

引用:成璐,康建英,颜丽珊,顾春宇,黄芷珊,李嘉佳,谭洪玲,刘文玲,邱新宇,贾占红,韩冰,张翼. 茯虎祛湿方通过抑制FGFR4/NF-κB信号通路改善小鼠湿疹的作用研究[J]. 中医导报, 2026, 32(2): 36-46.

茯虎祛湿方通过抑制FGFR4/NF-κB信号通路改善小鼠湿疹的作用研究*

成璐¹, 康建英¹, 颜丽珊¹, 顾春宇¹, 黄芷珊¹, 李嘉佳¹, 谭洪玲¹,
刘文玲¹, 邱新宇¹, 贾占红¹, 韩冰², 张翼¹

(1.北京中医药大学, 北京 100102;

2.黑龙江省济仁药业有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150000)

[摘要] 目的:探究茯虎祛湿方(FH)对2,4-二硝基氯苯(DNCB)诱导的急、慢性湿疹模型小鼠的治疗作用。方法:采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术对FH化学成分进行分析鉴定;建立DNCB刺激诱导的急、慢性湿疹小鼠模型,观测湿疹小鼠搔痒次数及其耳肿胀度;采用苏木素-伊红(HE)染色法观察慢性湿疹小鼠耳组织的病理变化;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测慢性湿疹小鼠血清IL-1β和IgE的水平;采用免疫组织化学染色法检测慢性湿疹小鼠耳组织TNF-α、IL-6、p-p65、p-p38和FGFR4表达;应用分子对接技术对响应排名前5的化学成分与FGFR4之间的亲和力进行验证。结果:FH中含有丹皮酚、白鲜碱、鞣酮、虎杖苷、黄芩苷、芦丁、槲皮素、牡丹皮苷E、芍药苷、没食子酰芍药苷等96种化学成分。与对照组比较,模型组小鼠搔痒次数显著增加,耳肿胀明显;慢性湿疹模型组小鼠表皮层出现角化过度或角化不全,颗粒层及棘层肥厚,真皮层水肿及炎症细胞浸润,血清中IL-1β和IgE水平升高($P < 0.05$),且耳组织中TNF-α、IL-6、TLR4、p-p65和p-p38的表达增加($P < 0.05$)。与模型组比较,FH给药能减少急、慢性湿疹小鼠搔痒次数,减轻其耳肿胀情况,改善慢性湿疹小鼠病理表现,降低其血清中IL-1β和IgE水平($P < 0.05$)。分子对接结果显示,FH中主要成分与FGFR4具有较好的亲和力。免疫组化结果显示,FH能抑制慢性湿疹小鼠耳组织FGFR4、p-p65、p-p38、TNF-α和IL-6的表达。结论:FH能抑制DNCB诱导的湿疹模型小鼠的炎症反应,其机制与抑制FGFR4/NF-κB信号通路相关。

[关键词] 湿疹;茯虎祛湿方;成分分析;FGFR4/NF-κB信号通路

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)02-0036-11

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2026.02.007

Fuhu Qushi Formula (茯虎祛湿方) Ameliorates Eczema in Mice by Inhibiting the FGFR4/NF-κB Signaling Pathway

CHENG Lu¹, KANG Jianying¹, YAN Lishan¹, GU Chunyu¹, HUANG Zhishan¹, LI Jiajia¹, TAN Qiling¹,

LIU Wenling¹, QIU Xinyu¹, JIA Zhanhong¹, HAN Bing², ZHANG Yi¹

(1.Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2.Heilongjiang Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Harbin Heilongjiang 150000, China)

[Abstract] Objective: To investigate the therapeutic effect of Fuhu Qushi formula (FH) on acute and chronic eczema mouse models induced by 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB). Methods: The chemical constituents of FH were analyzed and identified using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS). Acute and chronic eczema mouse models were established by stimulation with DNCB. Scratching episodes and ear swelling in the eczema mice were recorded. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe histopathological changes in the ear tissue of chronic eczema mice. Serum levels of interleukin-1β (IL-1β) and immunoglobulin E (IgE) in chronic eczema mice were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), p-p65, p-p38, and FGFR4 in the ear tissue was detected by immunohistochemistry. Molecular docking

*基金项目:北京中医药大学企业合作项目(BUCM-2023-JS-FW-011)

通信作者:张翼,男,副教授,研究方向为中药防治代谢性及呼吸系统疾病的药理研究

was used to validate the affinity between the top five chemical components (based on response ranking) and FGFR4. Results: A total of 96 chemical components were identified in FH, including paeonol, dictamine, fraxinellone, polydatin, baicalin, rutin, quercetin, mudanpioside E, paeoniflorin, and galloylpaeoniflorin. Compared with the control group, the model group showed significantly increased scratching episodes and more severe ear swelling. In the chronic eczema model group, the epidermis exhibited hyperkeratosis or parakeratosis, thickening of the granular and prickle cell layers, dermal edema, and inflammatory cell infiltration. Serum levels of IL-1 β and IgE were elevated ($P<0.05$), and the expression of TNF- α , IL-6, TLR4, p-p65, and p-p38 in ear tissue was increased in the chronic eczema model group ($P<0.05$). Compared with the model group, FH administration significantly reduced scratching episodes and alleviated ear swelling in both acute and chronic eczema mice, improved histopathological manifestations, and decreased serum levels of IL-1 β and IgE ($P<0.05$). Molecular docking results showed good binding affinity between the main components of FH and FGFR4. Immunohistochemical results showed that FH significantly inhibited the expression of FGFR4, p-p65, p-p38, TNF- α , and IL-6 in the ear tissue of chronic eczema mice. Conclusion: Fuhu Qushi formula can inhibit the inflammatory response in DNCB-induced eczema model mice, and the mechanism is related to the inhibition of the FGFR4/NF- κ B signaling pathway.

[Keywords] eczema; Fuhu Qushi formula; component analysis; FGFR4/NF- κ B signaling pathway

湿疹是一种常见的由内外多种因素共同作用引起的皮肤炎症性疾病,根据病程和临床特点可分为急性、亚急性和慢性三类,其主要表现为皮损、红肿、瘙痒、水疱及苔藓样病变等^[1]。近年来湿疹的发病率不断上升^[2],尤其好发于儿童,严重影响人们的生活质量^[3]。湿疹发病机制尚不明确,目前多认为其与免疫功能异常、内分泌变化和菌群失调等相关^[4]。目前西医多采用皮质类固醇、抗组胺药物和免疫抑制剂等进行治疗^[5],短期内可改善瘙痒和皮损症状,但长时间使用会引起皮损面感染、皮肤萎缩、停药后易反复等不良反应^[6]。中医学认为湿疹发病与体内脏腑功能失调相关,也与禀赋不耐、饮食不节及风、湿、热邪有密切关系^[7]。研究表明,中医药治疗湿疹具有一定的疗效^[8],且副作用较少^[9-10]。茯虎祛湿方(FH)由土茯苓、徐长卿、白鲜皮、虎杖、黄芩、连翘、牡丹皮和赤芍8味中药组成,临床上常用于皮肤灼热、瘙痒剧烈、伴发热口渴等风热蕴肤所致红色丘疹、急性慢性非特异性皮炎、湿疹等症的治疗。但是其所含成分不清且相关药理作用不明,严重制约了其临床应用。湿疹的发病机制与炎症反应密切相关,抑制机体的免疫反应是湿疹药物治疗的核心。研究表明,NF- κ B信号通路在湿疹患者皮损中常过度激活,是湿疹治疗的潜在靶点^[11]。而成纤维细胞生长因子受体4(FGFR4)参与调控NF- κ B信号通路的激活^[12]。因此,本实验建立了2,4-二硝基氯苯诱导的急、慢性湿疹小鼠模型,评价FH对湿疹模型小鼠的治疗效果,并基于FGFR4/NF- κ B信号通路对其相关药理作用机制进行研究,为FH临床治疗湿疹提供药效学基础。

1 材 料

1.1 实验动物 120只4周龄(体质量18~23 g)SPF级雄性ICR小鼠购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0010;动物质量合格证号:110324231103421737,110324231103839352。使用许可证编号:SYXK(京)2023-0011)。所有小鼠饲养于北京中医药大学中药学院中药药理系动物房,温度22~23 $^{\circ}$ C,相对湿度50%~55%,12 h/12 h明暗光

照周期,实验期间小鼠均可自由饮水、进食。本实验经北京中医药大学动物实验伦理委员会批准(伦理号:BUCM-1-2024011501-001)。

1.2 FH提取物粉末的制备 FH提取物粉末由黑龙江省济仁药业有限公司提供(批号:20230301)。处方组成:土茯苓、徐长卿、白鲜皮、虎杖、黄芩、连翘、牡丹皮、赤芍。制备步骤如下:称取处方量药材,提取2次,第一次加8倍量水,煎煮40 min,滤过,第二次加6倍量水,煎煮30 min,滤过,合并滤液,浓缩,干燥,即得(每1 g提取物粉末相当于生药5.3 g)。

1.3 实验药物与试剂 氯雷他定片(LOR,拜耳医药上海有限公司,批号:JS19289);甲醇(批号:222634)、乙腈(批号:F25P57212)、甲酸(批号:243922)均购自美国Thermo Fisher公司;2,4-二硝基氯苯(DNCB,上海贤鼎生物科技有限公司,批号:ETHKLUL);多聚甲醛固定液(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号:GP2302302);白细胞介素-1 β (Interleukin-1 Beta, IL-1 β)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒(批号:L230531677)、免疫球蛋白E(Immunoglobulin E, IgE)ELISA检测试剂盒(批号:L230417298)均购自武汉云克隆科技股份有限公司;IL-6(批号:AC230511203)、TNF- α (批号:AC230514002)、HRP标记的山羊抗兔IgG(批号:AC2306131203)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;FGFE4(美国Proteintech公司,批号:10017500);p-p38(批号:13)、p-p65(批号:19)均购自美国Cell Signaling Technology公司。

1.4 实验仪器 ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(Waters, 2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μ m);synapt G2si Waters Q-TOF高分辨液质联用仪(Waters);I-Class超高效液相色谱(Waters);Vortex-2 Genie涡旋混合器(Scientific Industries);WD-9415C超声波清洗器(北京市六一仪器厂);BioTek EPOCH酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);5810R台式高速冷冻离心机(德国艾本德公司)。

2 方 法

2.1 FH成分鉴定 委托清华大学药学院药学技术中心对FH进行成分鉴定。步骤如下:称取50 mg FH提取物粉末加入1 mL 80%甲醇,超声提取20 min(功率220 W,频率40 kHz),取出冷却后经0.22 μm滤膜过滤,取续滤液加入进样瓶中,待UPLC-MS/MS分析。

采用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)。流动相由A(去离子水,含0.1%甲酸)和B(乙腈,含0.1%甲酸)组成,梯度洗脱条件如下:0~1.5 min, 100%A; 1.5~70 min, 100%B; 70~72 min, 100%B。流速为0.3 mL/min,柱温为35 ℃,进样量为10 μL。

采用Q-TOF高分辨质谱仪进行质谱数据采集,检测模式为MSe,正离子和负离子模式分别扫描,扫描范围为m/z 100~1 500,离子源电压为2.0 kV,锥孔电压20 V,离子源温度为120 ℃,脱溶剂温度为360 ℃,锥孔气流速为50 L/min,脱溶剂气流速为600 L/min,触发MSe扫描的碰撞能量采用阶梯式碎裂电压NCE,设置为20~50 V。

2.2 造模及给药 急、慢性湿疹模型参照文献[13]进行制备。急性湿疹小鼠模型:随机将小鼠分为对照组、模型组、FH低剂量组(2.1 g/kg)、FH中剂量组(4.2 g/kg)、FH高剂量组(8.4 g/kg)及LOR组(0.005 2 g/kg),每组10只。各组小鼠适应性饲养1周后,于实验前1 d在其背部选取2 cm×2 cm大小区域进行脱毛。实验当天,除对照组外,其余各组小鼠于去毛区涂以100 μL的7%DNCB液(丙酮:大豆油=4:1)致敏。致敏24 h后,各组按相应剂量灌胃给药,1次/d。5 d后,对照组小鼠左右耳均涂以等量基质溶液,其余各组致敏小鼠右耳内侧涂以10 μL的1% DNCB液进行激发,左耳涂以等量基质溶液,小鼠右耳出现明显的红肿。24 h后将小鼠脱颈椎处死,FH低剂量组在实验过程中死亡1只。

慢性湿疹小鼠模型:随机将小鼠分为对照组、模型组、FH低剂量组(2.1 g/kg)、FH中剂量组(4.2 g/kg)、FH高剂量组(8.4 g/kg)及LOR组(0.005 2 g/kg),每组各10只。各组小鼠适应性饲养1周后,于实验前1 d在其背部选取2 cm×2 cm大小区域进行脱毛。实验当天,除对照组外,其余各组小鼠于去毛区涂以100 μL的7%DNCB液致敏。实验第7、10、13、16天,除对照组外,其余各组致敏小鼠右耳内侧涂以10 μL的1%DNCB液,左耳涂以等量基质溶液,共激发4次。末次激发结束肉眼可观察到小鼠耳部、背部出现干燥粗糙、暗红斑、褐色结痂等特征皮损,证明模型制备成功。致敏24 h后,各组按相应剂量灌胃给药,1次/d。末次给药96 h后,取血后将小鼠脱颈椎处死。

2.3 观察指标

2.3.1 搔痒次数 小鼠后爪对耳部及其附近部分进行抓挠视为搔痒开始,到后爪落地视为结束。末次激发后,从小鼠第1次搔痒开始计时,监测小鼠10 min内搔痒次数。

2.3.2 耳质量差及耳厚差 小鼠处死后,沿小鼠耳朵基线剪取双耳,用直径0.6 mm的打孔器在双耳中部相同位置打孔,取其耳片,分析天平称质量并计算小鼠左右耳质量差。耳质量差(mg)=右耳质量-左耳质量。用游标卡尺测量各组小鼠左右耳同一位置的厚度,计算耳厚差。耳厚差(mm)=右耳厚度-左耳厚度。

2.3.3 苏木素-伊红(HE)染色观察湿疹小鼠耳部病理变化 慢性湿疹小鼠耳部病理学切片委托武汉赛维尔生物科技有限公司进行制备,步骤如下:取慢性湿疹小鼠耳片置于4%多聚甲醛固定液中固定,石蜡包埋,HE染色,光镜下观察小鼠耳组织变化,进行病理学评分。评分标准为角化程度、表皮增厚、真皮水肿及炎性浸润之和,具体评分如下。角化程度:相对正常0分,轻度1分,中度2分,重度3分;表皮增厚:相对正常0分,轻度1分,中度2分,重度3分;真皮水肿:相对正常0分,轻度1分,中度2分,重度3分;炎性浸润:相对正常0分,轻度1分,中度2分,重度3分。此外,采用Ando analysis软件对小鼠耳切片厚度进行计算分析。

2.3.4 ELISA检测血清IL-1β、IgE水平 慢性湿疹小鼠血液静置2 h后,3 000 r/min离心10 min(离心半径9.5 cm),取上层血清于-20 ℃保存待用。按ELISA试剂盒说明书进行操作,检测血清IL-1β和IgE水平。

2.3.5 免疫组织化学(IHC)检测湿疹小鼠耳部TNF-α、IL-6、TLR4、p-p965和9-p938表达 慢性湿疹小鼠耳部免疫组织化学检测委托武汉赛维尔生物科技有限公司进行,步骤如下:石蜡切片脱蜡至水后,进行抗原修复,待玻片自然冷却后将其置于PBS中洗涤3次,5 min/次,再将切片放入3%双氧水溶液中,室温避光孵育25 min,将玻片置于PBS中洗涤3次,5 min/次,在组化圈内滴加3%BSA均匀覆盖组织,室温封闭30 min。随后滴加相应一抗(TNF-α、IL-6、TLR4、p-p65和p-p38),将切片平放于湿盒内4 ℃孵育过夜。次日洗涤玻片,将切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗(HRP标记)覆盖组织,室温孵育50 min。切片洗涤稍甩干后在圈内滴加新鲜配制的DAB显色液,显微镜下控制显色时间,阳性为棕黄色,终止显色后复染细胞核,最后脱水封片。将玻片置于显微镜下观察炎症因子的阳性表达,随机挑选3个视野,使用Image-Pro Plus 6.0软件进行图像分析。

2.4 统计学方法 所有实验数据均以“均值±标准误”(Mean±SE)表示,通过GraphPad Prism 8.0.2软件对其进行处理,多组比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两组间比较采用Dunnnett法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS的FH成分分析及鉴定

3.1.1 总离子流图 采用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术对FH化学成分进行定性分析,分别得到其在正、负离子模式下的总离子流图。(见图1)

3.1.2 化合物鉴定结果 对原始Raw质谱数据特征峰进行提取,特征峰元素匹配、分子式预测及同位素分布匹配的质量偏差均设置为10 ppm以内¹⁴。经过手动确证和重复结果剔除后,筛选出丹皮酚、白鲜碱、栲酮、虎杖苷、黄芩苷、芦丁、槲皮素、牡丹皮苷E、芍药苷、没食子酰芍药苷等96个化合物。(见表1)并选取响应排名前10的主要成分进行质谱裂解结构解析。

3.1.2.1 黄芩苷(Baicalin) 正离子模式可见其分子离子峰m/z 447[M+H]⁺,其特征碎片离子为m/z 271、m/z 253、m/z 169、m/z 123以及m/z 103,其中m/z 271为准分子离子峰脱去葡萄糖酸(-GLuA)得到的碎片峰,m/z 253为m/z 271脱去-H₂O得到的碎片峰,m/z 169和m/z 103为m/z 271发生RDA裂解得到的碎

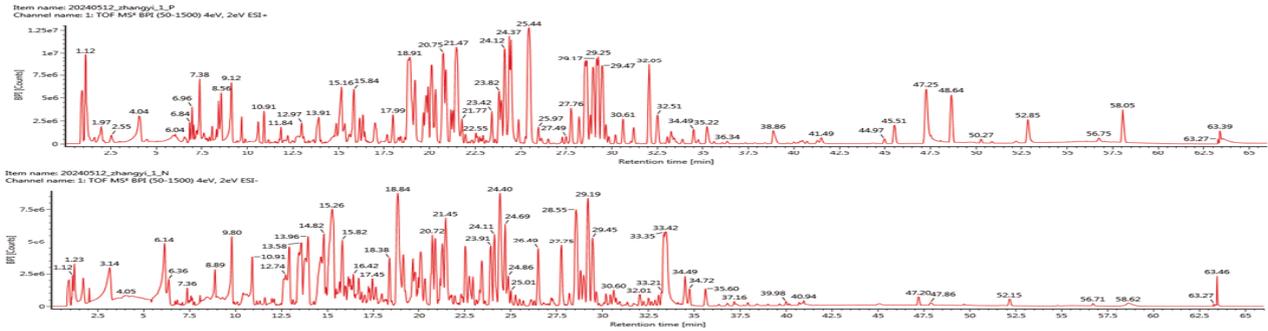


图1 茯虎祛湿方正、负模式下总离子流图

表1 茯虎祛湿方所含化学成分的鉴定

编号	tR/min	化合物	分子式	实测值m/z	误差值ppm	离子模式	来源	子离子
1	1.7218.87	蔗糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	365.104 2	-3.4	+Na, +H, +NH ₄	牡丹皮	325.112 9, 163.060 1, 145.049 5, 127.039 0
2	2.1621.47	(+)-Suspensaside A	C ₂₀ H ₃₄ O ₁₅	621.176 1	-10.2	-H	连翘	128.084 3, 396.179 0
3	7.0918.87	苯乙酸	C ₈ H ₈ O ₂	137.060 3	4.2	+H	黄芩	
4	7.7629.22	4-[2-(BETA-D-吡喃葡萄糖基氧基)乙基]-4-羟基-2,5-环己二烯-1-酮	C ₁₄ H ₂₀ O ₈	315.106 0	-7.9	-H	连翘	108.058 1, 153.055 7, 149.081 9
5	8.2624.43	连翘酸-1'-O-β-D-葡萄糖苷	C ₁₄ H ₂₄ O ₉	337.148 0	-3.9	+H	连翘	132.078 1, 117.054 6, 162.088 7
6	8.8128.58	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	127.039 3	2.5	+H	土茯苓	
7	9.425.45	大黄素-8 B-D-葡萄糖苷 A	C ₂₂ H ₃₂ O ₁₀	445.115 3	2.9	-H	虎杖	101.060 8, 372.121 4
8	9.813.57	土茯苓苷 E	C ₂₄ H ₃₈ O ₂₁	923.272 1	11.5	-H, +CH ₃ COO, 44+HCOO	土茯苓	143.071 4, 131.171 4, 101.060 8, 115.076 5
9	10.3724.13	正丁基-β-D-呋喃果糖苷	C ₁₀ H ₂₀ O ₆	237.134 3	4.4	+H	土茯苓	160.073 0, 146.057 4
10	12.1321.47	O-Ethylnor-γ-fagarine	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	244.097 3	2.1	+H	白鲜皮	
11	12.2132.05	苯丙酸	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166.086 9	3.7	+H	赤芍	
12	12.7329.48	芍药内酯苷	C ₂₃ H ₃₈ O ₁₁	481.171 2	1.6	+H, +Na	赤芍	105.033 5, 197.080 8, 319.117 6, 151.075 4
13	12.9728.99	椴叶吴萸素 B	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	319.118 2	1.8	+H	赤芍	105.033 5, 197.080 8, 133.064 8, 151.075 4
14	12.9719.19	芍药苷	C ₂₃ H ₃₈ O ₁₁	481.171 1	1.3	+H, +Na, +NH ₄	赤芍	105.033 5, 197.080 8, 319.117 6, 151.075 4
15	12.9720.11	芍药内苷 B	C ₁₆ H ₁₈ O ₄	197.081 5	3.4	+H	赤芍	133.064 8, 151.075 4, 179.070 3, 161.059 7
16	13.5719.8	牡丹皮苷 E	C ₂₄ H ₃₈ O ₁₃	525.166 3	9.5	-H	牡丹皮	327.144 9, 165.092 1, 182.058 5, 169.050 6, 495.150 8, 345.155 5
17	14.3419.66	Suffruticoside A	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	611.156 6	-8.5	-H, +HCOO	牡丹皮	169.050 6, 343.139 9
18	14.5420.34	Suffruticoside C	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	611.155 5	-10.2	-H	牡丹皮	469.098 8, 205.108 2, 101.068 0, 563.140 6
19	14.7523.82	花椒毒素	C ₁₆ H ₈ O ₄	217.050 2	2.9	+H	白鲜皮	
20	14.9819.92	7,8-Dimethoxymyrtoxin	C ₁₇ H ₂₁ NO ₆	336.144 6	1.4	+H, +Na	白鲜皮	
21	14.9820.9	3,4-2,6-二甲氧基苯甲醛	C ₈ H ₁₀ O ₃	167.071 0	4.6	+H	赤芍	
22	15.16.41	Wogonoside(Wogonin-7-O-β-D-glucuronide)	C ₂₂ H ₃₂ O ₁₀	445.115 7	3.8	-H	连翘	313.092 9, 300.027 6
23	15.2320.95	粘毛黄芩素 I	C ₁₅ H ₁₆ O ₇	303.050 9	3.2	+H	黄芩	163.039 0, 145.028 4
24	15.2432.52	芦丁	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₆	611.161 4	1.3	+H	白鲜皮	325.071 8, 163.039 0, 471.149 7
25	15.323.42	白藜芦醇	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	229.086 4	2.1	+H, -e, +NH ₄	虎杖	135.044 1, 117.033 5, 107.049 1
26	15.3128.82	毛蕊花糖苷	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₅	647.195 6	1.5	+Na, +H, +NH ₄	连翘	325.091 8, 163.039 0, 471.149 7
27	15.4815.3	(2S)-5,7,2',6'-Tetrahydroxy flavanone	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	289.071 2	1.8	+H	黄芩	271.060 1, 153.018 3, 167.070 3, 147.044 1
28	15.4917.01	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.034 8	-1.9	-H	土茯苓	269.049 1, 284.032 5, 245.045 6
29	15.7231.21	山奈酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.055 6	2	+H	虎杖	269.044 4, 123.044 1, 121.028 4, 241.049 5
30	16.0319.97	二氢槲皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	305.066 1	1.6	+H	土茯苓	153.018 2, 163.039 0, 217.060 1
31	16.4112.97	罗汉松脂苷	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₁	519.192 8	10.9	-H, +HCOO	连翘	151.076 5, 357.170 8, 136.061 5, 121.06 9, 293.139 5, 342.132 0, 285.076 85
32	16.5112.97	Platydesmine	C ₁₅ H ₁₇ NO ₃	260.128 0	-0.3	+H	白鲜皮	188.070 6
33	16.612.97	Rengyolester	C ₁₆ H ₂₂ O ₃	293.137 6	-6.3	-H	连翘	163.076 5, 149.060 8
34	16.6724.33	5,2',6'-Trihydroxy-7,8-dimethoxy-flavone-2'-O-β-D-glucopyranoside	C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂	493.133 2	-1.6	+H, +Na	黄芩	331.081 2, 298.047 2, 447.092 2
35	16.8712.73	Baicalein-7-O-β-D methyl glucopyranosiduronic acid	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₁	461.109 5	3.7	+H	黄芩	285.075 8, 153.018 2, 270.052 3, 345.081 6
36	16.915.49	对羟基苯乙酸	C ₈ H ₈ O ₃	153.055 4	4.8	+H	连翘	91.054 2
37	16.9122.94	黄樟素	C ₈ H ₁₀ O ₂	180.102 0	0.8	+NH ₄ , +H	连翘	121.028 4
38	16.9723.37	没食子酰芍药苷	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₅	633.181 9	0.9	+H, +Na, +NH ₄	赤芍	153.018 2, 105.033 5, 128.046 8, 137.059 7
39	17.0118.28	异白鲜碱	C ₁₂ H ₉ NO ₂	565.190 9	-3.1	+HCOO, -H	连翘	449.124 2, 295.097 6, 285.076 9, 151.0400 7, 303.087 4

续表1:

编号	tR/min	化合物	分子式	实测值m/z	误差值ppm	离子模式	来源	子离子
40	17.0115.72	(+)-Pinoresinol-O-β-D-glucopyranoside	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	565.190 9	-3.1	+HCOO, -H	连翘	449.124 2, 295.097 6, 285.076 9, 151.0400 7, 303.087 4
41	17.3917.01	芍药内酯苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	481.170 3	-0.3	+H, +Na	赤芍	197.080 8, 105.033 5, 361.071 8, 133.064 8
42	17.6726.52	牡丹皮苷 I	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	481.170 7	0.5	+H, +Na, +NH ₄	牡丹皮	197.080 8, 105.033 5, 179.070 3, 151.075 4
43	18.179.8	罗汉松脂素	C ₂₃ H ₂₂ O ₆	359.149 6	2	+H	连翘	137.059 7, 123.044 0, 131.049 1
44	18.2817.67	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.055 8	2.6	+H	白鲜皮	
45	18.4125.28	2,5-二甲基-7-羟基色酮	C ₁₁ H ₁₀ O ₃	191.071 1	4.4	+H	虎杖	105.033 5, 177.054 6
46	18.6514.75	6-Methoxyisodictamine	C ₁₄ H ₁₁ NO ₃	230.081 8	2.7	+H	白鲜皮	
47	18.8719.26	黄芩苷	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	447.092 3	0.3	+H, +Na	黄芩	271.060 1, 123.007 7, 253.050 0, 169.013 2, 433.112 9
48	18.8722.94	黄芩素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.060 6	1.7	+H	黄芩	253.049 5, 123.007 7, 169.013 2, 103.054 2
49	18.9826.1	连翘苷	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₁	579.203 9	-7.6	+HCOO, -H	连翘	329.103 1, 356.147 7, 314.079 6
50	18.9818.98	Baicalein-7-O-β-D glucopyranoside	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₀	433.113 2	0.6	+H	黄芩	417.118 0, 301.034 3, 331.081 2, 297.075 8
51	19.1912.21	粘毛黄芩素 III	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	347.076 5	1	+H	黄芩	169.013 6, 331.080 9, 301.034 9, 289.034 9
52	19.1920.19	Acetylpaenoniflorin	C ₂₂ H ₃₀ O ₁₂	521.171 2	9	-H, +HCOO	赤芍	285.076 9, 345.098 0, 149.060 8, 330.074 5, 281.103 1
53	19.2616.6	6-Hydroxyaloemodin	C ₁₈ H ₁₀ O ₆	287.055 6	1.9	+H	虎杖	150.031 2, 121.028 4, 269.044 4, 176.010 4
54	19.6618.98	牛蒡子苷	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₁	579.204 3	-6.9	+HCOO, -H	连翘	356.154 2, 287.091 4, 121.065 9
55	19.818.41	柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273.076 3	2	+H	土茯苓	131.049 1, 137.059 7, 103.054 2, 123.007 7
56	19.9219.19	7,3'-二羟基-3'-甲氧基异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.076 1	1.3	+H	土茯苓	271.060 1, 105.033 5, 252.041 7, 269.044 4
57	19.9718.65	苯甲酰氧基芍药苷	C ₂₀ H ₁₂ O ₁₃	599.170 2	-11.4	-H	赤芍	447.093 3, 137.060 8, 430.111 7, 283.097 6
58	20.1114.98	大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.060 7	2.2	+H, -e, +NH ₄	虎杖	105.033 5, 253.049 5, 241.049 6, 252.041 7
59	20.1516.87	Norskimmianine	C ₁₅ H ₁₁ NO ₄	246.076 6	2	+H	白鲜皮	95.012 8, 151.062 8, 152.070 6
60	20.1917.39	滨蒿内酯	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	207.065 9	3.6	+H	连翘	
61	20.3416.67	山奈素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301.071 3	2.2	+H	赤芍	286.047 2, 285.075 8, 270.052 3, 131.049 1, 152.010 4
62	20.928.98	迷人醇	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301.071 4	2.3	+H	虎杖	286.047 2, 287.055 0, 269.044 4, 151.039 0
63	20.9520.15	Fraxinellonone	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	247.097 3	3.1	+H	白鲜皮	205.085 9, 214.062 5, 190.062 5, 180.078 1
64	21.0214.34	落新妇苷	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₁	449.103 9	-H	-H	土茯苓	169.050 6, 151.040 0, 137.060 8
65	21.3214.98	大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₀ O ₁₀	433.113 5	1.4	+H, +Na	虎杖	283.060 1, 163.060 1, 297.085 8, 145.050 0
66	21.4731.06	汉黄芩苷	C ₂₀ H ₁₆ O ₁₁	461.108 5	1.4	+H, +Na	黄芩	270.053 1, 285.076 3, 433.114 4, 252.041 7
67	21.4715.23	大黄素-8-甲醚	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.076 5	2.7	+H, -e	虎杖	270.053 1, 241.050 5, 252.042 4, 269.045 4
68	22.9416.51	苯甲酰芍药苷	C ₂₀ H ₁₂ O ₁₂	585.196 2	-0.7	+H, +Na	赤芍	105.033 5, 319.117 6, 151.075 4, 197.080 8
69	22.941.72	芍药甙元酮	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	319.118 0	1.2	+H	赤芍, 徐长卿, 牡丹皮	105.033 9, 151.076 0, 197.081 1, 249.076 4
70	23.0821.32	虎杖苷	C ₂₃ H ₂₂ O ₈	389.127 3	8.1	-H, CH ₃ COO, +HCOO	土茯苓, 虎杖	271.097 6, 281.081 9
71	23.327.76	epi-Pinoresinol	C ₂₆ H ₃₂ O ₆	359.149 6	1.9	+H, +Na	连翘	137.059 7, 151.039 0
72	23.3714.54	茵芋碱	C ₁₆ H ₁₃ NO ₄	260.092 1	1.5	+H, +Na	白鲜皮	197.010 7, 201.042 1, 227.057 8
73	23.4215.48	1,8-Dihydroxy-6-methoxy-3-methylanthraquinone (Physcion)	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.076 1	1.3	+H	虎杖	151.040 6, 270.053 1, 252.042 5
74	23.829.4	γ-崖椒碱	C ₁₅ H ₁₁ NO ₃	230.081 8	2.6	+H, +Na	白鲜皮	200.034 2, 215.057 7, 186.055 0, 181.015 8
75	24.1316.03	ω-羟基大黄素-8-甲醚	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	301.071 3	2.3	+H, +Na	虎杖	286.048 0, 271.060 7, 105.033 8, 283.060 6
76	24.3333.59	丹皮酚	C ₉ H ₁₀ O ₃	167.071 1	4.9	+H	赤芍, 徐长卿, 牡丹皮	134.036 2
77	24.4315.24	芹菜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.060 8	2.8	+H	虎杖	123.008 5, 253.049 5, 77.038 6
78	25.2812.13	5,7,4'-三羟基-3'-甲氧基异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301.071 3	2	+H	白鲜皮	283.060 1, 286.047 2
79	25.3329.09	Forsythenside A	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	451.159 5	-0.8	+H, +Na	连翘	168.005 3
80	25.4516.97	白鲜碱	C ₁₇ H ₁₉ NO ₂	200.071 3	3.4	+H	白鲜皮	185.048 1
81	26.123.32	(2S)-5,7-Dihydroxy-6-methoxy-flavanone-7-O-β-D glucopyranoside	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	447.124 9	-10.6	-H	黄芩	122.073 7, 343.067 0
82	26.5216.91	吴茱萸苦素	C ₂₃ H ₃₀ O ₉	487.195 9	-0.8	+H, +NH ₄	白鲜皮	283.060 1, 161.059 7, 153.018 2, 385.164 6
83	28.247.09	黄柏酮酸	C ₂₆ H ₃₂ O ₈	473.216 7	-0.5	+H, +Na, +NH ₄	白鲜皮	153.018 2, 147.044 1, 405.133 3, 152.010 4
84	28.5828.24	汉黄芩素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.076 3	1.8	+H, +Na	白鲜皮	270.053 1, 241.050 1, 252.042 3, 168.005 9
85	28.8210.37	白杨素	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	255.065 8	2.2	+H	黄芩	153.018 2, 129.033 4, 147.044 1, 123.007 8
86	28.9818.17	大黄酸	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.040 6	4.3	+H	虎杖	225.054 6
87	28.9915.31	黄芩黄酮 I	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	315.086 9	1.9	+H, +Na, -e	黄芩	285.039 4, 257.044 4, 282.052 3, 153.018 2
88	29.0916.9	Suffruticoside D	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	611.168 1	10.4	-H	牡丹皮	371.134 8, 253.035 4
89	29.228.81	黄芩黄酮 II	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	375.108 1	1.7	+H, +Na, -e	黄芩	345.061 3, 169.013 9, 327.050 4, 227.055 6
90	29.3915	红门兰醇	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	255.104 8	8.3	-H, +e	连翘	230.094 8, 215.071 4
91	29.4825.33	木蝴蝶素 A	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.076 2	1.8	+H, -e	黄芩	270.055 3, 168.005 3, 140.010 4, 242.057 4
92	31.068.26	黄体酮	C ₂₇ H ₄₆ O ₂	315.231 8	-0.3	+H	白鲜皮	
93	31.2123.08	Dasyearine	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	304.154 8	1.5	+H	白鲜皮	216.065 5, 175.062 8, 204.065 5, 188.090 6
94	32.0521.02	黄柏酮	C ₂₆ H ₃₀ O ₇	455.206 7	0.6	+H, +Na, +NH ₄	白鲜皮	161.060 4, 409.201 0, 427.211 5, 133.064 8
95	32.5229.39	梣酮	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	233.117 8	2.5	+H, +Na, -e	白鲜皮	215.106 7, 187.111 7, 105.033 5, 95.049 1
96	33.592.16	Calodendrolide	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	261.113 1	3.8	+H, -e	白鲜皮	

片峰, m/z 123为 m/z 169脱去 $-H_2O$ 和 $-CO$ 得到的碎片峰, 根据二级碎片鉴定该化合物为黄芩苷, 可能的具体裂解途径见图2。

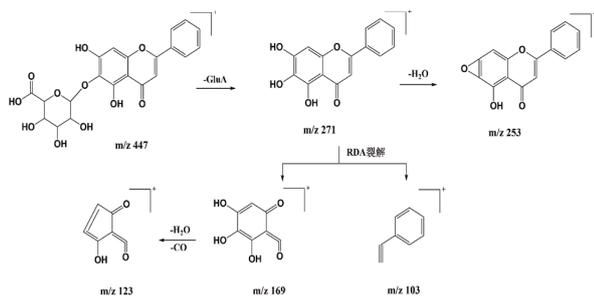


图2 黄芩苷的质谱裂解途径

3.1.2.2 汉黄芩苷(Wogonoside) 正离子模式可见其分子离子峰 m/z 461 $[M+H]^+$, 其特征碎片离子为 m/z 433、 m/z 285、 m/z 270以及 m/z 252, 其中 m/z 433为准分子离子峰脱去 $-CO$ 得到的碎片峰, m/z 285为准分子离子峰脱去葡萄糖酸($-GluA$)得到的碎片峰, m/z 270为 m/z 285脱去 $-CH_3$ 得到的碎片峰, m/z 252为 m/z 270脱去 $-H_2O$ 得到的碎片峰, 根据二级碎片鉴定该化合物为汉黄芩苷, 可能的具体裂解途径见图3。

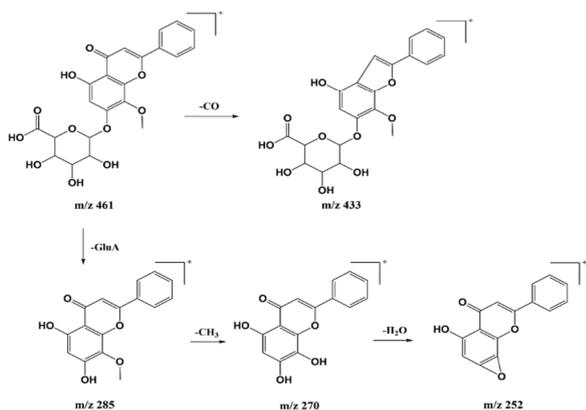


图3 汉黄芩苷的质谱裂解途径

3.1.2.3 黄芩素(Baicalin) 正离子模式可见其分子离子峰 m/z 271 $[M+H]^+$, 其特征碎片离子为 m/z 253、 m/z 169、 m/z 123以及 m/z 103, 其中 m/z 253为准分子离子峰脱去 $-H_2O$ 得到的碎片峰, m/z 169和 m/z 103为 m/z 271发生RDA裂解得到的碎片峰, m/z 123为 m/z 169脱去 $-H_2O$ 和 $-CO$ 得到的碎片峰, 其二级碎片与黄芩苷脱去葡萄糖酸后的二级碎片一致, 鉴定该化合物为黄芩素, 可能的具体裂解途径见图4。

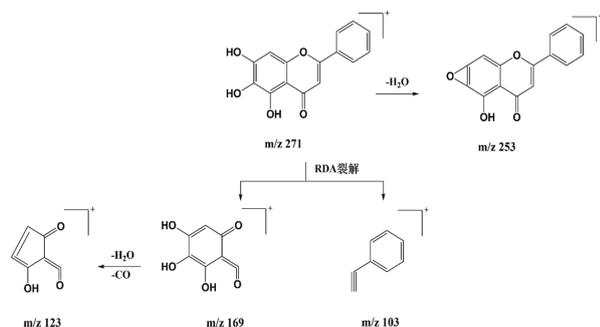


图4 黄芩素的质谱裂解途径

3.1.2.4 黄芩黄酮II(Skullcapflavone II) 正离子模式可见其分子离子峰 m/z 375 $[M+H]^+$, 其特征碎片离子为 m/z 345、

m/z 327以及 m/z 227, 其中 m/z 345为准分子离子峰脱去甲氧基 $-OCH_3$ 得到的碎片峰, m/z 327为 m/z 345脱去 $-H_2O$ 得到的碎片峰, m/z 227为 m/z 345继续脱去3分子甲氧基 $-3OCH_3$ 和 $-CO$ 得到的碎片峰, 根据二级碎片鉴定该化合物为黄芩黄酮II, 可能的具体裂解途径见图5。

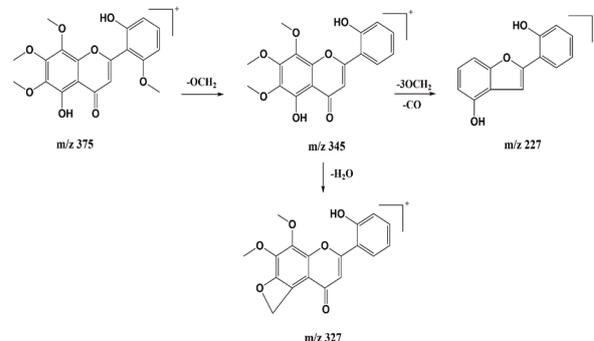


图5 黄芩黄酮II的质谱裂解途径

3.1.2.5 芹菜素(Apigenin) 正离子模式可见其分子离子峰 m/z 271 $[M+H]^+$, 其特征碎片离子为 m/z 253、 m/z 123以及 m/z 77, 其中 m/z 253为准分子离子峰脱去 $-H_2O$ 得到的碎片峰, m/z 123为准分子离子峰发生RDA裂解得到的碎片峰, m/z 77为 m/z 123继续脱去3个氧原子得到的碎片峰, 根据二级碎片鉴定该化合物为芹菜素, 可能的具体裂解途径见图6。

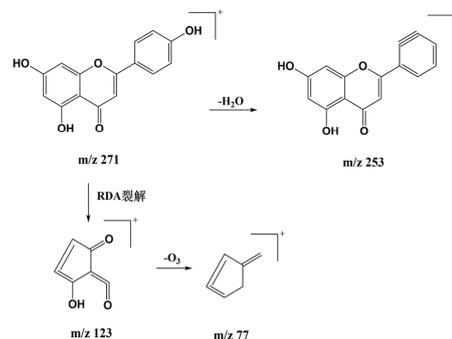


图6 芹菜素的质谱裂解途径

3.1.2.6 汉黄芩素(Wogonin) 正离子模式可见其分子离子峰 m/z 285 $[M+H]^+$, 其特征碎片离子为 m/z 270、 m/z 252以及 m/z 241, 其中 m/z 270为准分子离子峰脱去 $-CH_3$ 得到的碎片峰, m/z 252为 m/z 270脱去 $-H_2O$ 得到的碎片峰, m/z 241为 m/z 270脱去 $-CHO$ 得到的碎片峰, 其二级碎片与汉黄芩苷脱去葡萄糖酸后的二级碎片一致, 鉴定该化合物为汉黄芩素, 可能的具体裂解途径见图7。

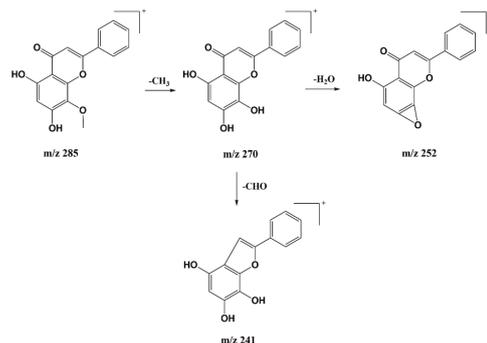


图7 汉黄芩素的质谱裂解途径

3.1.2.7 白鲜碱 (Dictamnine) 正离子模式可见其分子离子峰 m/z 200 $[M+H]^+$, 其主要特征碎片离子只有 m/z 185, 为准分子离子峰脱去 $-CH_3$ 得到的碎片峰, 根据其精确分子式 $C_{12}H_9NO_2$ 以及药材组成初步鉴定该化合物为白鲜碱, 可能的具体裂解途径见图8。

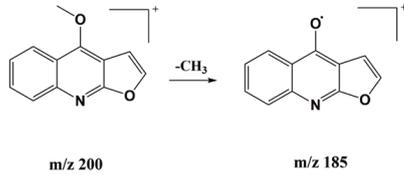


图8 白鲜碱的质谱裂解途径

3.1.2.8 牡丹皮苷E (Mudanpioside E) 负离子模式可见其分子离子峰 m/z 525 $[M-H]^-$, 其特征碎片离子为 m/z 345、 m/z 327、 m/z 185 以及 m/z 165, 其中 m/z 345 为准分子离子峰脱去葡萄糖 ($-Glu$) 和 $-H_2O$ 得到的碎片峰, m/z 327 为 m/z 345 继续脱去 $-H_2O$ 得到的碎片峰, m/z 182 为 m/z 345 脱去一个 $-C_8H_7O_3$ 的基团得到的碎片峰, m/z 165 为 m/z 182 脱去 $-OH$ 得到的碎片峰, 根据二级碎片鉴定该化合物为牡丹皮苷E, 可能的具体裂解途径见图9。

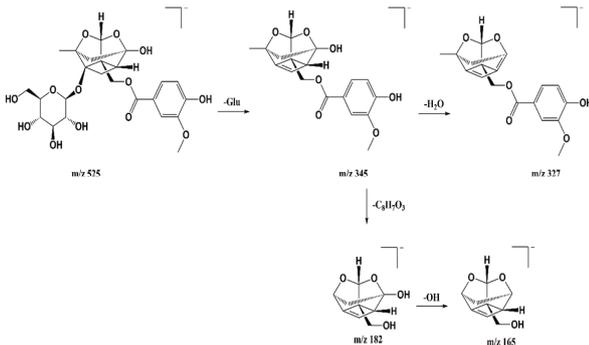


图9 牡丹皮苷E的质谱裂解途径

3.1.2.9 羟基大黄素-8-甲醚 (Questinol) 正离子模式可见其分子离子峰 m/z 301 $[M+H]^+$, 其特征碎片离子为 m/z 286、 m/z 271 以及 m/z 105, 其中 m/z 286 为准分子离子峰脱去 $-CH_3$ 得到的碎片峰, m/z 271 为 m/z 286 继续丢失一个氧原子得到的碎片峰, m/z 105 为 m/z 301 发生RDA重排裂解得到的碎片峰, 根据二级碎片鉴定该化合物为羟基大黄素-8-甲醚, 可能的具体裂解途径见图10。

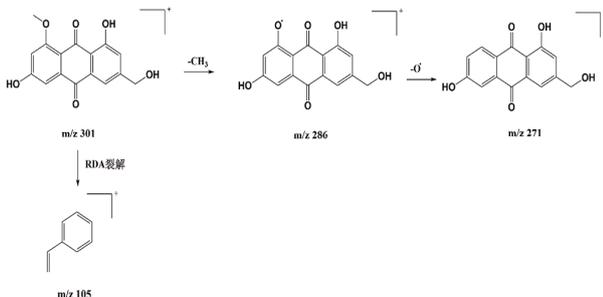


图10 羟基大黄素-8-甲醚的质谱裂解途径

3.1.2.10 大黄素-8-甲醚 (Questin) 正离子模式可见其分子离子峰 m/z 285 $[M+H]^+$, 其特征碎片离子为 m/z 270、 m/z 252 以及 m/z 241, 其中 m/z 270 为准分子离子峰脱去 $-CH_3$ 得到的

碎片峰, m/z 252 为 m/z 270 丢失 $-H_2O$ 得到的碎片峰, m/z 241 为 m/z 270 丢失 $-CH_2O$ 得到的碎片峰, 根据二级碎片鉴定该化合物为大黄素-8-甲醚, 可能的具体裂解途径见图11。

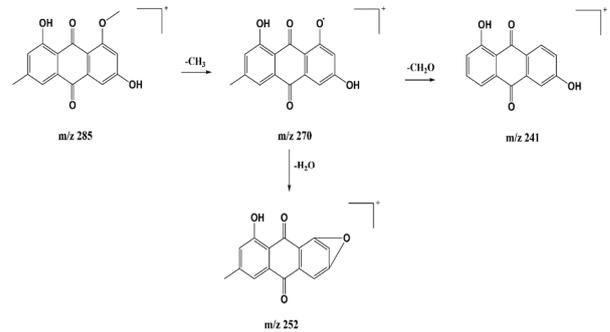
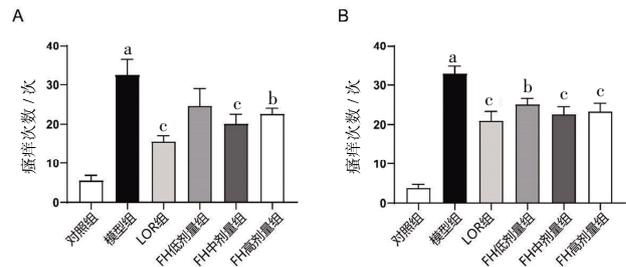


图11 大黄素-8-甲醚的质谱裂解途径

3.2 FH对湿疹小鼠瘙痒次数的影响 与对照组比较, 急、慢性模型组小鼠瘙痒次数显著增多 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 除急性湿疹FH低剂量组外, FH各剂量组可不同程度地减少湿疹小鼠的瘙痒次数 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 此外, LOR组小鼠瘙痒次数显著减少 ($P < 0.01$)。该结果表明FH方能缓解急、慢性湿疹模型小鼠的瘙痒状况。(见图12)



注: 与对照组比较, $aP < 0.01$; 与模型组比较, $bP < 0.05$, $cP < 0.01$ 。

图12 获虎祛湿方对急性(A)和慢性(B)湿疹小鼠瘙痒次数的影响 (Mean±SE)

3.3 FH对湿疹小鼠耳质量差和耳厚差的影响 与对照组比较, 急性湿疹小鼠模型组耳质量差显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, FH中、高剂量组耳质量差均明显下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与对照组比较, 慢性湿疹小鼠模型组耳厚差、耳质量差显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, FH高剂量组及LOR组耳厚差、耳质量差明显下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), FH中剂量组耳质量差下降 ($P < 0.01$)。该结果表明FH能减轻湿疹小鼠模型耳肿胀情况。(见表2)

表2 获虎祛湿方对急性湿疹小鼠耳质量差的影响 (Mean±SE)

组别	剂量/(g/kg)	n	耳质量差/mg
对照组	-	10	-0.700±0.292
模型组	-	10	6.070±1.016 ^a
LOR组	0.0052	10	5.140±0.923
FH低剂量组	2.1	9	6.022±1.025
FH中剂量组	4.2	10	2.350±0.568 ^c
FH高剂量组	8.4	10	2.670±0.878 ^b

注: 与对照组比较, $aP < 0.01$; 与模型组比较, $bP < 0.05$, $cP < 0.01$ 。

表3 茯虎祛湿方对慢性湿疹小鼠耳质量差和耳厚差的影响 (Mean±SE)

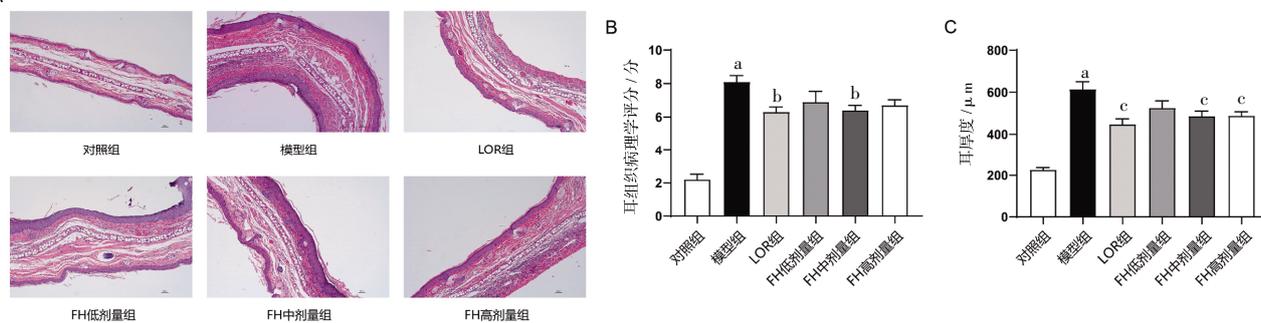
组别	剂量(g/kg)	n	耳质量差/mg	耳厚差/mm
对照组	-	10	-0.290±0.358	-0.009±0.0203
模型组	-	10	19.320±1.624 ^a	0.680±0.040 ^a
LOR组	0.005 2	10	13.970±1.133 ^b	0.457±0.0290 ^c
FH低剂量组	2.1	10	15.230±1.777	0.577±0.072
FH中剂量组	4.2	10	12.480±0.797 ^c	0.531±0.058
FH高剂量组	8.4	10	13.420±0.934 ^c	0.454±0.040 ^c

注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

3.4 FH对慢性湿疹小鼠耳组织病理学的影响 对照组小鼠耳组织表皮层及真皮层结构完整,未见炎症浸润,模型组小鼠表皮层中度角化过度,方层及棘层肥厚,真皮层结构紊乱并伴有炎症细胞浸润。与模型组比较,FH中剂量、高剂量能减

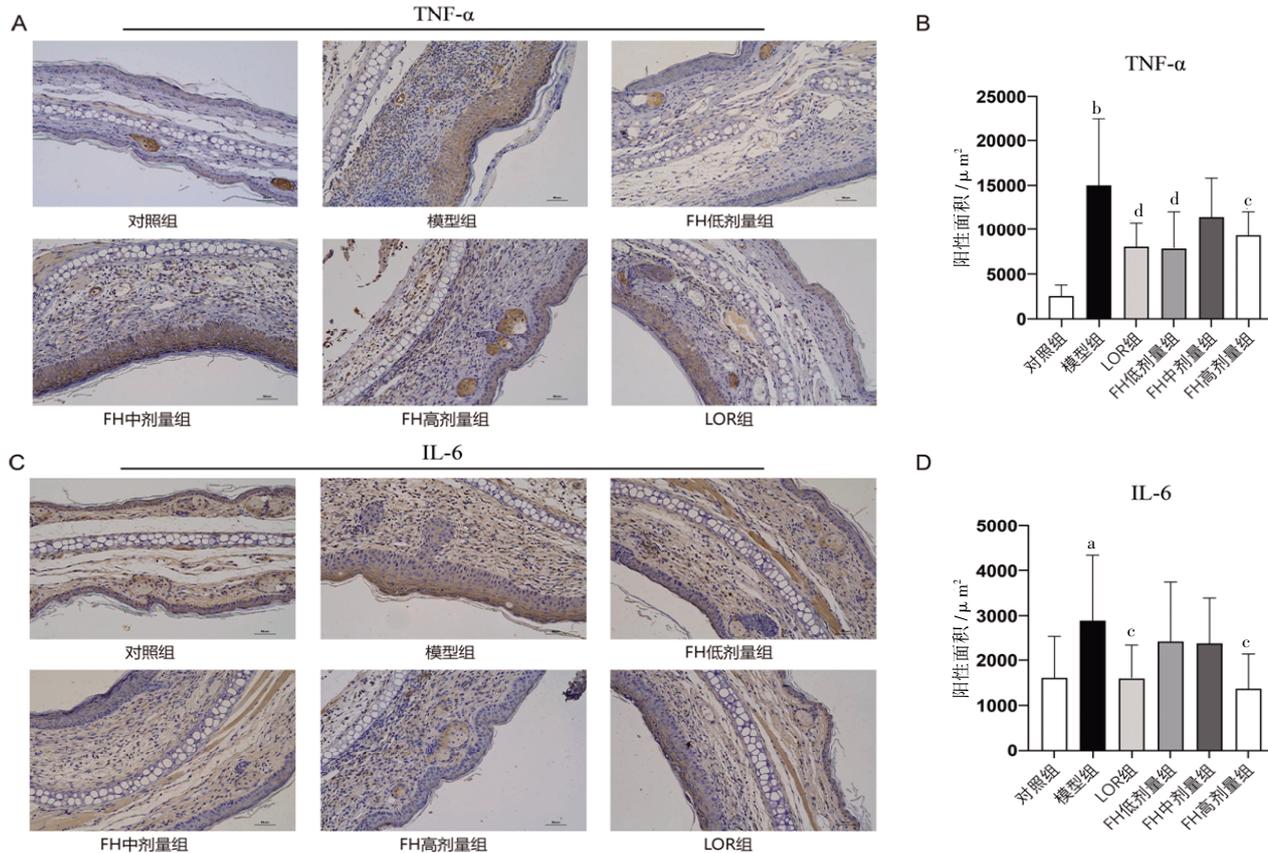
轻湿疹小鼠表皮层角化过度或角化不全,方层及棘层肥厚,真皮层水肿及炎症细胞浸润等组织病理学表现。此外,与模型组比较,LOR组小鼠上述病理表现也有所改善(见图13A)。与对照组比较,模型组小鼠耳组织病理评分明显升高($P<0.01$);与模型组比较,FH中剂量组能降低湿疹小鼠耳组织病理学评分($P<0.05$)(见图13B)。与对照组比较,模型组小鼠耳厚度显著增加($P<0.01$);与模型组比较,FH中、高剂量和LOR均能显著抑制湿疹小鼠耳厚度($P<0.01$)(见图13C)。

3.5 FH对慢性湿疹小鼠血清IL-1 β 和IgE水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠血清IL-1 β 水平明显升高($P<0.05$);与模型组比较,FH各剂量组均可明显降低血清IL-1 β 水平($P<0.05$),LOR组小鼠血清IL-1 β 水平差异无统计学意义($P>0.05$)(见图14A)。与对照组比较,模型组小鼠血清IgE含量显著增加($P<0.01$);与模型组比较,FH高剂量组和LOR组小鼠血清



注:A.耳组织HE染色($\times 100$);B.病理学评分;C.镜下耳厚度;与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

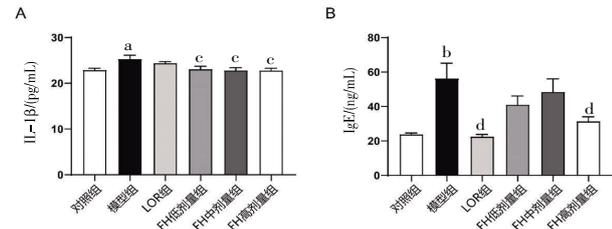
图13 茯虎祛湿方对慢性湿疹小鼠耳组织病理学及耳厚度的影响



注:与对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ 。

图15 茯虎祛湿方对慢性湿疹小鼠耳组织 TNF- α 和 IL-6 表达的影响 ($\times 200$)

IgE含量显著下降($P<0.01$)(见图14B)。结果表明,FH能降低慢性湿疹小鼠血清IL-1 β 和IgE的表达水平。



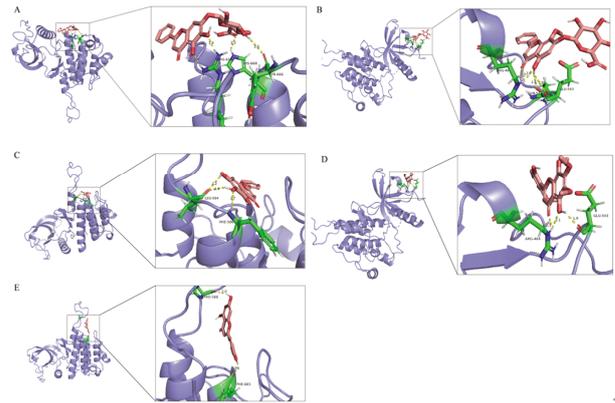
注:与对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ 。

图14 茯虎祛湿方对慢性湿疹小鼠血清IL-1 β 、IgE水平的影响

3.6 FH对慢性湿疹小鼠耳组织TNF- α 和IL-6表达的影响 与对照组比较,模型组小鼠耳组织炎症因子TNF- α 和IL-6的表达明显增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与模型组比较,FH低、高剂量组小鼠耳组织中TNF- α 表达明显下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$),FH高剂量组小鼠IL-6表达明显减少($P<0.05$),LOR组小鼠耳组织中TNF- α 和IL-6的表达明显降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。(见图15)

3.7 FGFR4和分子对接 FGFR4是FGFR家族的一种跨膜酪氨酸激酶受体,主要参与炎症、细胞增殖、分化等生物学过程,在湿疹的发病过程中具有重要作用^[15]。本研究中,笔者重点研究了FGFR4信号通路在FH治疗湿疹中的作用。我们首先选取了FH前5的主要化学成分与FGFR4进行分子对接,结果显示黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、黄芩黄酮II、芹菜素与FGFR4的对接结合能分别为-3.98、-2.75、-3.69、-2.79、-4.62 kcal/mol(见表4)。分子对接结合能小于-1.2 kcal/mol,表明蛋白和分子结合良好^[16],因此,FH的主要化学成分与FGFR4具有较好结合能力。分子对接图见图16。

主要成分	结合能/(kcal/mol)	氢键数
黄芩苷	-3.98	4
汉黄芩苷	-2.75	4
黄芩素	-3.69	3
黄芩黄酮II	-2.79	3
芹菜素	-4.62	2



注:A.FGFR4-黄芩苷;B.FGFR4-汉黄芩苷;C.FGFR4-黄芩素;D.FGFR4-黄芩黄酮II;E.FGFR4-芹菜素。

图16 分子对接图

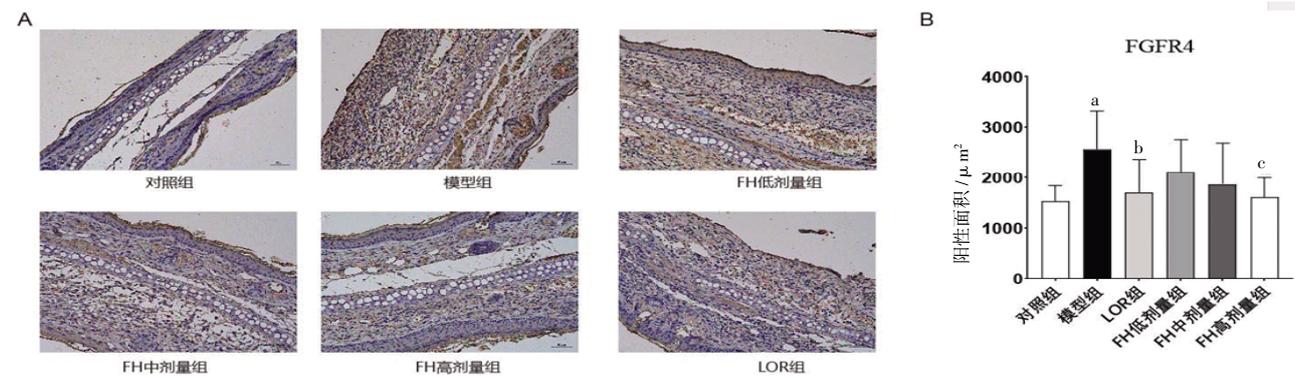
3.8 FH对慢性湿疹模型小鼠耳组织FGFR4表达的影响 与对照组比较,模型组小鼠耳组织FGFR4的表达显著增加($P<0.01$);与模型组比较,FH高剂量组小鼠耳组织TLR4表达显著下降($P<0.01$),LOR组小鼠耳组织FGFR4的表达明显降低($P<0.05$)。(见图17)

3.9 FH对慢性湿疹小鼠耳组织p-p38和p-p65表达的影响 与对照组比较,模型组小鼠耳组织p-p38和p-p65的表达明显增加($P<0.01$);与模型组比较,FH中、高剂量组小鼠耳组织p-p38和p-p65表达明显下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$),LOR组小鼠耳组织p-p38和p-p65的表达明显降低($P<0.01$)。(见图18)

4 讨论

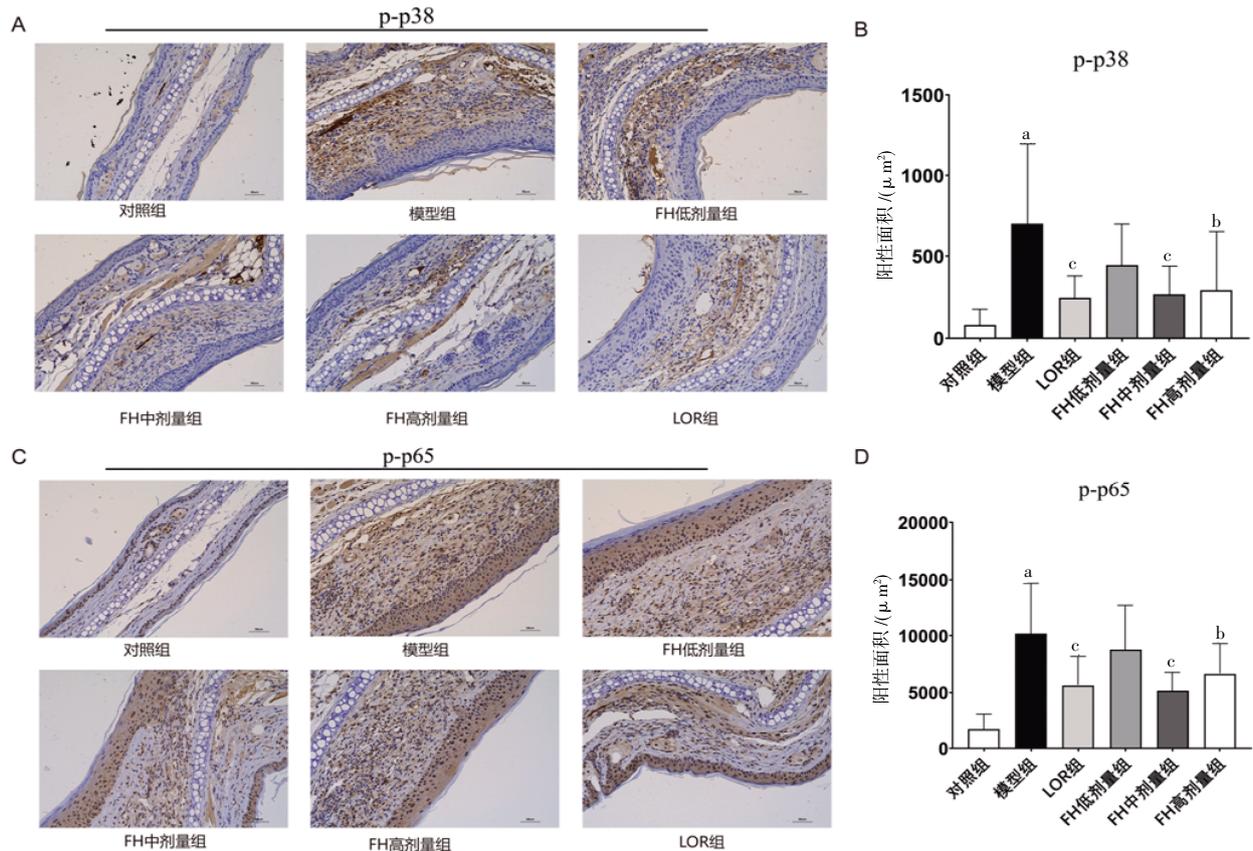
湿疹是常见的皮肤疾病之一,可分为急性、亚急性和慢性三类,皮损多具有多形性、对称性、瘙痒和反复性等特点。湿疹发病机制复杂,多认为与遗传、免疫、环境或接触化学物质等因素有关。DNCB是湿疹模型常用的诱导剂,小鼠经其刺激后出现皮损,进而诱发炎症反应,引起耳部肿胀、角质层增厚等病理表现,与人类湿疹病理学特征相似,被广泛应用于新药临床前药效学研究^[17]。因此本实验采用DNCB诱导急、慢性湿疹小鼠模型,考察FH对湿疹模型的治疗作用。

中医学认为湿疹由先天禀赋不耐,风、湿、热邪客于肌肤而发^[18],而FH具有活血祛湿、祛风止痒之功。该方中土茯苓解毒除湿,帅诸药直达病所,为君药;徐长卿祛风除湿止痒,白鲜皮清热疏风止痒,虎杖清热解毒散瘀止痒,三药共为臣药,



注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ ($n=10$)。

图17 茯虎祛湿方对慢性湿疹小鼠耳组织FGFR4表达的影响 ($\times 200$)



注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ ($n=10$)。

图 18 茯虎祛湿方对慢性湿疹小鼠耳组织 p-p38 和 p-p65 表达的影响 ($\times 200$)

助君药祛风除湿止痒;连翘清热解毒、消肿散结、疏散风热,黄芩清热燥湿泻火,二者为佐药,佐助清热、解毒、燥湿之力;牡丹皮、赤芍共为使药,引诸药清一身湿热,凉血、活血、化瘀止痛。现代研究表明,土茯苓含有黄酮、苯丙素、甾体类等化合物,具有抗炎和镇痛等药理活性^[19];徐长卿含有挥发油,具有镇痛、抗炎和抗病毒等药理作用^[20];白鲜皮具有抗菌、抗炎、抗过敏、免疫抑制等药理作用^[21-22];醌类、二苯乙烯类为虎杖主要化学成分^[23],其具有抗病毒、抗炎^[24]和抗菌等作用;连翘含有木质素类化合物,具有抗炎、抗菌、抗氧化等药理作用^[25];黄酮类成分^[26]是黄芩发挥抗炎、抗菌等药理活性的基础^[27];牡丹皮、赤芍具有解热、抗炎、抗病毒等^[28-29]药理作用。经鉴定分析可知,FH中含有丹皮酚、白鲜碱、栲酮、虎杖苷、黄芩苷、芦丁、槲皮素、牡丹皮苷E、芍药苷、没食子酰芍药苷等化合物,据报道这些化合物具有抗炎和抗过敏作用^[30-34],这些成分可能是FH治疗湿疹的物质基础。

本实验表明,FH能抑制DNCB诱导的急、慢性湿疹模型小鼠瘙痒,且一定程度上对慢性湿疹模型小鼠耳肿胀具有缓解作用。此外,FH能改善慢性湿疹模型小鼠表皮增厚、真皮水肿和炎性浸润等病理学变化。

IgE是介导超敏反应的介质之一,其在血清中含量的高低可显示超敏反应的程度^[35]。本研究显示,FH能降低慢性湿疹小鼠血清内IgE水平,说明FH具有抗超敏反应的作用。在近年来的研究中发现,FGFR4与炎症反应存在密切关联,其通过促进MAPKs(ERK、JNK、p38)激酶磷酸化,进而促进NF- κ B

基(如p65)磷酸化,并增强其转录活性,从而促进炎症因子(如TNF- α 和IL-6)的表达^[12,36]。本研究通过分子对接技术预测FGFR4为FH治疗慢性湿疹的潜在作用靶点。此外,FH能降低慢性湿疹小鼠耳组织FGFR4及下游蛋白p-p38和p-p65的表达,并能抑制耳组织TNF- α 和IL-6的表达。因此推测FH对慢性湿疹模型小鼠的治疗作用与其抑制FGFR4/NF- κ B通路相关。

参考文献

- [1] 刁庆春,刘毅.湿疹(湿疮)中医诊疗专家共识[J].中国中西医结合皮肤性病学期刊,2021,20(5):517-521.
- [2] FAYE O, FLOHR C, KABASHIMA K, et al. Atopic dermatitis: A global health perspective[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol,2024,38(5):801-811.
- [3] LANGAN S M, IRVINE A D, WEIDINGER S. Atopic dermatitis[J]. Lancet,2020,396(10247):345-360.
- [4] HADI H A, TARMIZI A I, KHALID K A, et al. The epidemiology and global burden of atopic dermatitis: A narrative review[J]. Life (Basel),2021,11(9):936.
- [5] 李丹,周琪琪,郑恺俐,等.草薢渗湿汤对急性湿疹小鼠模型Th1/Th2/Th22免疫功能的影响[J].山西中医药大学学报,2024,25(3):251-255.
- [6] EICHENFIELD L F, STRIPLING S, FUNG S, et al. Recent developments and advances in atopic dermatitis:

- A focus on epidemiology, pathophysiology, and treatment in the pediatric setting[J]. *Paediatr Drugs*,2022,24(4):293–305.
- [7] 王奕霖.湿疹的中医病因病机[J].*长春中医药大学学报*,2018,34(1):79–81,108.
- [8] CAI X C, SUN X Y, LIU L, et al. Efficacy and safety of Chinese herbal medicine for atopic dermatitis: Evidence from eight high-quality randomized placebo-controlled trials[J]. *Front Pharmacol*,2022,13:927304.
- [9] 林欢儿,李孜怡,彭静,等.中医药治疗特应性皮炎研究进展[J].*辽宁中医药大学学报*,2019,21(11):29–32.
- [10] 李周阳,吴威,李威莹,等.中药治疗湿疹的现代研究进展[J].*沈阳药科大学学报*,2023,40(11):1564–1576.
- [11] WANG Y, WENG H, SONG J F, et al. Activation of the HMGB1-TLR4-NF- κ B pathway may occur in patients with atopic eczema[J]. *Mol Med Rep*,2017,16(3):2714–2720.
- [12] DRAFAHL K A, MCANDREW C W, MEYER A N, et al. The receptor tyrosine kinase FGFR4 negatively regulates NF- κ B signaling[J]. *PLoS One*,2010,5(12):e14412.
- [13] 赵金莉,钟琪,李长香,等.复方参柏煎剂对慢性湿疹ICR小鼠的疗效及作用机制[J].*现代中医药*,2022,42(2):25–30.
- [14] 拱佳慧,向杰,邹建东,等.基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的延龄益寿方化学成分系统筛选与鉴定[J].*分析测试学报*,2025,44(5):822–835.
- [15] HANUDEL M, JUPPNER H, SALUSKY I B. Fibroblast growth factor 23: Fueling the fire[J]. *Kidney Int*,2016,90(5):928–930.
- [16] 许春,左文松,张纯,等.基于HPLC指纹图谱和分子对接技术探讨复方南板蓝根片抗炎抗病毒的物质基础及作用机制[J].*中医药导报*,2025,31(3):70–76.
- [17] ZHENG R, REN Y, LIU X Y, et al. Exogenous drug-induced mouse models of atopic dermatitis [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*,2024,77:104–116.
- [18] 张美,刘树文,任明.基于“清热凉血,除湿止痒”理论探讨国家级名中医张曾聿教授对湿疹的辨治[J].*中国中西医结合皮肤性病杂志*,2024,23(3):242–245.
- [19] 程双,彭财英,潘玲玲,等.中药土茯苓的现代研究进展[J].*江西中医药*,2021,52(3):69–76.
- [20] 李葆林,杨梦婷,支雅婧,等.徐长卿化学成分和药理作用的研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测分析[J].*中草药*,2021,52(12):3725–3735.
- [21] 陈禹竹,徐晓敏,刘树民,等.白鲜皮及其有效成分的药理作用研究进展[J].*药物评价研究*,2024,47(2):409–418.
- [22] CHEN Y L, XIAN Y F, LOO S, et al. Anti-atopic dermatitis effects of dictamnii cortex: Studies on *in vitro* and *in vivo* experimental models[J]. *Phytomedicine*,2021,82:153453.
- [23] 林思,秦慧真,邓玲玉,等.虎杖苷药理作用及机制研究进展[J].*中国实验方剂学杂志*,2021,27(22):241–250.
- [24] LIU B H, LI S D, SUI X D, et al. Root extract of *Polygonum cuspidatum* siebold & zucc. ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by affecting NF- κ B signaling pathway in a mouse model via synergistic effects of polydatin, resveratrol, and emodin[J]. *Front Pharmacol*, 2018,9:347.
- [25] 强亭燕,李香串,房信胜,等.连翘挥发油化学成分、药理作用及其开发利用研究进展[J].*中国现代中药*,2024,26(3):566–577.
- [26] 李影,周小青,陈杰,等.黄芩属植物化学成分及药理作用的研究进展[J].*江西中医药大学学报*,2023,35(2):111–120.
- [27] 刘多新.黄芩在急性湿疹治疗中的应用效果及药理分析[J].*内蒙古中医药*,2024,43(5):135–136.
- [28] 张树蓉,赵宏苏,佟沫儒,等.牡丹皮化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J].*中草药*,2022,53(16):5215–5224.
- [29] 倪嘉挺,袁旭,曹庆宇,等.赤芍抗炎活性的物质基础及作用机制研究进展[J].*中医药信息*,2024,41(2):87–93.
- [30] 刘宇超,白彦萍,王磊.丹皮酚药理作用及应用于皮肤病相关研究进展[J].*新中医*,2021,53(23):18–22.
- [31] 刘新月,陈乐乐,孙鹏,等.白鲜皮化学成分、药理作用和毒性研究进展及质量标志物预测分析[J].*中国新药杂志*,2023,32(8):799–805.
- [32] ZOU M Y, YANG W L, NIU L M, et al. Polydatin attenuates *Mycoplasma gallisepticum* (HS strain)-induced inflammation injury via inhibiting the TLR6/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *Microb Pathog*,2020,149:104552.
- [33] 黄烈岩,聂黎行,康帅,等.黄芩化学成分、药理作用和质量控制的研究进展[J].*辽宁中医药大学学报*,2024,26(4):88–96.
- [34] WU X T, QI X Y, WANG J, et al. Paeoniflorin attenuates the allergic contact dermatitis response *via* inhibiting the IFN- γ production and the NF- κ B/I κ B α signaling pathway in T lymphocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021,96:107687.
- [35] 秦宗碧,徐爱琴,蔡翔,等.黄连素调节PI3K/AKT/NF- κ B信号通路对慢性湿疹大鼠皮肤损伤的影响[J].*天津医药*,2023,51(8):834–840.
- [36] GOLDFARB M. Signaling by fibroblast growth factors: The inside story[J]. *Sci STKE*,2001,2001(106):pe37.

(收稿日期:2025-05-27 编辑:罗英姣)