

# 丹寿汤不同组分配伍对抗心磷脂抗体致复发性流产的定量评价

文世梅\*, 曹阳, 邵燕婷

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437)

**[摘要]** 目的:基于发表的丹寿汤文献数据,采用模型化及模拟化进行再分析,提取更多信息,以期优化配伍方案。方法:原文丹寿汤以正交 $t$ 值 $L_{12}$ 设计,1水平为“使用”,2水平为“未使用”,胚胎吸收率为药效指标。采用正交模拟法结合非线性混合模型结合,定量评价各组分在复方中相对重要程度和相互作用,模型评价采用4种视图进行综合评价。结果:丹寿汤组方中,全方呈现药效相加作用;主要药效学组分重要程度依次为菟丝子(A)、丹参(E)、续断(B)( $P < 0.05$ )。理论上不同配伍中,最佳组分配伍为ABCEF,4种视图评价模型表明所建模型预测能力较好。结论:采用正交模拟法结合非线性混合模型定量分析复方配伍数据,可获大量组方定量设计信息。

**[关键词]** 丹寿汤; 药物相互作用; 定量评价

**[中图分类号]** R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0339-05

## Quantitative Evaluation of Different Combinations of Danshou Tang Against Recurrent Miscarriage Caused by Anticardiolipin Antibodies

WEN Shi-mei\*, CAO Yang, SHAO Yan-ting

**[收稿日期]** 20120717(001)

**[基金项目]** 国家科技支撑计划项目(2008BAI51B03);上海高校青年培养资助计划(ZZszy12046)

**[通讯作者]** \*文世梅,硕士,实习研究员,从事临床药理学研究, Tel:021-65162629, E-mail:wsm2319@126.com

- [6] Atkins D, Best D, Briss P A, et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations [J]. BMJ, 2004, 328(7454): 1490.
- [7] 吴凯,李楠,张林,等.复方血竭制剂与5-氨基水杨酸在溃疡性结肠炎临床维持缓解治疗中的疗效比较[J]. 临床军医杂志, 2008, 36(4): 540.
- [8] 张贤良,李敏,刘芳,等.活血化瘀法治疗溃疡性结肠炎的临床应用[J]. 川北医学院学报, 2009, 24(5): 468.
- [9] 李晓敏,林文宏.思密达联合血竭治疗溃疡性结肠炎的临床研究[J]. 汕头大学学报:自然科学版, 2010, 25(1): 77.
- [10] 翟俊山,李楠,王雪明,等.复方血竭与柳氮磺吡啶灌肠治疗溃疡性结肠炎的疗效观察[J]. 中国医院用药评价与分析, 2009, 9(5): 380.
- [11] 锥福东,孔鹏飞,唐学贵,等.参苓白术散桃花汤合保留灌肠治疗溃疡性结肠炎疗效观察[J]. 实用中医内科杂志, 2011, 25(2): 54.
- [12] 高富明,高阳,彭玉亮,等.复方诺氟沙星灌肠液加血竭粉锡类散保留灌肠治疗溃疡性结肠炎 33 例[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 19(6): 406.
- [13] 黄悦勤. 临床流行病学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2010.
- [14] Glass G V. Primary, secondary, and Meta-analysis of research[J]. Education Res, 1976, 6(5): 3.
- [15] 李楠,王雪明,吴凯,等.复方血竭灌肠液对慢性非特异性溃疡性结肠炎患者血液流变学的影响[J]. 中国全科医学, 2006, 24(9): 2073.
- [16] 朱亮,俞红,冷宏文,等.血竭有效组分对前列腺素合成酶系作用的研究[J]. 江西医学院学报, 2002, 42(2): 91.
- [17] 罗志红,鲁开化,张荣平,等.龙血竭对大鼠撕脱皮瓣的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 152.
- [18] 马春涛,雷燕.中药复方效应物质基础的研究进展和展望[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(3): 46.
- [19] 裴强伟,孙志翠,宋小莉,等.半夏泻心汤及其加减方治疗溃疡性结肠炎疗效和安全性的系统评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 290.

[责任编辑 邹晓翠]

(*Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China*)

**[ Abstract ] Objective:** To explore the application and rationality of the nonlinear mixed effect model (NONMEM) in quantitative analysis for finding an optimal combination based on the public published data. **Method:** Based on the original data of Danshou tang formulation in the published literature, an orthogonal design, with 1-level (used) and 2-level (not used) in  $L_{12}$ , was used to assign experimental groups of the combinations of components, the embryos absorption rate was the primary endpoint, mathematical model was build up with the nonlinear mixed effect model (NONMEM) for the experiment. The importance and effectiveness of each component were analyzed in combinations and the bias was evaluated by 4 charts. **Result:** The whole formulation of Danshou tang showed addition action, the contribution to combined effect of each component in order was A, E, B ( $P < 0.05$ ). The best combination would be the *ABCEF* theoretically, and 4 diagrams revealed the reliability and the stability of the model. **Conclusion:** More information about prescription compatibility can be obtained by the orthogonal simulation method with NONMEM.

**[ Key words ]** Danshou tang; drug interactions; quantitative evaluation

丹寿汤为在经典方胎寿丸基础上添加丹参、降香而组成的自拟方,对抗心磷抗体致复发性流产有一定疗效。为进一步阐明该自拟方中组方配伍规律,本研究提取文献中相关数据,采用正交模拟法和非线性混合效应模型(nonlinear mixed effect model, NONMEM)相结合,定量评价该方中各味药对全方的贡献程度及其相互作用<sup>[1-4]</sup>,以期提供更多定量信息,为优化该方配伍提供参考。

### 1 数据和分析方法

**1.1 实验数据** 本实验数据来源于文献<sup>[5]</sup>,120 只孕鼠随机分为 12 组,每组 10 只。药物按正交  $t$  值法  $L_{12}$  的二水平正交表进行组合分为 12 组(表 1)。从鼠孕 0 d 开始,以不同配伍组煎剂按  $4 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$  灌

胃,阴性对照组(第 12 组)给以等容积的生理盐水,2 次/d,共 15 d,至孕 15 d 处死并取出胚胎,计数未被吸收胚胎及被吸收胚胎个数。按胚胎吸收率 = 被吸收胚胎个数 / (被吸收胚胎个数 + 未被吸收胚胎个数)  $\times 100\%$ ,计算胚胎吸收率。表 2 为原文原始数据,数值小者,表示药效强。

表 1 各配伍组因素及水平设置

水平	菟丝子 (A)	续断 (B)	桑寄生 (C)	阿胶 (D)	丹参 (E)	降香 (F)
1 水平	32 g	16 g	16 g	16 g	10 g	10 g
2 水平	0	0	0	0	0	0

注:水平 1 表示使用,2 表示未使用。

表 2 各配伍组原始数据 ( $n = 10$ )

配伍组	ABCDEF <sup>1)</sup>	胚胎吸收率/%
1 <sup>4)</sup>	111111	0.117 <sup>2)</sup> , 0.071, 0.154, 0.100, 0.111, 0.100, 0.143, 0.111, 0.200, 0.182
2 <sup>4)</sup>	111222	0.154, 0.200, 0.182, 0.111, 0.133, 0.154, 0.182, 0.250, 0.231, 0.250
3 <sup>4)</sup>	112122	0.125, 0.133, 0.100, 0.125, 0.182, 0.182, 0.222, 0.222, 0.273, 0.231
4 <sup>4)</sup>	122211	0.077, 0.091, 0.111, 0.091, 0.154, 0.182, 0.154, 0.111, 0.154, 0.125
5 <sup>4)</sup>	122112	0.133, 0.133, 0.091, 0.143, 0.200, 0.200, 0.222, 0.250, 0.273, 0.267
6	121221	0.417, 0.111, 0.133, 0.154, 0.182, 0.200, 0.231, 0.273, 0.286, 0.308
7 <sup>3)</sup>	211212	0.154, 0.125, 0.143, 0.167, 0.200, 0.222, 0.250, 0.273, 0.200, 0.273
8 <sup>3)</sup>	212211	0.111, 0.133, 0.154, 0.182, 0.214, 0.231, 0.231, 0.286, 0.273, 0.250
9	212121	0.222, 0.167, 0.267, 0.200, 0.222, 0.250, 0.273, 0.300, 0.364, 0.273
10	221121	0.231, 0.154, 0.182, 0.214, 0.231, 0.250, 0.286, 0.308, 0.375, 0.273
11	221112	0.200, 0.167, 0.300, 0.222, 0.250, 0.125, 0.273, 0.286, 0.333, 0.333
12	222222	0.222, 0.782, 0.200, 0.231, 0.273, 0.286, 0.308, 0.364, 0.375, 0.375

注:1)表示组分代号,其水平 1 表示使用,2 表示未使用;2)为便于分析,代替原文中数据 0.000;与阴性对照组(第 12 组)比较,3)  $P < 0.05$ ,4)  $P < 0.01$ 。

**1.2 分析模型与原理** 采用正交模拟法<sup>[1-2]</sup>,并参照文献<sup>[3-4,6-8]</sup>使用视图评价模型。为便于说明原理,假定为最简单的A,B两组分组方, $E_{\text{obs}}$ 为实测效应, $E_0$ 表示基线效应; $E_a$ 和 $E_b$ 为A,B组分对复方效应的期望贡献值。

基础模型模型,可确定各组分对复方的贡献值大小( $E_{\text{exp}}$ ),即重要程度。

$$E_{\text{exp}} = E_0 + E_a + E_b \quad (\text{式 1})$$

固定效应模型,可确定各配伍组的相互作用( $E_{\text{ab}}$ )。

$$E_{\text{ab}} = E_{\text{obs}} (E_{\text{exp}} (E_{\text{ab}} > 0 \text{ 协同}, E_{\text{ab}} < 0 \text{ 拮抗}, E_{\text{ab}} = 0 \text{ 相加})) \quad (\text{式 2})$$

随机效应( $E_{\text{rand}}$ )模型,可分析配伍组间变异( $\eta$ )和配伍组内变异( $\varepsilon$ )大小。

$$E_{\text{rand}} = \eta + \varepsilon \quad (\text{式 3})$$

复方预测药效模型,可预测不同组方的效应( $E_{\text{pred}}$ ),寻找最大药效和最优组方。

$$E_{\text{pred}} = E_{\text{exp}} + E_{\text{ab}} + E_{\text{rand}} \quad (\text{式 4})$$

**1.3 模型评价** 采用4种视图进行评价:各配伍组实测值与预测值差值 $E_{\text{obs}} - E_{\text{pred}}$ 和实测值与其配伍组均数差值 $E_{\text{obs}} - E_{\text{group}}$ 交点分布图,其反映预测群体值与各配伍组均数间关系,以全坐标系45°分角线检验其预测结果,如交点紧靠分角线上下分布,表示复方效应预测模型具有预测能力;如交点越靠近圆点,说明实验数据变异小,具有可预测性;WRES分布图,其反应模型精度,一般波动于正负4之间,呈均数为0、方差为1的标准分布;实测值与预测值(个体预测值及群体预测值)散点相关图,其反应模型精密度,标准单位线(unit line)是截距为0、斜率为1的回归线,散点图中趋势线(trend line)与单位线一致且接近表示模型较好,说明模型预测效能较好,反之,偏离较远,说明模型预测效能欠佳,提示存有其他影响因素。

**1.4 数值计算及分析软件** 数据建模、分析统计、正交模拟、NONMEM分析、绘图及模型评价,均由DAS 3.1.6(www.drugchina.net)完成。

## 2 结果

**2.1 不同配伍组的疗效分析** 本文分析数据来源于原文,药效数据见表3,与原文数据分布特征一致。与阴性对照组(第12组)相比,多个配伍组结果优于对照组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

**2.2 复方药效学参数分析** 复方药效学参数中, $E_0$ 为基线效应,即阴性对照组的平均药效。各组分E( $i = A \sim F$ )对整个复方药效的贡献值表示其重要程

表3 不同配伍组药数值( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

配伍组	ABCDEF	胚胎吸收率/%
1	111111	0.129 ± 0.04 <sup>2)</sup>
2	111222	0.185 ± 0.048 <sup>2)</sup>
3	112122	0.179 ± 0.057 <sup>2)</sup>
4	122211	0.125 ± 0.035 <sup>2)</sup>
5	122112	0.191 ± 0.063 <sup>2)</sup>
6	121221	0.229 ± 0.093
7	211212	0.201 ± 0.053 <sup>1)</sup>
8	212211	0.206 ± 0.059 <sup>1)</sup>
9	212121	0.254 ± 0.055
10	221121	0.250 ± 0.064
11	221112	0.239 ± 0.069 <sup>1)</sup>
12	222222	0.281 ± 0.073

注:水平1表示使用,2表示未使用;与阴性对照组(第12组)比较,<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

度(表4),其值越小表示药效越强。其中A,B,E为复方中主要药效学组分,重要程度依次为A,E( $P < 0.01$ ),B( $P < 0.05$ ),C,F依次,D为拮抗组分,但作用不明显。分别将CD,DF两组分设为单独组分,加入基础模型,相互作用均不明显(表4)。

理论上不同配伍中,最大预测药效( $E_{\text{max}}$ )为0.126,最劣组合药效( $E_{\text{min}}$ )为0.284。个体内( $\sigma$ )、个体间( $\omega$ )变异不大。

表4 复方药效学参数

参数项	参数值	RSE	t	P	注释
$E_0$	0.282	0.082			基线效应
$E(A)$	-0.066	0.172	5.805	0.000	期望贡献值
$E(B)$	-0.027	0.417	2.400	0.018	期望贡献值
$E(C)$	-0.001	15.048	0.066	0.947	期望贡献值
$E(D)$	0.002	4.607	0.217	0.829	期望贡献值
$E(E)$	-0.048	0.235	4.257	0.000	期望贡献值
$E(F)$	-0.014	0.821	1.218	0.226	期望贡献值
$E(CD)$	0.000	56.100	0.018	0.986	期望贡献值
$E(DF)$	0.007	1.907	0.524	0.601	期望贡献值
$E_{\text{min}}$	0.284	0.010			最低效应
$E_{\text{max}}$	0.126	0.014			最大效应
$\sigma$	0.055				SD,个体内
$\omega$	0.115				SD,个体间

**2.3 配伍组相互作用分析** 不同配伍组交互效应分析见表5。ABC,ABD,AEF,BCE,CDF配伍,均有不同程度的协同作用,其他组合有如ADE,ACF,BEF,BDF,CDE配伍均有不同程度的拮抗作用,全

方呈现药效相加作用。

表 5 不同组分配伍对的实测效应 ( $E_{obs}$ )、期望效应 ( $E_{exp}$ ) 与交互效应 ( $E_{int}$ )

组别	ABCDEF	$E_{obs}$	$E_{exp}$	$E_{int}$	备注
1	111111	0.129	0.129	0.000	相加
2	111222	0.185	0.188	-0.004	协同
3	112122	0.18	0.191	-0.012	协同
4	122211	0.125	0.154	-0.029	协同
5	122112	0.191	0.17	0.021	拮抗
6	121221	0.23	0.202	0.028	拮抗
7	211212	0.201	0.206	-0.005	协同
8	212211	0.207	0.193	0.014	拮抗
9	212121	0.254	0.243	0.011	拮抗
10	221121	0.25	0.27	-0.019	协同
11	221112	0.239	0.235	0.004	拮抗
12	222222	0.282	0.282		

注:ABCDEF 为组分;水平 1 表示使用,2 表示未使用。

2.4 两两组方对复方药效贡献值与复方效应模拟 各单组分和两两组方的药效期望变化值见图 1,随机组方的药效模拟见图 2。由模拟可知,CD 2 组分合用,未见明显协同作用,DF 2 组分合用,初步呈现拮抗作用(图 2-A)。ABCECF 5 组分(图 2-B)合用,理论上可使复方药效达到最大( $E_{max} = 0.126$ )。

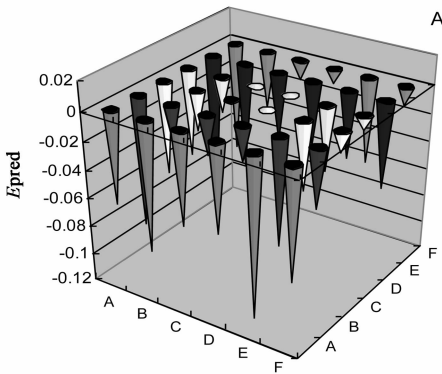


图 1 单组分和两两组合的药效期望变化值(A)

2.5 最终模型拟合效果评价 最终模型评价见图 3,各数据点紧靠分角线上下分布(图中多处散点重叠)(图 3-A),药效预测值与各组均数值相近;WRES 值绝大部分分布于  $\pm 2$ ,均匀地分布在坐标轴上下两侧(图 3-B);预测群体值( $E_{pred}$ )与各配伍组药效均数( $E_{group}$ ),以及个体预测值( $E_{ipred}$ )与个体实测值( $E_{obs}$ ),其趋势线同单位线一致且接近(图 3-C, D)。以上表明所建模型较好,具有预测能力。

### 3 讨论

本文针对原文数据,采用正交模拟法与非线性

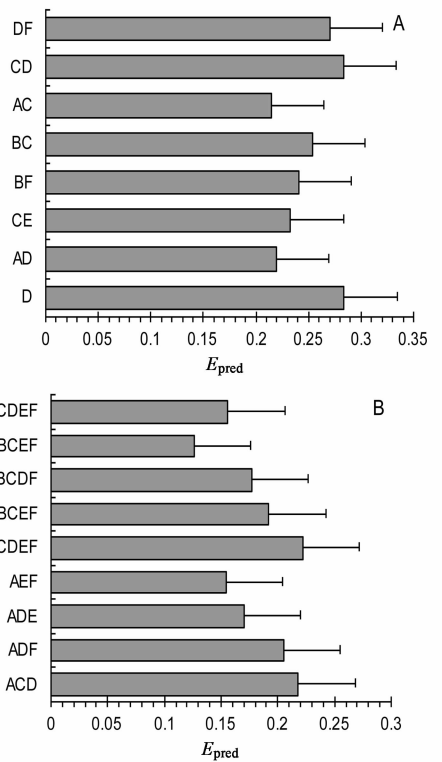
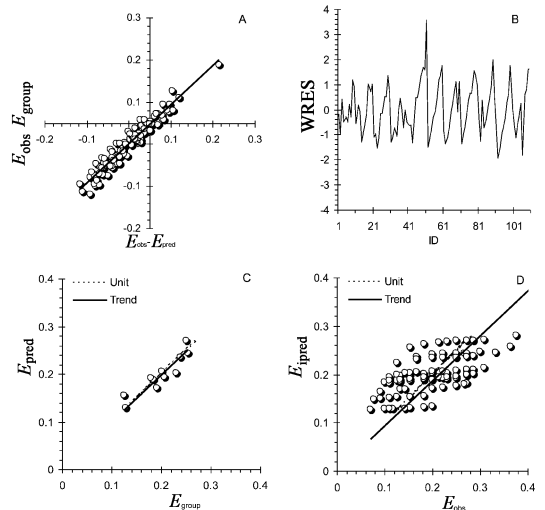


图 2 随机组方复方药效模拟值  $E_{pred}$  及其 SD (A, B)



A. 和实测值与其组别均数差值的交点分布; B. 每个实验个体(ID)在最终模型的拟合后加权残差(WRES); C. 最终模型拟合后各配伍组药效均值与预测值散点; D. 个体实测值与个体预测值散点(虚线为单位线,实线为趋势线)

图 3 模型评价视

混合效应模型相结合,对丹寿汤自拟方进行主药及组间交互效应分析,得出结果为菟丝子(A)、续断(B)、丹参(E)为方中主要药效学组分,对复方贡献程度较大,与原文所得结果相一致。桑寄生(C)、降香(F)对整个复方效应贡献程度稍次,D 为拮抗组分,不同组方 ABC,ABD,AEF,BCE,CDF 配伍,均有

不同程度的协同,其他组合如 *ADE*, *ACF*, *BEF*, *BDF*, *CDE* 配伍均有不同程度的拮抗,但作用均较弱。全方呈现药效相加作用。

交互效应通过各配伍组  $E_{\text{obs}}$  与  $E_{\text{pred}}$  比较获得。结果显示的协同或拮抗作用需要从专业确定有无意义。原文献中结果显示 *CD* 两组分合用具有协同作用,我们遵循原文中组方实验设计特点,将 *CD* 两组分设为另一独立组分,假定在某一组方中,若 *CD* 两组分同时均未采用或只采用到一种,均设定为 2 水平(未使用);若该两组分在某一组方中,同时应用则设定为 1 水平(使用)。结果提示 *CD* 组分在复分中未见明显协同作用。同理,我们将 *DF* 设定为另一独立组分,代入模型中分析,结果提示 *DF* 组分合用初步呈现拮抗作用,但作用较弱,与原文献结果报道一致。不同组方(*ADE*, *AEF*)模拟结果(图 2-C)同文献中实测值结果相似。

本文原数据中除第 1 组(全方组)第 1 例数据为零外,其他分析数据均为文献中原始数据。为便于分析,对该例数据以该组均值代替,数据性质相同,原则上符合该组数据分布特点,可用于替换。

药效分析指标,应为主要治疗指标,应稳定灵敏。本研究总体分析,多组配伍组与阴性对照组比较,均有明显差异( $P < 0.05$ ),符合配伍定量分析前提。另外,分析指标不同,结果很可能大相径庭,因此分析指标不可外推。

随机效应的考察具有实际意义,如个体间差异大,则需寻找原因,如基因型是否不同;个体内差异大,应警惕实验本身原因等。本研究配伍组间( $\omega$ )和配伍组内( $\sigma$ )变异不大。

对于正交  $t$  值法设计的实验数据,目前多采用方差分析<sup>[8-9]</sup>,由于该法在确定各组分作用时,不能区分不同组分间交互作用的程度及性质,也难以说明有无交互影响<sup>[11]</sup>。本文采用正交模拟法结合非线性混合效应模型分析,可全面考虑组分间交互作用,且分析模型中引入个体内、个体间误差等随机效应,进一步优化其参数,使正交模拟法算法更严谨。且可提供不同组方的模拟效应,提供信息量更大,可

为实际组方提供借鉴参考,具有一定优势。

从模型中获取理论上最佳组方和最大效应,虽然理论最佳组方与实测结果较为吻合,因目前所获组方暂无其他文献支撑,所以仍需通过外部实验进行验证。

## [参考文献]

- [1] 郑青山,何迎春,杨娟,等. 药物相互作用分析与复方药效模拟: 一个方法学研究[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(8): 1106.
- [2] 陈君超,潘友俊,郑青山,等. 药效学相互作用的定量计算方法与模拟研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(16): 2029.
- [3] 文世梅,张密,陈君超,等. 降血糖多组分动态加减临床设计与组方优选方法的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 26(12): 936.
- [4] Mandema J W, Hermann D, Wang W P, et al. Model-based development of gemcabene, a new lipid-altering agent[J]. AAPS J, 2005, 7(3): 513.
- [5] 卫爱武,娄丽霞,宋艳丽. 丹寿汤正交  $t$  值法分析及其不同配伍对抗心磷脂抗体致复发性流产的影响[J]. 中医学报, 2010, 25(3): 468.
- [6] Ette E I. Stability and performance of a population pharmacokinetic model[J]. J Clin Pharmacol, 1997, 37(6): 486.
- [7] Bruno R, Vivier N, Vergniol J C, et al. A population pharmacokinetic model for Docetaxel: model building and validation[J]. J Pharmacokinetic Biopharm, 1996, 24(2): 153.
- [8] 陈君超,李禄金,文世梅,等. 排脓散对小鼠抗炎作用的定量研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(9): 34.
- [9] 王爱民,李翠兵,李勇军,等. 珍珠滴丸组方合理性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 88.
- [10] 储金秀,韩淑英,余红,等. 抗柯萨奇 B 病毒性心肌炎胶囊复方的优化及抗应激作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 153.

[责任编辑 邹晓翠]