

# 白及抗痤疮药效物质筛选及其作用机制初探

刘佳雯, 李菲菲, 张洪怡, 张明豪, 黄仕如, 胡媛, 王福, 陈林, 刘友平, 陈鸿平\* (成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 成都 611137)

**摘要:**目的 筛选白及抗痤疮有效部位, 预测其潜在活性成分及作用机制。方法 采用体外抑菌实验、小鼠复合痤疮模型评价白及不同萃取部位抗痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌的活性和对小鼠耳廓组织皮损、组织病理学、组织中炎症因子等指标的影响, 筛选白及抗痤疮有效部位; 采用超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术分析比较3个部位的化学成分; 利用网络药理学预测白及治疗痤疮的相关靶点、药效成分及相关通路, 对其关键药效成分和靶点进行分子对接, 进一步验证其药效物质及靶点。结果 白及乙酸乙酯部位可以有效抑制3种痤疮致病菌, 其最低抑菌浓度(MIC)分别为2.34、2.34、4.59 mg·mL<sup>-1</sup>, 可以显著改善小鼠耳廓组织病损等情况, 其余两个部位均无抗痤疮作用; 共鉴定白及共51个成分, 其中乙酸乙酯部位48个成分, 正丁醇部位13个成分, 水部位15个成分, 芪类化合物富集在乙酸乙酯部位中; 网络药理学和分子对接验证结果显示山药素Ⅲ(batatasin Ⅲ)、3-(4-羟基苄基)-4-甲氧基-2,7-二羟基-9,10-二氢菲[3-(4-hydroxybenzyl)-4-methoxy-2,7-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene]、3-O-甲基山药素Ⅲ(3-O-methylbatatasin Ⅲ)等成分可能为白及治疗痤疮的关键活性成分, 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK1)和肿瘤坏死因子(TNF)等可能是白及抗痤疮的潜在靶点。结论 白及乙酸乙酯萃取部位具有良好的抗痤疮作用, 其中以山药素Ⅲ为代表的芪类化合物可能是其主要药效成分, 可为深入研究白及治疗痤疮的机制研究提供重要参考。

**关键词:**白及; 痤疮; 超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱; 成分鉴定; 网络药理学; 分子对接

doi: 10.11669/cpj.2025.06.005 中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2025)06-0589-15

## Screening of Anti-acne Medicinal Substances of *Bletilla striata* and Prediction of Their Mechanism of Action

LIU Jiawen, LI Feifei, ZHANG Hongyi, ZHANG Minghao, HUANG Shiru, HU Yuan, WANG Fu, CHEN Lin, LIU Youping, CHEN Hongping\* (State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, Department of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To screen the effective components and potent substances of *Bletilla striata* and to preliminarily predict its mechanism of action. **METHODS** Oxford cup and microdilution methods were used to evaluate the inhibition of *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* in different extracted parts of *Bletilla striata*. Subsequently, a mouse model of acne vulgaris was established to assess the effects of the different extracted components of *Bletilla striata* on auricular tissue lesions, histopathology, and inflammatory factors. Furthermore, the chemical compositions of the three extracts were analyzed using ultra high performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). Network pharmacology was utilized to predict the relevant targets, pharmacodynamic components, and related pathways of *Bletilla striata* in the treatment of acne. Additionally, molecular docking was performed on the key pharmacodynamic components and targets to further validate these pharmacodynamic substances. **RESULTS** The ethyl acetate extract of *Bletilla striata* could effectively inhibit three kinds of acne-causing bacteria, and its MIC was 2.34, 2.34, 4.59 mg·mL<sup>-1</sup>, respectively, the ethyl acetate extract of *Bletilla striata* significantly improved the auricular tissue lesions in mice, while the remaining two extracts exhibited no anti-acne effect. A total of 51 components of *Bletilla striata* were identified, including 48 components in the ethyl acetate extract, 13 components in the butanol extract, and 15 components in the water extract, stilbenes were most enriched in the ethyl acetate extract. The results of network pharmacology and molecular docking validation indicated that constituents such as batatasin Ⅲ, 3-(4-hydroxybenzyl)-4-methoxy-2,7-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene and 3-O-methylbatatasin Ⅲ may serve as key active constituents of *Bletilla striata* in the treatment of acne. Additionally, MAPK1 and TNF among others may represent potential targets of *Bletilla striata* in anti-acne therapy. **CONCLUSION** This study shows that the ethyl acetate extracted parts of *Bletilla striata* have good anti-acne effects, in which the Stilbenes represented by batatasin Ⅲ may be the main medicinal components, which may provide important references for the in-depth study of the mechanism of *Bletilla striata* in

基金项目: 四川省科技计划项目资助(2021ZHFP0137)

作者简介: 刘佳雯, 女, 硕士研究生 研究方向: 中药化学有效成分与质量标准应用 \* 通讯作者: 陈鸿平, 女, 博士, 教授 研究方向: 中药化学有效成分与质量标准应用 Tel: (028)61800231

treating acne.

**KEY WORDS:** *Bletilla striata*; acne; UPLC-Q-TOF-MS; component identification; network pharmacology; molecular docking

痤疮是一种毛囊皮脂腺的慢性炎症性疾病<sup>[1]</sup>,易发于面、背、胸等富含皮脂腺的部位。其目前已经是全球第2大皮肤病,其发病因素复杂、病程反复,因多发生于青春期男女,且愈后易发生瘢痕增生及色素沉着,会对患者的心理健康造成一定影响。目前现代治疗中多使用西药凝胶,存在易产生耐药性、副作用多、效果不佳等问题,然而中药外用美颜美容的历史悠久,具有独特的药效活性,副作用小。但中药类产品使用过程中因其未明确药效活性成分而得不到发展,因此扩大中草药等产品的开发以及明确其确切的物质基础成为现在需要首要解决的难题。

白及为兰科植物白及 [*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.] 的干燥块茎,具有收敛止血、消肿生肌的功效,主治疮疡肿痛、外伤出口、手足皲裂等证。除此之外,白及自古以来就是一味美容要药,在《本草纲目》《本草备要》《本草求真》《本草从新》等古籍中均有其美白、润肤、祛面疮的记载,本草记载的多为白及药效,对于白及在润肤美颜上的应用还是以经验医学为主,例如《普济方》中由白及、白蔹等组成的药方可治疗“发于肌肤而为浸淫疮。”《外台秘要》中由白及组方的面脂方“主面及皴皱黥黑肝,凡是面上之病,皆悉主之。”《御药院方》中由白及白蔹白芷组成的善应膏可以治疮肿,小儿头面疮丹流,聚热杂疮。但目前白及现代研究集中在白及多糖、止血、黏膜愈合、抗炎、抗溃疡等领域<sup>[2-4]</sup>,对其改善痤疮的研究较浅显,且未明确药效物质基础。因此本实验通过药效活性筛选,寻找白及治疗痤疮的有效部位,结合超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术分析白及不同萃取部位的化学成分,同时利用网络药理学和分子对接挖掘白及抗痤疮的药效成分及其作用的痤疮靶点,以期阐明白及治疗痤疮的物质基础并初步预测其作用机制。

## 1 材料

### 1.1 仪器

VD-850 桌上式净化工作台超净工作台(上海尚净环保工程有限公司);HWS 型恒温恒湿培养箱(北京中兴伟业仪器有限公司);手提式压力蒸汽

灭菌器(上海力辰仪器科技有限公司);LGJ-18 冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司);UPT-I-10T 型优普超纯水机(四川优普超纯科技有限公司);TGL-16.5M 高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器);ACQUITY UPLC 型超高效液相色谱仪、Synapt XS 型高分辨质谱仪(美国 Waters 公司)。

### 1.2 试剂

白及购于四川省成都市彭州市白鹿镇华清药材种植家庭农场,经成都中医药大学龙飞副教授鉴定为兰科植物白及 [*Bletilla striata* (Thunb.) Relichb. f.] 的块茎。BCA 蛋白定量试剂盒(上海雅酶生物医药科技有限公司,批号 ZJ102),小鼠白细胞介素-6(IL-6)、酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号 E-EL-M0044),小鼠白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、小鼠干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测试剂盒(联科生物,批号 A20649214、A28040323),4%多聚甲醛通用型组织固定液(兰杰柯科技有限公司,批号 BL539A),戊巴比妥钠(美国西格玛公司,批号 69020100),厌氧袋产气袋(三菱瓦斯化学株式会社,批号 C-1),militarine(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号 RFS-E04402007029),Gastrodin、Gymnoscide III、Dactylorin A、Batatasin III、Ferulic acid(四川省维克齐生物科技有限公司,批号:WP23050405、WP23051303、WP23052201、WP2410210、wkq23010302),色谱纯乙腈、甲醇。其余试剂均为分析纯。

### 1.3 动物及菌株

SPF 级雄性 ICR 小鼠 60 只,28 ~ 32 g,由成都达硕实验动物有限公司提供,生产许可证号 SCXK(川)2020-030。动物实验经由成都中医药大学伦理委员会批准(审查号 2024019),12 h 明暗交替光照,适应性喂养 7 d 后,进行小鼠耳部痤疮造模及后期给药治疗。

表皮葡萄球菌(ATCC 12228)、痤疮丙酸杆菌(ATCC 11827)(广东省微生物菌种保藏中心);金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)(北京生物保藏中心);BHI 培养基(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司);LB 液体培养基(北京索莱宝科技有限公司);LB 琼脂培养基(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 白及不同萃取部位的制备

取 270 g 白及粉末(过 2 号筛),按每克白及加入 20 mL 体积分数 95% 乙醇的比例配制样品,80 °C 回流提取 2 h,滤过,回收乙醇、浓缩,得到白及醇提取物。将白及醇提取物以每 10 mL 水中 1 g 的比例混悬于蒸馏水中,依次使用等体积乙酸乙酯、正丁醇分别萃取 3 次,经过浓缩、冷冻干燥得到白及乙酸乙酯萃取部位(ethyl acetate extract of *Bletilla striata*, BSE)、白及正丁醇萃取部位(butyl alcohol extract of *Bletilla striata*, BSB)、白及剩余水萃取部位(water extract of *Bletilla striata*, BSW),备用。

### 2.2 体外抑菌活性评价

**2.2.1 供试药液配制** 称取一定质量的 BSE、BSB、BSW 粉末加入体积分数 5% 二甲基亚砜(含体积分数 5% 聚山梨酯 80)水溶液溶解,配制成质量浓度为 300 mg · mL<sup>-1</sup> 的样品,再按倍比稀释法依次稀释成系列浓度样品溶液。

**2.2.2 菌液制备** 测试的 3 种菌株在琼脂板上划线,金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌 37 °C 培养 24 h(痤疮丙酸杆菌放置在厌氧袋中 37 °C 培养 48 h)。

挑取形态良好的单菌落置于生理盐水中,摇匀,采用麦氏比浊管进行比对,调节菌液浓度至 0.5 个麦氏浊度(1 × 10<sup>8</sup> CFU · mL<sup>-1</sup>),并进一步稀释至 1 × 10<sup>6</sup> CFU · mL<sup>-1</sup>,4 °C 贮存备用。

**2.2.3 牛津杯法测定抑菌作用** 按照参考文献[5]中的方法,采用牛津杯法以评估不同白及提取物对痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌的抑制作用。在固体培养基平板表面接种 0.1 mL 菌悬液并涂布均匀,采用十字交叉法放置已灭菌的牛津杯;将上述配置的白及乙酸乙酯提取液、白及正丁醇提取液、白及水提取液药液在试管中分别倍比稀释 4 次,依次将初始浓度及稀释后的不同浓度提取药液 0.1 mL 加入孔内。将培养基平板放入 37 °C 恒温培养箱中培养 24 ~ 48 h(痤疮丙酸杆菌培养基平板装入厌氧袋,放入 37 °C 恒温培养箱中培养 48 ~ 72 h)。以各自溶剂为空白对照组。每菌 3 个重复。抑菌圈直径等于抑菌透明圈的直径(mm)与牛津杯的外径(mm)的差。

**2.2.4 最低抑菌浓度(MIC)的测定** 采用微量液基稀释法结合碘硝基四唑紫指示剂法测定 BSE 对痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌的 MIC。以 BHI 肉汤、LB 肉汤为稀释液,在 96 孔板(每孔 100 μL)中配制白及各提取部位药液的系列

两倍稀释液,每孔加入 100 μL 菌悬液,使其终质量浓度为 150 ~ 0.59 mg · mL<sup>-1</sup>,空白溶剂作为阴性对照。表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌 37 °C 培养 24 h(痤疮丙酸杆菌 37 °C 厌氧培养 48 h)后,向孔中加 30 μL 0.5% 碘硝基四唑紫溶液作为指示剂,37 °C 培养 1.5 h,每菌 3 个重复。碘硝基四唑紫可以结合活性菌形成紫色的染色复合物,因此 MIC 被计算为未变紫孔中的最低药物浓度。

**2.2.5 最低杀菌浓度(MBC)的测定** 分别吸取提取物质量浓度为 1/2 MIC、MIC、2 MIC、4 MIC 的菌悬液 20 μL,均匀涂于琼脂板,37 °C 培养 24 h,取出,观察计数,以 ≤ 5 个菌落数者为 MBC。

### 2.3 白及提取物治疗痤疮小鼠效果评价

**2.3.1 药物制备** 参照前期考察小鼠给药浓度的预实验结果,按 5% 二甲基亚砜、40% 聚乙二醇 400、5% 聚山梨酯 80、50% 0.9% 氯化钠水溶液的比例制成药物空白溶剂,常温存放备用。称取适量各部位的粉末溶于空白溶剂中,充分溶解,4 °C 存放备用。

**2.3.2 小鼠复合痤疮模型的建立及给药** 将 7 d 适应性喂养后的小鼠随机分为空白对照组,模型组,阿达帕林凝胶组(0.09 mg · cm<sup>-2</sup> · d<sup>-1</sup>),空白溶剂组,BSE 给药组(0.7 mg · cm<sup>-2</sup> · d<sup>-1</sup>),BSB 给药组(0.3 mg · cm<sup>-2</sup> · d<sup>-1</sup>),BSW 给药组(0.6 mg · cm<sup>-2</sup> · d<sup>-1</sup>),每组 8 只。除空白对照组以外,其余各组小鼠每日在左耳廓涂抹 0.1 mL 的 50% 油酸,每日 1 次,连续 2 周。次日于小鼠左耳皮下注射痤疮丙酸杆菌菌液每耳 20 μL (5 × 10<sup>8</sup> CFU · μL<sup>-1</sup>),隔日 1 次。当发现小鼠左耳耳廓明显增厚、角化层明显增厚,红肿,有丘疹、脓疱生成,即造模成功,造模成功率 100%。空白对照组每日蘸取 0.9% 氯化钠水溶液等量涂抹耳内凹口处,同造模组次日开始向耳内注射等量 0.9% 氯化钠水溶液,造模成功后,空白对照组与空白溶剂组涂抹空白溶剂,以排除空白溶剂的影响。其余各组在小鼠痤疮病损处涂抹 20 μL 相应药物,早晚各 1 次,连续涂抹 7 d。第 29 天所有小鼠被安乐死,剪取小鼠左耳耳廓组织,部分耳廓组织以 4% 多聚甲醛溶液固定,其余耳廓组织在液氮中速冻后转入 -80 °C 冰箱保存备用。

**2.3.3 行为特征观察** 每日观察小鼠进食量、活动、精神状况和小鼠左耳耳廓损伤程度,每周称量体质量,并对小鼠左耳拍照。

**2.3.4 肉眼观察小鼠耳廓皮损及测量耳廓厚度变化** 治疗期间,于每天同一时间段观察各组小鼠耳廓

组织的肿胀度、炎症情况及丘疹等皮损情况,并且测量记录造模前后及治疗期间小鼠耳廓厚度,测量时固定选择左耳耳廓中同一位置进行测量,重复3次。

**2.3.5 苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠耳廓组织病理学变化** 将4%多聚甲醛固定好的耳廓组织脱钙处理后,再进行脱水处理、石蜡包埋、切片、HE染色,显微镜下观察组织病理学改变。

**2.3.6 酶联免疫吸附测定(ELISA)** 使用组织研磨机将小鼠左耳皮肤组织用PBS缓冲液匀浆5 min,然后在4℃下以9 200 r·min<sup>-1</sup>离心10 min取其上清液进行测试。IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6的水平分别使用商业ELISA试剂盒根据制造商方案测定。另外使用BCA蛋白测定试剂盒对样品中的总蛋白进行定量测定。

## 2.4 UPLC-Q-TOF-MS/MS分析

**2.4.1 供试品溶液的制备** 取BSE、BSB、BSW粉末,置于塞锥形瓶中,加入体积分数75%乙醇,超声处理(频率80 kHz)30 min,取上清液滤过,作为供试品溶液待测。

**2.4.2 对照品溶液的制备** 取各对照品适量,精密称定,加体积分数75%甲醇配置成对照品储备液,dactylorin A质量浓度为0.51 mg·mL<sup>-1</sup>、gymnoside III质量浓度为0.5 mg·mL<sup>-1</sup>、batatasin III质量浓度为0.38 mg·mL<sup>-1</sup>、militarine质量浓度为1.24 mg·mL<sup>-1</sup>、gastrodin质量浓度为0.98 mg·mL<sup>-1</sup>、阿魏酸质量浓度为4.50 mg·mL<sup>-1</sup>。取单个对照品储备液各0.5 mL于5 mL量瓶中,加体积分数75%甲醇摇匀定容,低温密封保存备用。

**2.4.3 色谱条件** ACQUITY UPLC CSH C<sub>18</sub> (2.1 mm×100 mm,1.7  $\mu$ m)色谱柱,二元流动相0.1%甲酸-水(A)和乙腈(B),洗脱梯度(0~4 min,5% B;4~8 min,5%~20% B;8~18 min,20%~24% B;18~25 min,24%~33% B;25~27 min,33%~41% B;27~32 min,41% B;32~40 min,41%~50% B;40~43 min,52%~70% B;43~45 min,70%~100% B;45~47 min,100%~5% B;47~50 min,5% B),流速为0.3 mL·min<sup>-1</sup>,柱温为45℃,进样量为2  $\mu$ L。

**2.4.4 质谱条件** 电喷雾离子源(ESI),正、负离子全扫描模式;雾化和锥孔气均为氮气;毛细管电压3.0 kV;离子源温度为120℃;锥孔电压和萃取锥孔电压分别为40和4 V;脱溶剂气温度为450℃;反向锥孔气体流速和脱溶剂气体流速分别为50和800 L·h<sup>-1</sup>;扫描时间和扫描间隔分别为0.2和0.02 s;扫描范围  $m/z$  50~2 000。

**2.4.5 化学成分鉴定** 收集白及相关的化学成分,以mol格式导入UNIFI 1.8软件以建立白及化学成分自建库,保留质量误差设定为(-5~5)×10<sup>-6</sup>,MS信号响应值>2 000的峰。根据化合物的一级和二级碎片的离子理论质量数和相对保留时间(RT)进行推导,并利用白及自建库检索,参考Pubchem、Chemical Book网站和相关文献对比完成白及不同萃取提取物的化学成分解析。

## 2.5 网络药理学

**2.5.1 化学成分与疾病靶点的获取** 经过UPLC-Q-TOF-MS鉴定的BSE中的有效成分为潜在活性成分。利用SwissTargetPrediction<sup>[6]</sup>(<http://swisstargetprediction.ch>)数据库(物种选择为“*Homo sapiens*”,probability大于0)检索符合条件化合物的靶点。然后借助Uniprot(<https://www.uniprot.org/>)数据库对靶点信息进行标准化处理,从而获得此部位活性成分的基因靶点。

利用GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、Drugbank(<https://go.drugbank.com/>)、OMIM(<https://www.omim.org/>)、DisGeNet(<https://www.disgenet.org/>)这4个数据库中检索关键词“acne”,搜索与痤疮相关的靶点,通过微生信在线分析平台将BSE活性成分靶点与痤疮相关靶点取交集,最终获得BSE治疗痤疮的潜在作用靶点。

**2.5.2 “成分-靶点-疾病”网络的构建** 将BSE化学成分共同靶点与痤疮疾病靶点导入Cytoscape 3.8.2,构建白及治疗痤疮的“成分-靶点-疾病”网络,计算网络拓扑参数,筛选出与疾病靶点相互作用的化学成分。

**2.5.3 蛋白相互作用(PPI)网络的构建** 将“2.5.1”项中交集基因导入STRING数据库,得到PPI网络,导出相关数据并导入Cytoscape 3.8.2软件,利用cytoNCA插件对核心基因进行计算,根据degree筛选出白及治疗痤疮的核心靶点。

**2.5.4 GO功能分析与KEGG通路富集** 利用Metascape<sup>[7]</sup>平台分析其主要的生物学过程与代谢通路并进行GO分析和KEGG通路分析。

## 2.6 分子对接

将网络药理学分析得到的核心靶点及核心成分进行分子对接技术进行验证。核心成分的二维靶点和核心靶点的三维结构分别通过PubChem数据库和RCSB PDB数据库获得,将受体蛋白导入PYMOL 2.4.1软件进行去水和去配体操作;将活性成分导入AutoDockTools 1.5.6软件计算扭转键、加氢,并

且进行分子对接操作,根据成分与靶点的最低结合能制作表格,用 PYMOL 2.4.1 对结合能最低的结合模式作图。

### 2.7 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8 统计软件进行数据分析;计量资料以均数 ± 标准差表示;采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示两组差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 白及不同萃取部位制备

白及醇提物经过溶剂萃取法,合并各部位萃取

液,干燥后得 BSE 19.31 g(得率 7.1%)、BSB 8.54 g(得率 3.1%)和 BSW 16.45 g(得率 6.1%)。

### 3.2 白及不同萃取部位提取物抑菌活性

**3.2.1 白及不同萃取部位提取物的抑菌圈** 用牛津杯法分别测定不同浓度的白及不同部位提取物对痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌的抑菌作用,见表 1。表 1 结果显示,BSE 对痤疮丙酸杆菌、表皮金黄色球菌、金黄葡萄球菌 3 种痤疮致病菌表现出明显的抑菌能力,且其抑菌能力随浓度升高而增强;另外 BSB、BSW 对以上 3 种菌均无抑菌能力,说明白及醇提物发挥抑菌作用的成分主要存在 BSE 中。

表 1 白及不同萃取部位提取物对痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌的抑菌直径。  $n = 3, \bar{x} \pm s$

Tab. 1 The bacteriostatic diameters of extracts from different extracted parts of *Bletilla striata* on *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*.  $n = 3, \bar{x} \pm s$

Group	$\rho$ /mg · mL <sup>-1</sup>	Inhibition circle diameter/mm		
		<i>P. acnes</i> ATCC 11827	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
BSE	300	25.97 ± 0.757 2 <sup>1)</sup>	21.03 ± 0.665 8 <sup>1)</sup>	19.33 ± 0.450 9 <sup>1)</sup>
	150	18.73 ± 0.642 9 <sup>1)</sup>	18.73 ± 0.550 8 <sup>1)</sup>	18.10 ± 0.360 6 <sup>1)</sup>
	75	17.40 ± 0.529 2 <sup>1)</sup>	14.37 ± 0.709 5 <sup>1)</sup>	16.33 ± 0.493 3 <sup>1)</sup>
	37.5	13.40 ± 0.529 2 <sup>1)</sup>	12.30 ± 0.793 7 <sup>1)</sup>	15.27 ± 0.550 8 <sup>1)</sup>
BSB	300	0	0	0
BSW	300	0	0	0
Control	300	0	0	0

注: BSE - 白及乙酸乙酯部位; BSB - 白及正丁醇部位; BSW - 白及水部位; 与空白对照组比较, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ 。

Note: BSE - ethyl acetate extract of *Bletilla striata*; BSB - butyl alcohol extract of *Bletilla striata*; BSW - water extract of *Bletilla striata*; <sup>1)</sup> $P < 0.01$ , vs control group.

**3.2.2 MIC 和 MBC** 微量稀释法测定 BSE 对痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 2.34、2.34、4.69 mg · mL<sup>-1</sup>, MBC 分别为 4.69、9.38、18.76 mg · mL<sup>-1</sup>。综合结果可知,BSE 对痤疮丙酸杆菌的抑菌和杀菌效果最佳。

### 3.3 白及不同部位提取物对小鼠复合痤疮模型耳廓的影响

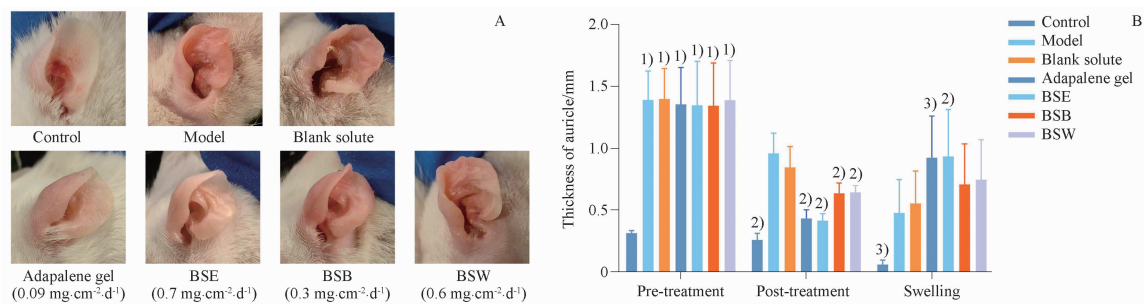
造模给药期间,小鼠体质量均稳定上升,精神状态良好,无死亡情况。

空白对照组小鼠左耳薄且表面光滑,皮下毛细血管清晰可见,且毛囊口未见角质物堆积。模型组小鼠左耳红肿明显,耳廓组织增生肥厚,表面粗糙覆盖有大量角质物,皮下毛细血管不可见,毛囊口扩张可见丘疹和脓疱,停止造模后耳廓仍然持续红肿,并伴随着轻度的脱屑;空白溶质组小鼠左耳在涂抹空白溶质后表面脱屑现象有所减轻,其余情况无减轻;阳性组给药 7 d 后左耳组织红肿现象较模型组有明显减轻,表面呈淡粉色,且可见皮下毛细血管,未见

耳廓表面角质物和丘疹出现;BSE 给药组治疗后,耳廓表面光滑且红肿增厚消失,皮下毛细血管清晰可见,未见表面角质物、丘疹;BSB、BSW 给药组治疗后,耳廓表面角质物减少,但其仍红肿增厚,左耳仍有丘疹存在。见图 1。

**3.3.1 白及不同部位提取物对小鼠复合痤疮模型耳廓厚度的影响** 造模 7 d 后,与空白对照组对比,模型组小鼠左耳均明显红肿增厚,且表面有丘疹产生( $P < 0.01$ )。治疗 7 d 后,与模型组对比,阳性组和 BSE 给药组小鼠左耳耳廓厚度有明显下降( $P < 0.01, P < 0.05$ );BSB、BSW 给药组小鼠左耳耳廓厚度虽有轻微下降,但差异无统计学意义。见图 1。

**3.3.2 白及不同部位提取物对小鼠复合痤疮模型耳廓组织病理学的影响** 小鼠耳廓组织 HE 染色结果显示,显微镜下可见空白对照组的耳廓组织角质层较薄,可见毛囊、皮脂腺体积正常,皮下未见炎症细胞浸润和毛细血管水肿,组织细胞无增殖;与空白



与正常对照组相比,<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组相比,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.05$ 。

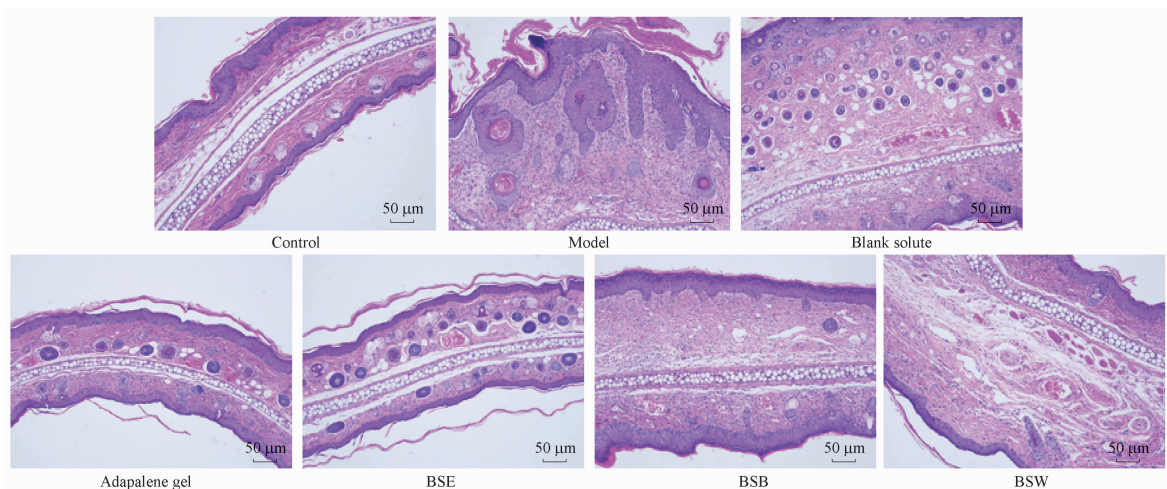
<sup>1)</sup> $P < 0.01$ , vs control group;<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.05$ , vs model group.

**图 1** 白及不同萃取部位对复合小鼠痤疮模型耳廓(A)和耳廓厚度(B)的影响。 $n = 8, \bar{x} \pm s$

**Fig. 1** Effects of different extracted parts of *Bletilla striata* on the auricle(A) and auricular thickness(B) in a composite mouse acne model.  $n = 8, \bar{x} \pm s$

对照组相比,模型组、空白溶质组角质层有明显增厚,且表皮组织结构被破坏,棘细胞层明显增厚,皮下炎性细胞明显浸润,毛细血管扩张、水肿、增生,局部区域炎症细胞增殖明显;阳性组和 BSE 给药组表

皮角质增厚、炎症细胞浸润程度、毛细血管扩张程度均有明显减轻;BSB、BSW 给药组的表皮角质组有轻微增厚,炎症细胞浸润程度较模型组仅有轻微减弱。见图 2。



**图 2** 白及不同部位提取物对小鼠复合痤疮模型耳廓组织病理学的影响(HE 染色,  $\times 200$ )

**Fig. 2** Pathological changes of auricle of mouse complex acne model in each group(hematoxylin-eosin staining,  $\times 200$ )

**3.3.3** 白及不同萃取部位提取物对小鼠复合痤疮模型组织 IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 IFN- $\gamma$  的影响 与空白对照组相比,模型组小鼠组织中的 IL-6、IL-1 $\beta$  含量显著升高,IFN- $\gamma$  的含量显著下降( $P < 0.01$ );与模型组对比,阳性组、BSE 给药组的 IL-6、IL-1 $\beta$  含量显著下降,IFN- $\gamma$  的含量显著升高( $P < 0.05$ ),BSB、BSW 给药组 IL-6、IL-1 $\beta$  含量下降但是统计学无显著性差异,见表 2。

综上可知 BSE 抗痤疮效果最佳,可以有效抑制痤疮 3 种致病菌还可以降低痤疮小鼠耳廓肿胀度、改善耳廓的病理变化、显著降低组织中的炎症因子含量。

### 3.4 白及不同萃取部位的化合物分析

根据相对分子量数据和质谱碎片离子,结合对照品、UFINI 自建数据库及文献,共鉴别出 51 个

化学成分,其正、负离子模式下总流图见图 3。其中负离子模式下鉴别出 51 个化合物,正离子模型下鉴别出 32 个化合物,正离子模式下鉴别出的化合物均可在负离子模式下鉴别,去除重复化合物,包括 11 个联苕类,如 batatasin III、3-O-methylbatatasin III、blestritin B;3 个简单菲类,如:blespirol;6 个二氢菲类,如 coelonin、bletlo C;10 个联菲类,如 blestrianol A、blestriarene A;14 个糖苷类如:dactylorhin E、gymnoside II 等,见表 3。

另外鉴定结果显示白及不同部位化学成分存在差异性成分。联苕类化合物及其菲类衍生物仅存在于乙酸乙酯部位中,糖苷类化合物在 3 个部位中均有分布,可推测芪类成分是白及发挥抗痤疮的药效活性成分。

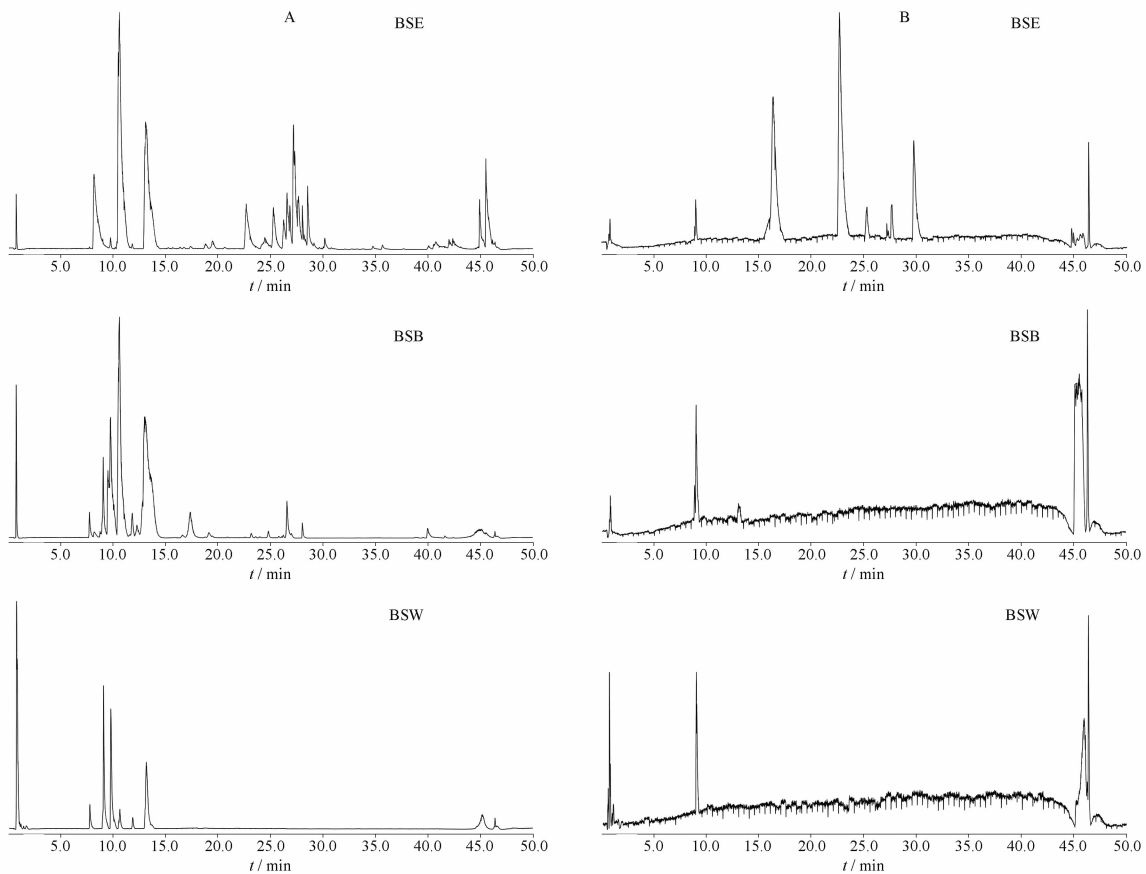
**表 2** 白及不同萃取部位对小鼠耳廓组织中白介素(IL)-6、IL-1 $\beta$ 及干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )水平的影响。 $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$

**Tab. 2** Effect of different extracted parts of *Bletilla striata* on the levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and IFN- $\gamma$  in mouse auricular tissues.  $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$

Groups	IL-6 /mg · g <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$ /mg · g <sup>-1</sup>	IFN- $\gamma$ /mg · g <sup>-1</sup>
Control	3.18 ± 1.662	12.84 ± 1.783	15.90 ± 3.521
Model	7.04 ± 1.721	20.76 ± 5.448	7.14 ± 1.486
Blank solute	6.73 ± 1.393	19.61 ± 4.924	8.06 ± 2.459
Adapalene gel	4.63 ± 1.935 <sup>2)</sup>	15.18 ± 4.319 <sup>2)</sup>	18.32 ± 3.971 <sup>1)</sup>
BSE	4.41 ± 1.176 <sup>2)</sup>	14.59 ± 4.159 <sup>2)</sup>	22.86 ± 4.379 <sup>1)</sup>
BSB	6.93 ± 1.514	18.08 ± 3.783	10.43 ± 1.779
BSW	6.77 ± 0.919	18.18 ± 1.788	11.77 ± 1.792

注:与空白对照组比较,<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.05$ 。

Note:<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ,  $zs$  control group.



**图 3** 白及不同萃取部位正离子(A)和负离子(B)总离子流图

**Fig. 3** Total ion chromatograms of positives ions (A) and negative ions (B) in the different extracted parts of *Bletilla striata*

**3.5.2 联苄类** 联苄类化合物是以1,2-二苯基乙烷作为母核的化合物,其苯环上的氢可以被多种取代基取代得到一系列的联苄类化合物,其主

**3.5 白及不同萃取部位中化合物的鉴定及裂解规律**

**3.5.1 糖苷类** 糖苷类化合物是由糖或糖衍生物的端基碳原子与另一类非糖物质连接形成化合物,主要是以糖苷键断裂为主。共鉴定出糖苷类成分14个。以保留时间13.13 min的化合物16为例,在负离子模式下的准分子离子峰为 $m/z$  725.266 7 [M-H]<sup>-</sup>,  $m/z$  771.271 05 [M+FA-H]<sup>-</sup> 1个酯键断裂后即可产生特征碎片离子峰 $m/z$  457.171 5 [M-C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>O<sub>6</sub>-H]<sup>-</sup>;如果两个酯键均断裂则产生天麻素基团 $m/z$  285.097 9 [M-C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>O<sub>10</sub>-H]<sup>-</sup>和异丁基-苹果酸碎片 $m/z$  189.076 8 [M-C<sub>26</sub>H<sub>33</sub>O<sub>12</sub>-H]<sup>-</sup>;另外碎片 $m/z$  153.055 7 [M-C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>O<sub>14</sub>-H]<sup>-</sup>为源自异丁基-苹果酸碎片进一步裂解丢失2个H<sub>2</sub>O而得。可进一步推测化合物16为militarine,裂解规律与文献[8]报道相符,见图4。

要的裂解方式取决于苯环之间的2个亚甲基碳连接断裂和苯环与亚甲基连接单键断裂<sup>[9]</sup>,并且会随着苯环上取代基的不同而出现不同的

表3 负离子模式下白及不同萃取部位中化学成分的超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)分析

Tab. 3 Chemical constituents in different extracted parts of *Bletilla striata* in negative ion mode by UPLC-Q-TOF-MS

No.	$t_R$ /min	Compound	$m/z$	Error $\times 10^{-6}$	Ionic mode	Molecular formula	MS/MS	Affiliation	Classify
1	0.78	Sucrose <sup>1)</sup>	341.1086	-0.9	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub>	89.02442	BSE,BSB、BSW	Carbohydrate
2	0.93	Gastrodin and its isomers <sup>1)</sup>	285.1053	-1.1	[M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	75.00877,123.04515	BSE,BSW	Glycoside
3	3.17	2,3,4,7-Tetramethoxyphenanthrene	297.1124	-2.9	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>		BSW	Phenanthrene
4	8.88	2,7-Dihydroxy-4-methoxyphenanthrene-2,7-O-glucoside	609.1853	4.6	[M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>13</sub>	131.03498,179.05611,339.1238	BSE	Glycoside
5	8.99	Ferulic acid	193.0516	4.8	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	133.0295,163.04007	BSE	Organic acid
6	8.99	Coumalic acid	193.0516	4.8	[M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>		BSE	Organic acid
7	9	3,7-Dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene-3-O-glucoside	431.1335	-2.8	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	89.02442,179.05611,269.08193	BSE,BSB、BSW	Glycoside
8	9.01	Shancigusin I	593.1870	-0.9	[M-H] <sup>-</sup> , [M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	119.04855,153.05484	BSE,BSB、BSW	Bibenzyl
9	9.01	3-Hydroxycinnamic acid	163.0408	4.3	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	117.03459,119.05024,145.0295, 163.03887	BSB,BSW	Organic acid
10	9.08	Dactylorhin E <sup>1)</sup>	619.2238	0	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	153.05572,163.03984,171.06628, 439.16097	BSE,BSB、BSW	Glycoside
11	9.22	Blettiloside A	669.2042	0.8	[M+HCOO] <sup>-</sup> , [M-H] <sup>-</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	134.03733,193.05063,355.10346, 461.14532	BSE	Glycoside
12	9.76	Dactylorhin A and its isomers <sup>1)</sup>	887.3183	-0.8	[M-H] <sup>-</sup> , [M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	179.05611,243.10267,439.16119, 619.22432,707.26035	BSE,BSB、BSW	Glycoside
13	10.52	2-Isobutylmalic acid	189.0768	0	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	137.02575	BSB,BSW	Organic acid
14	10.59	Gymnoside I	457.1714	-0.2	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	123.04515,127.07645,153.05572, 285.09798,443.15589	BSE,BSB、BSW	Glycoside
15	12.99	Gymnoside II	929.3298	0.2	[M-H] <sup>-</sup> , [M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	161.04692,221.06890,439.16051, 661.23313	BSE,BSB、BSW	Glycoside
16	13.13	Militarine <sup>1)</sup>	771.2710	-0.8	[M+HCOO] <sup>-</sup> , [M-H] <sup>-</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	153.05572,285.09798,189.0768, 457.17154,657.22385	BSE,BSB、BSW	Glycoside
17	16.39	Coelonin and its isomers	241.0861	-3.9	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>34</sub> H <sub>46</sub> O <sub>17</sub>	211.04007,226.06354	BSE	Dihydrophenanthrene
18	17.39	Gymnoside VIII <sup>1)</sup>	971.3378	-2.5	[M-H] <sup>-</sup> , [M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	153.05572,203.05611,439.16097, 481.17154,703.24549	BSE,BSB、BSW	Glycoside
19	20.95	Lusianthridin	241.088	4.1	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	93.03459,134.03733	BSE	Flavonoids
20	22.63	Gymnoside V	1063.3654	-0.9	[M+HCOO] <sup>-</sup> , [M-H] <sup>-</sup>	C <sub>37</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub>	93.03459,136.05298,227.07078, 243.10263,299.04023	BSE	Glycoside
21	22.7	Batatasin III <sup>1)</sup>	243.1017	-4.1	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	119.05024,136.05298,227.07137, 243.10263	BSE	Bibenzyl
22	24.02	Gymnoside IV	1017.3596	-1.3	[M-H] <sup>-</sup> , [M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	187.10025,309.12129,439.16097, 569.20599,707.25877,749.26581	BSE,BSB、BSW	Glycoside
23	25.03	Shanciguol <sup>1)</sup>	441.1715	1.6	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>34</sub> H <sub>46</sub> O <sub>17</sub>	93.03459,253.08702	BSE	Bibenzyl
24	26.22	Gymnoside VII	1059.3689	-2.5	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	153.05572,439.16069,569.20599, 787.26602	BSE	Glycoside
25	26.62	Bymnoside IX <sup>1)</sup>	1059.3678	-3.4	[M-H] <sup>-</sup> , [M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	221.06761,439.15986,569.20211, 661.23487,791.27538	BSE,BSB、BSW	Glycoside
26	26.73	Blestrin B	481.1678	4.5	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>40</sub> O <sub>16</sub>	330.08976,436.13162	BSE	Diphenanthrene
27	27.07	Bleformin B	375.1242	1	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	223.04007,359.0925	BSE	Phenanthrene
28	27.23	3,3'-Dihydroxy-2-(p-hydroxybenzyl)-5-methoxybibenzyl <sup>1)</sup>	349.1441	-1.3	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	134.03733,199.07645,227.07137, 243.10267	BSE	Bibenzyl
29	27.56	1-(4-Hydroxybenzyl)-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol and its isomers <sup>1)</sup>	347.1299	3	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	123.04515,253.08832,255.10307	BSE	Dihydrophenanthrene
30	27.66	Blestrianol A and its isomers <sup>1)</sup>	481.1652	-0.9	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	224.04789,465.13436	BSE	Diphenanthrene
31	27.66	Blestriarene B and its isomers <sup>1)</sup>	479.1498	-0.5	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>37</sub> H <sub>30</sub> O <sub>7</sub>	224.04818,465.13433	BSE	Diphenanthrene
32	28.36	Blestriarene C <sup>1)</sup>	477.1342	-0.3	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	447.08741	BSE	Diphenanthrene
33	28.58	Bullbocodin D and its isomers <sup>1)</sup>	455.1855	-1.9	[M-H] <sup>-</sup> , [M+HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>51</sub> H <sub>64</sub> O <sub>24</sub>	93.03459,255.10267,346.12065, 361.14374	BSE	Bibenzyl
34	28.61	Blestrianol D <sup>1)</sup>	451.1564	3	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>37</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub>	93.03440,239.07142,346.12065	BSE	Diphenanthrene
35	28.74	Blestriin C <sup>1)</sup>	561.2289	1.1	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>49</sub> H <sub>62</sub> O <sub>23</sub>	93.03459,243.10267,255.10267, 267.10267	BSE	Bibenzyl
36	28.81	Blestriin B <sup>1)</sup>	485.1977	1.6	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>42</sub> H <sub>58</sub> O <sub>23</sub>	93.03479,136.05320,227.07078, 243.10263	BSE	Bibenzyl
37	28.87	2,7-Dihydroxy-1,3-bis(p-hydroxybenzyl)-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene <sup>1)</sup>	453.1708	0	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>	93.03459,243.10267,255.10267, 359.12888	BSE	Dihydrophenanthrene
38	28.93	Blestriarene A <sup>1)</sup>	481.1665	1.7	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	436.13384	BSE	Diphenanthrene

No.	$t_R$ /min	Compound	$m/z$	Error $\times 10^{-6}$	Ionic mode	Molecular formula	MS/MS	Affiliation	Classify
39	29.75	3- <i>O</i> -Methylbatatasin III <sup>1)</sup>	257.119 5	4.7	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>36</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>	93.034 59, 242.094 84	BSE	Bibenzyl
40	29.78	Bletlol C	461.162 6	4.3	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>49</sub> H <sub>62</sub> O <sub>23</sub>	134.039 38, 153.056 81, 253.875 7	BSE	Dihydrophenanthrene
41	30.08	Blestrianol B and its isomers	587.205 8	-2.9	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub>	447.123 50, 495.164 27	BSE	Diphenanthrene
42	30.13	Blestrianol C <sup>1)</sup>	585.191 6	-0.5	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>37</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub>	93.035 18, 385.111 21, 493.164 41	BSE	Diphenanthrene
43	30.4	Bletlol B and its isomers <sup>1)</sup>	461.161 4	1.8	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>51</sub> H <sub>64</sub> O <sub>24</sub>	386.115 97	BSE	Dihydrophenanthrene
44	30.87	4, 7-Dihydroxy-1-( <i>p</i> -hydroxy-benzyl)-2-methoxy-9, 10-dihydro-phenanthrene and its isomers <sup>1)</sup>	347.129 7	2.3	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub>	93.034 59	BSE	Dihydrophenanthrene
45	31.37	Blespirol <sup>1)</sup>	397.110 1	4.9	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	231.019 12	BSE	Phenanthrene
46	33.16	Blestrin D	479.151 7	3.5	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>22</sub>	239.034 98, 464.126 54	BSE	Diphenanthrene
47	33.29	Bulbocol <sup>1)</sup>	363.160 5	0.8	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>44</sub> H <sub>60</sub> O <sub>24</sub>	93.034 59, 227.071 37	BSE	Bibenzyl
48	33.81	Blestrin C <sup>1)</sup>	479.151 9	4	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	241.050 63, 464.126 54, 466.142 19	BSE	Diphenanthrene
49	34.78	2, 6-Bis( <i>p</i> -hydroxybenzyl)-3', 5-dimethoxy-3-hydroxybibenzyl	469.201 2	-1.9	[M - H] <sup>-</sup> , [M + HCOO] <sup>-</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	93.034 59, 241.087 02, 333.113 23, 454.178 57	BSE	Bibenzyl
50	37.1	Blestrin A	575.242 7	-2.1	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>11</sub>	317.118 32	BSE	Bibenzyl
51	46.09	Palmitic acid	255.233	0.3	[M - H] <sup>-</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	227.201 65	BSE	Organic acid

注: <sup>1)</sup> - 正离子模式下采集到的化合物。

Note: <sup>1)</sup> - chemical constituents identified in positive ion mode.

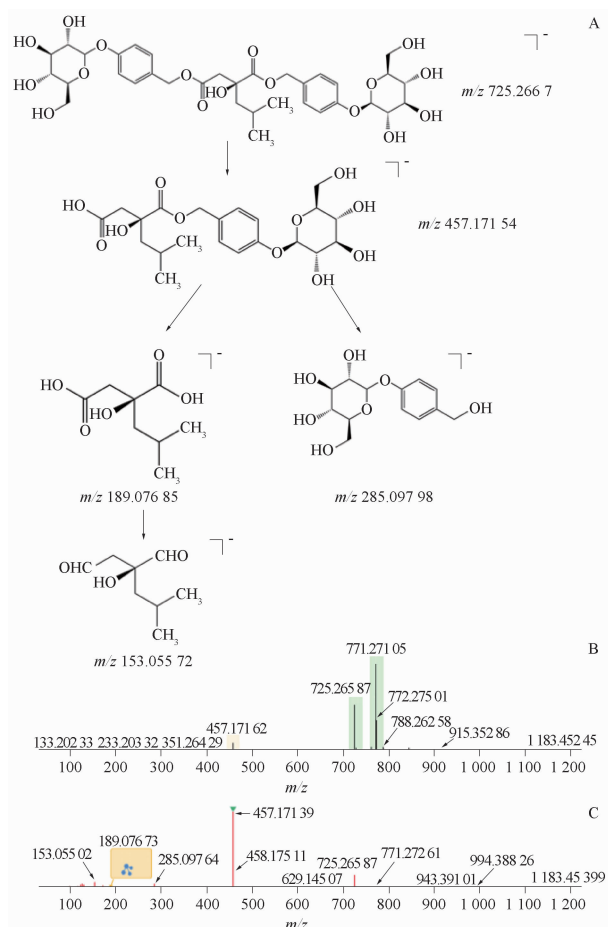


图 4 负离子模式下 militarine 的裂解途径 (A) 及质谱图 (B, C)  
Fig. 4 Cleavage pathway (A) and mass spectrums (B, C) of militarine in negative ion mode

裂解<sup>[10]</sup>, 共鉴定出 12 个联苕类化合物。以保留时间为 22.7 min 的化合物 21 为例, 根据数据库推测其分子式

为 C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>, 在正离子模式下的准分子离子峰为  $m/z$  245.116 8 [M + H]<sup>+</sup>, 亚甲基碳碳键断裂后形成了碎片离子峰  $m/z$  151.075 55 [M + H - C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O]<sup>+</sup>、 $m/z$  137.059 77 [M + H - C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup>、 $m/z$  107.048 98 [M + H - C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>、 $m/z$  121.064 76 [M + H - C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 推测此化合物为 batatasin III, 与文献[11]中报道一致, 推测裂解途径见图 5。

**3.5.3 菲类** 菲类化合物是一类由二苯乙烯前体通过芳香环氧化偶联形成的化合物。白及中单菲和联菲成分较多, 一共鉴定出 10 个联菲类化合物、6 个 dihydrophenanthrene 类、单菲类。

联菲类化合物主要是以双菲中间连接的碳碳键断裂为主, 以保留时间 27.66 min 的化合物 30 为例, 准分子离子峰先失去 1 分子 -CH<sub>3</sub>, 产生  $m/z$  465.134 3 [M - CH<sub>3</sub> - H]<sup>+</sup> 的碎片离子峰; 进一步裂解断裂失去 1 个 dihydrophenanthrene 单元, 形成了特征碎片离子峰  $m/z$  223.040 7 [M - C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub> - H]<sup>+</sup>, 确定此化合物为 blestrianol A, 推测裂解途径见图 6。

Dihydrophenanthrene 化合物主要是以苯环之间的亚甲基碳碳键断裂以及亚甲基碳碳键断裂为主, 以保留时间 27.56 min 的化合物 29 为例, 在负离子模式下的准分子离子峰为  $m/z$  347.129 9 [M - H]<sup>-</sup>, 失去 -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O 形成特征碎片离子峰  $m/z$  255.103 1 [M - C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O - H]<sup>-</sup>; 确定此化合物为 1-(4-hydroxybenzyl)-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol, 推测裂解途径见图 7。

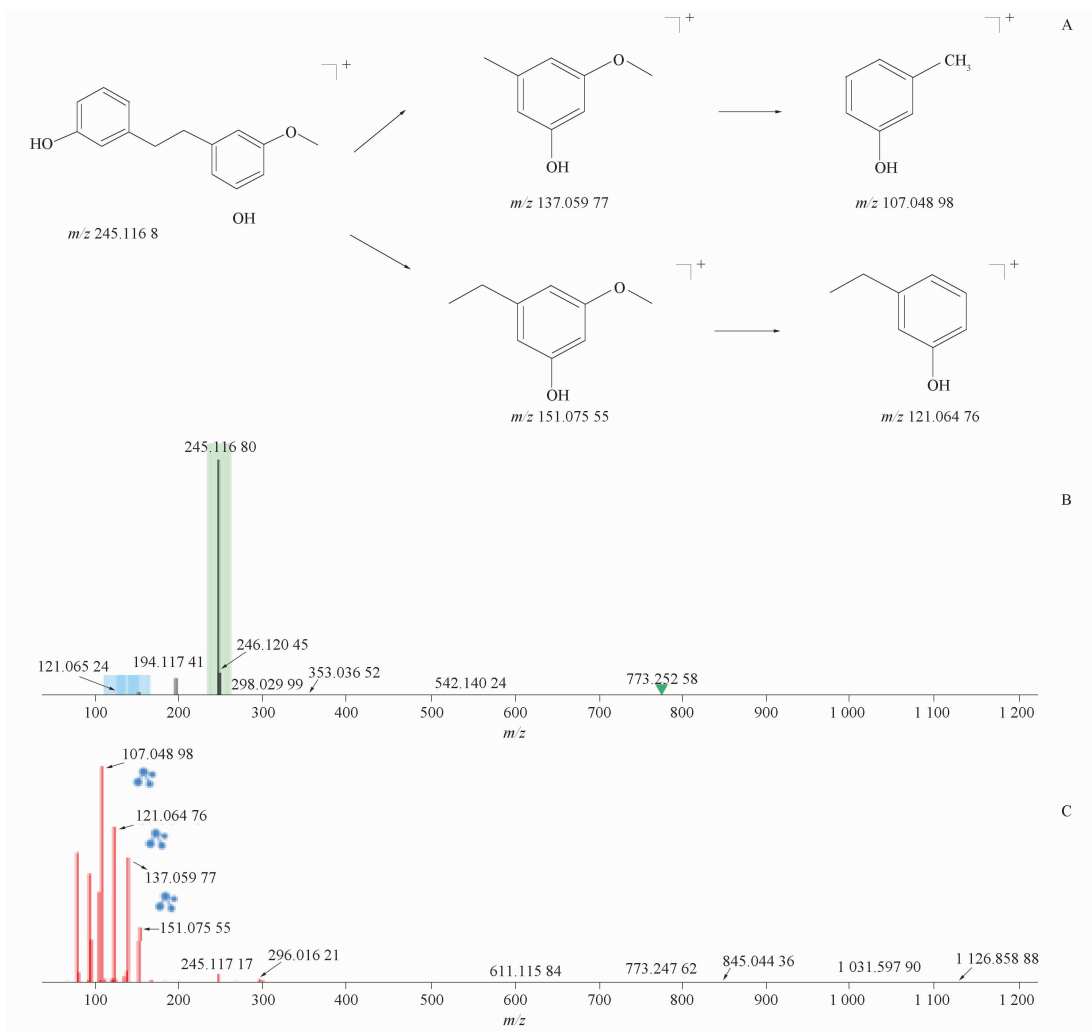


图5 正离子模式下 batatasin III 的裂解途径(A)及质谱图(B,C)

Fig. 5 Cleavage pathway(A) and mass spectrs (B,C) of batatasin III in posttive ion mode

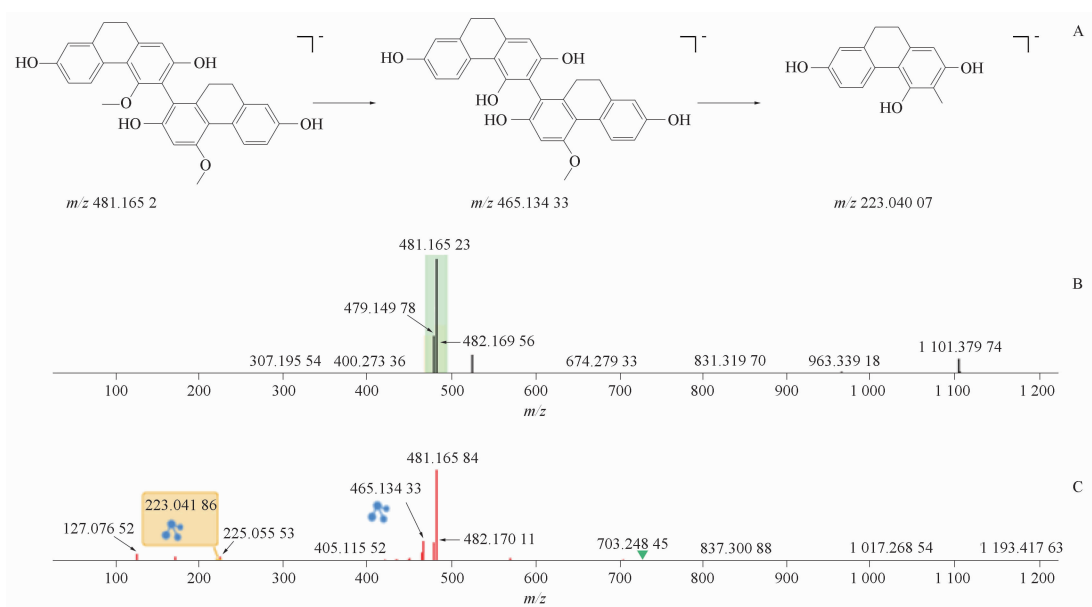


图6 负离子模式下 blestrianol A 的裂解途径(A)及质谱图(B,C)

Fig. 6 Cleavage pathway(A) and mass spectrs (B,C) of blestrianol A in negative ion mode

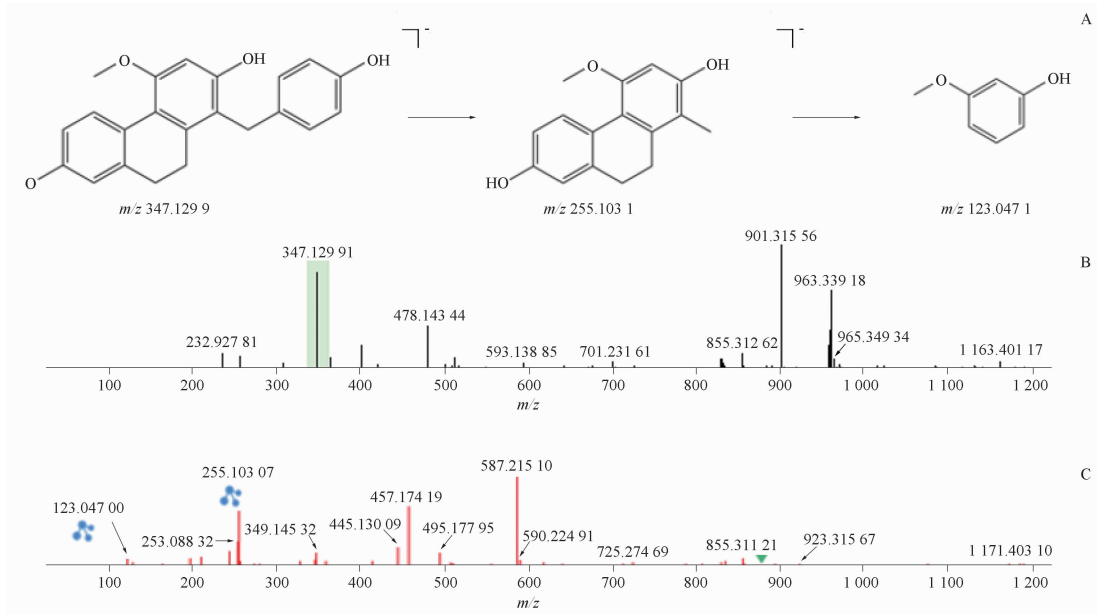


图7 负离子模式下1-(4-hydroxybenzyl)-4-methoxy-9,10-dihydropenanthrene-2,7-diol的裂解途径(A)及质谱图(B,C)

Fig. 7 Cleavage pathway(A) and mass spectrs(B,C) of 1-(4-hydroxybenzyl)-4-methoxy-9, 10-dihydropenanthrene-2, 7-diol in negative ion mode

**3.5.4 有机酸** 有机酸类化合物是植物中常见的一类天然产物,该类化合物的主要裂解途径为易丢失 $\text{CH}_3$ 、 $\text{CO}$ 等支链基团,且易在羰基处断裂形成碎片离子。一共鉴定得到5个有机酸类化合物,以保留时间在8.99 min的化合物5为例,

在负离子模式下的准分子离子峰为 $m/z$  193.051 46  $[\text{M} - \text{H}]^-$ ,主要碎片离子峰有 $m/z$  163.049 8  $[\text{M} - \text{CH}_3\text{O} - \text{H}]^-$ 、 $m/z$  133.030 5  $[\text{M} - \text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2 - \text{H}]^-$ ,对比文献[8]确定此化合物为 ferulic acid,推测裂解途径见图8。

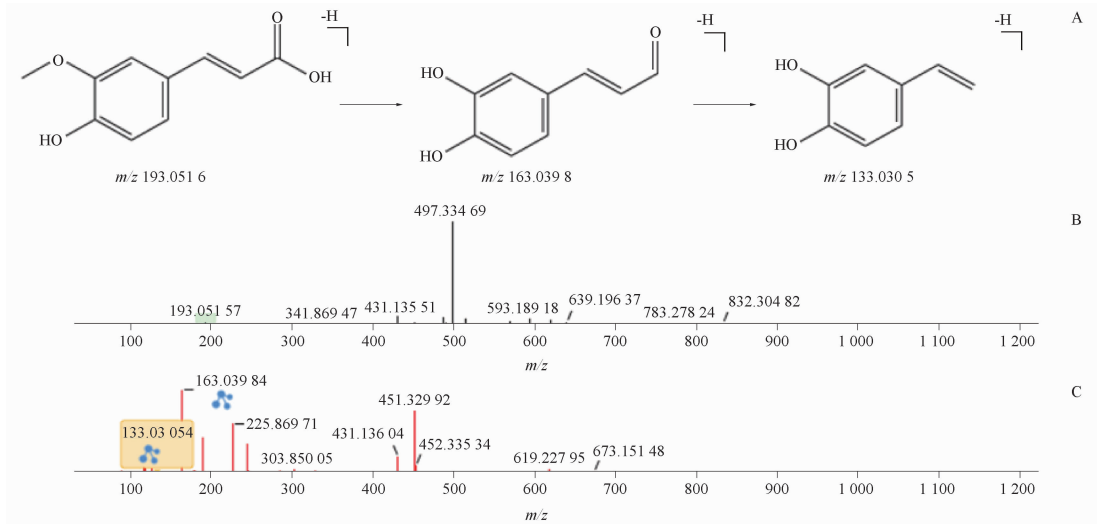


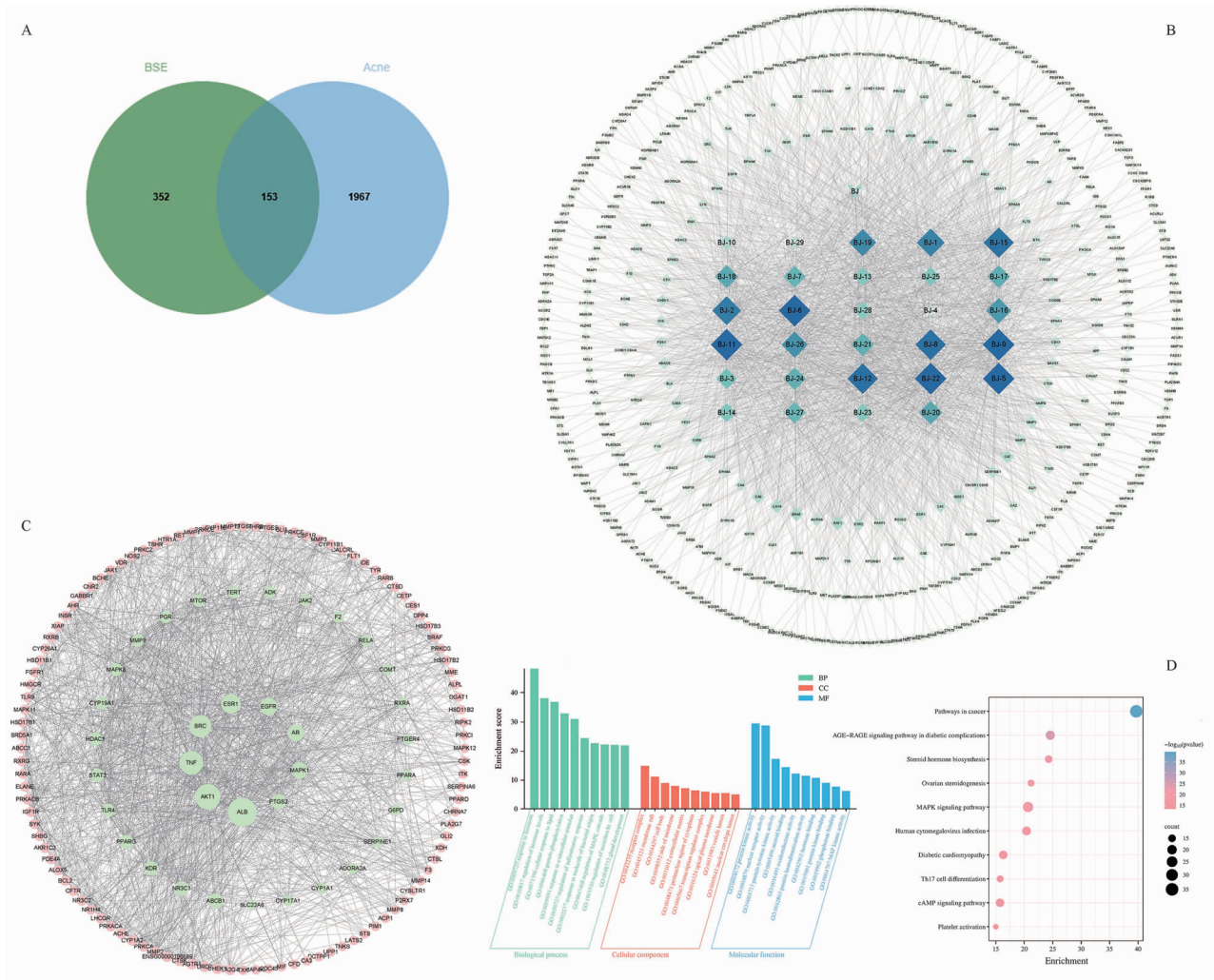
图8 负离子模式下 ferulic acid 的裂解途径(A)及质谱图(B,C)

Fig. 8 Cleavage pathway(A) and mass spectrs(B,C) of ferulic acid in negative ion mode

**3.6 BSE 活性成分及靶点、疾病靶点、药物与疾病潜在靶点预测**

筛选出满足以下2种条件的化学成分29个,条件1:5种类药性结果中有2个及2个以上为“**Yes**”的化合

物,条件2:皮肤渗透性在 $\pm 6 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ ,筛选获得白及化学成分潜在作用靶点505个。基于4个疾病数据库得到2120个痤疮相关靶点。将疾病靶点与药物靶点取交集,得到交集靶点153个,并制作韦恩图,见图9。



A – BSE 成分作用靶点和痤疮交集靶点的韦恩图; B – BSE 治疗痤疮的“成分-靶点-疾病”网络图; C – 蛋白质相互作用(PPI)网络图; D – 白及成分-疾病靶点基因本体(GO)、京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析。

A – venn diagram of common targets between BSE components and acne targets; B – “component-Target-Disease” network of BSE in the treatment of disease; C – PPI network; D – GO and KEGG pathway enrichment analysis of Bletilla Striata in the treatment of disease.

图9 BSE 与痤疮的网络药理学分析

Fig. 9 Network pharmacology analysis of BSE and acne

### 3.7 “成分-靶点-疾病”网络的构建

将 BSE 化学成分与痤疮共同靶点基因导入 Cytoscape 3.8.2, 构建 BSE 治疗痤疮的“成分-靶点-疾病”网络, 见图 9。利用 Network Analyzer 工具计算网络拓扑参数, 筛选出度值排名前 8 的化学成分作为核心活性成分, 包括 3-O-methylbatatasin III、bulbocol、3, 7-dihydroxy-2, 4-dimethoxyphenanthrene-3-O-glucoside、3, 3'-dihydroxy-2-(p-hydroxybenzyl)-5-methoxybibenzyl、3-(4-hydroxybenzyl)-4-methoxy-2, 7-dihydroxy-9, 10-dihydrophenanthrene、batatasin III、4, 7-dihydroxy-1-(p-hydroxybenzyl)-2-methoxy-9, 10-dihydrophenanthrene, 推测这些成分为 BSE 治疗痤疮的关键成分。

### 3.8 PPI 网络的构建

BSE 治疗痤疮靶点蛋白的 PPI 网络见图 9。按度值(degree)、介数中心性(betweenness centrality)、接近中心性(closeness centrality)均大于其平均值进行筛选, 见图 9。其中排名前 9 的核心靶点分包括白蛋白(ALB)、丝氨酸/苏氨酸激酶 1(AKT1)、肿瘤坏死因子(TNF)、酪氨酸蛋白激酶(SRC)、雌激素受体 1(ESR1)、表皮生长因子受体(EGFR)、雄激素受体(AR)、丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1)和前列腺素内过氧化物合酶 2(PTGS2)。

### 3.9 GO 功能分析与 KEGG 通路富集

将 BSE 治疗痤疮相关靶点上传 Metascape 数据库平台进行信号通路分析。GO 富集分析结果

显示,生物过程主要涉及对激素的反应、调节激素水平、细胞对脂质的反应、炎症反应的调节、对细菌来源分子的反应、MAPK 级联的调节等;细胞组成主要包括受体复合物、膜筏、细胞体、膜侧、转录调节因子复合物等;分子功能主要涉及蛋白激酶活性、核受体活性、类固醇结合、蛋白激酶结合、磷酸酶结合、MAP 激酶活性等,选取  $q$ -value 最小的前 10 条制图,见图 9。

KEGG 通路分析得到 163 条通路( $P < 0.05$ ), 对前 10 条通路进行可视化处理,主要包括类固醇激素生物合成、卵巢类固醇生成、MAPK 信号通路、

Th17 细胞分化、cAMP 信号通路等。主要涉及与免疫炎症、激素合成相关的通路,如类固醇激素生物合成、卵巢类固醇生成、MAPK 信号通路。

#### 4 分子对接验证

通过分子对接技术验证连接度排名前 9 的关键靶点与其对应并且度值排名前 5 的成分进行分子对接,当配体与受体蛋白的结合越稳定,其结合能越低,结合能见表 4。表 4 中的 5 个关键活性成分与关键靶点的结合稳定,可初步验证其为白及抗痤疮的关键药效物质。

表 4 BSE 关键活性成分与痤疮核心靶点的结合能。kJ · mol<sup>-1</sup>

Tab. 4 Binding energy of key active ingredients in BSE and core targets of acne. kJ · mol<sup>-1</sup>

Targets	3-(4-Hydroxybenzyl)-4-methoxy-2,7-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene	3,3'-Dihydroxy-2-( <i>p</i> -hydroxybenzyl)-5-methoxybibenzyl	Batatasin III	3,7-Dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene-3- <i>O</i> -glucoside	3- <i>O</i> -Methylbatatasin III
AKT1	-5.88	-9.5	-5.36	-6.7	-5.3
ALB	-7.49	-7.98	-5.92	-6.41	-6.36
TNF	-5.28	-7.23	-5.01	-6.12	-4.64
SRC	-5.7	-7.44	-5.32	6.02	-5.08
ESR1	-7.47	-8.87	-6.64	-7.01	-6.21
EGFR	-7.51	-9.3	-5.91	-6.75	-5.53
AR	-8.34	-9.99	-7.97	-8.18	-8.21
MAPK1	-6.72	-9.5	-6.55	-7.32	-5.91
PTGS2	-6.66	-10.84	-6.89	-8.05	-6.73

注: AKT1 - 丝氨酸/苏氨酸激酶 1; ALB - 白蛋白; TNF - 肿瘤坏死因子; SRC - 酪氨酸蛋白激酶; ESR1 - 雌激素受体 1; EGFR - 表皮生长因子受体; AR - 雄激素受体; MAPK1 - 丝裂原活化蛋白激酶 1; PTGS2 - 前列腺素内过氧化物合酶 2。

Note: AKT1 - serine/threonine kinase 1; ALB - albumin; TNF - tumor necrosis factor; SRC - tyrosine - protein kinase; ESR1 - estrogen receptor 1; EGFR - epidermal growth factor receptor; AR - androgen receptor; MAPK1 - mitogen-activated protein kinase 1; PTGS2 - prostaglandin-endoperoxide synthase 2.

#### 5 讨论

白及自古以来就是美容良药,其既有苦寒清热之性,又有增白润肤之效,还可以收涩生肌。前期经过本草考证发现白及可以治疗面上面疮。现代研究表明,白及可以发挥美白、润肤、改善黄褐斑的疗效,但其在抗痤疮方面的活性和物质基础尚未有充分的阐述,本实验利用体外抗菌和痤疮小鼠模型筛选出白及有效抗痤疮的部位,结合 UPLC-Q-TOF-MS 技术明确白及各萃取部位中的化学成分,并且通过网络药理学及分子对接初步阐明了白及抗痤疮的关键药效成分,为进一步探索白及治疗痤疮的机制提供了重要的理论基础。

采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术鉴定白及 3 个萃取部位,共鉴定出 51 个成分,其中联苕类及菲类成分仅在乙酸乙酯部位中检出,结合体外抗菌和小鼠复合模型实验结果可知苕类成分是其治疗痤疮的潜在活性成分。目前联苕化合物和菲系列衍生

物已被发现具有显著抗菌活性<sup>[12-13]</sup>,但乙酸乙酯部位中抑菌有效成分的含量较低,故导致其抑制痤疮致病菌的 MIC 较高,不过,与其他植物提取物相比<sup>[14-17]</sup>,其对痤疮致病菌的抑制效果显著,具有深入研究的价值。因网络药理学可以从网络的角度解释药物成分、复杂疾病之间的相互作用关系,故采用网络药理学的方法,对苕类成分是其治疗痤疮的主要药效成分的结论作进一步验证的同时,还可以挖掘出白及治疗痤疮的核心活性成分、确定其作用的靶点。网络药理学及分子对接结果表明,山药素 III (batatasin III)、3-(4-羟基苕基)-4-甲氧基-2,7-二羟基-9,10-dihydrophenanthrene [3-(4-Hydroxybenzyl)-4-methoxy-2,7-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene]、3,3'-二羟基-2-(对羟基苕基)-5-甲氧基联苕 [3,3'-dihydroxy-2-(*p*-hydroxybenzyl)-5-methoxybibenzyl]、3-*O*-甲基山药素 III (3-*O*-methylbatatasin III) 是白及治疗痤疮的关键活性

成分。目前,山药素Ⅲ已被证实具有广谱抗真菌能力<sup>[18]</sup>;3,3'-二羟基-2-(对羟基苄基)-5-甲氧基联苄可以抑制痤疮丙酸杆菌细胞膜的增殖<sup>[19]</sup>;山药素Ⅲ<sup>[20]</sup>和3-O-甲基山药素Ⅲ<sup>[21]</sup>可通过抑制p65核易位来调节下游炎症细胞因子的表达发挥抗炎作用。以上结果说明,白及中以山药素Ⅲ为代表的芪类成分是白及治疗痤疮的主要药效成分群。

目前认为主要造成痤疮发生有以下4种发病机制<sup>[22]</sup>:皮脂分泌过多、毛囊皮脂腺导管上皮角化异常、细菌感染及免疫炎症反应<sup>[23-25]</sup>。其中痤疮丙酸杆菌会促进多种炎症介质的释放<sup>[26]</sup>,进而导致痤疮病程的延长和发展,因此除了抑菌,抑制炎症反应也是治疗痤疮中的一个重要环节。本实验建立复合痤疮小鼠模型以评估白及不同萃取部位对痤疮小鼠的疗效,结果显示,乙酸乙酯提取物能显著性改善痤疮引起的病理状态,且给药后小鼠耳廓组织中的IL-6、IL-1 $\beta$ 水平下降,IFN- $\gamma$ 水平升高,说明其显著降低炎症因子释放。结合网络药理学分析结果进一步揭示白及可能通过AKT1、TNF、SRC、ESR1、EGFR、AR、MAPK1、PTGS2核心靶点发挥抗痤疮作用。其中AKT1、SRC、EGFR在皮肤细胞增殖、运动和分化中起着重要作用,影响皮肤细胞的功能。此外,ESR1<sup>[27]</sup>、AR<sup>[28]</sup>、PTGS2<sup>[29]</sup>、TNF<sup>[30]</sup>参与皮脂腺细胞的增殖、炎症等过程,进而加剧痤疮的发生。MAPK1<sup>[31]</sup>则参与多种细胞信号传导通路,调控炎症反应及细胞增殖。KEGG通路分析中,类固醇激素生物合成和卵巢类固醇生成<sup>[32]</sup>对激素平衡有直接影响,进而与痤疮的发病机制相关;MAPK<sup>[33]</sup>信号通路则通过调控细胞增殖和炎症反应,连接了多种靶点的作用;Th17通路<sup>[34]</sup>与介导免疫反应密切相关;而cAMP<sup>[35]</sup>信号通路则在调节细胞功能和代谢中起着重要作用。以上研究表明,白及治疗痤疮主要涉及激素合成、免疫炎症密切相关的信号通路。其可以通过抑制局部细菌感染和炎症、免疫反应两个方面治疗痤疮,这也体现中药通过多途径发挥药效的特点。

本实验采用的是小鼠复合模型,此模型可以模拟痤疮炎症的发病过程,但小鼠耳朵毛囊所含的细胞类型与人类毛囊情况并不相同<sup>[36]</sup>,无法完全模拟人类痤疮中的黑头粉刺问题,故仍存在一定局限,白及治疗痤疮背后的确切机制还需要进一步深入研究,后续可结合多组学、分子动力学模

拟等多种技术手段进一步验证。

## REFERENCES

- [1] XIE J, LIU L Y. Viaminate alleviates hyperkeratosis of ear acne epidermis in rats by activating RBP4/RAR $\gamma$  pathway [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2024, 59(14): 1312-1319.
- [2] WANG K T, WANG Y L, CUI Y L, et al. Pharmacological effects of polysaccharides of *Bletilla Striata* and research progress in the field of modern preparation of traditional Chinese medicine[J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2023, 45(7): 2281-2287.
- [3] ZHU X, WANG J, FU Y, et al. Evaluation of whitening and antimicrobial activity of two strains of *Bletilla Striata* WT and HL20 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 306: 116151.
- [4] KONG W H. Quality evaluation, rapid separation and preliminary study of anti-skin photoaging activity of *Bletillae Rhizoma* from Zhejiang province[D]. Zhejiang: Zhejiang Chinese Medical University, 2024.
- [5] SHANG R F, WANG G H, XU X M, et al. Synthesis and biological evaluation of new pleuromutilin derivatives as antibacterial agents[J]. *Molecules*, 2014, 19(11): 19050-19065.
- [6] GFELLER D, MICHELIN O, ZOETE V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules[J]. *Bioinformatics*, 2013, 29(23): 3073-3079.
- [7] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 1523-1533.
- [8] LI L M. Study on the Metabolite and Pharmacokinetics of Militarine from *Bletilla Striata* in Rats[D]. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [9] DING Y L. Analysis of Chemical Composition of *Dendrobii officinalis* caulis[D]. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [10] LIN J M, XIE H Q, YAO N, et al. Chemical composition analysis of different polar solvent extracts of *Dendrobium officinale* aqueous extract based on UPLC-Q-Orbitrap-MS[J]. *J Anhui Univ Chin Med* (安徽中医药大学学报), 2024, 43(4): 92-99.
- [11] WANG J, XIAO Q X, ZHOU Z Y, et al. Identification and analysis of chemic alconstituents of *Pleione yunnanensis* with origin of *Pleione yunnanensis*[J]. *J China Pharm* (中国药房), 2022, 33(10): 1165-1171.
- [12] LUO F, YU Y, ZHANG L H, et al. Study on the chemical constituents from *Bletilla striata* and its antibacterial mechanism against *Staphylococcus aureus*[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2023, 35(11): 1894-1901.
- [13] QIN Y F, WANG R B, TANG H, et al. Relationship between HPLC fingerprint chromatogram and antibacterial activity of medicinal herb of *Bletilla Rchb. F.* [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2020, 31(7): 832-837.
- [14] MA X, GONG H P, SHEN M Q, et al. Study on anti-propionibacterium acne effective parts of Sweet Potato Vines Extracts [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药理学), 2019, 36(7): 824-828.
- [15] ZHANG X. Experimental study on the *in vitro* antibacterial activity of pomegranate peel polyphenols against *Propionibacterium acnes* [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2015.

- [16] FANG T. Antibacterial activity of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* extract against *Propionibacterium acnes* and efficacy evaluation of new dosage forms for external use [D]. Kunmin: Kunmin Medical University, 2022.
- [17] ZHENG Y G. Experimental study on the *in vitro* bacteriostatic effect of compound phellodendron bark liquid spray on *propionibacterium acnes* [J]. *Chin J Mod Drug Appl* (中国现代药物应用), 2020, 14(11): 234-236.
- [18] ZHAI D, LV X, CHEN J, *et al.* Recent research progress on natural stilbenes in *Dendrobium* Species [J]. *Molecules*, 2022, 27(21): 7233.
- [19] YU Q, SUN L, PENG F, *et al.* Antimicrobial activity of stilbenes from *Bletilla Striata* against *cutibacterium acnes* and its effect on cell membrane [J]. *Microorganisms*, 2023, 11(12): 2958.
- [20] HASRIADI, WASANA P W D, SRITULARAK B, *et al.* Batatasin III, a constituent of *dendrobium scabrilingue*, improves murine pain-like behaviors with a favorable CNS safety profile [J]. *J Nat Prod*, 2022, 85(7): 1816-1825.
- [21] ZHANG C, NING D, PAN J, *et al.* Anti-inflammatory effect fraction of *Bletilla Striata* and its protective effect on LPS-induced acute lung injury [J]. *Med Inflamm*, 2021, 2021(1): 6684120.
- [22] CLAYTON R W, GÖBEL K, NIESSEN C M, *et al.* Homeostasis of the sebaceous gland and mechanisms of acne pathogenesis [J]. *Br J Dermatol*, 2019, 181(4): 677-690.
- [23] BLASKOVICH M A T, ELLIOTT A G, KAVANAGH A M, *et al.* *In vitro* antimicrobial activity of acne drugs against skin-associated bacteria [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 14658.
- [24] SUN L Y, Y Q, WANG D B, *et al.* Combination of total alkaloids of Huanglian and volatile oil of Chuanmuxiang Ameliorates acne in mice [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2024, 40(1): 35-41.
- [25] LIN D, DU X Y, WANG S N. Effects of Sanhuang Gel on p38MAPK signaling pathway and its key molecules in rat auricle acne complex model [J]. *Chin J Mod Drug Appl* (中国现代药物应用), 2024, 41(8): 1038-1046.
- [26] DRÉNO B. What is new in the pathophysiology of acne, an overview [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2017, 31(S5): 8-12.
- [27] XIE L, MA C, LI X, *et al.* Efficacy of glycyrrhetic acid in the treatment of acne vulgaris based on network pharmacology and experimental validation [J]. *Molecules*, 2024, 29(10): 2345.
- [28] MELNIK B C. Acne transcriptomics: fundamentals of acne pathogenesis and isotretinoin treatment [J]. *Cells*, 2023, 12(22): 2600.
- [29] TANAKA M, SHIRAKURA K, TAKAYAMA Y, *et al.* Endothelial ROBO4 suppresses PTGS2/COX-2 expression and inflammatory diseases [J]. *Commun Biol*, 2024, 7(1): 1-11.
- [30] DRÉNO B. What is new in the pathophysiology of acne, an overview [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2017, 31(S5): 8-12.
- [31] CAO J, XU M, ZHU L, *et al.* Viaminate ameliorates *Propionibacterium acnes*-induced acne via inhibition of the TLR2/NF- $\kappa$ B and MAPK pathways in rats [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2023, 396(7): 1487-1500.
- [32] KIM H J, KIM Y H. Exploring acne treatments: from pathophysiological mechanisms to emerging therapies [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(10): 5302.
- [33] DI H, LIU H, XU S, *et al.* Network pharmacology and experimental validation to explore the molecular mechanisms of Compound Huangbai Liquid for the treatment of acne [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2023, 17: 39-53.
- [34] MIAS C, MENGEAUD V, BESSOU-TOUYA S, *et al.* Recent advances in understanding inflammatory acne: deciphering the relationship between *Cutibacterium acnes* and Th17 inflammatory pathway [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2023, 37(S2): 3-11.
- [35] RAKER V K, BECKER C, STEINBRINK K. The cAMP pathway as therapeutic target in autoimmune and inflammatory diseases [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 123.
- [36] KANWAR I L, HAIDER T, KUMARI A, *et al.* Models for acne: a comprehensive study [J]. *Drug Discov Ther*, 2018, 12(6): 329-340.

(收稿日期:2024-09-05)