 1783 次，四妙丸类方中高频使用的加味中药共有 33 味(频数≥15 次)，累计出现的频数为 1097 次，占比 61.5%，其中高频中药主要有土茯苓(89 次，5.0%)、甘草(84 次，4.7%)、萆薢(57 次，3.2%)、赤芍(56 次，3.1%)，见表 3。

表 2 主治病名频数统计 (排名前 10)

Table 2 Frequency statistics of main diseases name (top 10)

主治病名	频数	占比/%
急性痛风性关节炎	132	51.6
膝关节骨性关节炎	24	9.4
慢性痛风性关节炎	15	5.9
高尿酸血症	10	3.9
盆腔炎	8	3.1
膝关节滑膜炎	8	3.1
腰椎间盘突出症	7	2.7
类风湿性关节炎	5	2.0
肾炎	5	2.0
胰岛素抵抗症	3	1.2

2.5 四妙丸加味方主治证素频数分析

220 篇文献中共涉及 69 种证素，包括关节红肿热痛、关节屈伸不利、苔黄腻、舌红、脉弦滑数、小便黄、口干、发热、口苦、膝关节僵硬疼痛肿胀、心烦、食少纳呆、大便秘结、腰膝酸痛、乏力、皮肤暗红色、大便黏腻、脘腹痞满、夜眠不佳、下腹疼痛、口中黏腻、带下异常、脉濡数、舌边有瘀斑

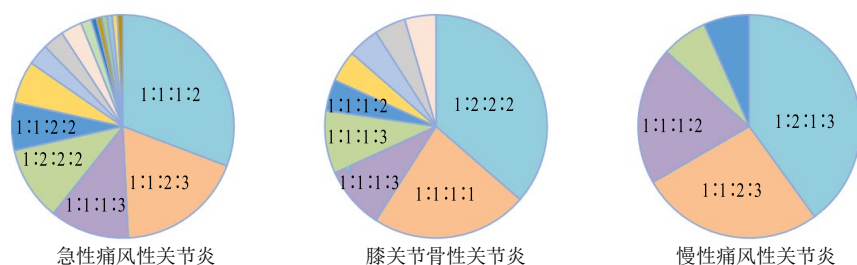


图 1 四妙丸基本方配伍比例分布 (主治病名前 3 位)

Fig. 1 Distribution of compatibility proportion of four medicines in Simiao Pill (top 3 main diseases)

表 3 33 味高频药物频数统计

Table 3 Frequency statistics of 33 high frequency traditional Chinese medicine

中药	频数	占比/%	中药	频数	占比/%	中药	频数	占比/%
土茯苓	89	5.0	泽泻	37	2.1	牡丹皮	22	1.2
甘草	84	4.7	秦艽	33	1.9	虎杖	21	1.2
萆薢	57	3.2	丹参	32	1.8	炙甘草	19	1.1
赤芍	56	3.1	车前子	30	1.7	连翘	18	1.0
威灵仙	51	2.9	地龙	29	1.6	生地黄	18	1.0
当归	45	2.5	黄芪	28	1.6	桃仁	18	1.0
茯苓	42	2.4	白芍	27	1.5	知母	18	1.0
木瓜	42	2.4	白术	26	1.5	杜仲	17	1.0
忍冬藤	42	2.4	延胡索	26	1.5	独活	16	0.9
防己	39	2.2	鸡血藤	23	1.3	红花	16	0.9
川芎	37	2.1	金银花	23	1.3	山慈菇	16	0.9

和头痛等症状,总频数为 995 次,频数统计见表 4,其中高频证素(频数 ≥ 15 次)有 15 个。

2.6 加味中药功效频数分析

将 245 首方剂中涉及到的 240 味加味中药进行功效统计,发现共涉及 18 种功效,总频数 1783 次,其中功效频数占比前 5 位的是清热药(421 次, 23.6%)、补虚药(302 次, 16.9%)、祛风湿药(275 次, 15.4%)、利水渗湿药(270 次, 15.1%)、活血化瘀药(246 次, 13.8%),见图 2。

2.7 加味中药性味归经分布

参照《中国药典》2020 年版,对四妙丸类方中

的加味中药进行性味归经统计和分类。同一味中药的不同性味归经分别统计入内,将中药药性为微寒、微温者全部统计为寒、温。统计显示 240 味中药中,药味频数共计 373 次,药性频数共计 239 次,归经频数共计 590 次。在药味统计中,频数较高的是苦(125 次, 33.5%)和甘(106 次, 28.4%);在药性统计中,频数较高的是寒(89 次, 37.2%)和温(76 次, 31.8%);在归经的统计中频数较高的是肝经(137 次, 23.2%)和肺经(81 次, 13.7%),见图 3。

2.8 高频药物的关联规则和聚类分析

利用 SPSS Modeler 18.0 中的 Apriori 算法建模

表 4 主要证素频数统计

Table 4 Statistics frequency of main symptoms

高频证素	频数	百分比/%	高频证素	频数	百分比/%	高频证素	频数	百分比/%
关节红肿热痛	185	18.6	发热	51	5.1	膝关节僵硬	23	2.3
关节屈伸不利	93	9.3	小便黄	45	4.5	食少纳呆	21	2.1
苔黄腻	90	9.0	口干	33	3.3	乏力	22	2.2
舌红	86	8.6	大便秘结	24	2.4	心烦	20	2.0
脉弦滑数	77	7.7	口苦	23	2.3	腰膝酸痛	16	1.6

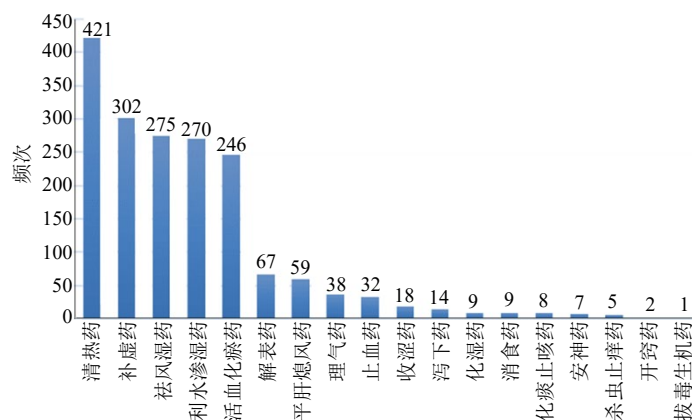


图 2 加味中药功效频次统计

Fig. 2 Statistics of efficacy frequency of modified traditional Chinese medicine

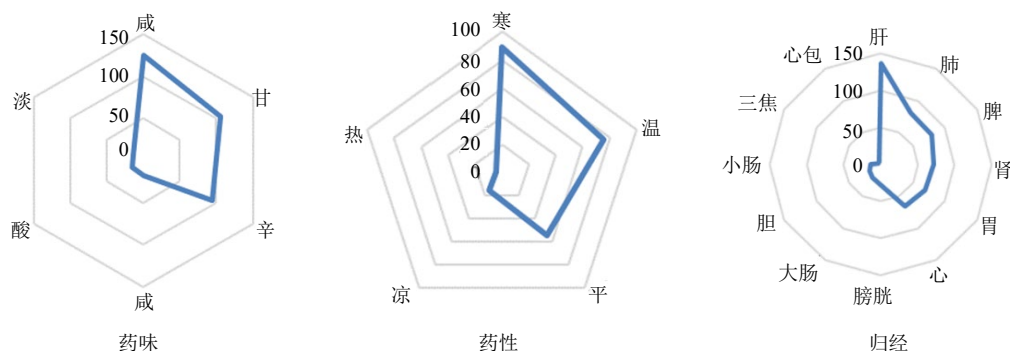


图 3 加味中药性味归经统计

Fig. 3 Statistics of properties, flavours and meridian of modified traditional Chinese medicine

探讨 245 首四妙丸方剂中的加味中药的配伍规律，设置最低支持度 5%、最低置信度 60%、最大前项数 2，提升度大于 1 等条件挖掘潜在的中药组合，共得到关联规则 14 组，见表 5。同时构建 33 味高

频药物的关联网络图，见图 4，利用 SPSS Statistics 25 软件对 33 味高频中药进行聚类分析，以组间距离 23 为界，可以将高频药物分为 7 组，见图 5，药物组合与主治疾病的搭配见图 6。

表 5 高频中药之间关联规则分析

Table 5 Association rules analysis of high frequency traditional Chinese medicine

药物组合	实例/个	支持度/%	置信度/%	增益
土茯苓-忍冬藤-草薢	15	6.12	86.67	2.39
土茯苓-威灵仙-草薢	21	8.57	80.95	2.23
土茯苓-山慈菇	16	6.53	75.00	2.06
土茯苓-赤芍-草薢	16	6.53	75.00	2.06
土茯苓-草薢	57	23.27	73.68	2.03
木瓜-秦艽-防己	14	5.71	71.43	4.17
土茯苓-草薢-甘草	21	8.57	71.43	1.97
草薢-威灵仙-土茯苓	24	9.80	70.83	3.04
草薢-忍冬藤-土茯苓	20	8.16	65.00	2.79
炙甘草-白芍-当归	14	5.71	64.29	8.29
草薢-川芎-土茯苓	13	5.31	61.54	2.65
甘草-木瓜-威灵仙	13	5.31	61.54	1.79
威灵仙-木瓜-甘草	13	5.31	61.54	2.96
赤芍-木瓜-甘草	13	5.31	61.54	2.69

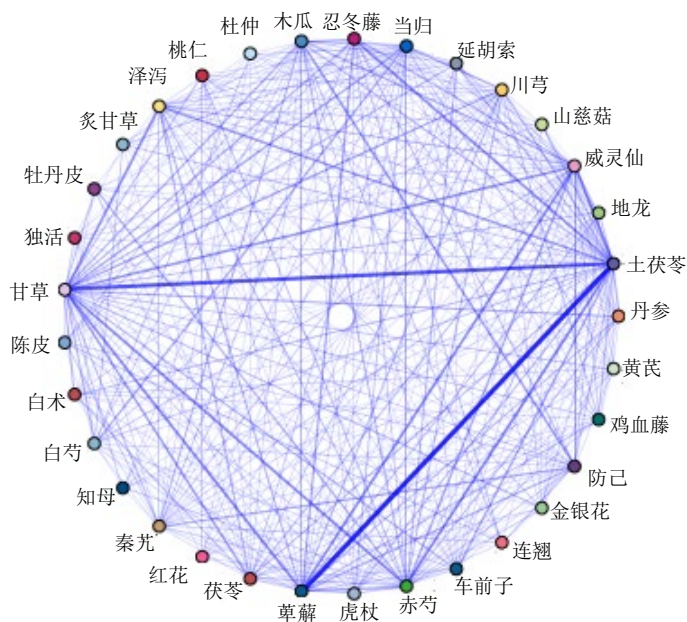


图 4 33 味高频药物关联强度网络图

Fig. 4 Association strength network diagram of 33 high frequency traditional Chinese medicine

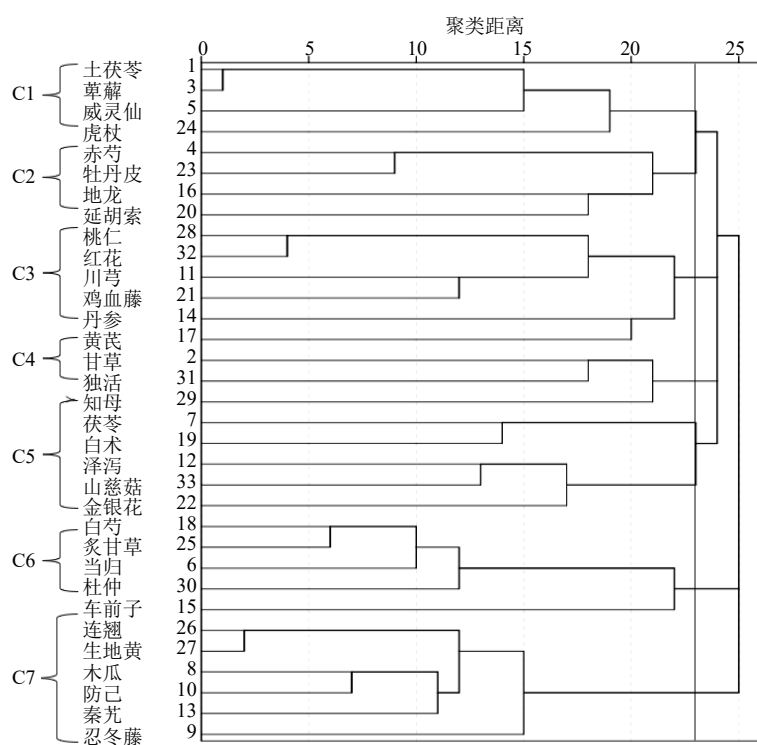


图 5 33 味高频药物聚类树状图

Fig. 5 Cluster analysis plot of 33 high frequency traditional Chinese medicine

2.9 网络药理学分析

TCMSP 数据库中检索组方药物苍术、黄柏、牛膝和薏苡仁,以及加味中药中最高频药物土茯苓的化学成分,以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件共

得到 82 个成分,除去找不到对应靶蛋白的成分,最终共获得四妙丸有效成分 42 个,土茯苓有效成分 15 个,见表 6、7。42 个成分中共收集到四妙丸靶点 133 个,利用 Cytoscape 3.8.2 绘制四妙丸的成分-

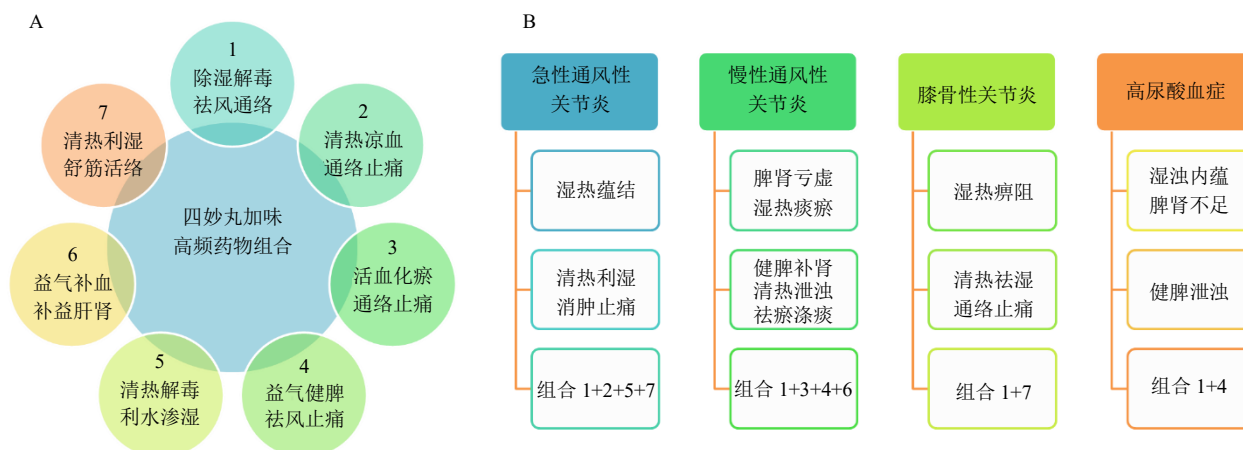


图 6 高频药物组合 (A)-主治疾病 (B) 关联图

Fig. 6 Association diagram of high-frequency traditional Chinese medicine combinations (A) and main diseases (B)

靶点图, 基因靶点由内向外代表与成分的连接逐渐减少, 其中最外圈的靶点只与 1 种四妙丸活性成分对应, 而最内圈的靶点与 20~30 个活性成分对应, 见图 7。以主治病名频数统计中排名最高的病名“acute gouty arthritis”(急性痛风性关节炎, AGA)为关键词进行检索, 共得到靶点 341 个, 其中四妙丸-AGA 的交集靶点有 31 个, 见图 8, 四妙丸-土茯苓-AGA 的交集靶点 26 个, 见图 9。将交集靶点导入数据库, 构建 PPI 网络, 见图 10。DAVID 数据库分别对 31 个和 26 个交集靶点进行信号通路分析, 筛选 $P < 0.01$ 的通路, 得到四妙丸-AGA 交集靶点通路 29 条, 四妙丸-土茯苓-AGA 交集靶点通路 38 条, 见图 11。

3 讨论

四妙丸中以黄柏为君药, 取其寒以胜热, 苦以燥湿, 且善除下焦之湿热; 苍术苦温, 健脾燥湿除痹, 共为臣药; 牛膝活血通经络, 补肝肾、强筋骨, 且引药直达下焦, 为佐药; 薏仁独入阳明, 祛湿热而利筋络, 诸药合用, 共奏清热利湿, 补肾强筋之功^[8]。本研究显示, 临床该方应用多辅以清热解毒、渗淡利湿、活血化痰、祛风通络、益气健脾、补益肝肾之药, 形成四妙丸类方, 主治痛风性关节炎、膝骨性关节炎以及高尿酸血症等病, 疗效显著, 然其配伍规律及机制不清。

现代药理学研究表明, 四妙丸具有抗炎、镇痛、抗氧化和促尿酸排泄等活性, 如黄柏与苍术提取物能显著地降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平^[9]; 牛膝总皂苷能通过抑制急性痛风性关节炎大鼠 NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NALP3)

炎性体装配和激活以及抑制炎性细胞因子的表达来发挥抗炎作用^[10], 基于数据挖掘、网络药理学及分子对接的研究显示, 四妙丸中黄柏、牛膝、苍术组合可能通过干预嘌呤代谢通路和神经活性配体受体相互作用信号通路^[11]; 蛋白激酶 1 (protein kinases, AKT1)、白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6)、活化蛋白-1 (activator protein 1, JUN)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (caspase-3, CASP3) 可能是四妙丸治疗高尿酸血症的关键靶点, 与四妙丸中小檗碱、表小檗碱、豆甾醇等活性成分具有良好的结合活性^[12]。

本研究通过文献检索, 全面收集了四妙丸类方临床应用等相关研究报道, 运用定性、定量分析方法初步确定了四妙丸类方临床适应证, 其中急、慢性痛风性关节炎为高频适应证, 土茯苓、甘草、萆薢、赤芍和威灵仙等为四妙丸类方高频组方药物。高频药物关联规则分析共得到药对组合 14 种, 其中置信度最高的药对组合为土茯苓-忍冬藤-萆薢, 说明在土茯苓出现的中药组方中忍冬藤和萆薢同时出现的概率最高, 另外木瓜-秦艽-防己也经常作为组合药对在方剂中出现。根据高频药物关联强度网络图可以看出土茯苓-甘草、土茯苓-萆薢药对关联密切, 土茯苓-甘草-萆薢和土茯苓-赤芍-甘草 3 味药组成的药对也有较强的关联。湿热为急性痛风性关节炎核心病机, 热盛则痛, 湿盛则肿, 药对组合结果也进一步验证了清热利湿、消肿止痛的治法^[13]。同时通过高频药物的聚类分析可得到包括

表 6 四妙丸内含主要活性成分

Table 6 Main active ingredients of Simiao Pill

化合物 ID	化合物	OB/%	DL	来源中药
MOL000184	NSC63551	39.25	0.76	苍术
MOL000085	beta-daucosterol_qt	36.91	0.75	苍术、牛膝
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	黄柏、牛膝
MOL000173	wogonin	30.68	0.23	苍术、牛膝
MOL000188	3 β -acetoxyatractylone	40.57	0.22	苍术
MOL000358	beta-sitosterol	0.75	0.75	黄柏、牛膝
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	薏苡仁
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	牛膝
MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76	黄柏、牛膝、薏苡仁
MOL000622	magnograndiolide	63.71	0.19	黄柏
MOL000785	palmatine	64.60	0.65	黄柏、牛膝
MOL000787	fumarine	59.26	0.83	黄柏
MOL000790	isocorypalmine	35.77	0.59	黄柏
MOL000953	CLR	37.87	0.68	薏苡仁
MOL001006	poriferasta-7,22E-dien-3beta-ol	42.98	0.76	牛膝
MOL001131	phellamurin_qt	56.60	0.39	黄柏
MOL001323	sitosterol alpha l	43.28	0.78	薏苡仁
MOL001454	berberine	36.86	0.78	黄柏、牛膝
MOL001455	(S)-canadine	53.83	0.77	黄柏
MOL001458	coptisine	30.67	0.86	黄柏、牛膝
MOL001494	mandenol	42.00	0.19	薏苡仁
MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75	黄柏
MOL002331	N-methylflindersine	32.36	0.18	黄柏
MOL002641	phellavin_qt	35.86	0.44	黄柏
MOL002643	delta 7-stigmastenol	37.42	0.75	黄柏、牛膝
MOL002644	phellopterin	40.19	0.28	黄柏
MOL002651	dehydrotanshinone II _A	43.76	0.40	黄柏
MOL002660	niloticin	41.41	0.82	黄柏
MOL002662	rutaecarpine	40.30	0.60	黄柏
MOL002663	skimmianin	40.14	0.20	黄柏
MOL002666	chelerythrine	34.18	0.78	黄柏
MOL002668	worenine	45.83	0.87	黄柏
MOL002670	cavidine	35.64	0.81	黄柏
MOL002714	baicalein	33.52	0.21	牛膝
MOL002894	berberrubine	35.74	0.73	黄柏
MOL002897	epiberberine	43.09	0.78	牛膝
MOL003847	inophyllum E	38.81	0.85	牛膝
MOL004355	spinasterol	42.98	0.76	牛膝
MOL005438	campesterol	37.58	0.71	黄柏
MOL006422	thalifendine	44.41	0.73	黄柏
MOL008121	2-monoolein	34.23	0.29	薏苡仁
MOL012461	28-norolean-17-en-3-ol	35.93	0.78	牛膝

表 7 土茯苓主要活性成分信息

Table 7 Main active ingredients of *Smilacis Glabrae Rhizoma*

化合物 ID	化合物	OB/%	DL
MOL000546	diosgenin	80.88	0.81
MOL004580	cis-dihydroquercetin	66.44	0.27
MOL013129	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2-(3,5-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychroman-4-one	63.17	0.27
MOL001736	(-)-taxifolin	60.51	0.27
MOL004328	naringenin	59.29	0.21
MOL004576	taxifolin	57.84	0.27
MOL000098	quercetin	46.43	0.28
MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
MOL013119	enhydrin	40.56	0.74
MOL013118	neoastilbin	40.54	0.74
MOL013117	4,7-dihydroxy-5-methoxyl-6-methyl-8-formyl-flavan	37.03	0.28
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
MOL004575	astilbin	36.46	0.74
MOL004567	isoengeletin	34.65	0.70

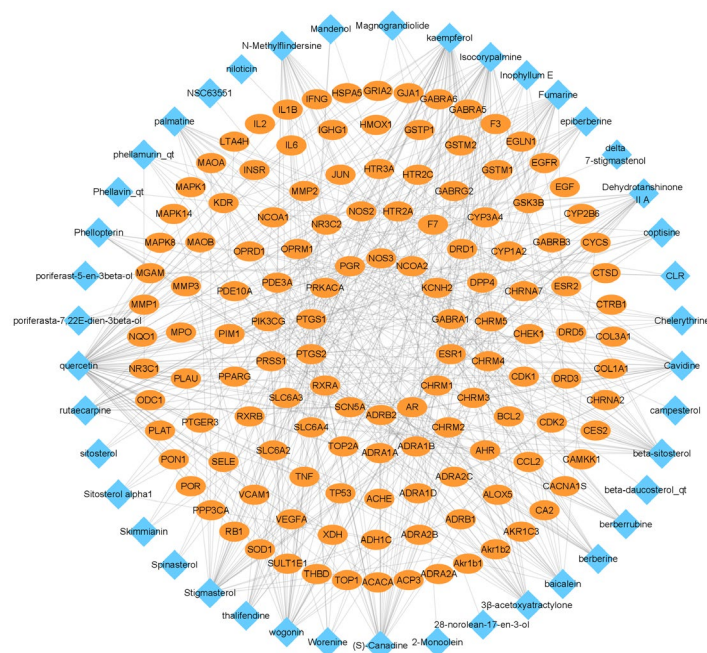


图 7 四妙丸主要活性成分及作用靶点图

Fig. 7 Main active ingredients and function targets of Simiao Pill

除湿解毒、活血化瘀、益气补血、清热利湿、舒筋活络类等 7 类不同功效的药物组合 (图 5、6)。药物组合与主治疾病关联分析结果显示, 7 类药物组合可用于急性痛风性关节炎、慢性痛风性关节炎、膝骨性关节炎及高尿酸血症等病症治疗 (图 6), 如

急性痛风性关节炎宜急则治标, 治法以清热利湿、消肿止痛为主^[14], 根据临床表现可选择组合 1+2+5+7 (如土茯苓、萆薢、延胡索、金银花、连翘等); 慢性痛风性关节炎以脾肾亏虚为本, 湿热痰瘀为标, 宜标本兼顾, 以健脾补肾、清热泄浊、祛瘀涤

痰等治法为主^[15]，在四妙丸基础上可选择组合 1+3+4+6（如土茯苓、草薢、川芎、黄芪、当归、杜仲等）；高尿酸血症在痛风发作前临床症状多不明

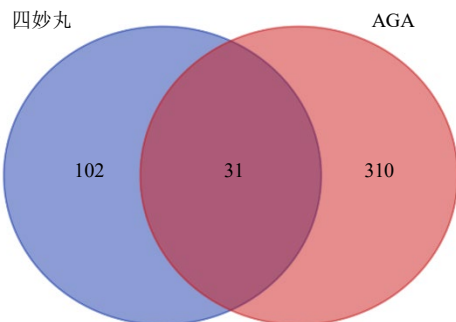


图 8 四妙丸成分靶点-AGA 靶点韦恩图

Fig. 8 Venn plot of Simiao Pill-AGA intersection targets

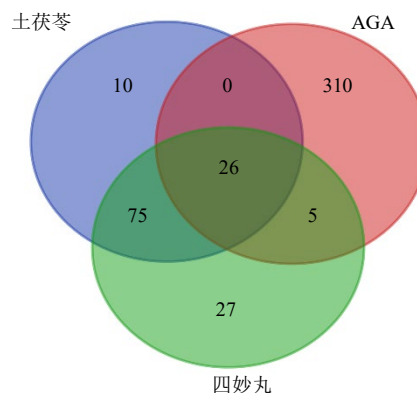


图 9 四妙丸成分靶点-土茯苓成分靶点-AGA 靶点韦恩图

Fig. 9 Venn plot of Simiao Pill-Smilacis Glabrae Rhizoma-AGA intersection targets

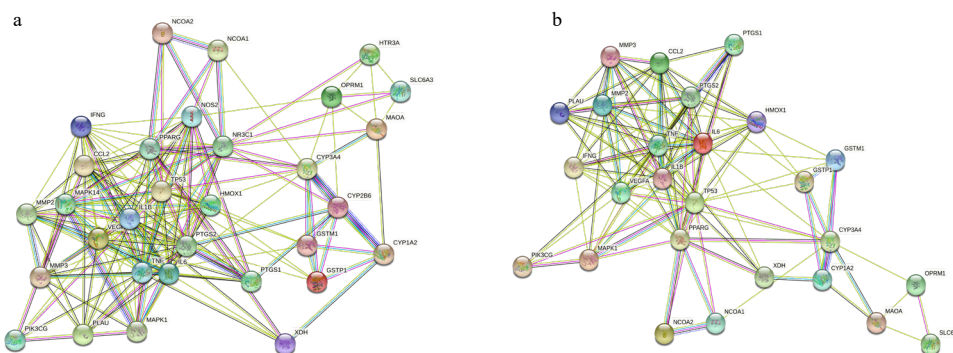


图 10 四妙丸-AGA (a) 和四妙丸-土茯苓-AGA (b) 的药物-疾病 PPI 网络模型

Fig. 10 PPI network between drugs and diseases of Simiao Pill-AGA (a) and Simiao Pill-Smilacis Glabrae Rhizoma-AGA (b)

显，患者以痰湿、湿热及气虚体质多见，属虚实夹杂之证^[16]，临床常以健脾泄浊为基本治法；膝骨关节炎是一种严重影响中老年人生活质量的慢性退行性疾病，属中医“痹证”“痿证”范畴，该病在发作期及缓解期多见湿热痹阻、气滞血瘀及寒湿痹阻等证型^[17]，四妙丸加入组合 1+7，发挥清热祛湿、通络止痛之功效，以治疗湿热痹阻型膝骨关节炎。

由四妙丸的成分-靶点图可以看出前列腺素内过氧化物合成酶 1（prostaglandin-endoperoxide synthase 1, PTGS1）、PTGS2 是四妙丸中的活性成分最常作用的靶点，PTGS 是前列腺素内过氧化物合成酶，是前列腺素生物合成中的关键酶，PTGS 有 2 种同工酶，即组成型 PTGS1 和诱导型 PTGS2，可由特定的刺激事件调节，与炎症相关的前列腺素生物合成有关。研究表明，下调 PTGS2 表达可抑制成纤维细胞样滑膜细胞的增殖来减轻类风湿性关节炎大鼠的关节肿胀^[18]。对四妙丸和加味中药中使用频次最高的药物进行分析对比，通过四妙丸-

AGA 与四妙丸-土茯苓-AGA 富集分析显示，四妙丸及加味中药土茯苓的生物活性成分是通过多种途径作用于多靶点治疗急性痛风性关节炎的，且增加一味中药后通路富集的结果更多，2 种富集分析涉及多种共同的信号通路，如肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）信号通路、缺氧诱导因子（hypoxia inducible factors-1, HIF-1）信号通路、Toll 样受体信号通路、NOD 样受体信号通路、破骨细胞分化等通路，而自然杀伤细胞介导的细胞毒性、血清素的突触和甲状腺激素信号通路是四妙丸-土茯苓-AGA 通路富集中较具有代表性的，说明土茯苓可能在这几种通路中发挥作用，且由图 11 可知其中甲状腺激素信号通路较为重要。TNF 在调节免疫功能的同时，过量可造成对组织的损伤，能与其他促炎性细胞因子导致骨和软骨的损伤，也能抑制各种生长因子对软骨细胞的促有丝分裂作用^[19]。HIF-1 α 充当缺氧传感器来调节细胞反应以适应缺氧环境，同时作为转录因子，HIF-1 α 调节一系列涉及炎

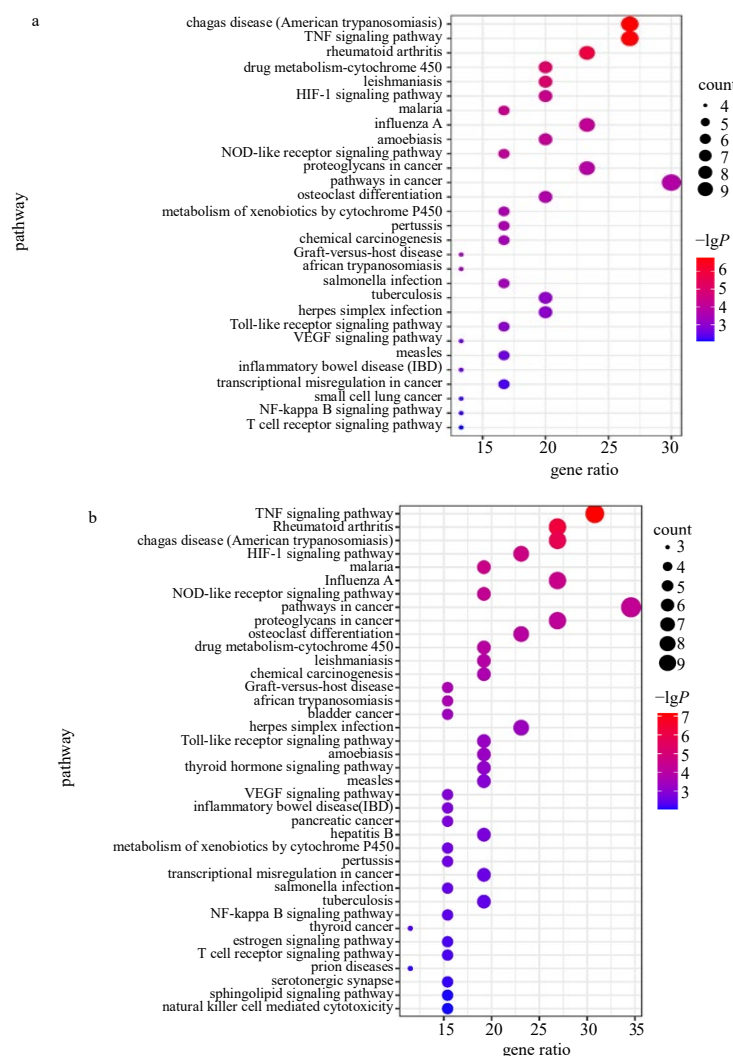


图 11 四妙丸成分靶点-AGA (a) 和四妙丸-土茯苓-AGA (b) 的 KEGG 通路富集分析

Fig. 11 KEGG pathway enrichment analysis of Simiao Pill-AGA (a) and Simiao Pill-Smilacis Glabrae Rhizoma-AGA (b)

症、血管生成、线粒体功能的基因^[20]。Toll 样受体和 NOD 样受体都属于固有的免疫受体，在各种自身免疫性疾病中起重要的调节作用。甲状腺激素信号通路对于骨骼的发育和生长是必不可少的。同样在成人中，骨量维持受甲状腺激素的控制。临床研究证实未经治疗的甲状腺功能亢进症是继发性骨质疏松症并增加骨折风险，正常的甲状腺功能对于骨骼健康至关重要^[21]。

现代医学认为，高尿酸血症是以痛风为基础的生化改变，血尿酸浓度过高，尿酸析出的晶体淤积于骨关节、肾脏及皮下，导致组织病理学的改变，最终发展为痛风性关节炎、痛风肾及痛风石^[22]，尿酸盐晶体可通过产生软骨降解酶和促炎细胞因子导致关节破坏，表明痛风性关节炎的发病涉及免疫调节、炎症反应等多重调控机制，因此化学药治疗

痛风性关节炎多以非甾体抗炎药、别嘌醇、秋水仙碱等为主，尽管有明确的效果，但也存在药物固有的不良反应，特别是用药之后导致的白细胞计数降低、肝肾功能损害、消化道反应等，使部分患者在治疗过程中承受较大痛苦，部分患者因无法耐受而停药，导致病情反复^[23]，而中药在改善临床症状及控制复发等方面往往有独特疗效，同时还可以避免尿酸控制过低而带来的潜在风险，但由于药效成分、药理机制及质控标准等问题，限制了临床应用和推广。因此，亟待开发出药效成分明确、机制清楚、质量可控的创新中药。针对经典名方的配伍规律及现代临床研究，寻找和发现新的药物组合、有效部（成分）组合，是创新中药研发的有效途径之一，如在安宫牛黄丸基础上开发形成的清开灵注射液等^[24]；对苏合香丸进行处方精简和剂型改革，研

制的冠心苏合香丸^[25]；由四妙勇安汤研发的脉络宁制剂等已成为此类研发的典型代表^[26]。

综上，本研究基于四妙丸及高频加味中药的配伍规律分析，旨在阐明组方药物的活性成分互作靶点及通路，并在此基础上研制新的有效部位（活性成分）复方制剂，以期开发中医药特色明显、配伍科学合理、药效成分基本清楚、药理作用基本明确、安全可控的防治痛风及关节性疾病创新中药，提供参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 清·张秉成编著 杨威校注. 成方便读 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 89.
- [2] 刘亚梅, 刘建梅. 四妙丸加减对痛风性关节炎的治疗效果及对实验室指标的影响 [J]. 世界中医药, 2018, 13(6): 1428-1431.
- [3] 赵向波, 赵永凯, 李兰英. 四妙丸加减治疗急性痛风性关节炎临床研究 [J]. 新中医, 2021, 53(4): 58-60.
- [4] 中国药典 [S]. 二部. 2020: 5-385.
- [5] 郭璐, 夏道宗, 骆叶姣, 等. 基于网络药理学探讨土茯苓治疗痛风的作用机制 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1413-1418.
- [6] 雍晨, 鲁璐, 汪悦. 基于网络药理学研究土茯苓的活性成分及药理机制 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(9): 1926-1930.
- [7] 吴越, 刘维. 基于网络药理学探讨四妙丸治疗骨关节炎的作用机制 [J]. 世界中医药, 2020, 15(23): 3604-3611.
- [8] 彭怀仁. 中医方剂大辞典 (第 3 册) [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 477.
- [9] 潘志, 段富津, 王颖航, 等. 黄柏与苍术提取物对高尿酸血症小鼠血尿酸的影响 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(1): 112-113.
- [10] 那莎, 段陈方圆, 王璐, 等. 牛膝总皂苷对大鼠急性痛风性关节炎的防治作用及机制研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(9): 966-971.
- [11] 严瑶琦, 孙静, 张莉, 等. 基于数据挖掘和网络药理学的痛风湿热蕴结证用药规律和作用机制分析 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(13): 2824-2830.
- [12] 曾丽莹, 邓伊健, 陈洁瑜, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨四妙丸治疗高尿酸血症的作用机制 [J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(4): 579-587.
- [13] 宋健, 赵连强, 刘友章. 刘友章教授治疗痛风学术思想与临证经验 [J]. 陕西中医药大学学报, 2019, 42(5): 16-18.
- [14] 中华中医药学会风湿病分会. 痛风和高尿酸血症病证结合诊疗指南 [J]. 中医杂志, 2021, 62(14): 1276-1288.
- [15] 郭洪涛, 郑光, 王济华, 等. 利用文本挖掘探索痛风证药特点 [J]. 风湿病与关节炎, 2013, 2(3): 38-40.
- [16] 郭世俊, 蔡小丽, 李春霖. 广州地区高尿酸患者中医体质类型与相关影响因素研究 [J]. 新中医, 2013, 45(12): 132-135.
- [17] 中国中医药研究促进会骨科分会. 膝关节炎中医诊疗指南 (2020 年版) [J]. 中医正骨, 2020, 32(10): 721-734.
- [18] Wei Q, Lv F, Zhang H, et al. Retraction: MicroRNA-101-3p inhibits fibroblast-like synoviocyte proliferation and inflammation in rheumatoid arthritis by targeting PTGS2 [J]. *Biosci Rep*, 2020, doi: 10.1042/bsr20191136.
- [19] Urech D M, Feige U, Ewert S, et al. Anti-inflammatory and cartilage-protecting effects of an intra-articularly injected anti-TNF α single-chain Fv antibody (ESBA105) designed for local therapeutic use [J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(2): 443-449.
- [20] Liu P, Wang J, Wen W, et al. Cinnamaldehyde suppresses NLRP3 derived IL-1 β via activating succinate/HIF-1 in rheumatoid arthritis rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 84: 106570.
- [21] Lademann F, Tsourdi E, Hofbauer L C, et al. Thyroid hormone actions and bone remodeling - the role of the wnt signaling pathway [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2020, 128(6/7): 450-454.
- [22] 张奉春, 栗占国. 内科学-风湿免疫科分册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 182-183.
- [23] 席雅婧, 康天伦, 王玉天, 等. 清热利湿方联合洛索洛芬钠片治疗急性痛风性关节炎的疗效观察及对细胞因子的影响 [J]. 现代中医临床, 2021, 28(2): 16-20.
- [24] 程发峰, 王庆国. 浅谈名优中药二次开发的思路和途径: 兼析精制清开灵注射液的研发思路 [J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(5): 300-303.
- [25] 成旭东, 贾晓斌, 封亮, 等. 基于系统论的中药大品种二次开发研究思路 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(24): 4369-4374.
- [26] 王哲义, 孙泽泽, 张媛凤, 等. 清热活血类中药注射剂治疗急性缺血性脑卒中的网状 Meta 分析 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1706-1718.

[责任编辑 潘明佳]