

• 数据挖掘与循证医学 •

基于数据挖掘与实验验证的抗湿疹中药筛选及活性研究

张丹丹¹, 黄玉荣², 范佳琪², 孔祥鹏^{2*}

1. 天津市天津医院 药学部, 天津 300211

2. 山西中医药大学中药与食品工程学院, 山西 晋中 030619

摘要: **目的** 通过数据挖掘与实验相结合, 筛选抗湿疹中药并评价其活性。 **方法** 收集具有抗湿疹活性的中药方剂, 筛选后录入 Excel 软件建立数据库, 运用中医传承计算平台 V3.0 对其高频药物、复方配伍进行关联规则分析, 挖掘核心药物及其组合, 并对核心药物组合及单味药的抑菌作用进行测定。将 40 只昆明种小鼠随机分为空白组、模型组、基质组、阳性药组及核心药物组合凝胶组, 并采用 2,4-二硝基氯苯建立小鼠湿疹模型, 验证核心药物组合的抗湿疹药效。应用超高效液相色谱-串联质谱代谢组学技术检测核心药物组合治疗湿疹小鼠前后血清中内源性代谢物, 并采用主成分分析及正交偏最小二乘法判别分析等多元统计分析, 结合人类代谢数据库 (HMDB) 等数据库和相关文献指认、鉴定差异代谢物, 通过 MetaboAnalyst 平台富集相关代谢通路。 **结果** 筛选得到 255 首符合标准的抗湿疹中药方剂, 包含中药 347 味, 使用频次由高到低分别是黄柏、苦参、蛇床子、白鲜皮、枯矾等清热解毒、清热燥湿中药。通过用药模式分析, 并结合《已使用化妆品原料目录 (2021 年版)》, 得到“苦参-蛇床子”核心药物组合。抑菌实验结果表明, 苦参抑菌活性优于蛇床子, 而二者组合物的抗菌活性有所提高。皮肤形态学观察显示, 苦参-蛇床子凝胶组能明显减轻皮损的严重程度, 减少皮肤组织炎性细胞的浸润情况。从血清中筛选出与核心药物组合治疗湿疹相关的 12 种内源性差异代谢物, 主要涉及甘油磷脂代谢、谷胱甘肽代谢、甘油酯代谢等代谢通路。 **结论** 基于数据挖掘方法从抗湿疹中医方剂中筛选得到 14 味核心药物, 在此基础上进一步结合《已使用化妆品原料目录 (2021 年版)》确定的苦参-蛇床子组合物呈现较好的抗菌和抗湿疹活性, 其抗湿疹药效与调节甘油磷脂代谢、谷胱甘肽代谢、甘油酯代谢等有关, 这为其进一步研究开发奠定了基础。

关键词: 中药; 数据挖掘; 苦参; 蛇床子; 抗菌; 抗湿疹; 代谢组学; 苦参-蛇床子; 甘油磷脂代谢; 谷胱甘肽代谢; 甘油酯代谢

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)10-3404-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.10.019

Study on screening of traditional Chinese medicine with anti-eczema effect and their activity based on data mining and experimental verification

ZHANG Dandan¹, HUANG Yurong², FAN Jiaqi², KONG Xiangpeng²

1. Department of Pharmacy, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China

2. College of Traditional Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China

Abstract: Objective To screen the traditional Chinese medicine (TCM) with anti-eczema and evaluate activity based on the combination of data mining and experiment. **Methods** The TCM prescriptions with anti-eczema activity were collected, screened and entered into Excel software to establish the database. The association rules of their high-frequency drugs and compound compatibility were analyzed by using the traditional Chinese Medicine Inheritance and calculation platform V3.0, and the core drugs and their combinations were mined. Moreover, the bacteriostasis of the core drug combinations and single drugs were determined. A total of 40 male Kunming mice were randomly divided into blank group, model group, matrix group, positive group and core drugs combination gel groups. The anti-eczema effect of core drugs combination was further verified by eczema model induced by 2,4-

收稿日期: 2024-01-20

基金项目: 山西省卫生健康委科研课题 (2023096); 山西省 1331 工程 (技术) 研究中心开放课题 (2023-NPT-04); 山西中医药大学科技创新培育计划太行本草专项“基础和应用研究专题” (2022PY-TH-10)

作者简介: 张丹丹 (1986—), 女, 医学硕士, 主管中药师, 从事中药调剂以及中药药理研究。E-mail: 9444608@qq.com

***通信作者:** 孔祥鹏 (1984—), 男, 汉族, 山西曲沃人, 博士, 讲师, 研究方向为中药及其复方药效物质基础研究。

Tel: (0351)3179903 E-mail: kong_xiangpeng@sxtcm.edu.cn

dinitrochlorobenzene (DNCB). The endogenous metabolites in serum of eczema mice were detected by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS) metabolomics. The multivariate statistical analysis was performed to analyze the different metabolites by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least square discriminant analysis (OPLS-DA). Combined with Human Metabolic Database (HMDB) and related literature, these metabolites were identified, and the relevant metabolic pathways were enriched through the MetaboAnalyst platform. **Results** A total of 255 TCM prescriptions with anti-eczema activity that meet the standard were screened, including 347 traditional Chinese medicines. The frequency of use from high to low was Huangbo (*Phellodendri Chinensis Cortex*), Kushen (*Sophorae Flavescentis Radix*, SFR), Shechuangzi (*Cnidii Fructus*, CF), Baixianpi (*Dictamnii Cortex*), Kufan (*Calcined Alumen*), and *et al.* Most of them have the properties of clearing heat and removing toxin, clearing heat and drying dampness. The core drug combination of SFR-CF was obtained by drug association rule analysis and *Catalog of Used Cosmetics Raw Materials* (2021 edition). The anti-bacterial test results showed that the anti-bacterial activity of SFR was better than that of CF, and the total anti-bacterial activity of SFR-CF was improved. The skin morphology observation showed that the SFR-CF gel (KSG) administration group could significantly reduce the severity of skin lesions and the infiltration of inflammatory cells in skin tissue. Twelve endogenous different metabolites in the serum related to eczema were screened, and the metabolic pathways mainly involved glycerophospholipid metabolism, glutathione metabolism and glyceride metabolism. **Conclusion** A total of 14 core drugs were screened from the anti-eczema traditional Chinese medicine prescriptions through data mining. The SFR-CF combination was further selected by combining it with the *Catalogue of Used Cosmetics Raw Materials* (2021 edition). SFR-CF combination demonstrated suitable anti-bacterial and anti-eczema activities, and its anti-eczema efficacy was related to the regulation of glycerophospholipid metabolism, glutathione metabolism, glyceride metabolism, which laid a foundation for its further research and development.

Key words: traditional Chinese medicine; data mining; *Sophorae Flavescentis Radix*; *Cnidii Fructus*; antibacterial activity; anti-eczema activity; metabonomics; *Sophorae Flavescentis Radix-Cnidii Fructus*; glycerophospholipid metabolism; glutathione metabolism; glyceride metabolism

随着经济发展和人们生活水平的提高,因护肤品不当使用、生活习惯改变,慢性皮肤疾病在我国发病率呈现逐年上升趋势^[1-3]。湿疹是一类慢性、复发性、瘙痒性、炎症性皮肤病,且多伴随细菌等微生物感染,为皮肤科常见难治性疾病^[4-6]。现代临床多根据病因及临床症状进行对症治疗,如采用抗生素治疗原发或继发微生物感染性湿疹^[7],采用糖皮质激素、抗组胺药抑制湿疹过敏反应、降低炎症介质释放,采用维生素、免疫调节剂等进行湿疹的辅助治疗^[8-9]。这些药物多存在停药后复发性高、长期用药不良反应大等不足^[10-11]。

中药在维持皮肤屏障功能方面具有较好作用,其所含抗菌活性物质能够抑制致病微生物的生长和繁殖,促进皮肤细胞对磷脂、固醇、角质蛋白等有益成分的吸收^[12-14]。基于中药防治皮肤病的长期人用经验及维持皮肤结构和功能完整性等方面的优势,从中医经方、验方中挖掘具有护肤活性的中药及其组合物,并进行实验验证,是目前研发湿疹类防治药物的热点之一^[15-17]。湿疹与机体的代谢密切相关,通过分析和比较湿疹治疗前后机体内源性差异性代谢物,有助于该类疾病生物标志物和药物作用靶标的发现^[18]。因此,本研究基于数据挖掘方法

从中医经方、验方中筛选抗湿疹活性中药,结合实验研究对核心药物组合及单味药的抑菌活性进行测定,在此基础上采用湿疹模型小鼠,对核心药物组合抗湿疹药效进行评价,并利用超高效液相色谱串联质谱 (ultra high performance liquid chromatography-mass spectrometry, UHPLC-MS) 代谢组学技术,检测核心药物组合治疗湿疹小鼠的血清中内源性差异代谢物,预测相关代谢通路,为临床应用和进一步药物研发提供参考。

1 材料与方法

1.1 数据挖掘

1.1.1 数据来源及筛选 以“湿疹”“湿疮”“浸淫疮”“旋耳疮”为关键词,通过检索华柄数据中方剂数据库 (<http://www.huabeing.com>),共得到相关治疗湿疹的外用方共 686 首,在结果中筛选适合数据挖掘的方剂。参照《中国药典》2020 年版一部、《中药学》第 9 版,剔除含有重金属或有毒药物的处方。如处方中含有朱砂、磁石、雄黄、硫磺、砒石、水银、红粉、轻粉、黄丹、密陀僧、樟丹、银朱、铅粉、草乌、樟脑等均不列入本研究范围。

1.1.2 中药名称漂洗 参照《中国药典》2020 年版一部、《中药学》第 9 版,并结合《中药大辞典》中

药来源及名称,对上述中医方剂或中成药处方中药物名称进行漂洗和统一。如“川柏”“黄柏”统一为“黄柏”等,“石膏”区分为“煅石膏”和“石膏”,“白矾”区分为“白矾”和“枯矾”,其余中药加工方法不做区分。

1.1.3 数据录入与数据分析 采用一人录入、一人复核方法将收集到的处方信息录入中医传承计算平台软件(V3.0),确保数据的真实性和可靠性。对纳入的方剂信息进行归纳整理,利用计算平台软件数据分析系统中自带的组方分析功能进行药物的频次统计,采用关联规则分析中药的组方规律。

1.2 体外抑菌活性实验

1.2.1 药物与试剂 苦参(豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根)、蛇床子[伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. 的干燥成熟果实]均购于北京同仁堂晋中药店有限责任公司,经山西中医药大学刘计权教授鉴定符合《中国药典》2020 年版规定;磷酸二氢钾(批号 20180921),天津市天力化学试剂有限公司;氢氧化钠(批号 20160804),天津市科密欧化学试剂有限公司;牛肉膏(批号 20211218)、蛋白胨(批号 20211024),北京奥博星生物科技有限责任公司;琼脂(批号 2018906)、氯化钠(批号 20181109)。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)均来自山西中医药大学中药与食品工程学院微生物实验室。

1.2.2 仪器 DY04-13-44-00 立式压力蒸汽灭菌器,上海东亚压力容器制造有限公司;SCB-1520 超净工作台,北京东联哈尔仪器制造有限公司;HXP-9082MBE 电热恒温培养箱,上海博讯医疗生物仪器股份有限公司;EX125ZH 型十万分之一电子天平,奥豪斯仪器常州有限公司。

1.2.3 药液的制备 取粉碎的苦参、蛇床子、苦参-蛇床子(2:1)粉末各 10 g,置于圆底烧瓶中,加入 75%乙醇 100 mL 回流提取 2 次,每次 40 min,合并 2 次滤液,减压浓缩至干,得率分别为 10.91%、10.24%、10.66%,加无菌水配制为 1.00 g/mL 的储备液,根据实验需求稀释至相应浓度。

1.2.4 培养基的制备 称取一定比例蛋白胨、牛肉膏及氯化钠,加入蒸馏水 1 000 mL 使溶解,调节 pH 至 7.2~7.4,加入琼脂溶解至煮沸状态,滤过,分装后,压力蒸汽灭菌制得琼脂固体培养基。上述方法不加入琼脂制得液体培养基^[19]。

1.2.5 菌悬液的制备 取适量灭菌后的液体培养基,用无菌接种铲刮下培养好的菌种,置液体培养基中,于 37 ℃培养 24 h,置于 4 ℃冷藏箱中备用。取上述 1 mL 菌种培养液,采用无菌 0.9% NaCl 溶液 10 倍逐级稀释成 $0.1 \sim 1 \times 10^{-7}$ 的 7 个梯度的菌悬液。采用平板计数法测定含菌量,控制菌悬液含菌量为 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ CFU/mL,置 2~8 ℃生物冷藏箱保存,备用。

1.2.6 抑菌圈直径测定 将琼脂培养基注入培养皿,无菌条件下吸取金黄色葡萄球菌、大肠杆菌供试菌菌悬液 0.1 mL 均匀涂布在培养基上。取苦参、蛇床子、苦参-蛇床子(2:1)储备液 1 mL,将直径为 6 mm 的无菌滤纸片分别浸润上述药液,取出沥干贴于培养基表面,以无菌水为阴性对照。每个实验染菌平板贴苦参、蛇床子、苦参-蛇床子各 1 片,阴性对照 1 片,共计 4 片,平行 3 次。盖上平皿盖,置于 37 ℃恒温箱培养 16~18 h 后,观察抑菌效果,用直尺十字测量抑菌环的直径(包括贴片),评价抑菌活性。

1.2.7 最低抑菌浓度测定 采用无菌水配制苦参、蛇床子、苦参-蛇床子(2:1)系列浓度测定液(依次为原液浓度的 1/16、1/32、1/64、1/128、1/256、1/512、1/1 024、1/2 048)。9 支无菌试管分别标记 1~9,在每支试管中加入 1.5 mL 液体培养基,在 1~8 号试管中加入 0.5 mL 不同浓度样品液,在第 9 号试管中加入 0.5 mL 无菌水为阴性对照,最后向各支试管内加入 0.1 mL 菌悬液,37 ℃培养 24 h,测定苦参、蛇床子、苦参-蛇床子最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)。

1.3 动物实验

1.3.1 实验动物 雄性 SPF 级昆明种(KM)小鼠 40 只,体质量(40 ± 4) g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2019-0010。动物实验由山西中医药大学伦理委员会批准(编号 AWE202304296)。

1.3.2 药物与试剂 苦参蛇床子凝胶(KSG)参考相关文献的制法^[20]由山西中医药大学中药微乳制剂技术国家地方联合(工程)实验室自制;尤卓尔(hydrocortisone butyrate cream, Hyd, 批号 21111001),天津金耀药业有限公司;2,4-二硝基氯苯(2,4-dinitrochlorobenzene, DNCB, 批号 LD50W04),北京百灵威科技有限公司;白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、IL-6、免疫球蛋白 E

(immunoglobulin E, IgE)、 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 酶联免疫吸附测试 (ELISA) 试剂盒 (批号分别为 20220714、20220601、20220226、20220129、20220211), 凡科维上海科技有限公司; 二甲苯、中性树胶 (批号分别为 10023418、10004160), 国药集团化学试剂有限公司; 苏木素-伊红 (HE) 染液套装 (批号 G1003), 武汉塞维尔科技有限公司。

1.3.3 仪器 Multiskan FC 型酶标仪、Donatello 型脱水机、Giotto 染色机, 泰普生物科学中国有限公司; JB-P5 包埋机, 武汉俊杰电子有限公司; HC-3018R 高速冷冻离心机, 安徽中科中佳科学仪器有限公司; RM2016 病理切片机, 上海徕卡仪器有限公司; GFL-230 烤箱, 天津市莱玻瑞仪器设备有限公司; Axioscope5 型显微镜, 卡尔蔡司上海管理有限公司。

1.3.4 模型的制备、分组与给药 将 40 只小鼠随机分为空白组、模型组、基质组 (不含药的空白凝胶,

150 mg/cm²)、Hyd (150 mg/cm²)、苦参蛇床子凝胶组 (KSG, 150 mg/cm²), 每组 8 只。适应性饲养 5 d 后, 于实验前 1 d 背部剃毛, 实验当天除空白组 [给予溶剂丙酮-橄榄油 (4:1) 100 μ L] 外其余各组小鼠在背部剃毛的中心区域 (2 cm $\times$ 2 cm) 外涂 5% DNCB 溶液 (溶剂为丙酮-橄榄油 4:1) 100 μ L、右耳 25 μ L 致敏, 实验第 6 天于同样部位涂以 0.7% DNCB 100 μ L、右耳 25 μ L 激发, 空白组涂等量丙酮-橄榄油溶剂, 每隔 3 d 激发 1 次, 共激发 4 次^[21]。若小鼠出现皮肤干燥、瘙痒、红肿、增厚等现象即为造模成功。空白组不予任何治疗, 模型组给予蒸馏水 300 μ L, 其余各组于第 1 次激发当天开始外涂给药, 每日 1 次, 持续给药 14 d。末次给药 24 h 后处死小鼠, 检测各项指标。

1.3.5 皮肤损伤评分 分别于实验的第 7、10、13 和 16 天, 在给药前对小鼠皮肤进行记录, 并按表 1 进行评分。观察指标包括红肿增厚、角化结痂、渗出情况。

表 1 皮损评分标准

Table 1 Scoring criteria for skin lesions

评分	红肿增厚	角化结痂	渗出
0 分 (无)	无	无	无
1 分 (轻度)	呈粉红色, 隐约增厚	轻度角化	渗出不明显
2 分 (中度)	呈暗红色, 清晰可见增厚	中度角化	渗出明显
3 分 (重度)	呈深红色或血红色, 显著增厚	重度角化并伴结痂	渗出严重

1.3.6 皮损组织病理学检查 每组取 3 只小鼠背部和右耳皮损组织, 4%多聚甲醛固定, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋固定, 切成 3 μ m 厚片, 经 HE 染色后, 脱水, 中性树胶封片, 于显微镜 20 倍物镜下观察病理形态学变化。

1.3.7 炎症因子分析 每组 8 只小鼠眼球取血, 室温下静置 0.5 h 后于 4 $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 10 min, 吸取上层血清, 分装, -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。采用 ELISA 法检测血清中 IL-4、IL-6、IgE、IFN- γ 、TNF- α 的水平, 按各相关试剂盒说明书进行测定。使用酶标仪测定 450 nm 波长下的吸光度, 根据标准曲线, 计算样本中各炎症因子的含量。

1.4 血清代谢组学

1.4.1 试剂与仪器 质谱级乙腈、甲醇 (批号分别为 227802、223433), 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; UHPLC-Q Exactive 高分辨质谱、Ulti-Mate 3000 超高效液相色谱仪, 赛默飞世尔科技 (中国)

有限公司。

1.4.2 液质分析样本采集与处理 取“1.3.7”项各组小鼠血清, 4 $^{\circ}$ C 下解冻, 取 100 μ L 血清, 加入 3 倍预冷的甲醇涡旋 5 min, 1 300 r/min 离心 10 min 取上清, 氮气吹干, 加 100 μ L 甲醇涡旋 3 min, 离心取上清。每个样品中取 10 μ L 混匀作为质控 (quality control, QC) 样品, 按照与待测样品相同的前处理方式来处理 QC 样品, 之后进行 UHPLC-MS 分析, 每检测 8 个样品检测 1 次 QC 样品, 用于考察方法的稳定性和重复性。

1.4.3 UHPLC-MS 条件 色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m)。流动相为乙腈 (A) 和 0.1%甲酸-水 (B); 梯度洗脱: 0~0.5 min, 5% A; 0.5~1.5 min, 5%~15% A; 1.5~4.5 min, 15%~30% A; 4.5~6 min, 30%~60% A; 6~9 min, 60%~70% A; 9~12 min, 70%~100% A; 12~13 min, 100% A; 13~13.5 min, 100%~5%

A; 13.5~16 min, 5% A。柱温 40 ℃, 体积流量 0.3 mL/min, 进样量 5 μL。

电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子同时扫描模式。喷雾电压 3.2 kV, 鞘气流速 40 arb, 辅助气流速 5 arb, 辅助气加热温度 350 ℃; 离子传输管温度 320 ℃, S-Lens RF Level 50 V, 扫描范围 m/z 100~1 000, 碰撞能量 30 eV。

1.4.4 数据处理 用 Compound Discovery 软件进行代谢组学数据检测, 得到包含每个离子峰的保留时间、 m/z 值和峰面积等详细信息, 对峰面积进行归一化处理。用 SIMCA14.1 软件进行主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least square discriminant analysis, OPLS-DA), 同时结合 S-plot

图中变量投影重要性 (variable important for projective, VIP) > 1 且 $P<0.05$ 为标准筛选差异代谢物。通过人类差异代谢组数据库 (HMDB) 对潜在代谢物进行鉴定。用 MetaboAnalyst 5.0 在线分析平台对差异代谢物进行聚类分析及通路富集分析。

1.5 统计学分析

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 23.0 统计软件进行分析, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 数据挖掘结果

2.1.1 抗湿疹中药来源统计 通过数据库检索共得到符合纳入标准的外用方剂 255 首。不同来源医籍收录的代表方剂及组成见表 2。

表 2 不同医籍中具有抗湿疹功效的代表性方剂

Table 2 Representative formulas with anti-eczema effect in different medical records		
方剂	出处	组成
处方一二四	《中国民间单验方》	蛇床子、苦参、枯矾、土荆皮、百部、野菊花
苦黄蛇床汤	《湖南省中医单方验方精选·外科》	苦参、黄柏、甘草、蛇床子
蛇床子洗剂	《中医皮肤病学简编》	蛇床子、苦参、威灵仙、苍术、黄柏、明矾
癣症熏药	《赵炳南临床经验集》	苍术、黄柏、苦参、防风、大枫子、白鲜皮、松香、鹤虱草、五倍子
湿毒膏	《朱仁康临床经验集》	青黛、黄柏、煅石膏、炉甘石、五倍子
处方十九	《实用祖传药浴》	苦参、蛇床子、明矾、蜀椒
蛇床苦参酒	《中国药酒配方大全》第4版	蛇床子、苦参、白矾、防风、白鲜皮、白酒
蛇床子散	《湿疹百家百方》	蛇床子、地肤子、苦参、百部、苍术、荆芥、防风、花椒
涤毒祛湿汤	《儿科病良方1500首》	苍耳子、蛇床子、白鲜皮、苦参、甘草、黄柏、地肤子
芒硝蛇床子方	《家庭泡脚良方》	芒硝、蛇床子、苦参、白鲜皮
湿疹散	《中国药典》2020年版临床用药须知 中药成方制剂卷	黄柏、大黄、苦参、蛇床子、侧柏叶、马齿苋、芙蓉叶、炉甘石、陈小麦、珍珠母、枯矾、冰片、甘草
苦参汤	《疡科心得集》	苦参、蛇床子、白芷、金银花、野菊花、黄柏、地肤子、菖蒲、猪胆汁
止痒洗剂	《中医外科学》	黄柏、地榆、苦参、甘草、金银花、荆芥
烟熏散	《外伤科学》	苍术、松香、大枫子、五倍子、苦参、黄柏、防风、白鲜皮、鹤虱
五黄膏	《普济方》	大黄、黄芩、黄柏、黄连、姜黄

2.1.2 抗湿疹中药用药频次统计 采用中医传承计算平台数据分析系统对中药用药频次进行统计, 255 首治疗湿疹目标方剂共涉及中药 347 味, 按频次由高到低进行排序, 得到频次 ≥ 17 的中药

14 味, 其中排名前 5 的分别为黄柏 (68 次)、苦参 (51 次)、蛇床子 (34 次)、白鲜皮 (31 次)、枯矾 (27 次)、冰片 (27 次)、青黛 (27 次), 结果见表 3。

表 3 抗湿疹中药频次统计 (频次 ≥ 17)

Table 3 Frequency statistics of traditional Chinese medicines with anti-eczema effect (frequency ≥ 17)					
序号	中药名称	出现频次	序号	中药名称	出现频次
1	黄柏	68	8	白矾	23
2	苦参	51	9	苍术	22
3	蛇床子	34	10	地肤子	21
4	白鲜皮	31	11	黄连	21
5	枯矾	27	12	煅石膏	21
6	冰片	27	13	大黄	20
7	青黛	27	14	炉甘石	18

上述药物中的黄柏、黄连、苦参、白鲜皮、大
黄性苦而寒，功能清热燥湿、泻火解毒以疗疮，对
湿热所致湿疹、湿疮具有较好的疗效；青黛咸寒以
入血分，具有清热解毒、凉血消斑之功，对于热入
血分之湿疹具有较好的治疗效果；蛇床子、地肤子、
苍术、煅石膏、冰片具有辛散之性，能够疏散外风
而不留邪，增强治疗湿疹、湿疮的药效；此外，白
矾、枯矾、煅石膏、炉甘石均具有收涩之性，能够
增强收湿敛疮的功效。

2.1.3 抗湿疹中药功效分析 功效统计结果表明，
外用治疗湿疹最主要的为清热药，占 43.1%，其次
为攻毒杀虫止痒药，占 7.6%，且拔毒化腐生肌药、
补虚药、解表药、收涩药、化湿药等也占一定的比
例，结果见表 4。根据祖国医学对于湿疹的认识，
血热、风邪等外因及脾虚、湿重等内因是诱发湿疹
的重要原因^[22]，根据临床辨证，清热泻火、清热燥
湿、祛风止痒、疏风解表等是其常用治法，本研究
结果与此相一致。

表 4 抗湿疹中药功效频数统计

Table 4 Frequency statistics of efficacy of traditional Chinese medicines with anti-eczema effect

功效	频数	频率/%	功效	频数	频率/%
清热	357	43.1	拔毒化腐生肌	19	2.3
攻毒杀虫止痒	63	7.6	化痰止咳平喘	19	2.3
解表	59	7.1	祛风湿	18	2.2
收涩	51	6.2	活血化瘀	18	2.2
利水渗湿	39	4.7	温里	16	1.9
补虚	33	4.0	平肝息风	11	1.3
止血	31	3.7	驱虫	9	1.1
开窍	31	3.7	理气	4	0.5
泻下	24	2.9	消食	2	0.2
化湿	24	2.9			

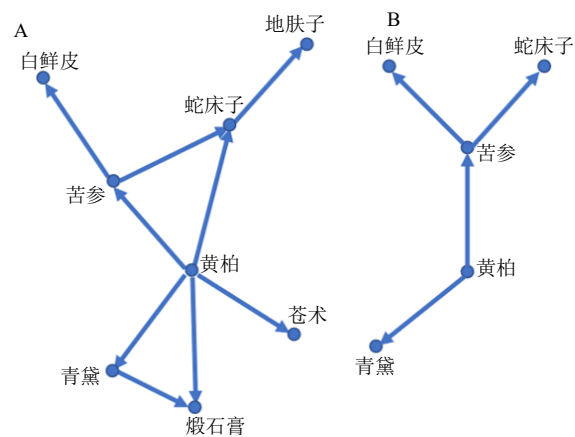
2.1.4 抗湿疹中药用药模式分析 利用中医传承计
算平台数据分析系统中的组方规律分析功能模块对
目标中药用药模式进行分析。由表 5 可知，当设置
最小支持度为 12（表示药物组合在 12 首上方剂
同时出现，即组合使用频次大于 12），且置信度为
0.95（即表示 A 药出现时 B 药也同时出现的概率是
95%）时，可得到 9 种药物组合模式，共涉及 8 种
药物。当设置最小支持度为 15，置信度为 0.95 时，

得到 4 种药物组合模式，共涉及 5 味中药。
为了更加直观地分析和了解药物的用药模式及
配伍特点，以网络图展示不同支持度、置信度下药
物组合结果。当支持度设置为 12 时，苦参、蛇床
子、黄柏、苍术、青黛、白鲜皮、煅石膏及地肤子
8 味中药呈现密切关联，见图 1-A。当支持度为 15
时，苦参、蛇床子、黄柏、青黛、白鲜皮 5 味中药
呈现密切关联，见图 1-B。综合不同支持度下结果

表 5 不同关联条件下抗湿疹中药组合频次统计

Table 5 Frequency statistics of traditional Chinese medicine combinations with anti-eczema effect under different association conditions

关联条件	用药模式	频次	关联条件	用药模式	频次
支持度≥12、置信度=0.95	黄柏、苦参	23	支持度≥15、置信度=0.95	黄柏、苦参	23
	黄柏、蛇床子	14		苦参、蛇床子	16
	苦参、蛇床子	16		黄柏、青黛	18
	黄柏、煅石膏	12		苦参、白鲜皮	19
	青黛、煅石膏	14			
	黄柏、苍术	12			
	黄柏、青黛	18			
	苦参、白鲜皮	19			
	蛇床子、地肤子	12			



A-支持度为 12；B-支持度为 15。
A-support level of 12；B-support level of 15.

图 1 不同支持度下抗湿疹中药核心药物组合网络
Fig. 1 Network of core drug combinations in traditional Chinese medicines with anti-eczema effect under different support levels

可知，“黄柏-苦参”“黄柏-青黛”“苦参-蛇床子”为共有的高频次药物组合。结合国家药监局发布的《已使用化妆品原料目录（2021 年版）》，仅有苦参-蛇床子组合单味药均收录于该化妆品原料目录。

2.2 体外抑菌实验结果

2.2.1 抑菌圈直径 苦参、蛇床子及苦参-蛇床子药液的抑菌圈直径测定结果（表 6）表明，苦参、蛇床子、苦参-蛇床子组合对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌均有显著的抑制作用（ $P<0.05$ ），且上述药物对大肠杆菌抑制活性明显强于金黄色葡萄球菌。同等剂量下，苦参对金黄色葡萄球菌抑制活性显著强于蛇床子和苦参-蛇床子组合（ $P<0.05$ ），苦参、苦参-蛇床子组合对大肠杆菌抑制活性显著强于蛇床子（ $P<0.05$ ）。

表 6 苦参、蛇床子及其配伍的抑菌圈直径（ $n=3$ ）
Table 6 Antibacterial zone diameter of *Sophorae Flavescentis* Radix, *Cnidii Fructus* and their compatibility（ $n=3$ ）

组别	剂量/ (g·mL ⁻¹)	抑菌圈直径/mm	
		金黄色葡萄球菌	大肠杆菌
阴性对照	—	6.00 ^C	6.00 ^C
苦参	1.00	9.92±0.20 ^A	11.58±1.02 ^{AB}
蛇床子	1.00	9.42±0.38 ^B	10.58±1.11 ^B
苦参-蛇床子	1.00	9.50±0.45 ^B	11.75±0.99 ^A

同一细菌中，不同字母表示组间比较有显著性差异（ $P<0.05$ ）。
In the same bacteria, different letters indicated significant difference between groups（ $P<0.05$ ）.

2.2.2 MIC 结果显示，苦参、苦参-蛇床子抑制金黄色葡萄球菌的 MIC 为 7.81 mg/mL，远低于蛇床子的 MIC（62.5 mg/mL）。类似地，苦参、苦参-蛇床子抑制大肠杆菌的 MIC 为 3.91 mg/mL，远低于蛇床子的 MIC（31.25 mg/mL）。苦参、蛇床子及其配伍抑菌情况见表 7。

表 7 苦参、蛇床子及其配伍的抑菌情况（ $n=3$ ）
Table 7 Determination of minimum inhibitory concentration of *Sophorae Flavescentis* Radix, *Cnidii Fructus* and their compatibility（ $n=3$ ）

组别	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	菌体生长情况	
		金黄色葡萄球菌	大肠杆菌
苦参	62.50	—	—
	31.25	—	—
	15.63	—	—
	7.81	—	—
	3.91	+	—
	1.95	+	+
	0.98	++	+
	0.49	++	++
蛇床子	62.50	—	—
	31.25	+	—
	15.63	+	+
	7.81	+	+
	3.91	++	+
	1.95	++	++
	0.98	++	++
	0.49	++	++
苦参-蛇床子 (2:1)	62.50	—	—
	31.25	—	—
	15.63	—	—
	7.81	—	—
	3.91	+	—
	1.95	+	+
	0.98	++	+
	0.49	++	++

“—”表示无菌生长；“+”表示菌生长比较少；“++”表示菌生长比较多。
“—” means sterile growth; “+” means less bacterial growth; “++” means more bacterial growth.

2.3 动物实验结果

2.3.1 皮肤损伤评分 与空白组相比，模型组皮损评分显著升高（ $P<0.01$ ）；与模型组相比，各给药组小鼠皮肤的红肿增厚、角化结痂、渗出情况均有好转，从第 10 天开始 Hyd 组和 KSG 组评分均明显下降（ $P<0.05$ 、0.01），结果表明 KSG 对湿疹模型小鼠有一定干预作用，结果见表 8。

2.3.2 皮损组织病理学 耳廓 HE 染色结果如图 2 所示，空白组小鼠的耳廓组织无明显改变、结构完

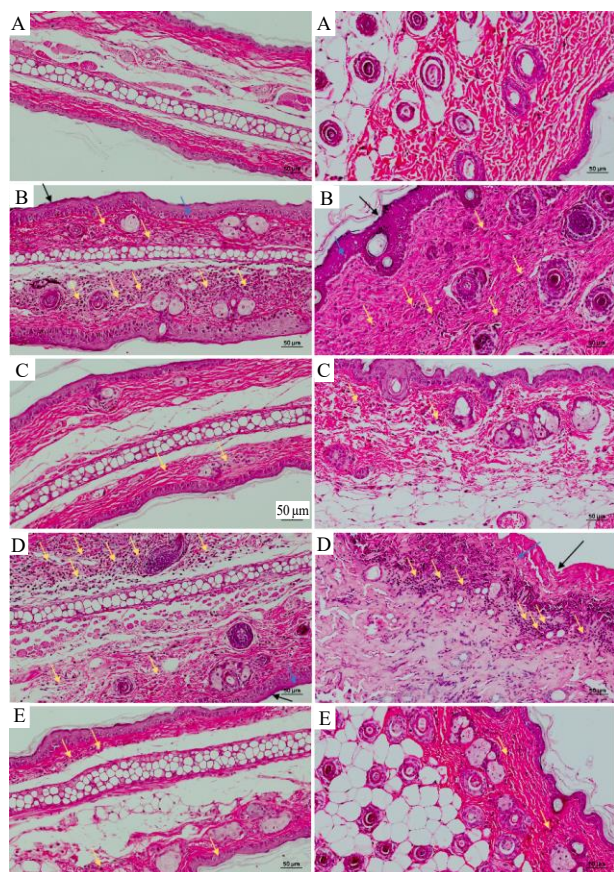
表 8 各组小鼠皮损评分 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 8 Skin lesion score of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg·cm ⁻²)	皮损评分			
		第 7 天	第 10 天	第 13 天	第 16 天
空白	—	0	0	0	0
模型	—	1.58±0.58 ^{##}	1.79±0.59 ^{##}	2.04±0.62 ^{##}	2.17±0.48 ^{##}
Hyd	150	1.50±0.51	1.42±0.65 [*]	1.38±0.49 ^{**}	1.25±0.53 ^{**}
基质	150	1.54±0.66	1.67±0.64	1.96±0.55	2.04±0.45
KSG	150	1.54±0.51	1.46±0.51 [*]	1.42±0.50 ^{**}	1.29±0.46 ^{**}

与空白组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ 。

[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs blank group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group.



左侧为耳廓皮肤组织, 右侧为背部皮肤组织, 黑色箭头表示表皮皮肤角化、表皮浆痂, 蓝色箭头表示增生, 黄色箭头表示淋巴细胞浸润; A-空白组, B-模型组, C-Hyd 组, D-基质组, E-KSG 组。The left side is the auricle skin tissue, the right side is the back skin tissue, the black arrow indicates epidermal skin keratosis and epidermal plasma scab, the blue arrow indicate hyperplasia, and the yellow arrow indicates lymphocyte infiltration; A-blank group, B-model group, C-Hyd group, D-matrix group, E-KSG group.

图 2 KSG 对湿疹小鼠耳廓及背部皮肤组织病理学的影响 (HE, ×200)

Fig. 2 Effect of KSG on pathology of ear and back skin tissues in mice with eczema (HE, ×200)

整, 真皮与表皮层次分明, 无明显炎性细胞浸润。模型组小鼠耳廓组织厚度明显增加, 皮肤组织结构模糊, 均可见严重的角化过度、表皮棘层增厚的现象, 真皮中有大量炎性细胞的浸润。Hyd 组和 KSG 组均可以改善由 DNCB 反复激发造成的湿疹样组织病理学的改变。

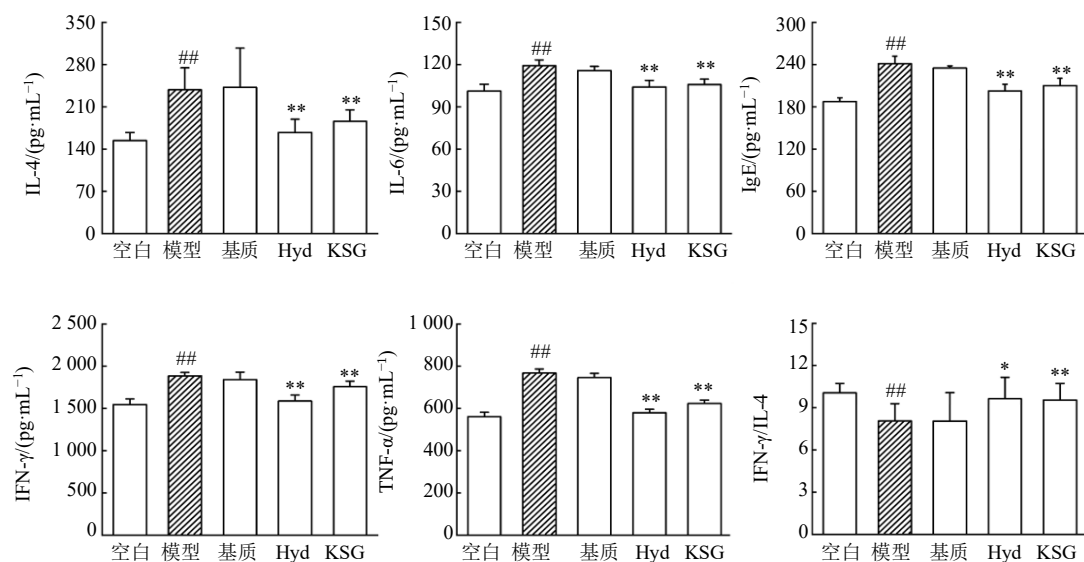
背部皮肤 HE 染色结果如图 2 所示, 空白组小鼠的背部皮肤表皮细胞排列有序, 各层次清晰, 未见明显炎细胞浸润。模型组背部皮肤角化过度严重, 表皮浆痂形成, 轻度增生, 真皮内淋巴细胞浸润明显。Hyd 组及 KSG 组皮肤组织厚度明显降低, 炎症细胞浸润明显减少。

2.3.3 血清炎症因子水平 结果如图 3 所示, 与空白组相比, 模型组小鼠血清中 IL-4、IL-6、IgE、IFN- γ 和 TNF- α 水平显著升高 ($P<0.01$), IFN- γ 与 IL-4 的比值显著降低 ($P<0.01$); 与模型组相比, Hyd 组和 KSG 组小鼠血清中 IL-4、IL-6、IgE、IFN- γ 和 TNF- α 水平显著降低 ($P<0.01$), IFN- γ 与 IL-4 的比值升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。

2.4 血清代谢组学分析结果

2.4.1 代谢轮廓数据采集 各组小鼠血清样本在正、负离子模式下的总离子流图见图 4。由图 4 可知, 各样品总离子流图中最高的离子峰强度为 100%, 各谱峰间的分离度良好。

2.4.2 代谢轮廓数据 PCA 将含有保留时间、质荷比、峰强度等信息的各组样品代谢数据矩阵导入 SIMCA14.1 软件进行无监督的 PCA, 以获取各组样品在空间上的分布情况。如图 5 所示, 空白组、模型组和 KSG 组均能大致各聚成一类, 且各组之间能明显分离。在 $t[2]$ 轴方向, 与模型组相比, KSG 对湿疹模型小鼠的代谢紊乱情况具有较好回调作用, 而在 $t[1]$ 轴方向未表现出相应的回调作用。

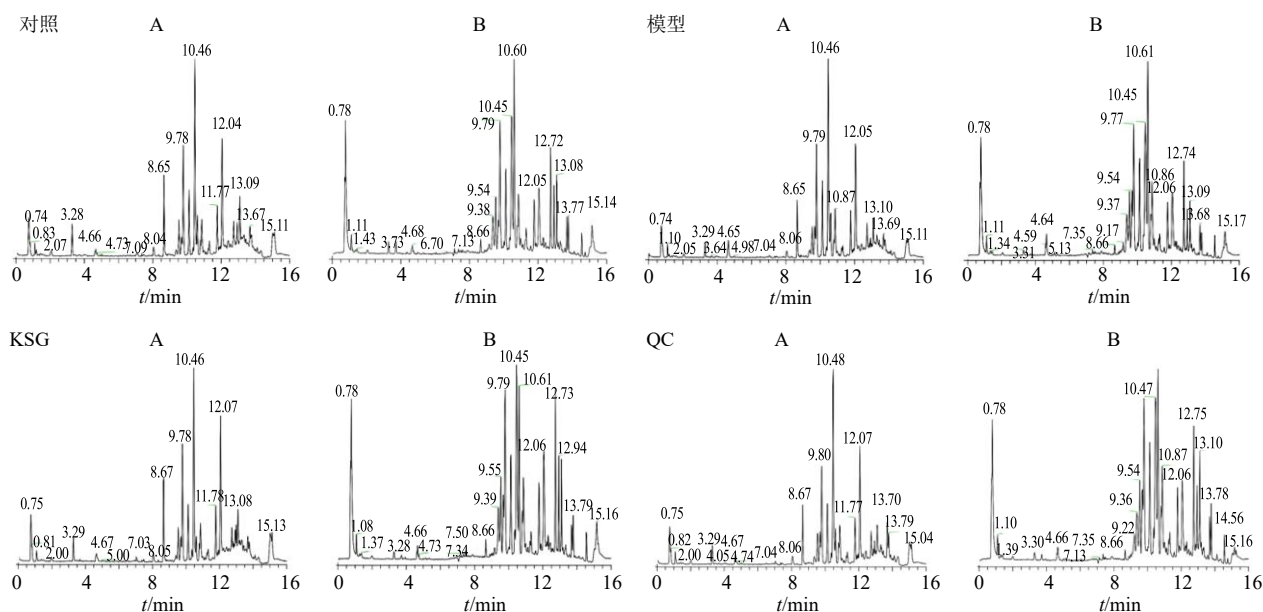


与空白组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.01$ vs blank group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 3 KSG 对湿疹小鼠血清中 IL-4、IL-6、IgE、IFN- γ 、TNF- α 水平以及 IFN- γ /IL-4 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 3 Effect of KSG on serum level of IL-4, IL-6, IgE, IFN- γ , TNF- α and IFN- γ /IL-4 in mice with eczema ($\bar{x} \pm s, n=8$)



A 为正离子模式下各组样品总离子流图, B 为负离子模式下各组样品总离子流图。

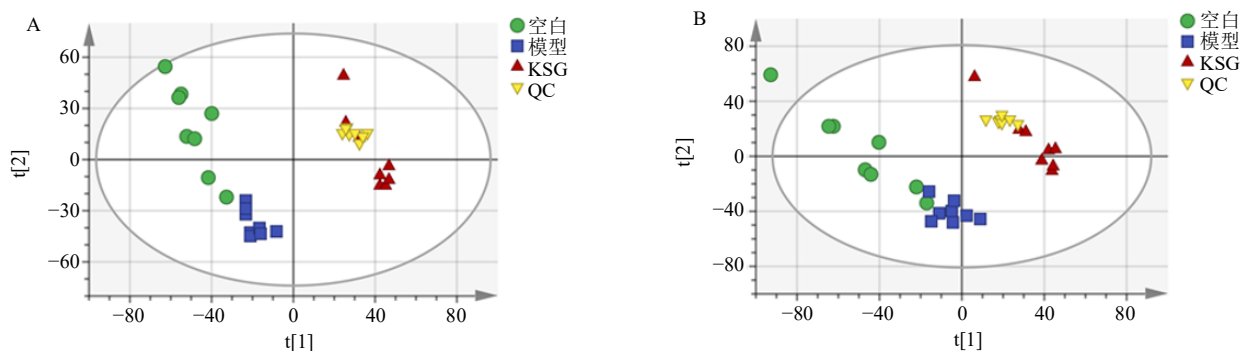
A is the total ion flow diagram of each group of samples in positive ion mode, B is the total ion flow diagram of each group of samples in negative ion mode.

图 4 正 (A)、负 (B) 离子模式下各组样本总离子流色谱图

Fig. 4 Total ion flow chromatograms of samples in each group in positive (A) and negative (B) ion modes

2.4.3 代谢轮廓数据 OPLS-DA 为进一步确定各组小鼠血清内源性代谢物的差异, 采用 OPLS-DA 对空白组与模型组、模型组与 KSG 组的差异代谢物进行分析。如图 6 所示, 空白组与模型组样品能明显区分。所得模型参数在正离子模式中 $R^2_X=0.343$, $R^2_Y=$

0.992, $Q^2=0.668$; 负离子模式中 $R^2_X=0.373$, $R^2_Y=0.996$, $Q^2=0.742$, 表明该模型拟合度和预测能力较好。以 $n=200$ 对模型进行置换检验, 如图 6-B、D 所示, 模型的斜率较大, 并与纵坐标相交于负半轴, 表明模型未出现过拟合, 模型可靠。根据 $VIP > 1$ 的标

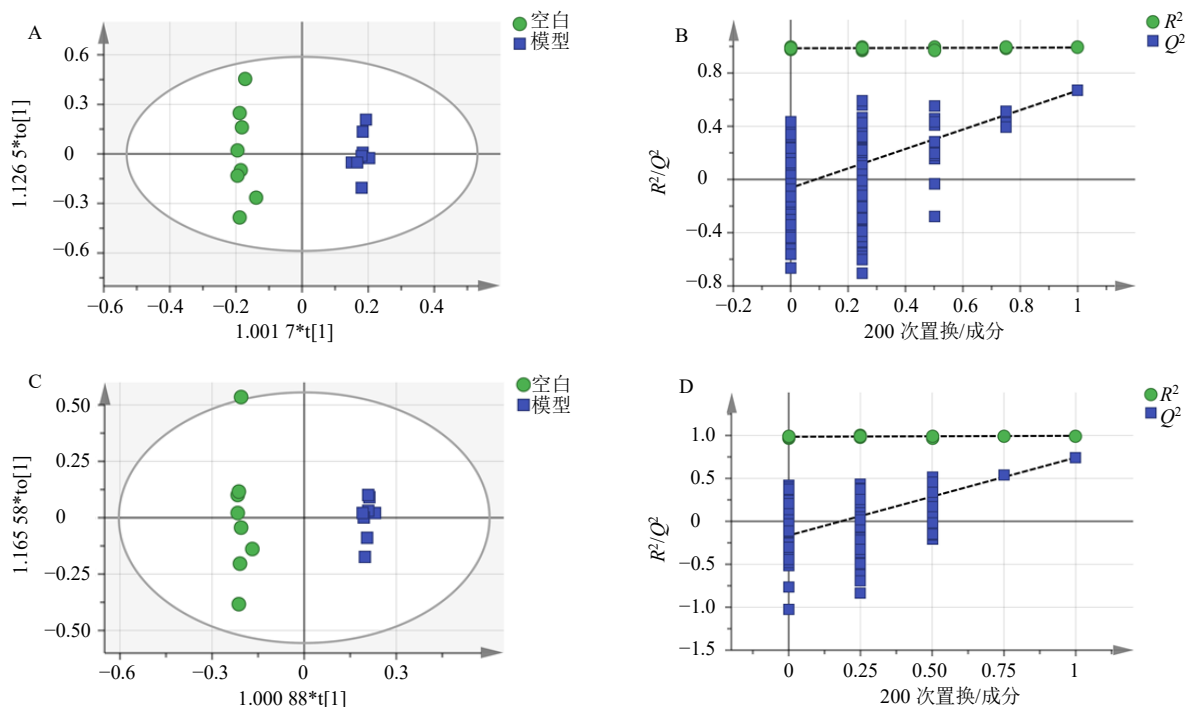


A-正离子模式下的 PCA 得分散点图; B-负离子模式下的 PCA 得分散点图。

A-Scatter plot of PCA scores under positive ion mode; B-scatter plot of PCA scores under negative ion mode.

图 5 PCA 得分散点图

Fig. 5 Scatter plot of PCA score



A、B-正离子下 OPLS-DA 得分散点、置换检验图; C、D-负离子下 OPLS-DA 得分散点、置换检验图; 图 7 同。

A, B-scatter plots and permutation tests diagram of OPLS-DA scores under positive ion mode; C, D-scatter plots and permutation tests diagram of OPLS-DA scores under negative ion mode; same as fig. 7.

图 6 空白组与模型组 OPLS-DA 得分散点图和置换检验

Fig. 6 Scatter plots and permutation tests for OPLS-DA scores between blank group and model groups

准及独立样本 t 检验 $P < 0.05$, 筛选出差异代谢物, 最终得到具有显著性差异代谢物 730 个。

如图 7 所示, 模型组与 KSG 组样品也表现出良好的区分特性, 正离子模式中 $R^2_X = 0.191$, $R^2_Y = 0.991$, $Q^2 = 0.654$; 负离子模式中 $R^2_X = 0.294$, $R^2_Y = 0.991$, $Q^2 = 0.871$, R^2_Y 及 Q^2 值均大于 0.5, 可以进行差异代谢物的分析及筛选^[23]。将上述模型随机排

列 200 进行置换检验, 发现模型的斜率较大, 并与纵坐标相交于负半轴, 表明模型未过拟合, 模型可靠, 见图 7-B、D。根据 $VIP > 1$ 且 $P < 0.05$, 最终得出 1 029 个具有显著性差异的代谢物。

2.4.4 差异代谢物的筛选与鉴定 将筛选出来的差异代谢物在 HMDB 数据库中鉴定, 共鉴定出 12 个差异代谢物, 见表 9。空白组与模型组相比, L -组

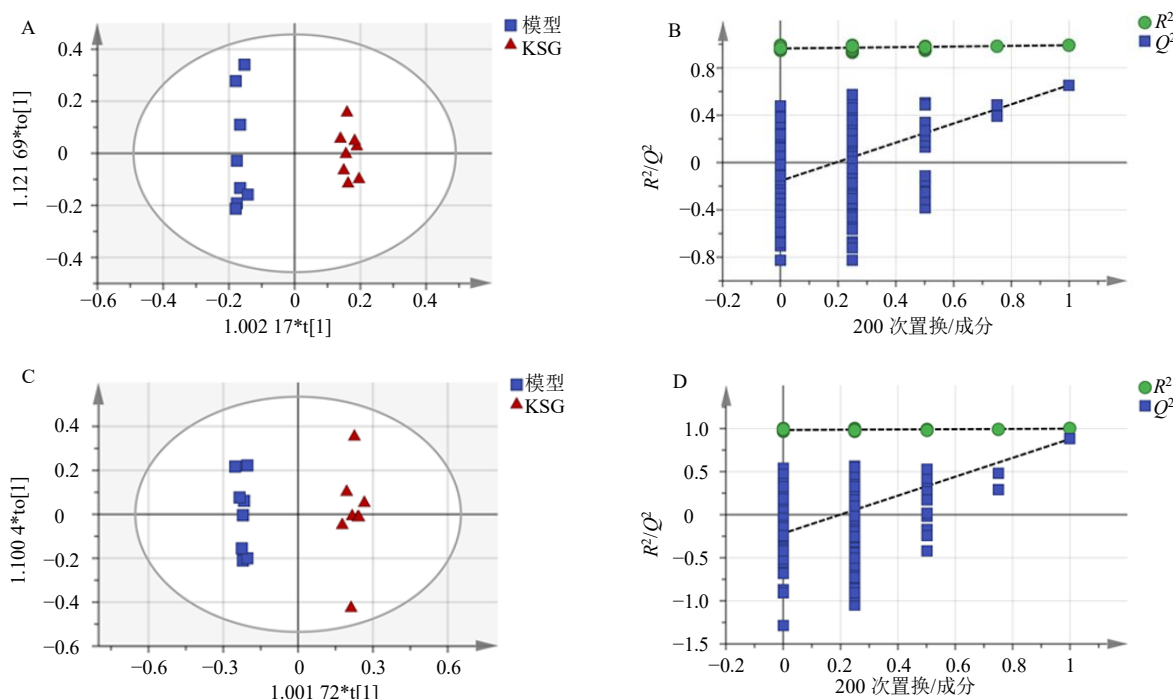


图 7 模型组和 KSG 组 OPLS-DA 得分散点图和置换检验

Fig. 7 Scatter plots and permutation tests for OPLS-DA scores between model group and KSG groups

表 9 血清差异代谢物

Table 9 Serum differential metabolites

编号	代谢物名称	HMDB 号	化学式	t_R/min	m/z	VIP 值	P 值	空白 vs 模型	模型 vs KSG
1	Lyso PC (0 : 0/18 : 0)	HMDB11128	$C_{26}H_{54}NO_7P$	11.776	524.371 5	8.906 7	0.004 066	↑**	↓**
2	5-hydroxytryptophol	HMDB1855	$C_{10}H_{11}NO_2$	1.575	160.075 9	3.373 15	0.002 244	↑**	↓*
3	<i>trans</i> -3-chloro-2-propene-1-ol	HMDB60514	$C_2H_4Cl_2O_2$	15.436	130.966 6	3.370 37	0.000 395	↑**	↓*
4	<i>L</i> -histidinol	HMDB3431	$C_6H_9N_3$	13.284	124.087 2	1.448 17	0.001 751	↓**	↑*
5	Lyso PC [0 : 0/18 : 2 (9Z,12Z)]	HMDB61700	$C_{24}H_{44}N_7O_5P$	9.801	542.321 3	2.437 59	0.010 949	↑*	↓**
6	propionylcarnitine	HMDB824	$C_{10}H_{19}NO_4$	1.527	218.139 0	2.989 82	0.000 281	↑**	↓**
7	uric acid	HMDB289	$C_5H_4N_4O_3$	0.824	169.035 8	2.482 78	0.000 255	↓**	↑*
8	Lyso PE [0 : 0/20 : 5 (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)]	HMDB11489	$C_{26}H_{52}N_2O_8P_2$	12.127	583.324 2	2.441 68	0.000 376	↓**	↑*
9	oxidized glutathione	HMDB3337	$C_{23}H_{35}N_8O_2P_3S_2$	1.101	307.083 5	1.637 97	0.001 074	↑**	↓*
10	18-hydroxyeicosatetraenoic acid	HMDB244805	$C_{20}H_{32}O_3$	11.283	319.228 2	1.966 08	0.003 636	↓**	↑*
11	<i>N</i> -acetyltyrosine	HMDB244966	$C_{11}H_{11}NO_3$	5.751	204.066 1	1.520 57	0.012 652	↑*	↓*
12	20-hydroxyleukotriene B4	HMDB245567	$C_{20}H_{34}O_6$	6.991	351.218 2	1.573 01	0.000 712	↓**	↑**

↑表示上调；↓表示下调；* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

↑ indicates the upward adjustment; ↓ indicates downward adjustment; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

胺醇 (*L*-histidinol)、尿酸 (uric acid)、Lyso PE [0:0/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)]、8-羟基二十烷四烯酸 (8-hydroxyeicosatetraenoic acid)、20-羟基白三烯 B4 (20-hydroxyleukotriene B4) 5 个差异代谢物具有下调的作用；模型组和 KSG 组相比，这 5 个差异代谢物具有上调作用，其余 7 个代谢物调控作用与空白

组 vs 模型组相反。通过 MetaboAnalyst 5.0 进行代谢物热图分析，可以看出模型组大致聚为一类，空白组和 KSG 组大致聚为一类（图 8）。对 12 个差异代谢物的相对峰面积研究发现，与模型组相比，KSG 对 12 个差异代谢物均具有显著的回调作用 ($P < 0.05$)，见图 9。推测这些差异代谢物可能与

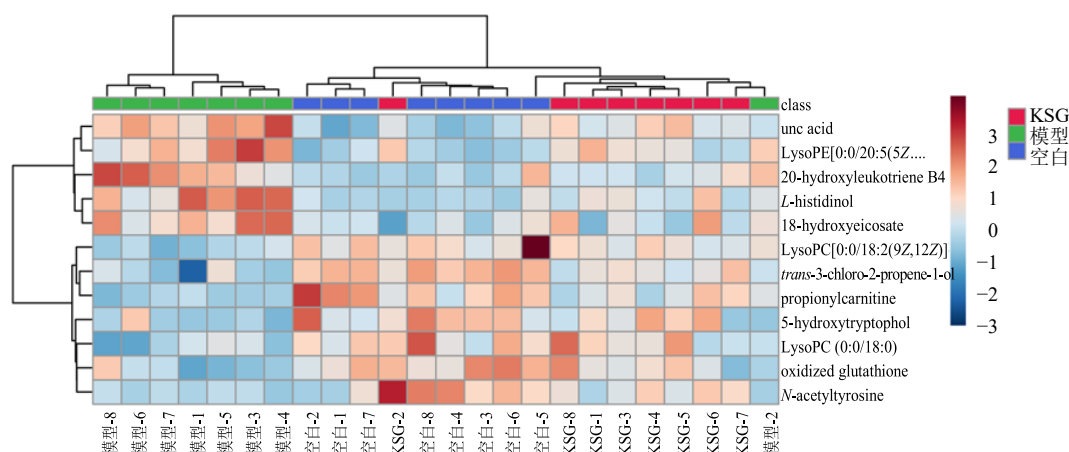
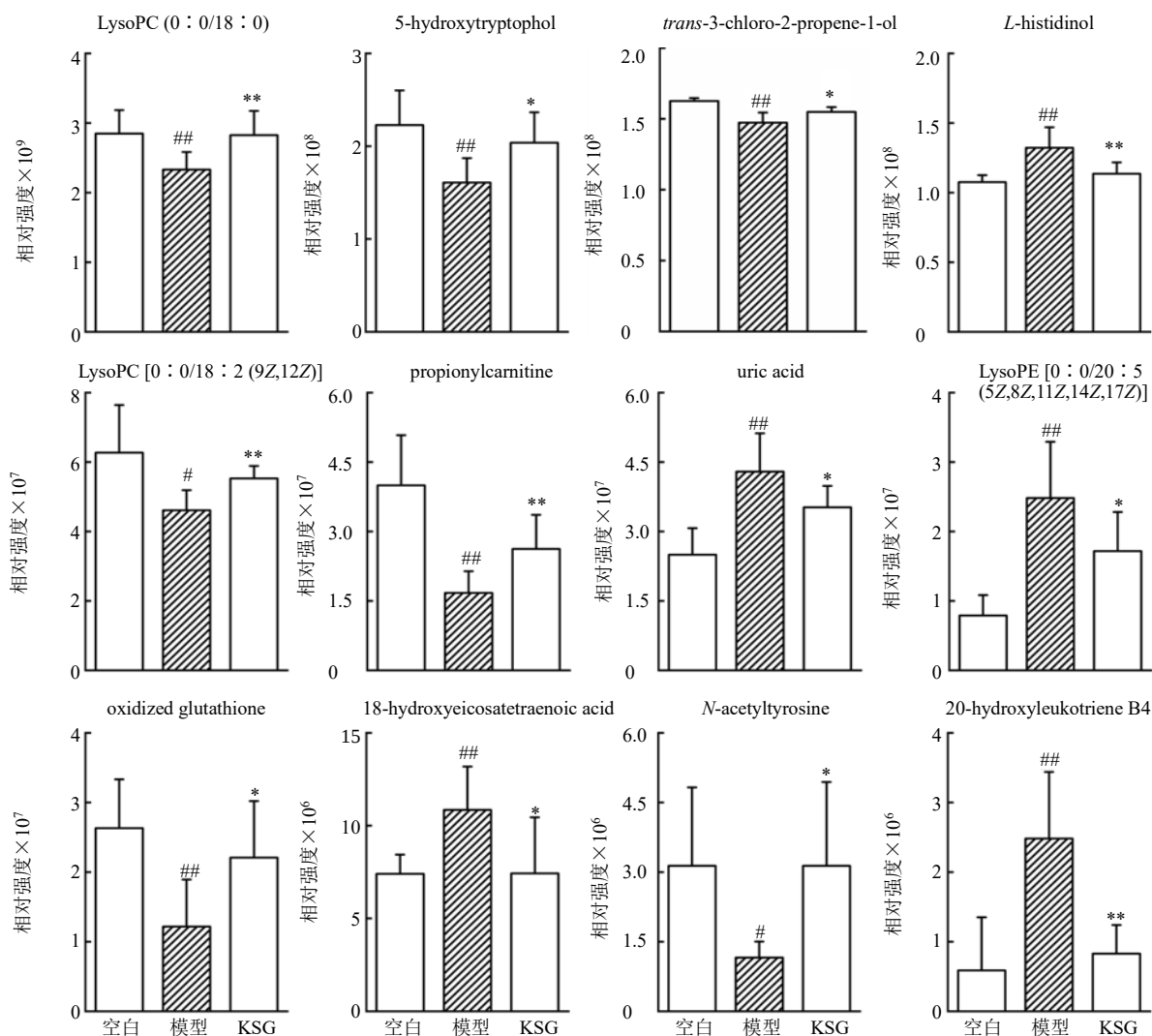


图 8 差异代谢物可视化热图

Fig. 8 Visualization heat map of differential metabolites



与空白组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

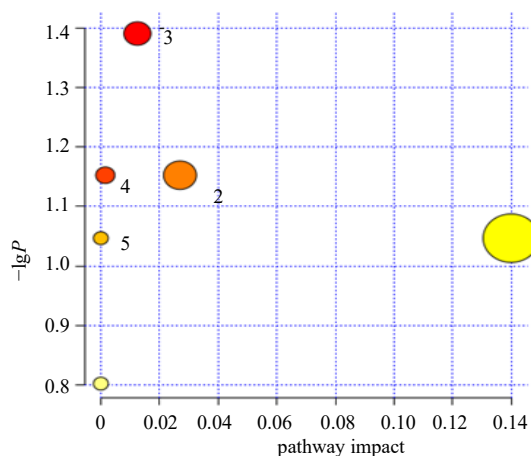
$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs blank group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 9 血清中差异代谢物含量的变化 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 9 Content changes of differential metabolites in serum ($\bar{x} \pm s, n=8$)

KSG 治疗湿疹的通路密切相关。

2.4.5 差异代谢物通路富集分析 将 12 种差异代谢物输入到 MetaboAnalyst 5.0 数据库中构建代谢通路, 得到 KSG 改善湿疹模型小鼠的相关通路 6 条, 并把 $\text{impact} > 0$ 的代谢通路作为潜在的靶标通路, 共筛选出 3 条, 分别为甘油磷脂代谢通路、谷胱甘肽代谢通路、甘油酯代谢通路, 见图 10。



1~6 分别代表甘油磷脂代谢、谷胱甘肽代谢、甘油酯代谢、磷脂酰肌醇信号系统、嘌呤代谢、花生四烯酸代谢。

1~6 represent glycerol phospholipid metabolism, glutathione metabolism, triglyceride metabolism, phosphatidylinositol signaling system, purine metabolism and arachidonic acid metabolism, respectively.

图 10 KSG 对湿疹模型小鼠代谢通路的影响

Fig. 10 Effect of KSG on metabolic pathways in eczema model mice

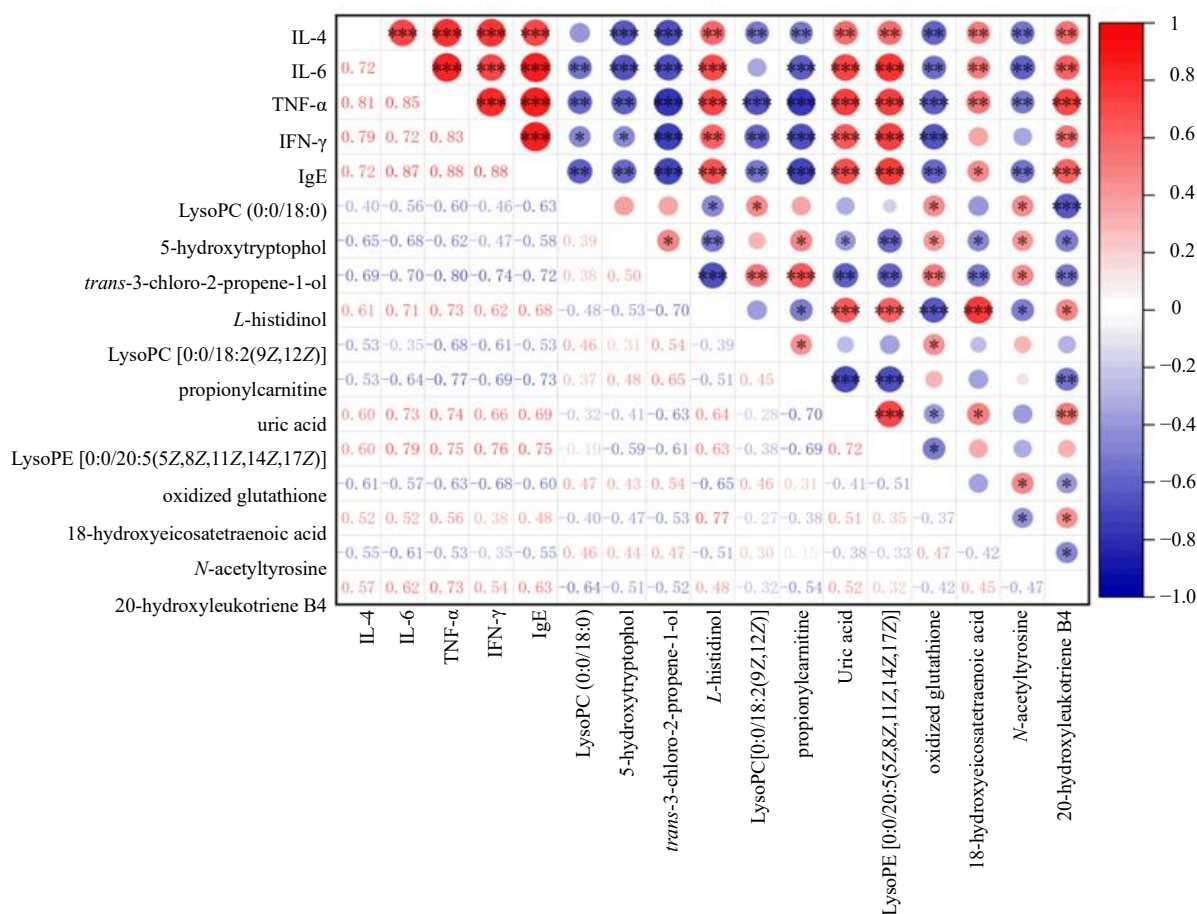
2.4.6 炎症因子和差异代谢物的相关性分析 为了进一步分析差异代谢物和湿疹的相关性, 本研究通过计算差异代谢物以及炎症因子两两之间的斯皮尔曼 (Spearman) 等级相关系数对炎症因子指标和差异代谢物的相关性进行了分析。圆圈大小和颜色表示相关性程度, 红色表示正相关, 蓝色表示负相关; 数字蓝色表示负相关, 红色表示正相关。炎症因子 IL-4、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 、IgE 与代谢物 L-组胺醇、尿酸、Lyso PE [0:0/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)]、8-羟基二十烷四烯酸、20-羟基白三烯 B4 均表现出正相关, 其余代谢物表现出负相关。其中丙酮酸酰基转移酶 (propionylcarnitine) 与 IL-4 ($r > -0.53$, $P < 0.01$) IL-6 ($r > -0.64$, $P < 0.001$)、TNF- α ($r > -0.77$, $P < 0.001$)、IFN- γ ($r > -0.69$, $P < 0.001$)、IgE ($r > -0.73$, $P < 0.001$) 呈显著性负相关。LysoPE [0:0/20:5 (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)] 与 IL-4

($r > 0.60$, $P < 0.01$)、IL-6 ($r > 0.79$, $P < 0.001$)、TNF- α ($r > 0.75$, $P < 0.001$)、IFN- γ ($r > 0.76$, $P < 0.001$)、IgE ($r > 0.75$, $P < 0.001$) 呈显著性正相关。结果见图 11。

3 讨论

湿疹是常见的变态反应性、炎症性皮肤病, 由于其具有瘙痒剧烈、皮损严重等特点, 严重影响着患者的学习、工作和生活^[24]。随着现代生活节奏加快及环境因素等变化, 湿疹在我国发病率具有加速上升的趋势, 其中婴幼儿湿疹发病率已达到 10%~20%^[25-26]。采用抗生素、糖皮质激素等药物抑制皮肤致病微生物感染, 或抑制其炎症反应是目前治疗湿疹的主要方法^[8-9]。由于长期应用抗生素、激素类药物的不良反应, 亟待筛选对湿疹类疾病有确切防治作用、安全性高的药物。中医对于湿疹具有较好的防治作用, 根据祖国医学理论, 湿疹可由多种因素引起, 其中机体素虚, 风、湿、热邪郁于皮肤、传变入里, 导致气血失调或累及其他脏腑, 是湿疹的重要诱发因素^[21]。本研究基于华柄数据库, 采用数据挖掘技术, 挖掘具有抗湿疹活性的中药及其组合物, 得到黄柏、苦参、蛇床子、白鲜皮、枯矾等高频药物, 这些药物多具有清热解毒、清热燥湿或燥湿祛风、止痒等属性。

湿疹的病因学研究表明, 细菌等微生物感染是湿疹诱发或继发的重要因素^[7,27]。如金黄色葡萄球菌等致病菌在皮肤过度定殖后能够分泌多种超抗原特性毒素, 加重皮炎症状, 并与细胞黏附、聚集诱导因子骨桥蛋白的表达呈正相关趋势。苦参、蛇床子是临床常用皮肤科疾病治疗用药^[28], 苦参味极苦寒, 蛇床子辛苦而温, 苦参苦寒在外在下之性, 与蛇床子苦温辛散鼓荡之力相合, 契合湿疹病机而共奏除湿止痒、散风杀虫的作用。二者药性气味走注关键之处各有不同, 但相合同用却能达到互相佐助、制持有度的效果, 基于临床实践和已有文献报道^[29], 确定苦参与蛇床子的比例为 2:1。抗菌活性测定结果表明, 经过数据挖掘筛选、结合临床经验得到的苦参-蛇床子 (2:1) 核心药物组合及其组成药物具有较好的抗菌活性, 且苦参对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑制作用 (MIC 分别为 7.81、3.91 mg/mL) 明显强于蛇床子 (MIC 为 62.5、31.25 mg/mL)。此外, 等剂量下的苦参-蛇床子 (2:1) 核心组合对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑制作用 (MIC 分别为 7.81、3.91 mg/mL) 与苦参相当。根据苦参-蛇床子



红、蓝色分别代表正、负相关，颜色越深相关性越强；* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

Red and blue represent positive and negative correlation respectively, and the darker the color, the stronger the correlation; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$.

图 11 差异代谢物和炎症因子的相关性分析

Fig. 11 Correlation analysis between differential metabolites and inflammatory factors

组合物 MIC 及组成比例分别折算该组合 MIC 下的单味药物浓度，苦参-蛇床子组合物抑制金黄色葡萄球菌和大肠杆菌 MIC 中的苦参(5.21、2.61 mg/mL)、蛇床子(2.60、1.30 mg/mL)单味药浓度均明显低于其单独使用下浓度。亦即，在不具备产生 MIC 条件下的苦参、蛇床子配伍后，抗菌效能提升。然而，苦参-蛇床子的协同药效及相关机制有待进一步评价和揭示。

系统药理学研究表明，苦参-蛇床子抑制皮肤瘙痒的药效作用与免疫及神经相关信号通路有关，苦参中的黄酮及蛇床子中香豆素类化合物能够通过降低炎症因子及相关基因表达而发挥抑制皮肤瘙痒的药效作用^[30]。此外，苦参中的高含量生物碱效用成分苦参碱与蛇床子中蛇床子素对致病微生物具有协同抑制作用^[31]。慢性的免疫炎症损伤是湿疹发病的重要机制之一。相关研究表明，湿疹的发病机制主

要与 T 辅助细胞所诱导的免疫反应有关，主要表现为 Th1/Th2 的漂移。Th1、Th2 细胞特征因子 IFN- γ /IL-4 水平趋于平衡状态有助于缓解湿疹的症状^[32]。KSG 能明显减轻湿疹模型小鼠的皮损程度及皮肤的炎性细胞浸润的情况，对湿疹有明显的治疗作用。

运用 UHPLC-MS 代谢组学技术找出了与湿疹相关的 12 个差异代谢物，并构建出相关的代谢通路 3 条：甘油磷脂代谢、谷胱甘肽代谢、甘油酯代谢。这 3 条代谢通路中甘油磷脂代谢通路跟湿疹密切相关，对此代谢通路进行了阐述。甘油磷脂是组成细胞膜的主要成分，而磷脂酰胆碱是甘油磷脂的一个亚类，在细胞膜中占据重要的位置。已有研究证明，饱和的 LysoPC 加剧促炎细胞因子的释放，加剧炎症产生^[33]。LysoPC 是甘油磷脂类化合物经磷酸脂酶 A2 水解得到的产物，在炎症反应中起着重要的作用^[34]。炎症反应的发生会增加机体内炎症介

质的释放,增加 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等相关炎症因子的产生,与炎症产生过程密切相关^[35]。本实验发现,模型组小鼠血清中 LysoPC 及 LysoPE 等生物标志物代谢异常,揭示小鼠体内发生炎症反应的异常变化。而 KSG 给药后其相对含量趋向于空白组,说明 KSG 可以抑制炎症反应,相关的代谢通路可能与甘油磷脂代谢有关。

利用 Spearman 相关性分析法,建立治疗湿疹的炎症因子与血清差异代谢物之间的关联分析,结果显示炎症因子 IL-4、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 、IgE 与代谢物 L-组胺醇、尿酸、Lyso PE [0:0/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)]、8-羟基二十烷四烯酸、20-羟基白三烯 B₄ 均表现出正相关,其余代谢物表现出反相关。其中丙酮酸酰基转移酶具有多种生物化学功能和医学应用,可以参与脂肪酸代谢,增加细胞内能量的产生,具有抗氧化的作用,减少自由基的产生,并且可以促进血液循环。LysoPC 和 LysoPE 等代谢物的异常,常常与体内炎症反应呈正相关^[33],而血清代谢组学显示 KSG 可以回调这些代谢产物。

综合上述实验研究及文献,苦参-蛇床子核心药物组合及其组成药物具有较好抗菌活性,并能通过炎症相关通路蛋白和基因表达调控,发挥对湿疹的治疗作用及护肤活性。KSG 对湿疹模型小鼠有明显的治疗作用,推测可能主要通过甘油磷脂代谢通路发挥作用,这就从不同角度对苦参-蛇床子治疗湿疹的多靶点、多途径调控作用进行了诠释,能够为该药物组合防治湿疹的应用提供参考。外用制剂疗效的发挥有赖于有效成分的渗透、吸收、代谢等多个方面,但因中药成分复杂,中药外用制剂量效关系研究涉及原材料、提取方法、涂抹量及涂抹次数等多方面因素^[36]。因此,本研究参考前期研究^[19],仅对常规剂量进行了药效考察,其量效关系、相关物质基础有待进一步深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李娟,尤艳明.北京某城乡结合区人群皮肤病流行病学调查及危险因素相关性分析[J].实用皮肤病学杂志,2014,7(5):351-354.
- [2] 陆春花,尹仕伟,高海萍,等.2006—2015 年江苏省职业性皮肤病新确诊病例的流行病学分析[J].工业卫生与职业病,2020,46(6):463-466.
- [3] Odhiambo J A, Williams H C, Clayton T O, et al. Global variations in prevalence of eczema symptoms in children from ISAAC Phase Three [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 124(6): 1251-1258.
- [4] Agner T, Elsner P. Hand eczema: Epidemiology, prognosis and prevention [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2020, 34(Suppl 1): 4-12.
- [5] Quaaade A S, Simonsen A B, Halling A S, et al. Prevalence, incidence, and severity of hand eczema in the general population—A systematic review and meta-analysis [J]. *Contact Dermatitis*, 2021, 84(6): 361-374.
- [6] Elsner P, Agner T. Hand eczema: A ‘neglected’ disease [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2020, 34(Suppl 1): 3.
- [7] 杜金红. 皮炎湿疹患者皮肤细菌、真菌的检测分析 [J]. 皮肤病与性病, 2019, 41(1): 98-99.
- [8] 医疗大数据应用技术国家工程实验室(中南大学)皮肤疾病大数据工作委员会,中华医学会皮肤性病学会皮肤肿瘤研究中心,中国医师协会皮肤科医师分会皮肤肿瘤亚专业委员会. 皮肤病流行病学研究专家共识 [J]. 中华皮肤科杂志, 2020, 53(12): 951-961.
- [9] 许兵. 曲咪新软膏联合壳聚糖抗菌凝胶治疗婴儿湿疹的疗效观察 [J]. 皮肤病与性病, 2018, 40(6): 845-847.
- [10] Kahraman E, Aydılek N, Güngör S. Recent approaches on novel topical delivery systems for atopic dermatitis treatment [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2020, 14(3): 191-200.
- [11] Mandlik D S, Mandlik S K. Atopic dermatitis: New insight into the etiology, pathogenesis, diagnosis and novel treatment strategies [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2021, 43(2): 105-125.
- [12] 陈高敏,王顺春,王璐,等. 中药植物多糖抗皮肤光老化的研究进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2016, 32(4): 396-400.
- [13] 应鹏云,黄诗雨,陈丽华,等. 基于皮肤微生态环境中药挥发油作用特点分析 [J]. 中成药, 2021, 43(8): 2141-2145.
- [14] 高璐,吴建美,刘登宇,等. 中药合剂对皮肤浅部真菌的体外抑菌作用 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2022, 36(1): 32-36.
- [15] 孟宏. 中医药理论和中药组方技术在化妆品开发中的应用 [J]. 轻工学报, 2017, 32(3): 21-26.
- [16] 马飞,耿艳楠,王友龙,等. 基于中医传承辅助系统的湿疹外治方剂组方配伍规律研究 [J]. 国际中医中药杂志, 2018, 40(9): 829-831.
- [17] 郭鸿胜,郑钟毓,伍嘉慧,等. 唾液乳杆菌与蛹虫草或铁皮石斛共培养提取物的抗炎作用: 治疗皮肤湿疹的可能应用 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4417-4427.
- [18] 刘亮,叶润明. 基于真实世界研究泛发性湿疹与代谢相关性疾病的临床相关性分析及中药治疗的临床研究 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(5): 1165-1168.
- [19] 贾颖,赵婧,萧猷勤. 党参复方提取物的活性及洗发液

- 制备与质量研究 [J]. 日用化学工业, 2021, 51(5): 421-427.
- [20] 卢秀霞, 潘婷婷, 杨杏, 等. 茶树油凝胶的制备及其药效学与刺激性评价 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 5082-5092.
- [21] 黄玉荣, 张红强, 游蓉丽, 等. 青黛散外用凝胶对特异性皮炎小鼠的改善作用研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2023, 28(1): 19-28.
- [22] 周一彤, 赵艳霞. 挖掘中医古籍文献再次探讨湿疹的病因病机 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2021, 20(5): 514-516.
- [23] 何欢, 薛震宇, 毛豪丽, 等. 长时间七氟烷暴露对老年小鼠前额叶皮质代谢组学的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(12): 1375-1380.
- [24] Shen M X, Xiao Y, Su J, *et al.* Prevalence and patient-reported outcomes of noncommunicable skin diseases among college students in China [J]. *JAAD Int*, 2020, 1(1): 23-30.
- [25] 王黎明, 刘昱彤, 王欢, 等. 婴儿湿疹发病相关危险因素调查分析 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2019, 33(2): 205-210.
- [26] 周琴, 古桂雄, 叶侃, 等. 婴儿湿疹发病相关因素分析 [J]. 中国儿童保健杂志, 2019, 27(11): 1240-1242.
- [27] 刘婷, 牟韵竹, 侯秀芹, 等. 皮炎湿疹患者皮损病原菌感染鉴定、免疫水平与进展分析 [J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(11): 1342-1345.
- [28] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 211, 328.
- [29] 阳春林, 葛晓舒. 湖南省中医单方验方精选·外科 (上册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 651, 660, 753.
- [30] 钟嘉丽, 梁丹灵, 李丹, 等. 基于网络药理学观察苦参与蛇床子抗皮肤瘙痒的协同作用机制 [J]. 广州中医药大学学报, 2017, 34(5): 742-752.
- [31] 徐银兰. 苦参碱与蛇床子素协同抗 PCV2 作用及干预细胞凋亡的机制 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2020.
- [32] Zeng Z W, Huang J Q, Chen Y, *et al.* Acupoint autohemotherapy attenuates atopic dermatitis lesions by regulating Th1/Th2 balance in DNCB-induced BALB/c mice [J]. *Chin J Integr Med*, 2022, 28(7): 612-619.
- [33] 韩丽颖, 于浩, 李天娇, 等. 基于代谢组学的经典名方槐花散治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(5): 1300-1309.
- [34] 韩彦琪, 姚鹏飞, 卜睿臻, 等. 基于代谢组学的痹祺胶囊治疗类风湿性关节炎作用机制研究 [J]. 中草药, 2023, 54(23): 7662-7672.
- [35] 陈旭刚, 屈树兰, 陈龙. 基于 LC-MS 研究肉桂醛对急性溃疡性结肠炎小鼠代谢组学的影响 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(1): 88-96.
- [36] 马丽霞, 亓雅丽, 庄欣雅, 等. 中药外用制剂的品质传递过程与评价方法研究进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(1): 9-17.

[责任编辑 潘明佳]