

《伤寒论》治疫方用药规律分析及核心药对治疗 COVID-19 的作用机制研究

汤少梁¹, 贡悦², 冯雨莉², 杨彤玲², 张蒙¹, 申俊龙², 成彦³

1. 南京中医药大学中医药文献研究所, 江苏 南京 210023

2. 南京中医药大学卫生经济管理学院, 江苏 南京 210023

3. 南京中医药大学附属南京中医院 药学部, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 基于数据挖掘分析《伤寒论》疫病治疗相关方剂的用药规律, 并利用网络药理学分析核心药对“柴胡-黄芩”治疗新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 的作用机制。以期探讨经方治疗疫病的当代价值。**方法** 筛选《伤寒论》中治疗疫病的经方, 利用 R 语言等软件对频次、性味归经、相关性、关联规则等用药规律进行分析, 并运用网络药理学方法对用药规律中核心药对治疗 COVID-19 的机制进行探究。用 Cytoscape 对筛选出的成分及靶点构建“疾病-药物-成分-靶点”网络, 将关键靶点导入 String 数据库进行蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析, 并在 R 语言中进行基因本体论 (gene ontology, GO) 功能分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路分析。**结果** 纳入《伤寒论》中与疫病相关的方剂 61 首, 共 52 味中药。前 20 味高频用药中以温性药、辛味药为主, 多归脾、肺经, 功效以补气药居多。“柴胡-黄芩”药对相关性强, 5 个类聚方为小柴胡汤加减、四逆汤、麻杏石甘汤加减、茯苓白术汤及大承气汤。利用 TCMSP 和 Genecards 等网站获取了“柴胡-黄芩”药对的 45 个活性成分、189 个作用靶点以及 COVID-19 的 543 个靶点, 产生交集靶点 64 个, 网络分析结果显示核心药对防治 COVID-19 的主要成分可能为槲皮素、汉黄芩素、山柰酚、黄芩素、刺槐素等, 核心靶点可能为 VEGFA、TNF、IL-6、TP53、AKT1、CASP3、CXCL8、PTGS2 等, 通过 GO 和 KEGG 富集分析分别获得 1871 个相关条目及 164 条通路。**结论** 《伤寒论》中治疗疫病多选用辛温、归脾、补气之品, 善用小柴胡汤加减、四逆汤、大承气汤等。研究发现核心药对“柴胡-黄芩”通过 PTGS2、IL-6、TNF 等多靶点在抗炎、免疫调节等方面防治 COVID-19, 《伤寒论》中疫病治疗的古方对于当今疫病的防治可能有重要的借鉴价值。

关键词: 疫病; 伤寒论; 数据挖掘; 新型冠状病毒肺炎; 柴胡; 黄芩; 小柴胡汤; 四逆汤; 麻杏石甘汤; 茯苓白术汤; 大承气汤

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)01-0192-18

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.01.022

Analysis of medication regularities of epidemic disease prescription in *Treatise on Febrile Diseases* and mechanism of core drugs in treatment of COVID-19

TANG Shao-liang¹, GONG Yue², FENG Yu-li², YANG Tong-ling², ZHANG Meng¹, SHEN Jun-long², CHENG Yan³

1. Institute of Traditional Chinese Medicine Literature, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. School of Health Economics and Management, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

3. Department of Pharmacy, Nanjing Chinese Medicine Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To analyze the medication rules of related epidemic disease prescription in *Treatise on Febrile Diseases* based on data mining, and the mechanism of “Chaihu (*Bupleuri Radix*)-Huangqin (*Scutellariae Radix*)” as the core drugs in the treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19) by network pharmacology, in order to explore the contemporary value of classical prescriptions

收稿日期: 2022-08-11

基金项目: 国家社会科学基金重点项目 (19AZD018); 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心重点项目 (ZDXM-2022-09)

作者简介: 汤少梁 (1969—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为医药经济、中医药数据挖掘。

Tel: 13952003436 E-mail: tangshaoliang@126.com

in the treatment of epidemic diseases. **Methods** The prescriptions for treating epidemic diseases in *Treatise on Febrile Diseases* were screened, and the medication rules such as drug frequency, flavor and meridian tropism as well as correlation, apriori algorithm were analyzed by using software such as R language. The mechanism of the core drugs in the medication pattern in the treatment of COVID-19 was explored by the network pharmacology. A “disease-drug-ingredient-target” network was constructed on the selected components and targets with Cytoscape. The key targets were introduced into String database for network analysis of protein-protein interaction (PPI), and gene ontology (GO) functional analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis were conducted in R language. **Results** A total of 61 prescriptions for treating epidemic diseases in *Treatise on Febrile Diseases* were included, including 52 traditional Chinese medicines (TCMs). In the top 20 high-frequency drugs, warm drugs, spicy drugs and *qi*-tonifying drugs were mainly used, mostly in the spleen and lung meridian. Chaihu (*Bupleuri Radix*) and Huangqin (*Scutellariae Radix*) herb pair had the strongest correlation. A total of five clusters were excavated: supplemented formula of Xiaochaihu Decoction (小柴胡汤), Sini Decoction (四逆汤), supplemented formula of Moxing Shigan Decoction (麻杏石甘汤), Fuling Baizhu Decoction (茯苓白术汤) and Dachengqi Decoction (大承气汤). A total of 45 active ingredients, 189 action targets of *Bupleuri Radix-Scutellariae Radix* herb pair, and 543 targets of COVID-19 were obtained from TCMSP and Genecards, and 64 intersection targets were generated. The results of the network analysis showed that the main components of core drugs pair against COVID-19 may be quercetin, wogonin, kaempferol baicalein, acacetin etc., and the core targets may be VEGFA, TNF, IL-6, TP53, AKT1, CASP3, CXCL8, PTGS2, etc. A total of 1871 related entries and 164 pathways were obtained by GO and KEGG enrichment analysis, respectively. **Conclusion** In *Treatise on Febrile Diseases*, the treatment of epidemic diseases mainly chose pungent, warm, spleen-invigorating and *qi*-tonifying herbs, such as Xiaochaihu Decoction, Sini Decoction and Dachengqi Decoction, etc. It was found that *Bupleuri Radix-Scutellariae Radix* core herb pair prevent and treat COVID-19 through multi-target targets such as PTGS2, IL-6 and TNF. The ancient prescriptions for treating epidemic disease in *Treatise on Febrile Diseases* may have significant reference value for the prevention and treatment of new epidemic diseases today.

Key words: epidemic disease; *Treatise on Febrile Diseases*; data mining; COVID-19; *Bupleuri Radix*; *Scutellariae Radix*; Xiaochaihu Decoction; Sini Decoction; Moxing Shigan Decoction; Fuling Baizhu Decoction; Dachengqi Decoction

疫病是外感疫邪气引起的一类急性烈性传染性疾病总称^[1]。中医学认为瘟疫的病因是疫毒，与“非时暴寒”“非节之气”密切相关，多认为是受到“时行乖戾之气”，也就是带有致病因素不正常的邪气伤害所致。疫病流行时期，历朝医家积极探寻治疗之法，逐步形成了理论相对完整、技术手段丰富的疫病防治体系^[2]。东汉著名医家医圣——张仲景，是辨证论治方法的始祖与其临床应用的奠基人，善治因寒而发热的外感病，理法方药兼备，后世研究者代不乏人。他编著的《伤寒杂病论》不仅为外感疾病治疗提供方法，而且在中医辨证论治方面提供了范例，是理论与临床实践结合的典范。《伤寒杂病论》由王叔和收集整理，其中《伤寒论》是张仲景在辨证论治的基础上总结前世医家学术观点及自身临床经验的结合，对外感伤寒的发生、发展及传变规律进行了全面分析^[3]，后世誉之为“方书之祖”^[4]。《伤寒论》为中医药治疗疫病水平的提升做出了很大贡献，也是研究早期发热性传染病的经典文献。回顾我国古代抗击疫情的历史，中医药抗疫历史经验弥足珍贵^[2]。纵观现代医学，中医药抗疫仍在发挥其独特的作用。

新型冠状病毒肺炎（coronavirus disease 2019, COVID-19）是一种以发热、干咳、乏力为主要表现的急性呼吸道传染病，部分患者还有鼻塞、流涕、咽痛、嗅觉味觉减退或丧失等表现^[5]。国家卫健委等多级主管部门陆续出台多版诊疗及预防方案^[6-7]。其中明确指出了疑似病例与确诊病例的诊断标准，主要是根据流行病学史来判断，其临床表现包括①发热和（或）呼吸道症状等 COVID-19 相关临床表现；②具有 COVID-19 影像学特征；③发病早期白细胞总数正常或降低，淋巴细胞计数正常或减少。确诊病例为在疑似病例中具备以下病原学或血清学证据之一者：①新型冠状病毒核酸检测阳性；②未接种新型冠状病毒疫苗者新型冠状病毒特异性免疫球蛋白 M（immunoglobulin M, IgM）抗体和 IgG 抗体均为阳性^[6-7]。随着对 COVID-19 的认识深入和临床经验的积累，中医从抗疫的参与者逐渐成为主力军^[8]。中医药抗击 COVID-19 疫情的典型代表“三药三方”中的清肺排毒汤正是由小柴胡汤与麻杏石甘汤、射干麻黄汤、五苓散合方而成^[9]，其中小柴胡汤也作为基本方被各地多部门推荐使用^[8-9]，可见《伤寒论》中古方在当今新病治疗中正发挥重要作用。

本研究筛选疫病相关篇幅收录的方剂,运用 R 语言 (4.1.2)、IBM SPSS statistics 22、IBM SPSS Modeler 18.0、Neo4j Desktop 与 Cytoscape 3.6.0 等软件进行数据挖掘,探索其用药组方规律,以期为 COVID-19 预防与治疗、新方发现与古方新用提供参考。

1 资料与方法

1.1 方药来源

从《伤寒论》中治疫方剂可看出,此时期治疫病多以“清、下”之法为主,承气汤、白虎汤、茵陈蒿汤等为其治疫代表方剂;以温中解表、和解少阳为辅,理中汤、四逆汤、大小柴胡汤为其代表方剂。而《温病学》中将瘟疫划分为温、燥、寒、湿等不同性质,首要特征为强烈的传染性,根据其病性和阶段来辨证治疗^[10]。《伤寒论》中的伤寒为广义的伤寒,即一切感受外邪所发疾病,不论寒热。在《温病学》中,狭义的伤寒定义为感受寒邪而发病,治法当以散寒解表为主。《伤寒论》中治霍乱以温中之法为主,代表方剂有四逆汤、桂枝汤等;治疟以清湿热为主,代表方剂为茵陈蒿汤^[11]。而在《温病学》中,治霍乱祛湿为首要治法,同时兼顾恢复脾胃升降之功能,代表方剂为蚕矢汤、藿香正气散等;治疟以祛邪截疟为基本治则,代表方剂为达原饮。

本研究根据纳入与排除标准对《伤寒论》中治疫病的方剂进行筛选,最终共摘录相关方剂 61 首。其中卷第五辨阳明病脉证并治第八方剂 19 首,卷第五辨少阳病脉证并治第九方剂 1 首,卷第七辨霍乱病脉证并治第十三方剂 6 首,卷第七辨阴阳易差后劳复病脉证并治第十四方剂 5 首,卷第八辨发汗后病脉证并治第十七方剂 22 首,卷第九辨可下病脉证并治第二十一方剂 8 首。记录各处方的名称、组成、剂量等基本信息。

1.2 纳入标准及排除标准

1.2.1 纳入标准 以中医疫病诊断标准为基础,即发病特点有强烈的传染性、易发生流行,“起病急骤初起可见憎寒壮热继则但热不寒,苔白如积粉舌质红绛或身大热头痛如劈吐泻腹痛或吐衄发斑舌绛苔焦脉浮大而数等”。传变迅速、症状复杂、病情凶险,可在短时间内出现热陷心包、伤络动血、厥脱、尿闭等危重证候^[11]。COVID-19 以发热、乏力、干咳为主要表现,少数患者伴有鼻塞流涕、咽痛和腹泻等症状,具有流行性、传染性。病位主要在肺,可波及五脏,病机以“寒、湿、热、毒、瘀、虚”为

主,初期多寒湿,可入里化热,后期多气阴两虚^[12]。针对病因病机,各期治疗均以祛邪解毒为核心,根据病程发展的阶段性,治疗时应将病情轻重、病程分期与中医证候相结合。结合现代辨证思路,以“伤寒”“霍乱”“疟”等为搜索词在《伤寒论》中进行检索,确定了阳明病、少阳病、霍乱、劳复等与疫病相关疾病,纳入①符合疫病中医诊断标准的治疗方,且为有效的方剂;②主治中有明确的与疫病相关的症状描述;③具有齐全的方剂名称。

1.2.2 排除标准 ①不可独立使用的处方;②单味中药处方;③方药缺失或组方不明确的方剂。

1.3 数据录入与处理

由双人将符合上述条件的方药录入 Excel 2016 软件,异议处理由具有中医背景的第 3 人进行判断。数据规范方面,将姜、枣、葱等药引纳入到药物组成,按照《中国药典》2020 年版^[13]和《中药学》2016 年版教材^[14],对 61 首方药的处方组成进行标准化处理。例如,将茵陈蒿统一规范为茵陈,商陆根统一规范为商陆,生梓白皮统一规范为梓白皮等。药物性味等属性同样参考《中药学》2016 年教材^[14]。数据录入与规范化完成后,由第 3 人再次进行审核,确保数据规范的准确性。本研究分别运用 R 语言 (4.1.2)、IBM SPSS statistics 22、IBM SPSS Modeler 18.0、Neo4j Desktop 与 Cytoscape 3.6.0 将规范后的数据进行处理与分析。

1.4 《伤寒论》疫病治疗用药规律分析

在 R 语言处理阶段,将规范化后的数据库保存为 csv 文件,导入 R 软件进行高频中药分析、关联规则分析与可视化处理。在 SPSS 处理阶段,运用 Excel 中数据透视表功能将规范后的中药进行二分类变量处理,以方药编号为行名,中药名称为列名,建立事务型数据库。接着导入 IBM SPSS statistics 22,进行系统聚类分析。在 SPSS Modeler 处理阶段,将事务型数据库直接导入软件,对张仲景《伤寒论》中疫病治疗前 20 味高频中药聚类进行可视化分析,绘制高频中药网络图。高频中药的性味归经分析皆在 Excel 2016 中完成。在 Neo4j 处理阶段,将高频中药与其性味归经的关系用表格分别建立一一对应关系,并保存为 csv 文件,导入到 Neo4j 中,使用 create 语句建立结点,match 语句建立关系,将其进行可视化。

1.5 网络药理学机制研究

结合“1.4”项中用药规律分析结果得到的核心

药物,通过 TCMSP^[15]平台(<http://tcmbspw.com/tcmssp.php>)搜集核心药对的化学成分,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 筛选各成分靶点,同时筛去无对应靶点的成分,将靶点导入 Uniprot^[16]数据库(<http://www.uniprot.org/>)剔除非人类的靶点蛋白,确定中药的活性成分及其对应基因靶点。在 Genecards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>)、Drugbank (<https://www.drugbank.com/>) 数据库中以“novel coronavirus pneumonia”为关键词检索与 COVID-19 相关的基因,整理并去重之后得到 COVID-19 相关靶点数据集。将药物有效成分的靶点与疾病相关靶点利用 R Studio 取交集靶点,获得药物疾病直接关联的关键靶点。在 Cytoscape V3.6.0 中以疾病、核心药物、有效成分和交集靶点为节点,边为相互之间关系,构建“疾病-药物-成分-靶点”关系网络。将关键基因靶点输入 String^[17]数据库中,选中物种为“人”,评分条件 > 0.90 ,获取蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,并将得到的数据导入 Cytoscape 进行可视化。利用 R Studio 4.1.2 中的“clusterProfiler”包对疾病-药物交集靶点进行基因本体论(gene ontology, GO)功能分析和京都基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。

2 结果

2.1 《伤寒论》疫病防治用药频次统计

运用 R 语言对《伤寒论》中疫病防治 61 首相关方药进行中药频次分析。共包含 52 味中药,总使用频次 275 次。如表 1 所示,使用频次 ≥ 15 的有 4 味,使用频次介于 10~15 的有 3 味,使用频次介于 5~10 的有 15 味,其余中药的使用频次均在 5 次以下,占全部中药的 57.69%。

表 1 《伤寒论》中防治疫病中药使用频次

Table 1 Frequency of use of TCMs in prevention and treatment of epidemic diseases in *Treatise on Febrile Diseases*

中药使用频次 (n)	中药味数	占比/%
$n \geq 15$	4	7.69
$10 \leq n < 15$	3	5.77
$5 \leq n < 10$	15	28.85
$n < 5$	30	57.69
总计	52	100.00

另外,使用频次最高的前 20 味中药(单味中药在 61 首方剂中出现的频率)分别是甘草(37 次)、生姜(18 次)、大枣(16 次)、桂枝(16 次)、大黄(14 次)、人参(14 次)、白芍(13 次)、半夏(9 次)、干姜(9 次)、枳实(9 次)、附子(8 次)、茯苓(7 次)、厚朴(7 次)、黄芩(7 次)、白术(6 次)、柴胡(6 次)、苦杏仁(6 次)、芒硝(6 次)、麻黄(5 次)、石膏(5 次),见图 1。

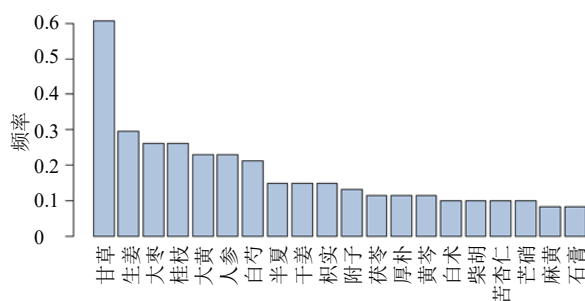


图 1 《伤寒论》中防治疫病前 20 味高频中药

Fig. 1 Top 20 high frequency TCMs in prevention and treatment of epidemic diseases in *Treatise on Febrile Diseases*

2.2 《伤寒论》疫病防治高频用药的性味归经及功效知识图谱

2.2.1 《伤寒论》疫病防治高频用药药性知识图谱
《伤寒论》中高频中药药性包含平、温、寒等 7 种,其中占比最高的为温性药物,为 35%,其次为寒性药物和微寒性药物,占比均为 15%。高频中药药性频次和占比如表 2 所示。

《伤寒论》高频中药药性知识图谱见图 2,其中绿色节点表示医家即张仲景,灰色节点表示中药实体即《伤寒论》疫病相关药方中前 20 味高频中药,褐色节点表示药性实体。连接中药实体与药性实体之间的边表示这些药相应的性。通过该图谱,可以得知,高频中药中,药性占比最高的温性药物有大枣、桂枝、白术、半夏、麻黄、生姜、厚朴。

2.2.2 《伤寒论》疫病防治高频用药药味知识图谱
《伤寒论》中高频中药药味包含甘、辛、苦、微苦、酸、淡、咸 7 种,其中占比最高的为辛味药物,为 30.30%;其次为苦味药物,占比 27.27%;排名第 3 的为甘味药物,占比 24.24%。高频中药药味频次和占比如表 2 所示。

《伤寒论》高频中药药味知识图谱见图 3。其中绿色节点表示医家即张仲景,灰色节点表示中药实体即《伤寒论》疫病相关药方中前 20 味高频中药,

表 2 高频用药性味归经占比情况

Fig. 2 Proportion of flavor and meridian tropism of high frequency medication

药性	频次	占比/%	药味	频次	占比/%	归经	频次	占比/%
温	7	35.00	辛	10	30.30	脾	14	21.88
寒	3	15.00	苦	9	27.27	肺	13	20.31
微寒	3	15.00	甘	8	24.24	胃	12	18.75
平	2	10.00	微苦	2	6.06	心	7	10.94
微温	2	10.00	酸	2	6.06	大肠	5	7.81
热	1	5.00	咸	1	3.03	肾	4	6.25
大热	1	5.00	淡	1	3.03	肝	3	4.69
大寒	1	5.00	总计	33	100.00	膀胱	2	3.13
总计	20	100.00				胆	2	3.13
						心包	1	1.56
						小肠	1	1.56
						总计	64	100.00

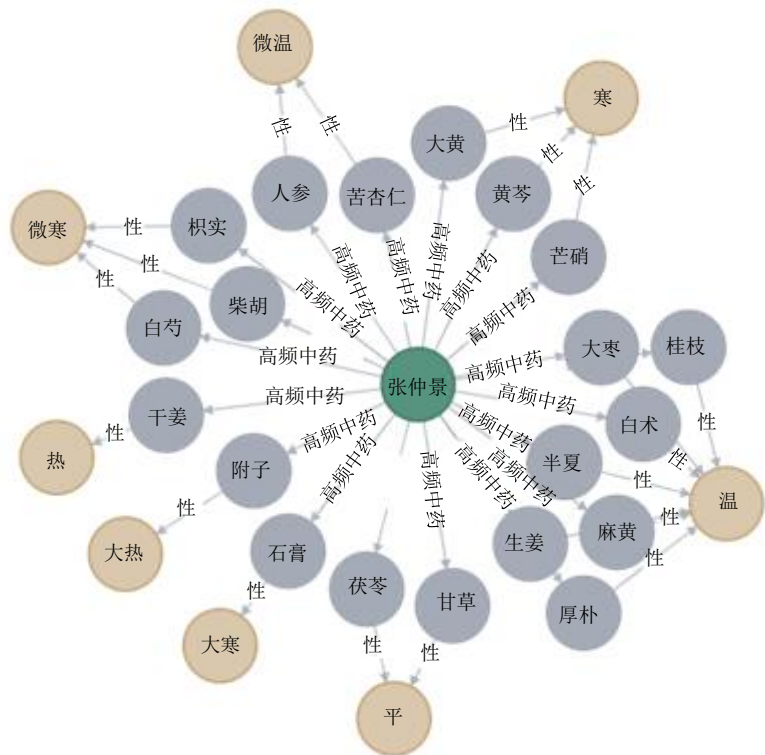


图 2 前 20 味高频中药药性的知识图谱

Fig. 2 Knowledge map of properties of top 20 high frequency TCMs

粉色节点表示药味实体。连接中药实体与药味实体之间的边表示这些药相应的味。通过该图谱，可以直观地看到，高频中药中，药味占比较高的有辛、苦、甘，占比最高的辛味中药为生姜、桂枝、半夏、柴胡、麻黄等。

2.2.3 《伤寒论》疫病防治高频用药归经知识图谱

《伤寒论》中高频中药归经包含心经、肺经、胃经、脾经等 11 种，其中脾经占比最高，为 21.88%，肺经和胃经占比也较高，小肠经和心包经占比最低。高频中药归经频次和占比如表 2 所示。

《伤寒论》高频中药归经知识图谱见图 4。其中绿色节点表示医家即张仲景，灰色节点表示中药实

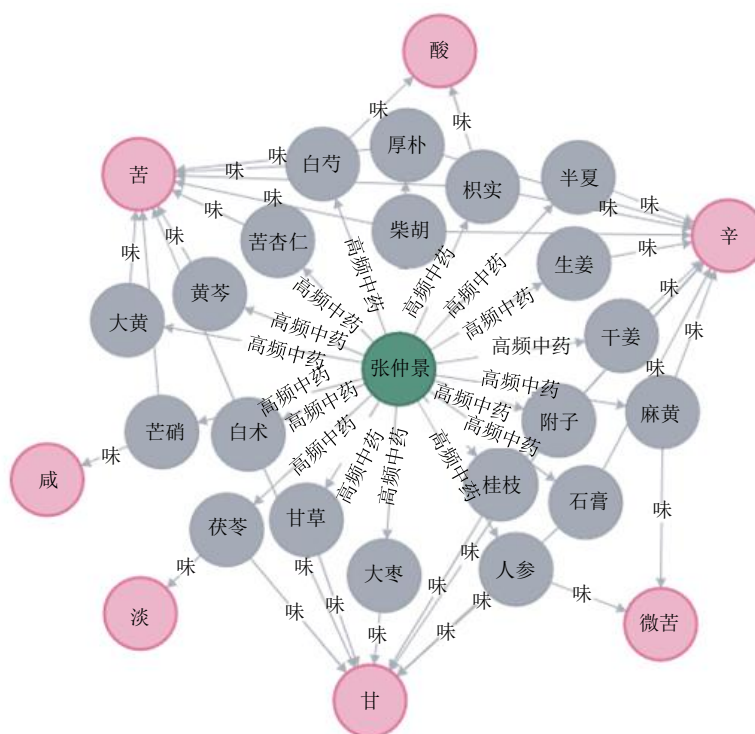


图 3 前 20 味高频中药药味的知识图谱

Fig. 3 Knowledge map of flavor of top 20 high frequency TCMs

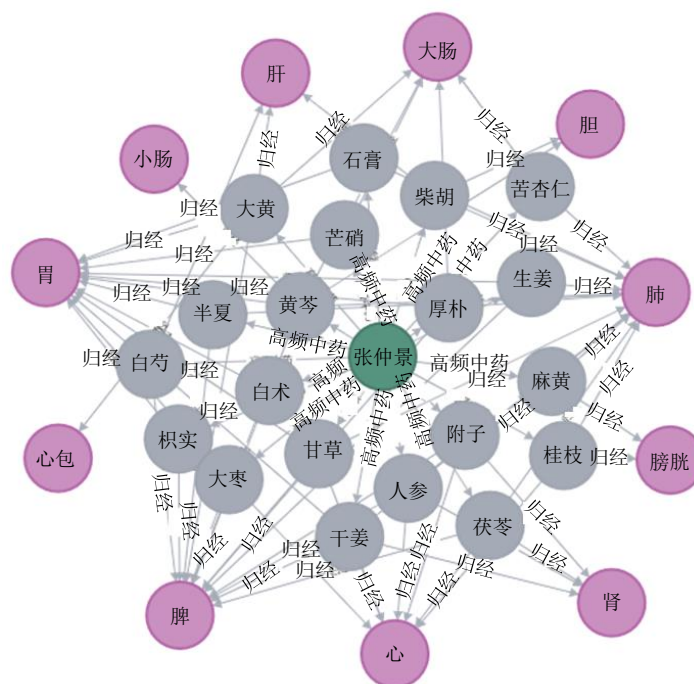


图 4 前 20 味高频中药归经的知识图谱

Fig. 4 Knowledge map of meridian tropism of top 20 high frequency TCMs

体即《伤寒论》疫病相关药方中前 20 味高频中药，紫色节点表示归经实体。连接中药实体与归经实体

之间的边表示这些药相应的归经。可以直观地看到，高频中药中，归经为脾、肺、胃、心经的中药较多，

归经为心包、小肠、膀胱、胆、肝、肾、大肠经的中药较少。

2.2.4 《伤寒论》疫病防治高频用药功效知识图谱如表 3 所示,《伤寒论》高频中药功效占比最高的是补气药,占比为 20%,其次为发散风寒,占比为 15%,攻下和温里占比均为 10%。其余功效占比均为 5%。

《伤寒论》高频中药功效知识图谱见图 5。其中

绿色节点表示医家即张仲景,灰色节点表示中药实体即《伤寒论》疫病相关药方中前 20 味高频中药,红色节点表示功效实体。连接中药实体与功效实体之间的边表示这些药相应的功效。可以直观地看出,《伤寒论》中,功效占比最多的补气药有甘草、人参等;功效占比其次的发散风寒药有麻黄、桂枝等;攻下药为芒硝和大黄,温里药为附子和干姜。

表 3 高频中药功效频次
Table 3 High frequency efficacy of TCM

功效	频次	占比/%	功效	频次	占比/%
补气	4	20.00	清热泻火	1	5.00
发散风寒	3	15.00	利水消肿	1	5.00
温里	2	10.00	理气	1	5.00
攻下	2	10.00	化湿	1	5.00
止咳平喘	1	5.00	发散风热	1	5.00
温化寒痰	1	5.00	补血	1	5.00
清热燥湿	1	5.00	总计	20	100.00

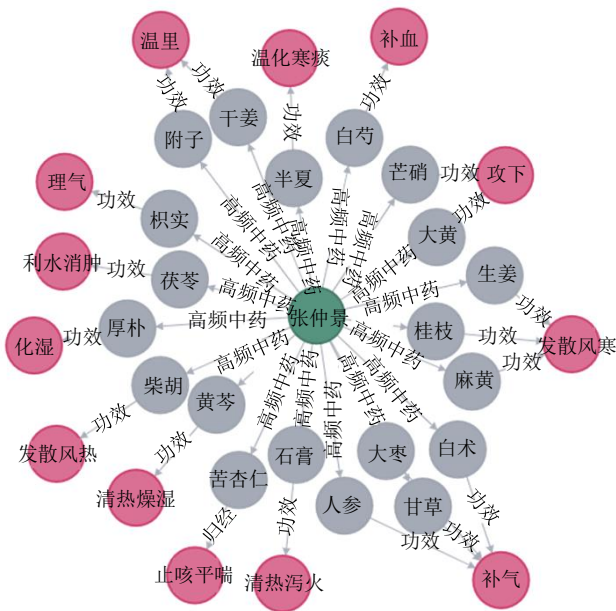


图 5 前 20 味高频中药功效的知识图谱
Fig. 5 Knowledge map of efficacy of top 20 high frequency TCMs

2.3 《伤寒论》疫病防治用药相关性分析
对《伤寒论》中使用前 20 的高频用药进行 Pearson 相关性分析,并使用 R Studio 中 Corplot 函数将高频中药相关性分析进行可视化,见图 6。
根据 Pearson 相关系数大小对药对组合进行排列,相关系数较高的前 10 组药对见表 4。由表 4 可知,黄芩-柴胡相关性最强,相关系数为 0.92,接近

于 1.00。
2.4 《伤寒论》疫病防治用药关联规则分析
使用 R Studio 对《伤寒论》疫病防治用药进行关联规则分析,根据方剂数量为 61 首,同时结合经验判断和不同参数提取出数据的预读,设置最小支持度为 7%,最小置信度为 60%,共得到《伤寒论》疫病防治用药的 271 条关联规则,包含 40 条二阶

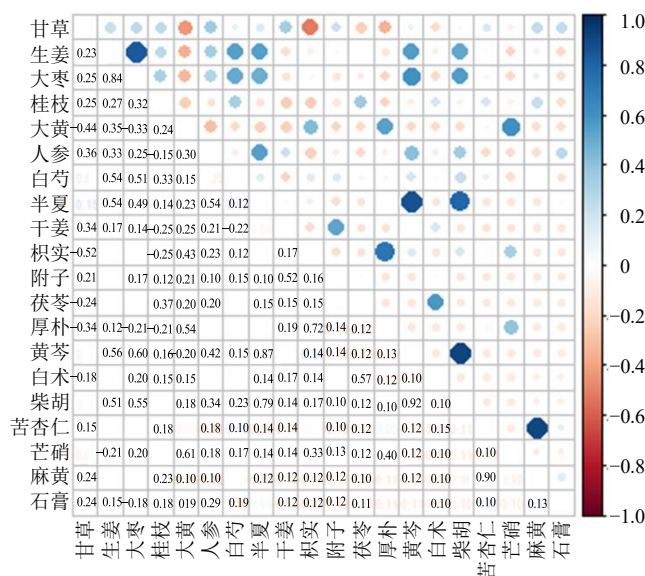


图 6 《伤寒论》前 20 味高频用药相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis of top 20 high frequency drugs in *Treatise on Febrile Diseases*

表 4 相关系数前 10 组药对组合

Table 4 Correlation coefficient of top 10 groups of drug pairs

序号	药对	相关系数
1	黄芩-柴胡	0.92
2	苦杏仁-麻黄	0.90
3	半夏-黄芩	0.87
4	生姜-大枣	0.84
5	半夏-柴胡	0.79
6	枳实-厚朴	0.72
7	大黄-芒硝	0.61
8	大枣-黄芩	0.60
9	茯苓-白术	0.57
10	生姜-黄芩	0.56

关联规则，94 条三阶关联规则，91 条四阶关联规则，40 条五阶关联规则，皆是提升度 >1 的有效规则。按置信度及提升度降序排序，前 20 条关联规则如表 5 所示。

2.5 《伤寒论》疫病防治用药聚类分析

运用 IBM SPSS statistics 对《伤寒论》疫病治疗用药前 20 味高频中药进行了系统聚类分析，生成了系统距聚类树，见图 7。由图 7 可知，《伤寒论》疫病治疗用药前 20 味高频中药可以分为特征相近的 5 类。类聚方 1：黄芩、柴胡、半夏、生姜、大枣、人参、桂枝、白芍；类聚方 2：干姜、附子、甘草；类聚方 3：苦杏仁、麻黄、石膏；类聚方 4：茯

苓、白术；类聚方 5：枳实、厚朴、大黄、芒硝。其分别为小柴胡汤加减、四逆汤、麻杏石甘汤加减、茯苓白术汤、大承气汤等方中主要药物。

3 小柴胡汤“病-证-症-方-药”关系构建与网络药理学机制研究

3.1 小柴胡汤“病-证-症-方-药”关系

中医药有着几千年与瘟疫做斗争的历史，在此次 COVID-19 疫情防控中作用重大。从国家及各省市诊疗方案和中医临床专家的见解中发现^[18]，尽管方药多有差异，但 COVID-19 属于中医“疫”的范畴，经口鼻、接触而传染发病，其毒与寒湿燥之邪相合，首先上受犯肺，病位以肺为中心，病机以“湿邪”为主，其核心证型为“痰热壅肺、闭肺”“风寒、风热犯肺”等^[19]。COVID-19 患者最常见的症状是发热和咳嗽，部分患者出现发热持续反复波动的情况，《伤寒论》中记载：“往来寒热，胸胁苦满，默默不欲饮食，心烦喜呕，或胸中烦而不呕……小柴胡汤主之”，这与小柴胡汤适应证相符^[9]。

类聚方中出自《伤寒论》中的方剂有小柴胡汤、麻杏石甘汤和大承气汤等。大承气汤主要用于泻下，小柴胡汤和麻杏石甘汤与疫病的相关性较强，同时结合相关分析结果，“柴胡-黄芩”为相关系数最高的药对，并且其在关联规则分析中的支持度（9.84%）、置信度（100%）和提升度（8.71）均较高，该药对是出自《伤寒论》的经典名方小柴胡汤，因此本研究选择小柴胡汤为例，构建其“病-证-症-方-药”

表 5 《伤寒论》前 20 条中药关联规则

Table 5 Top 20 association rules of TCMs in *Treatise on Febrile Diseases*

序号	药对组合	支持度/%	置信度/%	提升度
1	甘草、苦杏仁→麻黄	8.20	100.00	12.20
2	甘草、麻黄→苦杏仁	8.20	100.00	10.17
3	麻黄→苦杏仁	8.20	100.00	10.17
4	半夏、大枣、生姜→黄芩	11.48	100.00	8.71
5	半夏、大枣→黄芩	11.48	100.00	8.71
6	柴胡→黄芩	9.84	100.00	8.71
7	柴胡、大枣、生姜→黄芩	9.84	100.00	8.71
8	半夏、柴胡、生姜→黄芩	9.84	100.00	8.71
9	半夏、柴胡、大枣→黄芩	9.84	100.00	8.71
10	柴胡、生姜→黄芩	9.84	100.00	8.71
11	柴胡、大枣→黄芩	9.84	100.00	8.71
12	半夏、柴胡→黄芩	9.84	100.00	8.71
13	大黄、枳实→厚朴	9.84	100.00	8.71
14	半夏、柴胡、大枣、生姜→黄芩	9.84	100.00	8.71
15	半夏、大枣、甘草、人参、生姜→黄芩	8.20	100.00	8.71
16	半夏、大枣、甘草、生姜→黄芩	8.20	100.00	8.71
17	半夏、大枣、甘草、人参→黄芩	8.20	100.00	8.71
18	半夏、大枣、人参、生姜→黄芩	8.20	100.00	8.71
19	半夏、大枣、甘草→黄芩	8.20	100.00	8.71
20	半夏、大枣、人参→黄芩	8.20	100.00	8.71

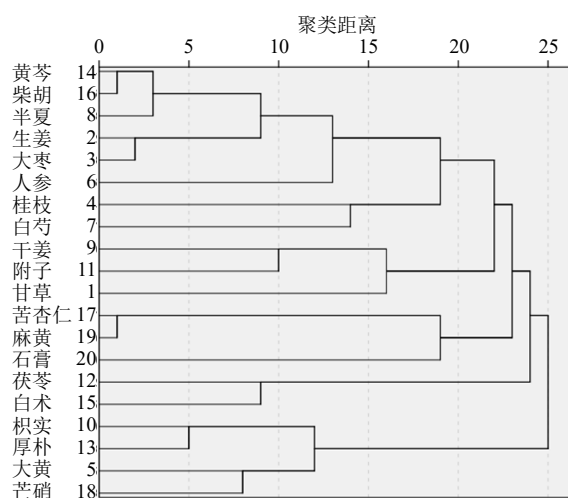


图 7 前 20 味高频用药系统聚类树

Fig. 7 System cluster tree of top 20 high frequency medication

关系，并对其核心药对进行作用机制研究。

从录入的 61 条数据中，筛选出使用小柴胡汤治疗的条目，共 3 条。其中症状按照《中医症状鉴别

诊断学》第 2 版进行人工分词和规范化，规范化例如“往来寒热”规范为“寒热往来”；对于一些《伤寒论》中原始提出的症状，如“胸胁满”一类的词保留。运用 Neo4j Desktop 软件分别建立疾病、证候、症状、方剂、中药 5 个结点，并建立“病-证”“证-症”“症-方”“方-药”4 种关系，最终得到如图 8 所示的“病-证-症-方-药”关系。

3.2 小柴胡汤核心药对作用机制研究

在目前 COVID-19 的治疗中，清肺排毒汤被广泛运用，而其组成成分之一正是小柴胡汤。同时，小柴胡汤也被多地、多部门联袂推荐使用^[8-9]，可见仲景古方在治疗新疫病中正发挥重要作用，但是对于其作用机制的研究仍有不足。小柴胡汤中柴胡为君，黄芩为臣，“柴胡-黄芩”为其核心药对。同时，柴胡与黄芩的配伍首现于《伤寒论》，是仲景柴胡系列方剂中最具代性的基本配伍，也是本研究挖掘张仲景治疗疫病方剂中相关程度最强的配伍药对，且为临床常用药对。柴胡微寒，归肝、胆、肺经，主要有疏散退热、化解肝郁作用；黄芩苦寒，归肺、

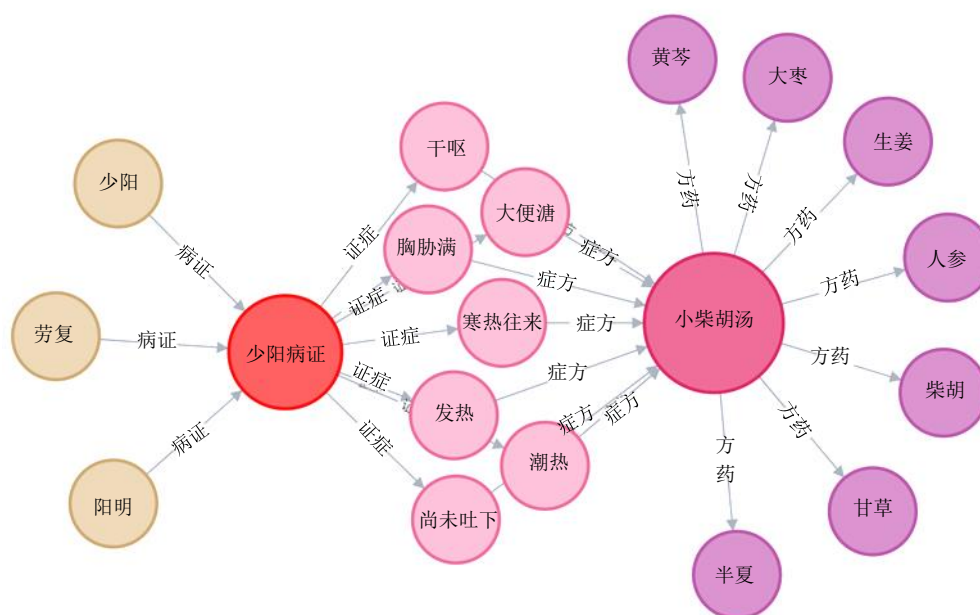


图 8 小柴胡汤“病-证-症-方-药”关系的可视化

Fig. 8 Visualization of relationship of “disease-syndrome-symptom-prescription-medicine” in Xiaochaihu Decoction

胆、脾经等，主要功效为清热燥湿、清肺止咳、泻火解毒、止血等。该药对广泛运用于心血管系统、消化系统、呼吸系统等疾病，并且疗效显著。故本研究选择核心药对“柴胡-黄芩”进行作用机制研究。

3.2.1 “柴胡-黄芩”药对活性成分筛选 通过 TCMSP 数据库检索“柴胡-黄芩”有效成分及基因靶点，最终筛选出主要活性成分柴胡 13 个，黄芩 32 个，共同有效成分有 1 个，为甾体醇 (stigmaterol)，去除重复靶点后共得到 189 个靶点。主要活性成分信息见表 6。

3.2.2 COVID-19 疾病靶点 GeneCards 检索得到 1043 个基因，通过相关度大于中位数规则筛选出 522 个疾病靶点；OMIM 和 Drugbank 分别得到 2、26 个靶点。整理上述靶点共获得 COVID-19 靶点 543 个。

3.2.3 药物-疾病靶点交集 利用 R Studio 的 ggvenn 包取药物及疾病靶点的交集，共得到 64 个交集靶点，如图 9 所示。

3.2.4 “疾病-药物-成分-靶点”关系和 PPI 网络构建 为直观展现 64 个“柴胡-黄芩”药对治疗 COVID-19 的相互作用关系，利用 Cytoscape 构建“疾病-药物-成分-靶点”网络，见图 10。其中度 (degree) >10 的化合物编号分别为 CH10、HQ2、CH5、HQ4、HQ1、HQ28、HQ13、HQ15、HQ16；

同时度 >17 的核心靶点为前列腺素内过氧化物合成酶 2 (prostaglandin G/H synthase 2, PTGS2)、热休克蛋白 90α (90αHeat shock protein HSP 90-α, HSP90AA1)、雄激素受体 (androgen receptor, AR)、诱导型一氧化氮合成酶 2 (nitric oxide synthase, inducible 2, NOS2)、蛋白激酶环腺苷酸 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 激活催化亚基 α (cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha, PRKACA)、二肽基肽酶 4 (dipeptidyl peptidase 4, DPP4)。将 64 个关键靶点输入 String 平台，并利用 Cytoscape 绘制 PPI 网络，评分条件 >0.40，共有 64 个节点，1069 条边，平均节点评分为 33.4，见图 11。其中得分排名前 25 的是血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤抑制蛋白 (cellular tumor antigen p53, TP53)、蛋白激酶 Bα (RAC-α serine/threonine-protein kinase, AKT1)、白细胞介素-1β (interleukin-1 beta, IL1B)、半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3, CASP3)、白细胞介素-8 (interleukin-8, CXCL8)、PTGS2、缺氧诱导因子-1α (hypoxia-inducible factor 1α, HIF1A)、IL-10、表皮生长因子 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、脑区原癌基因蛋白 (proto-oncogene c-Fos,

表 6 “柴胡-黄芩”的活性成分

Table 6 Active ingredients of “*Bupleuri Radix-Scutellariae Radix*”

化合物 ID	编号	化合物名称	OB/%	DL
MOL000449	A	stigmasterol	43.83	0.76
MOL013187	CH1	cubebin	57.13	0.64
MOL000490	CH2	petunidin	30.05	0.31
MOL004598	CH3	3,5,6,7-tetramethoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)chromone	31.97	0.59
MOL002776	CH4	baicalin	40.12	0.75
MOL000422	CH5	kaempferol	41.88	0.24
MOL001645	CH6	linoleyl acetate	42.10	0.20
MOL004718	CH7	α -spinasterol	42.98	0.76
MOL004653	CH9	(+)-anomalin	46.06	0.66
MOL000098	CH10	quercetin	46.43	0.28
MOL004624	CH11	longikaurin A	47.72	0.53
MOL004609	CH12	areapillin	48.96	0.41
MOL000354	CH13	isorhamnetin	49.60	0.31
MOL004702	CH14	saikosaponin c_qt	30.5	0.61
MOL004644	CH15	sainfuran	79.91	0.23
MOL001689	HQ1	acacetin	34.97	0.24
MOL000173	HQ2	wogonin	30.68	0.23
MOL000228	HQ3	(2 <i>R</i>)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	55.23	0.20
MOL002714	HQ4	baicalein	33.52	0.21
MOL002909	HQ5	5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	33.82	0.45
MOL002910	HQ6	carthamidin	41.15	0.24
MOL002913	HQ7	dihydrobaicalin_qt	40.04	0.21
MOL002914	HQ8	eriodictiol (flavanone)	41.35	0.24
MOL002915	HQ9	salvigenin	49.07	0.33
MOL002917	HQ10	5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	45.05	0.33
MOL002925	HQ11	5,7,2',6'-tetrahydroxyflavone	37.01	0.24
MOL002927	HQ12	skullcapflavone II	69.51	0.44
MOL002928	HQ13	oroxylin a	41.37	0.23
MOL002932	HQ14	panicolin	76.26	0.29
MOL002933	HQ15	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27
MOL002910	HQ16	carthamidin	41.15	0.24
MOL002937	HQ17	dihydrooroxylin	66.06	0.23
MOL000358	HQ18	beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL000359	HQ19	sitosterol	36.91	0.75
MOL000525	HQ20	norwogonin	39.40	0.21
MOL000552	HQ21	5,2'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	31.71	0.35
MOL000073	HQ22	ent-epicatechin	48.96	0.24
MOL001458	HQ24	coptisine	30.67	0.86
MOL001490	HQ25	bis[(2 <i>S</i>)-2-ethylhexyl] benzene-1,2-dicarboxylate	43.59	0.35
MOL002879	HQ26	diop	43.59	0.39
MOL002897	HQ27	epiberberine	43.09	0.78
MOL008206	HQ28	moslosooflavone	44.09	0.25
MOL010415	HQ29	11,13-eicosadienoic acid, methyl ester	39.28	0.23
MOL012245	HQ30	5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavanone	36.63	0.27
MOL012246	HQ31	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavanone	74.24	0.26
MOL012266	HQ32	rivularin	37.94	0.37

CH-柴胡 HQ-黄芩 A-共有成分

CH-*Bupleuri Radix* HQ-*Scutellariae Radix* A-common component

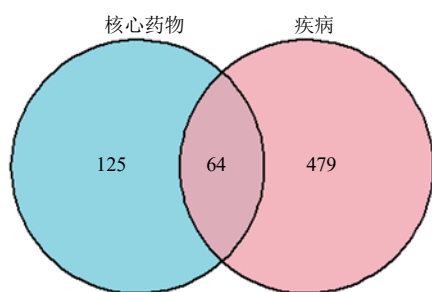


图 9 交集靶点的 Venn 图

Fig. 9 Venn diagram of intersection targets

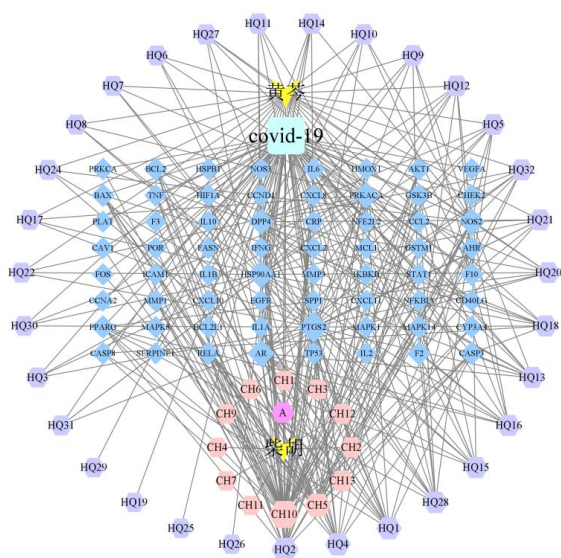
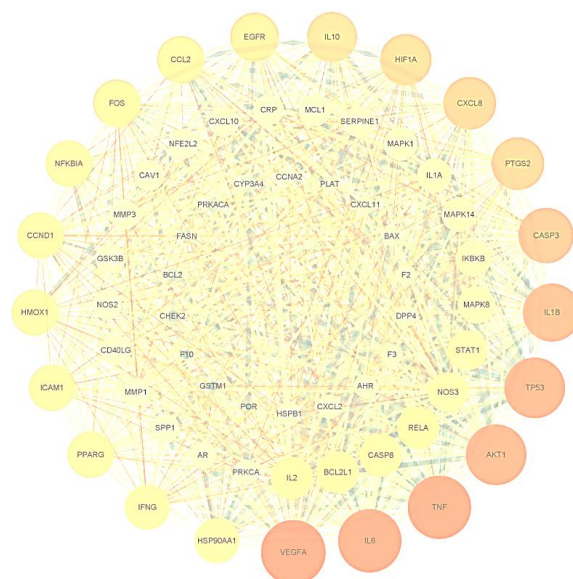


图 10 “疾病-药物-成分-靶点”网络

Fig. 10 “Disease-drug-ingredient-target” network

FOS)、趋化因子配体 2 (C-C motif chemokine 2, CCL2)、细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM1)、G₁/S-特异性周期蛋白-D1 (G₁/S-specific cyclin-D1, CCND1)、核因子-κB 抑制因子 α (NF-kappa-B inhibitor alpha, NFKBIA)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPARG)、血红素加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HMOX1)、HSP90AA1、II 型干扰素 (interferon gamma, IFNG)、CASP8、B-细胞淋巴瘤因子 2 样蛋白 1 (Bcl-2-like protein 1, BCL2L1)、转录因子 p65 (transcription factor p65, RELA)、IL-2。

3.2.5 交集靶点的 GO 和 KEGG 富集分析 利用 R 语言对 64 个关键靶点进行 GO 和 KEGG 通路分析, 限定 $P < 0.05$, 绘制气泡图和条形图, 由图 12 可知, GO 生物过程主要包括对脂多糖的反应 (response to



圆圈越大, 颜色越深, 则该蛋白越重要; 边越粗, 蛋白的关联性越高

The larger the circle and the darker the color, the more important the protein; the thicker the edge, the higher the protein correlation

图 11 “柴胡-黄芩”治疗 COVID-19 的 PPI 网络图

Fig. 11 PPI network diagram of “*Bupleuri Radix-Scutellariae Radix*” in treatment of COVID-19

lipopolysaccharide)、细菌源性分子的反应 (response to molecule of bacterial origin)、细胞对生物刺激的反应 (cellular response to biotic stimuli)、细胞对脂多糖的应答 (cellular response to lipopolysaccharide)、细胞对细菌来源分子的反应 (cellular response to molecule of bacterial origin) 等; GO 细胞过程主要包括膜筏 (membrane raft)、膜微结构域 (membrane microdomain)、质膜筏 (plasma membrane raft)、陷窝 (caveola)、器官外膜 (organelle outer membrane); GO 分子功能以细胞因子受体结合 (cytokine receptor binding)、细胞因子活性 (cytokine activity)、受体配体活性 (receptor ligand activity)、信号受体激活剂活性 (signaling receptor activator activity) 为主。

KEGG 富集通路分析得到 165 条结果, 由图 13 可知, 靶点主要集中在脂质与动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis)、白细胞介素 17 信号通路 (IL-17 signaling pathway)、糖尿病并发症的物及其受体信号通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、流体切应力和动脉粥样硬化信号通路 (fluid shear stress and atherosclerosis)、肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway)、卡波西氏

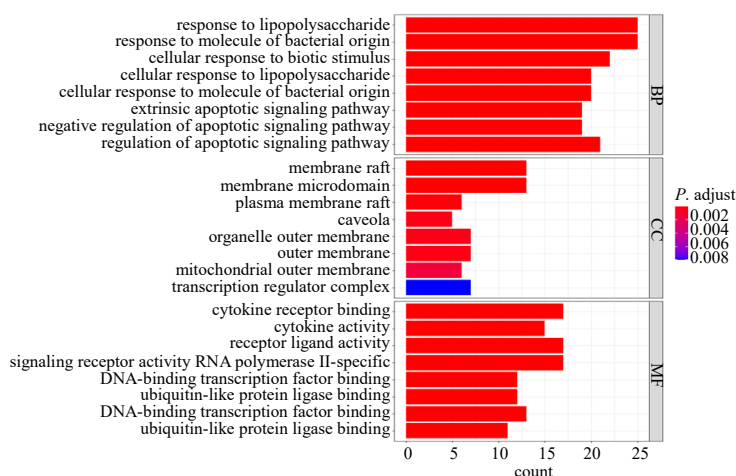


图 12 “柴胡-黄芩”活性成分治疗 COVID-19 靶点的 GO 富集分析 (前 8)

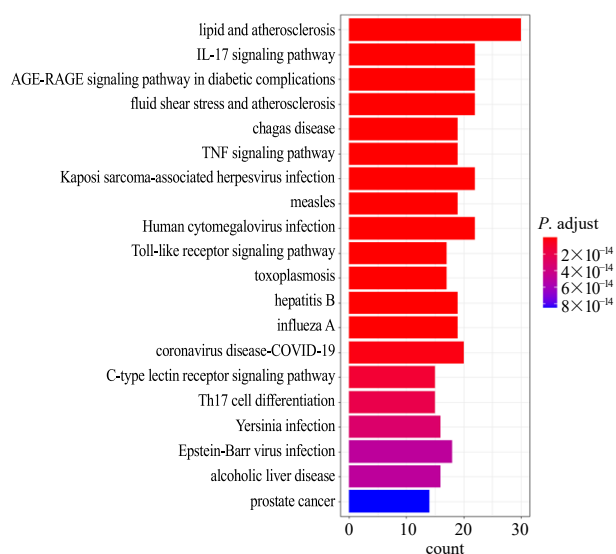
Fig. 12 Targets GO enrichment analysis of active ingredients of “*Bupleuri Radix-Scutellariae Radix*” in treatment of COVID-19 (top 8)

图 13 “柴胡-黄芩”活性成分治疗 COVID-19 靶点的 KEGG 富集分析 (前 20)

Fig. 13 Targets KEGG enrichment analysis of active ingredients of “*Bupleuri Radix-Scutellariae Radix*” in treatment of COVID-19 (top 20)

肉瘤相关疱疹病毒感染 (Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection)、人类巨细胞病毒感染 (human cytomegalovirus infection)、Toll 受体信号通路 (Toll-like receptor signaling pathway)、coronavirus disease-COVID-19、Th17 细胞分化 (Th17 cell differentiation) 等通路。

4 讨论

COVID-19 属于中医学中的“疫病”范畴，

COVID-19 患者所表现出的症状与肺系疫病相似，中医药在与“疫病”长期的斗争过程中积累了较为清楚的认识和丰富的经验，有一套较为完整的理论与临床治疗的方法^[20]。《伤寒论》主要论述伤寒病，伤于寒为主而致外感热病的过程即为伤寒，张仲景对伤寒病运用“三阳三阴”为主的六经辨证方法，实质上指根据经脉所属五脏六腑的病理变化，结合相对应临床证候的部位、性质、病机、病势进行分类，从而归纳为六经病证。《伤寒论》方剂用药精确，加减灵活，临床疗效显著。本研究选取《伤寒论》卷第五、卷第七、卷第八和卷第九中疫病相关方剂 61 首，进行药物频次、性味归经功效、相关分析、关联规则和聚类分析，挖掘出了相关疫病治疗配伍规律，并对小柴胡汤进行了“病-证-症-方-药”关系构建，以及核心药对“柴胡-黄芩”进行了网络药理学作用机制分析，以期为 COVID-19 临床治疗提供参考。

4.1 用药频率分析

《伤寒论》中疫病治疗使用频数最高的 4 味药甘草、生姜、大枣、桂枝即为桂枝汤组方成分，白芍也位列高频用药第 7 味。桂枝温通营气、解肌祛风，配伍甘草可辛甘化阳；生姜配伍桂枝散邪；大枣与芍药配伍养阴，配生姜以鼓气血营卫御外邪。桂枝汤目前临床上应用于循环、免疫等多个系统，可达到抗炎、免疫调节、抗菌、抗病毒等效果^[21]。不仅如此，前 20 味高频用药中包含了甘草、生姜、桂枝、半夏、枳实、茯苓、黄芩、白术、柴胡、苦

杏仁、麻黄、石膏(图 1),这与《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第九版)》^[6]中清肺排毒汤处方中主要成分基本吻合,适用于 COVID-19 轻型、普通型、重型患者。高频中药中甘草、生姜、大枣、桂枝、大黄、人参、白芍等结果与刘永瑞等^[4]的研究结果相似。甘草属于补虚药,在方剂中应用广泛,可以发挥补、缓、护、化、解等功效,这也反映了张仲景温补脾胃的学术思想。

从中药性味归经分析来看,《伤寒论》中用药最偏好温性药(表 2)。20 味高频中药以温热药为主,频数为 11,占比高达 55%,寒凉药频数为 7,占比为 35%。可见张仲景疫病用药善用温性药散寒、温里、助阳,用于外寒、内寒引起的疫病均疗效显著,符合其“重阳气”的思想。此外,其中寒性药也占到了 35%,寒温并用,寒以清热,温则驱寒调脾胃。《伤寒论》治疗疫病的前 20 味高频药物五味中辛、苦、甘排前 3 位(表 2),分别占比 30.3%、27.27%、24.24%。辛可发散解表;苦可清热泻火、清热燥湿;甘可补益和中、调和药性。与药性结合分析,仲景善用辛温、苦温、甘温药物,辛温可发散风寒,苦温可燥湿,甘温可补中益气^[20]。高频用药中 14 味归经于脾(21.88%),其次归于肺经药物 13 味(20.31%),主归于脾、肺经与 COVID-19 病位属肺相符合^[22]。脾主运化,乃气血生化之源,健脾则能保护五脏,扶脾从而保肺。肺主气,可以促进血行,抵抗外邪,其中卫气防御作用显著;肺主宣散卫气,且肺为娇脏,不耐风寒湿诸邪侵袭,为疫病的病理发展提供了基础。张仲景治疗疫病注重脾肺功能,配伍药物内外兼续,谨守病机,在外发散风寒调和营卫以治肺,在内温补脾胃,燥湿行气,标本兼顾^[20]。

从中药功效分类来看,《伤寒论》治疗疫病常用补气药、发散风寒药、攻下和温里药(表 3)。补气药及发散风寒药在仲景方中应用广泛,合用既温通经脉,又解表散邪气,在张仲景治疗伤寒时注重护胃气、扶正气,而补虚和中之药可为治疗伤寒之首要辅助用药。

4.2 相关性分析与关联规则分析

相关性分析中相关系数较高的前 10 味药对组合多为发散风寒药和清热燥湿药,其中相关系数大于 0.9 的药对为“柴胡-黄芩”“苦杏仁-麻黄”。柴胡与黄芩是中医临床常见的药对,在小柴胡汤等经典方剂中配伍应用,配伍可消减郁热、清热燥湿、调

和表里、和解少阳^[23]。“苦杏仁-麻黄”药对,二者皆可入肺,配伍宣降相宜,可辛温发散、宣肺降气平喘,许多经典名方均有此配伍,如三拗汤、麻黄汤、麻杏石甘汤等^[24]。

在关联规则分析中,《伤寒论》中治疗疫病 2 种、3 种、4 种和 5 种药物关联规则中置信度与提升度最高的药对组合为“甘草、苦杏仁→麻黄”,其为麻黄汤的主要组成部分,在《伤寒论》中麻黄汤可治风寒表实之证,主要用于发汗解表、平喘止咳。其次为以“柴胡-黄芩”为核心的药对组合,与它们组合的大枣、生姜、半夏正是小柴胡汤的主要成分。小柴胡汤是和解剂,其具有和解少阳的功效。临床主要用于治疗身体出现的伤寒少阳病证。关联规则中排名靠前的 2 阶组合为“麻黄→苦杏仁”“柴胡→黄芩”,这与相关性分析的结果一致,2 组药对的相关系数最高且都大于 0.9。

4.3 药物聚类规则分析

根据中医理论和统计学知识得到 5 个类聚方。

4.3.1 类聚方 1 由黄芩、柴胡、半夏、生姜、大枣、人参、桂枝、白芍组成,此方为小柴胡汤加减,具有和解表里、疏利枢机的功效。COVID-19 为湿毒所致,容易肺气郁闭,出现胸闷喘促、气机不利等症状^[25],因此,及时化湿理气、调畅气机、防止气阻闭肺在新冠的救治过程中极为重要,柴胡化解湿浊、调和郁热,黄芩清热燥湿。COVID-19 之寒湿疫毒郁于膜原,致少阳枢机不利。少阳乃是太阳、阳明升降的枢纽,可调节三阳经气升降。小柴胡汤中柴胡、黄芩、桂枝、半夏作为主药,具有两解少阳、太阳之邪的作用,为一类;人参、白芍等补益药物为一类;生姜、大枣调和营卫、护卫脾胃,为一类。方中柴胡、黄芩配伍以清泄少阳郁火;半夏、生姜配伍以化痰止呕逐邪,全方疏利少阳、调节枢机,为和解良方。桂枝作为君药,散在表之邪;白芍与人参一样,作为臣药,具有补益之功,同时与桂枝相合,调和营卫,以助疏散表邪^[26]。

其中“黄芩-柴胡”药对在相关性分析中得分最高为 0.92,相关程度最强;“半夏-黄芩”“生姜-大枣”“半夏-柴胡”位列 3~5 位,得分均较高,相关程度较强;除此之外,“大枣-黄芩”“生姜-黄芩”也在相关分析排序中位列前 10。可见小柴胡汤药物配伍相关程度高。在关联规则分析中,“黄芩-半夏”“黄芩-生姜”“黄芩-大枣”“柴胡-黄芩”药对置信度均为 100%,且支持度较高;此外“生姜-大枣”药

对的支持度最高且置信度也大于 90%，可见小柴胡汤药物配伍相关程度高。

4.3.2 类聚方 2 由干姜、附子、甘草组成，乃四逆汤，有温阳散寒、回阳通脉、温肺消痰的功效，为回阳救逆之要方^[27]。其中附子干姜味辛，性温热，主风寒咳逆，主治外感、杂病、属脾肾阳虚寒盛者。

4.3.3 类聚方 3 由苦杏仁、麻黄、石膏组成，为麻杏石甘汤主要成分。全小林院士等^[25]认为此次 COVID-19 疫情，系有寒湿化热，毒热郁闭肺气，肺气失于宣降，或热毒炽盛，为肺热不清之证。麻杏石甘汤对外感发热肺热证疗效显著，可用于倾泻肺经实热，辛凉宣泄、清肺平喘，可以缓解发热、抗炎、抗病毒和舒缓喘咳。以麻杏石甘汤作为基础方加减联合基础治疗，对呼吸道感染发热类疾病效果较好^[28]。麻杏石甘汤治疗疫病咳嗽、痰饮聚肺、气滞血瘀等症状，具有清降肺气、辛泄寒气、泻肺排毒的作用。

在相关性分析中，麻杏石甘汤中主要配伍药对苦杏仁-麻黄排名第 2，得分为 0.9，相关性很强，关联规则分析中“苦杏仁-麻黄”药对的置信度为 100%，提升度（10.17）最高，支持度较高，可见该药对关联性很强，为经典配伍。此外，麻黄-甘草、石膏-甘草药对的置信度也为 100%，支持度也较高。

4.3.4 类聚方 4 由茯苓、白术组成，为茯苓白术汤主要成分，茯苓甘淡性平，归经于心、肺、脾、肾，可泄湿健脾；白术苦甘性温，可健脾益气、固表止汗。茯苓、白术合用通阳利水、健脾而除湿。

4.3.5 类聚方 5 由枳实、厚朴、大黄、芒硝组成，乃大承气汤中主要配伍成分，枳实归经于脾、胃、大肠，可消积、化痰、除痞。大柴胡汤中仲景将枳实与大黄配伍应用，取其“消胀满，心下急痞痛”的功效，可用枳实消积除满。厚朴有燥湿消痰、平喘的功效。大黄为寒性药物，有清热泻火、凉血解毒之功效，发挥泄热通腑、活血化痰、安和五脏等作用。芒硝也为寒性药物，软坚润燥、泄下通便。芒硝与大黄同属于泄下药，但芒硝攻积泄热之力较弱而软化燥屎的作用较强，因此广泛用于正气不足或壅滞较轻者。此类聚方配伍以增强泻下攻积之力，用治阳明腑实证、胃肠燥热证等。

4.4 网络药理学分析

本研究基于网络药理学方法^[29]研究《伤寒论》治疫方中核心药对“柴胡-黄芩”治疗 COVID-19 的作用机制，构建“疾病-药物-成分-靶点”网络，并

分析其重要活性成分、靶点、蛋白作用、通路等，获取了核心药物 45 个活性成分和 189 个作用靶点，COVID-19 的 543 个靶点，交集靶点 64 个，GO 分析 1871 个相关条目，KEGG 共获得 164 条通路。

4.4.1 “柴胡-黄芩”药对核心成分分析 利用网络药理学的方法构建“疾病-药物-成分-靶点”，得到柴胡-黄芩药对治疗 COVID-19 可能的重要成分为槲皮素（quercetin）、汉黄芩素（wogonin）、山柰酚（kaempferol）、黄芩素（baicalein）、刺槐素（acacetin）、苏荠黄酮（moslosooflavone）、千层纸素 A（oroxylin A）、5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮（5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone）、红花素（carthamidin）等。其中槲皮素、山柰酚、刺槐素是具有生物活性的黄酮类化合物，能够抗氧化、抗病毒、免疫调节和抗炎^[30-31]。药理实验表明槲皮素、黄芩素、汉黄芩素均可降低流感病毒感染小鼠死亡率和肺指数，可抑制病毒复制、肺部炎症，保护肺部功能^[14]。实验研究表明，槲皮素可以显著增强环磷酸腺苷造成的免疫低下小鼠的免疫功能^[32]，汉黄芩素可通过增加免疫细胞的浸润、调节免疫细胞的表型来增强免疫功能^[33]。刺槐素可通过抗炎、抗氧化等方面干预 COVID-19 病程进展，显著减轻肺损伤^[34]。张英睿等^[35]研究表明刺槐素、丁香苷等可作用于 CASP3、CASP8 等靶点调节细胞凋亡通路及 TNF 通路，从而对抗 COVID-19 药物潜在靶点产生作用。陈桂荣等^[36]研究表明苏荠黄酮能通过调控 PTGS2、NOS2 等减少炎症，为防治 COVID-19 患者脓毒症并发症奠定基础；千层纸素 A 生物活性强，在神经保护、抗炎、保护血管内皮细胞等方面发挥重大作用。

4.4.2 “疾病-药物-成分-靶点”网络及 PPI 网络主要作用靶点分析 结合“疾病-药物-成分-靶点”网络高频靶点以及蛋白相互作用网络评分得到可能的重要作用靶点是 VEGFA、TNF、IL6、TP53、AKT1、CASP3、CXCL8、PTGS2、EGFR、PPARG、HSP90AA1、IL10、IL2、NOS2、NOS3、糖原合酶激酶-3β（glycogen synthase kinase-3 beta, GSK3B）、促分裂原活化蛋白激酶 14（mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14）等。

其中 PTGS2、HSP90AA1、NOS2、IL-6、TNF、VEGFA、CXCL8、NOS3 等靶点可以发挥抗炎作用，从而达到治疗肺炎的目的。研究表明 PTGS2、PTGS1 等靶点在炎症的治疗及 RNA 病毒的复制过程中发挥作用^[37]。HSP90AA1 免疫应答及抗炎作用

较强^[38]。目前 IL-6 被认为是 COVID-19 进展的预后生物标志物之一，可以指导新冠患者的病情进展、治疗及预后的评估等过程^[39]。实验表明，IL-6 作为炎症因子参与炎症的病理过程，VEGFA 水平升高也可能与肺部炎症消退有关^[40]，CXCL8 也是具有趋化作用的炎性细胞因子。

其中 CASP3、PPARG、GSK3B、MAPK14、VEGFA、AKT1、EGFR 等靶点发挥调节人体免疫功能的作用。在病毒（包括冠状病毒）感染性疾病中病毒引发凋亡是十分常见的现象^[41]。而 CASP3、MAPK、B 淋巴细胞瘤-2（B-cell lymphoma-2, Bcl-2）在细胞凋亡方面起关键作用^[42-43]。AKT1 主要参与调控细胞生长、异常增殖及葡萄糖代谢。IL-2、IL-6、TNF、VEGFA、EGFR 等也是参与免疫的细胞因子，并参与合成、代谢等方面。

基于网络药理学研究，结合中医理论分析“柴胡-黄芩”药对治疗 COVID-19 的作用机制，在病毒感染后的肺炎治疗中，PTGS2、HSP90AA1、NOS2、IL-6、TNF、VEGFA、CXCL8、NOS3 等多靶点直接发挥治疗肺炎的作用，CASP3、PPARG、GSK3B、MAPK14、VEGFA、AKT1、IL-2、IL-6、TNF 等多靶点调节人体免疫功能以扶正祛邪。

4.4.3 交集靶点的 GO 和 KEGG 富集分析 “柴胡-黄芩”的靶标 GO 条目共 1871 个（ $P < 0.01$ ），其中生物过程 1752 个，细胞组成 24 个，分子功能 95 个，分别占 93.64%、1.28%、5.08%。生物过程条目占比最大，最具有代表性，主要为对脂多糖的反应、细菌源性分子的反应、细胞对生物刺激的反应等。细胞组成主要包括膜筏、膜微结构域等。分子功能主要为细胞因子受体结合、细胞因子活性、受体配体活性等。脂多糖可通过刺激免疫细胞和局部邻近细胞增加炎症因子的表达，进而诱导发生免疫反应。

KEGG 结果显示主要通路为脂质与动脉粥样硬化、IL-17 信号通路、糖尿病并发症晚期糖基化终末产物（advanced glycation end products, AGE）-晚期糖基化终末产物受体（receptor for advanced glycation end products, RAGE）信号通路、流体切应力和动脉粥样硬化信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒感染、人类巨细胞病毒感染、Toll 受体信号通路、coronavirus disease-COVID-19、Th17 细胞分化等。

AGE-RAGE 信号通路与糖尿病相关，通过大量促炎因子的释放造成炎症损伤。严重急性呼吸综合

征冠状病毒 2（severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2, SARS-Cov-2）可能通过与血管紧张素转换酶 2（angiotensin converting enzyme 2, ACE2）的结合进入并破坏胰岛 P 细胞而导致血糖升高，继而病情恶化，尤其是对于糖尿病的患者^[44]。TNF 可诱导多种细胞内信号通路，包括细胞凋亡、炎症、免疫等^[45]，可引起促炎因子表达，从而参与全身炎症反应。研究表明 COVID-19 重症患者 TNF- α 水平比非重症患者高^[46-47]。IL-17 为能诱导多种细胞释放促炎因子，参与免疫调节。研究表明 COVID-19 患者的严重程度与 IL-17 等 TH17 细胞相关的促炎因子水平呈正相关^[45]。因此，调控 AGE-RAGE、TNF 和 IL-17 信号通路可作为 COVID-19 的潜在治疗方法^[44,48]。

“柴胡-黄芩”可能通过槲皮素、汉黄芩素、山柰酚、黄芩素、刺槐素等主要活性成分作用于 VEGFA、TNF、IL6、TP53、AKT1 等多靶点，参与氧化应激反应、对脂多糖的反应等多种生物学过程，激活或抑制激活或抑制糖尿病并发症 AGE-RAGE、流体切应力和动脉粥样硬化等主要信号通路，抑制炎症、调节免疫，从而达到有效治疗 COVID-19 的目的。

5 结语

本研究运用 Excel、R 语言、SPSS 等软件对医圣张仲景的著作《伤寒论》中疫病相关方剂进行相关分析、关联规则与聚类分析，挖掘疫病用药组方规律，发现其药物使用以扶阳、顾护脾胃为主，获得 5 个类聚方，促进了张仲景治疗疾病经验的挖掘、传承及古方今用，也可为 COVID-19 预防与治疗、新方发现与新药研发提供参考。《新型冠状病毒肺炎诊疗方案（试行第九版）》指出 COVID-19 是疫戾之气所犯，属于中医角度“疫病”范畴^[5]，COVID-19 是因为感受疫戾之气，在辨证论治上，对轻型和普通型患者按寒湿、湿热、湿毒辨证，重型则强调按疫毒论治。国家中医药管理局推荐抗击 COVID-19 疫情的典型代表“三药三方”为金花清感颗粒、连花清瘟颗粒/胶囊、血必净注射液及清肺排毒汤、化湿败毒方、宣肺败毒方。清肺排毒汤由《伤寒论》中的小柴胡汤与麻杏石甘汤、五苓散等经典方剂优化配伍而成，是治疗 COVID-19 的“三药三方”之一，这反映了中医防治疫病不为病毒所影响，可以根据病因病机灵活组方遣药，体现了古方今用的新价值优势。本研究相关分析、关联规则、聚类分析

结果中,均显示出这些方剂当中的主要配伍成分,其中聚类方中的小柴胡汤、麻杏石甘汤为清肺排毒汤配伍的主要方剂,麻杏石甘汤以及相关分析和关联规则结果中排名靠前的“甘草、麻黄→苦杏仁”“麻黄-苦杏仁”等药对为化湿败毒方中主要配伍成分。但数据挖掘需要理论与实践相结合,缺乏结合后世使用经方经验,故本研究挖掘出的用药规律还需进一步临床验证。最后,对挖掘出具有代表性的核心药对“柴胡-黄芩”进行了网络药理学分析,阐释了“柴胡-黄芩”治疗 COVID-19 可能的作用机制,为后续研究提供了一定的理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张天宇,吴振起,任园园,等.古代肺系疫病处方用药规律探析[J].中国中医药信息杂志,2021,28(11):15-20.
- [2] 孙巧思,胡镜清,刘理想.论中医学疫病防治特色[J].中国中医基础医学杂志,2021,27(1):42-45.
- [3] 贾振华,李红蓉,常丽萍,等.中医学应对疫病的历史回顾与思考[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(11):1-7.
- [4] 刘永瑞,于晶,刘南.基于数据挖掘的张仲景《伤寒论》用药规律探讨[J].亚太传统医药,2019,15(7):177-179.
- [5] 医政医管局.关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第九版)的通知[EB/OL].(2022-03-15)[2022-3-15].<http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202203/b74ade1ba4494583805a3d2e40093d88.shtml>.
- [6] 徐旭,张莹,李新,等.各地区中医药预防新型冠状病毒肺炎(COVID-19)方案分析[J].中草药,2020,51(4):866-872.
- [7] 于明坤,柴倩云,梁昌昊,等.新型冠状病毒肺炎中医预防及诊疗方案汇总分析[J].中医杂志,2020,61(5):383-387.
- [8] 李琳,杨丰文,高树明,等.张伯礼:防控疫情,中医从参与者变成主力军[J].天津中医药大学学报,2020,39(1):1-3.
- [9] 孙凯滨,张新雨,刘静,等.小柴胡汤治疗早期新型冠状病毒肺炎(COVID-19)邪热郁肺、枢机不利证功效网络分析与机制预测[J].中草药,2020,51(7):1750-1760.
- [10] 马健.温病学[M].上海:上海科学技术出版社,2008:14-15.
- [11] 汉·张仲景.晋·王叔和撰次.伤寒论[M].杨金萍,罗良,何永点校.北京:中国中医药出版社,2006.
- [12] 王玉光,齐文升,马家驹,等.新型冠状病毒肺炎中医临床特征与辨证治疗初探[J].中医杂志,2020,61(4):281-285.
- [13] 中国药典[S].一部.2020:1-616.
- [14] 钟赣生.中药学[M].第4版.北京:中国中医药出版社,2016.
- [15] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J].J Cheminform, 2014, 6: 13.
- [16] UniProt Consortium. UniProt: The universal protein knowledgebase in 2021[J].Nucleic Acids Res, 2021, 49(D1): D480-D489.
- [17] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, et al. STRING v10: Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life[J].Nucleic Acids Res, 2015, 43: D447-D452.
- [18] 李彦志,王珑静,龙飞,等.基于网络药理学从“湿邪”探讨中医药治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的作用机制[J].中草药,2020,51(8):2004-2014.
- [19] 梁峰,张涛,庞稳泰,等.基于数据挖掘与“异病同治”探讨中医药治疗新型冠状病毒感染肺炎[J].中华中医药学刊,2020,38(6):5-9.
- [20] 鞠康,张盛,胡云飞,等.基于数据挖掘“疫”病方剂用药规律对新型冠状病毒肺炎防治的用药启发[J].中药药理与临床,2021,37(1):9-16.
- [21] 王楠,谢林.《伤寒论》痹证治疗用药规律探索[J].中华中医药杂志,2020,35(4):1760-1763.
- [22] 宁艳梅,曹如冰,马清林,等.《景岳全书》瘟疫方用药规律分析及新组方对 COVID-19 的作用探讨[J].中药药理与临床,2020,36(5):12-20.
- [23] 张程亮,兰露露,任秀华,等.柴胡黄芩药对的基础研究探析[J].世界科学技术—中医药现代化,2019,21(1):33-37.
- [24] 沈莹,樊建,孟祥才.基于 2015 年版《中国药典》(一部)分析含甘草止咳方剂的用药规律[J].中国药房,2020,31(3):281-286.
- [25] 曹艳梅,张因,史楠楠,等.基于古代经方传承的清肺排毒汤组方配伍分析[J].世界中医药,2022,17(9):1343-1349.
- [26] 马明越.基于数据挖掘方法对《伤寒杂病论》小柴胡类方方证规律的研究[D].南京:南京中医药大学,2013.
- [27] 雷国奇.四逆汤类方证治规律及临床应用研究[D].武汉:湖北中医药大学,2010.
- [28] 苏克雷,熊兴江.新型冠状病毒肺炎的经典名方治疗策略与思考[J].中国中药杂志,2021,46(2):494-503.
- [29] 牛明,张斯琴,张博,等.《网络药理学评价方法指南》解读[J].中草药,2021,52(14):4119-4129.
- [30] Park D J, Kang J B, Shah F A, et al. Quercetin attenuates decrease of thioredoxin expression following focal cerebral ischemia and glutamate-induced neuronal cell damage[J].Neuroscience, 2020, 428: 38-49.
- [31] Wang Q, Liu C. Protective effects of quercetin against brain injury in a rat model of lipopolysaccharide-induced fetal brain injury[J].Int J Dev Neurosci, 2018, 71: 175-

- 180.
- [32] 李莉, 司松波. 槲皮素对小鼠动情周期及免疫功能的调节作用 [J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(12): 1092-1095.
- [33] 肖炜明, 卜平, 龚卫娟. 汉黄芩素抗肿瘤和免疫调节作用的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(16): 3004-3009.
- [34] Sun L C, Zhang H B, Gu C D, *et al.* Protective effect of acacetin on Sepsis-induced acute lung injury via its anti-inflammatory and antioxidative activity [J]. *Arch Pharm Res*, 2018, 41(12): 1199-1210.
- [35] 张英睿, 干志强, 刘紫轩, 等. 基于网络药理学和分子对接的清开灵注射液治疗新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的作用机制探寻 [J]. 中草药, 2020, 51(12): 3201-3210.
- [36] 陈桂荣, 刘雨浓, 徐煜彬, 等. 苏芩黄酮抗新型冠状病毒肺炎并发症-脓毒症潜在靶点的筛选与鉴定 [J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(7): 166-169.
- [37] 冯娟, 闫奎坡, 朱翠玲, 等. 基于网络药理学与分子对接的加味香砂六君子汤治疗新型冠状病毒肺炎恢复期肺脾气虚证的机制研究 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(9): 1673-1684.
- [38] 杜叶青, 段治康, 董舒卉, 等. 基于网络药理学的金银花活性成分抗炎作用机制的研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2019, 29(2): 96-102.
- [39] 唐劲松, 宣春, 林景涛, 等. C-反应蛋白、白介素-6 及降钙素原检测在新冠肺炎中的临床意义 [J]. 实用医学杂志, 2020, 36(7): 839-841.
- [40] Strouvalis I, Routsis C, Adamopoulou M, *et al.* Early increase of VEGF-A is associated with resolution of ventilator-associated pneumonia: Clinical and experimental evidence [J]. *Respirology*, 2018, 23(10): 942-949.
- [41] 李磊, 宁南义, 王小龙, 等. 基于网络药理学的新新型冠状病毒肺炎核心中药靶标预测及其作用机制研究 [J]. 西部中医药, 2021, 34(11): 10-20.
- [42] 李敬贤. 中药在重症肺炎康复中的应用规律及网络药理学分析 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [43] Mizutani T. Signal transduction in SARS-CoV-infected cells [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1102: 86-95.
- [44] 刘建滔, 谢丹, 李雪文, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨寒湿阻肺方治疗 COVID-19 的作用机制 [J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(3): 330-337.
- [45] 付宝慧, 纪越, 李静, 等. 桂枝麻黄各半汤治疗尿毒症性瘙痒的网络药理学作用机制 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(11): 1675-1684.
- [46] Li X C, Xu S Y, Yu M Q, *et al.* Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 146(1): 110-118.
- [47] Gianfrancesco M, Hyrich K L, Al-Adely S, *et al.* Characteristics associated with hospitalisation for COVID-19 in people with rheumatic disease: Data from the COVID-19 Global Rheumatology Alliance physician-reported registry [J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(7): 859-866.
- [48] 丁宁, 王晓梅, 徐世杰. 基于网络药理学探讨赤芍-牡丹皮药对治疗异常子宫出血的作用机制 [J]. 海南医学院学报, 2021, 27(18): 1408-1415.

[责任编辑 潘明佳]