

基于 UPLC-QQQ/MS 技术探讨麻黄细辛附子汤与麻黄甘草附子汤物质基础及对肾阳虚外感证小鼠的作用

林佳坤¹, 刘美怡¹, 杨佳^{1,2}, 赵绍哲¹, 刘孝云^{1,3,4,5}, 叶冬雪^{1,3,4,5}, 容蓉^{1,4*}, 杨勇^{1,3,4,5*}

1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

2. 澳门科技大学, 澳门 999078

3. 中医药经典理论教育部重点实验室, 山东 济南 250355

4. 中医药基础研究山东省重点实验室, 山东 济南 250355

5. 中医药抗病毒山东省工程研究中心, 山东 济南 250355

摘要: **目的** 表征麻黄细辛附子汤 (Mahuang Xixin Fuzi Decoction, MXF) 和麻黄甘草附子汤 (Mahuang Gancao Fuzi Decoction, MGF) 的物质基础, 探究 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠模型的干预作用差异及其作用机制, 为临床精准用药提供基础研究依据。 **方法** 运用超高效液相色谱-三重四极杆质谱 (UPLC-QQQ/MS) 对 MXF 与 MGF 化学成分进行分析。将 60 只 BALB/c 小鼠随机分为对照组 (12 只) 和肾阳虚证模型组 (48 只)。通过 ip 苯甲酸雌二醇复制肾阳虚证小鼠模型, 在此基础上滴鼻感染 H1N1 流感病毒, 建立肾阳虚外感证小鼠模型。将造模成功的小鼠随机分为模型组、MXF (1.8 g/kg) 组、MGF (1.8 g/kg) 组和奥司他韦 (22.53 mg/kg) 组, 每组 12 只。连续给药 7 d, 检测各组小鼠体质量、肛温、生存率、脏器指数、肺组织病理、气管和肺泡灌洗液分泌型免疫球蛋白 A (secretory immunoglobulin A, SIgA) 水平、肺部病毒载量及血清炎症细胞因子水平的变化。 **结果** 从 MXF 中检测到麻黄碱类、乌头碱及芝麻酯素、细辛脂素等 15 种成分, 从 MGF 中检测到麻黄碱类、乌头碱及甘草苷等 18 种成分, MXF 中所含的麻黄类生物碱成分高于 MGF。与模型组比较, 各给药组均可恢复小鼠体质量、肛温, 恢复效果奥司他韦>MXF>MGF; 奥司他韦、MXF 组无小鼠死亡, MGF 组有 1 只小鼠死亡; 奥司他韦组和 MXF 组肺指数显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01); 各给药组小鼠肺组织病变减轻, 减轻程度奥司他韦>MXF>MGF; MXF 对小鼠肺部病毒的清除率更高; MGF 显著升高肺部灌洗液中 SIgA 水平 ($P<0.05$); 奥司他韦、MXF、MGF 均能有效降低促炎因子与抗炎因子总值、促炎因子与抗炎因子比值和促炎因子比例, 减轻机体炎症反应, 且 MGF 抗炎及免疫增强作用高于 MXF; 通过综合疗效的箱式图分析可知 MXF 优于 MGF。 **结论** MXF 和 MGF 中不同的佐药 (细辛/甘草) 影响了方中共有成分 (麻黄类生物碱、附子类生物碱) 的含量; MXF 与 MGF 均能有效治疗肾阳虚外感证, 减轻病毒感染后对机体造成的损伤。二者比较, MXF 的综合药效作用较好, 但 MGF 对炎症因子及免疫调控的作用更优。

关键词: 麻黄细辛附子汤; 麻黄甘草附子汤; 肾阳虚外感证; 炎症因子; 伪麻黄碱; 麻黄碱; 甲基麻黄碱; 乌头原碱; 苯甲酰次乌头原碱; 苯甲酰新乌头原碱; 苯甲酰乌头原碱; 次乌头碱; 新乌头碱; 乌头碱

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)08-2920-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.08.005

Exploration of material basis of Mahuang Xixin Fuzi Decoction and Mahuang Gancao Fuzi Decoction based on UPLC-QQQ/MS technology and their effects on mice with kidney-*yang* deficiency and external infection syndrome

LIN Jiakun¹, LIU Meiyi¹, YANG Jia^{1,2}, ZHAO Shaozhe¹, LIU Xiaoyun^{1,3,4,5}, YE Dongxue^{1,3,4,5}, RONG Rong^{1,4}, YANG Yong^{1,3,4,5}

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Macau University of Science and Technology, Macao 999078, China

收稿日期: 2025-05-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81873220); 2023 年度济南市市校融合发展战略工程项目 (JNSX2023054); 山东省技术创新引导计划 (YDZX2023044); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (ZYZZDXK-2023119); 山东中医药大学科学研究基金项目 (KY2024Z04)

作者简介: 林佳坤, 硕士, 研究方向为中药药理学。E-mail: yzxs202261@163.com

*通信作者: 容蓉, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药物质基础及作用机制研究。E-mail: rosierong@163.com

杨勇, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药抗病毒药效及作用机制研究。E-mail: yy7204@163.com

3. Key Laboratory of Classical Theory of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jinan 250355, China
4. Shandong Provincial Key Laboratory of Basic Research of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China
5. Shandong Provincial Engineering Research Center for Antiviral Treatment of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To characterize the material basis of Mahuang Xixin Fuzi Decoction (麻黄细辛附子汤, MXF) and Mahuang Gancao Fuzi Decoction (麻黄甘草附子汤, MGF), and explore the differences in intervention effects and mechanisms of MXF and MGF on mouse models of kidney-*yang* deficiency and external infection syndrome, and provide basic research basis for clinical precision medication.

Methods The chemical composition of MXF and MGF was analyzed using ultra-high performance liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-QQQ/MS). A total of 60 BALB/c mice were randomly divided into control group (12 mice) and kidney-*yang* deficiency syndrome model group (48 mice). A mouse model of kidney-*yang* deficiency syndrome was established by ip estradiol benzoate, and then intranasal infection with H1N1 influenza virus was performed to establish a mouse model of kidney-*yang* deficiency and external infection syndrome. The successfully modeled mice were randomly divided into model group, MXF (1.8 g/kg) group, MGF (1.8 g/kg) group and oseltamivir (22.53 mg/kg) group, with 12 mice in each group. After continuous administration for 7 d, changes in body weight, anal temperature, survival rate, organ indexes, lung tissue pathology, levels of secretory immunoglobulin A (SIgA) in tracheal and bronchoalveolar lavage fluid, lung viral load, and serum inflammatory cytokine levels of mice in each group were detected.

Results A total of 15 components including ephedrine, aconitine, sesamin ester and asarinin were detected in MXF, and 18 components including ephedrine, aconitine and liquiritin were detected in MGF. The content of ephedra alkaloids in MXF was higher than that in MGF. Compared with model group, all treatment groups were able to restore the body weight and anal temperature of mice, and the recovery effect was oseltamivir > MXF > MGF; There were no mouse deaths in oseltamivir and MXF groups, while one mouse died in MGF group; The lung index of oseltamivir group and MXF group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$); The lung tissue lesions of mice in each treatment group were reduced, with the degree of reduction being oseltamivir > MXF > MGF; MXF had a higher clearance rate of lung viruses in mice; MGF significantly increased the level of SIgA in lung lavage fluid ($P < 0.05$); Oseltamivir, MXF and MGF could effectively reduce the total value of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors, the ratio of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors, and the proportion of pro-inflammatory factors, alleviate the body's inflammatory response, and MGF had higher anti-inflammatory and immune enhancing effects than MXF; According to the box plot analysis of comprehensive therapeutic effects, MXF was superior to MGF.

Conclusion Different adjuncts [Xixin (*Asari Radix et Rhizoma*/Gancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*)] in MXF and MGF affect the contents of common components (ephedra alkaloids, aconitum alkaloids) in the formula; Both MXF and MGF could effectively treat kidney-*yang* deficiency and external infection syndrome and reduce the damage caused to the body by viral infection. Comparing the two, MXF has better comprehensive pharmacological effects, but MGF has better effects on inflammatory factors and immune regulation.

Key words: Mahuang Xixin Fuzi Decoction; Mahuang Gancao Fuzi Decoction; kidney-*yang* deficiency and external infection syndrome; inflammatory factors; pseudoephedrine; ephedrine; methylephedrine; aconine; benzoylhypaconitine; benzoylmesaconine; benzoylaconine; hypaconitine; neoaconitine; aconitine

流行性感是一种急性上呼吸道传染病，主要由甲型 H1N1 流感病毒引起，具有很强的传染性^[1]，在年迈体弱、免疫力低下等流感高危人群中具有较高的发病率和死亡率^[2-3]。现代医学使用疫苗和化学药物作为防治流感的重要手段^[4-5]，美国免疫咨询委员会也建议通过接种流感疫苗以减少患者入院数量，减轻美国卫生保健系统压力^[6]。但由于流感疫苗防护存在滞后和脱靶性、成本较高、化药不良反应较多、容易出现耐药性等缺点，导致目前的防护效果有限。中医药在防治流感类病毒性疾病方面拥有悠久的历史、系统的理论指导和丰富的临床经验^[7-8]。流感高危人群（年迈体弱、免疫力低下者）多属于中医的肾阳虚体质^[9]，这类人群感染流

感病毒后容易出现危症和重症。因此，针对此类群体感染流感（肾阳虚外感证）开展药物干预研究，将对高危人群的流感防治具有重要意义。麻黄细辛附子汤（Mahuang Xixin Fuzi Decoction, MXF）和麻黄甘草附子汤（Mahuang Gancao Fuzi Decoction, MGF）均为出自《伤寒论》的经典名方，用于治疗太阳和少阴两感证（肾阳虚外感证）的不同时期（“始得之”“得之二三日”）^[10]，但其针对肾阳虚外感证不同阶段、适应证的物质基础和药效之间的差异尚不清楚。本研究对比了 MXF 和 MGF 的化学成分差异，以及两者治疗肾阳虚外感证在炎症水平和综合药效上的差别，为临床应用经典名方 MXF 和 MGF 提供依据，有助于为流感高危人群感染治疗提供现

代科学阐释,为临床精准用药提供基础研究支撑。

1 材料

1.1 动物

SPF级BALB/c雄性小鼠60只,6~8周龄,体质量16~18g,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,生产许可证号SYXK(鲁)20170022。动物饲养于山东中医药大学抗病毒协同创新中心生物安全二级实验室小鼠IVC笼内[实验动物设施许可证编号SYXK(鲁)2017-0022],温度24~26℃,相对湿度50%~60%,昼夜各半,交替照明。动物实验经山东中医药大学实验动物福利伦理审查委员会批准(批准号SDUTCM20160916003)。

1.2 病毒株

甲型H1N1流感病毒北京地方株购自中国疾控中心病毒病研究所。

1.3 药材

麻黄(批号17022808)、细辛(批号17021707)、炙甘草(批号17065876)购自安徽协和成药业饮片有限公司,黑顺片(批号161001)购自四川江油中坝附子科技发展有限公司,经山东中医药大学中药鉴定教研室李峰教授鉴定分别为麻黄科植物草麻黄*Ephedra sinica* Stapf的干燥草质茎、马兜铃科植物北细辛*Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag.的干燥根及根茎、豆科植物甘草*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根及根茎、毛茛科植物乌头*Aconitum carmichaelii* Debx.的子根的加工品,均符合《中国药典》2025年版规定。

1.4 药品与试剂

磷酸奥司他韦胶囊(批号M1050)购自上海罗氏制药有限公司;苯甲酸雌二醇注射液(批号170618)购自宁波第二激素厂;Multi-Analyte Flow Assay Kit炎症因子试剂盒(批号740748)购自美国BioLengend公司;生理盐水(批号1806070725)购自辰欣药业股份有限公司;对照品麻黄碱(批号171241-201809,质量分数为100%)、伪麻黄碱(批号171237-201510,质量分数为99.9%)、甲基麻黄碱(批号171247-200301,质量分数为99.6%)、乌头原碱(批号509-20-6,质量分数为98.0%)购自中国食品药品检定研究院;对照品细辛酯素、卡枯醇、乌头碱、次乌头碱、新乌头碱(批号分别为wkq1809920、wkq18121401、wkq918022713、wkq18050701、wkq18020902,质量分数≥98%)购自四川维克奇生物技术有限公司;对照品异甘草素、

甘草查耳酮C、异甘草苷、芝麻脂素、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱(批号分别为Y-008-161216、G-035017011、Y-120-161216、Z-001-170804、B-010-171216、B-009-181017、B-016-18060,质量分数≥98%)购自成都瑞芬思生物技术有限公司;对照品宋果灵、附子灵(批号分别为Y-135-140801、F-019-140728,质量分数≥98%)购自北京宝赛希望生物科技有限公司;对照品甘草素、甘草苷、甘草酸(批号分别为W22A7K13544、P25J7F18328、W22A7K13544,质量分数≥98%)购自上海源叶生物科技有限公司;蒸馏水(批号GB19298)购自广州屈臣氏食品饮料有限公司;乙醚(分析纯,批号20180608)购自国药集团化学试剂有限公司;AB-8大孔树脂(批号20190311)购自东鸿话工有限公司;β-环糊精(批号181029)购自曲阜市天利药用辅料有限公司;分泌型免疫球蛋白A(secretory immunoglobulin A, SIgA)检测试剂盒(批号6K05E44680)购自美国BioVision公司。

1.5 仪器

Accuri C6型流式细胞仪(美国BD公司);SCIENTZ-48型高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技有限公司);3K15型高速冷冻离心机(美国Sigma公司);JD 1000-3型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);ZIL-2型小鼠自主活动仪(中国医学科学院药物研究所);Model BAT-12型肛温计(美国Physitemp公司);Agilent 1260型高效液相色谱仪、Agilent 6470型三重四级杆质谱仪(美国Agilent公司);MettlerAE 20型十万分之一电子天平(德国赛多利斯科学仪器公司)。

2 方法

2.1 MXF、MGF的制备与成分分析

2.1.1 MXF的制备 称取麻黄12g、细辛12g、黑顺片24g,先将12g细辛采用水蒸气蒸馏法提取收集总挥发油,并收集所得细辛水煎液(细辛单煎液)。将细辛药渣与12g麻黄、24g黑顺片合并后,加入12倍量蒸馏水浸泡0.5h,回流提取3次,加水量分别为12、10、10倍量,第1次1h、第2次和第3次均为0.5h。将3次提取所得的水煎液与细辛单煎液合并后减压浓缩,冷冻干燥后得水煎液冻干粉(每克冻干粉相当于8.42g生药材)。为了更好地保存总挥发油,将所收集的挥发油用β-环糊精进行包合得挥发油包合物(每克包合物相当于165.29g生药材)。后续使用MXF时,根据所得水煎液冻干粉和

挥发油包合物的质量分别换算生药材的量, 进行混合后使用。

2.1.2 MGF的制备 称取麻黄 12 g、炙甘草 12 g、黑顺片 24 g, 加入 12 倍量蒸馏水浸泡 0.5 h 后, 回流提取 3 次, 第 1 次加入 12 倍量水提取 1 h, 第 2、3 次均加入 10 倍量水提取 0.5 h, 将 3 次提取所得水煎液合并后进行减压浓缩, 再进行冷冻干燥, 得冻干粉 (每克冻干粉相当于 6.05 g 生药材)。

将 MXF 冻干粉和挥发油包合物的混合物与 MGF 冻干粉 (均相当于 1 g 生药材), 均溶于 20 mL 50% 甲醇溶液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 得 MXF、MGF 供试液。

2.1.3 色谱条件 Angilent Eclipse plus C₁₈ 色谱柱 (150 mm \times 2.1 mm, 3.5 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-0.1% 甲酸乙腈溶液, 梯度洗脱: 0~3 min, 4%~6% B, 0.3 mL/min; 3~10 min, 6%~23% B, 0.3 mL/min; 10~10.01 min, 23% B, 0.2 mL/min; 10.01~20 min, 23%~25% B, 0.2 mL/min; 20~20.01 min, 25% B, 0.3 mL/min; 20.01~30 min, 25%~50% B, 0.3 mL/min; 30~35 min, 50%~100% B, 0.3 mL/min; 35~38 min, 100% B, 0.3 mL/min。进样量 3 μL ; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.4 质谱条件 电喷雾离子源 (electrospray ion, ESI), 采用正、负离子扫描模式, 扫描范围 m/z 100~1 000; 离子源温度 300 $^{\circ}\text{C}$; 干燥气体积流量 10 L/min; 雾化器压力 40 psi (1 psi=6.895 kPa); 毛细管电压 4 000 V; 采用多重反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式。MGF 的 MRM 检测条件: 0~9.5 min, 扫描麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱, 驻留时间 90 ms; 9.5~13.5 min, 扫描乌头原碱、附子灵、宋果灵, 驻留时间 90 ms; 13.5~18 min, 扫描甘草苷, 驻留时间 200 ms; 18~20.5 min, 扫描苯甲酰新乌头原碱, 驻留时间 90 ms; 20.5~22.5 min, 扫描苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头碱、异甘草苷, 驻留时间 90 ms; 22.5~26.5 min, 扫描甘草素, 驻留时间 90 ms; 26.5~40 min, 扫描甘草酸、乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、异甘草素, 驻留时间 25 ms。MXF 的 MRM 检测条件: 0~9.5 min, 扫描麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱, 驻留时间 90 ms; 9.5~23 min, 扫描苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、乌头原碱、附子灵、宋果灵, 驻留时间 40 ms; 26~35.85 min, 扫描乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、芝麻酯素、卡枯醇, 驻

留时间 40 ms; 35.85~40 min, 扫描细辛脂素, 驻留时间 200 ms。

2.2 动物分组、造模与给药

雄性 BALB/c 小鼠适应性饲养 3 d 后, 随机分为对照组 (12 只) 和肾虚证模型组 (48 只)。肾虚证模型组小鼠通过 ip 苯甲酸雌二醇注射液 (8 mg/kg) 复制肾虚证小鼠模型^[11-13], 每天 1 次, 连续 7 d, 对照组小鼠 ip 等体积的生理盐水。造模期间观察小鼠体征, 记录每日小鼠的肛温和体质量。7 d 后, 使用小鼠自主活动仪记录各组小鼠在 10 min 内自主活动次数, 并进行小鼠负重游泳实验, 以小鼠下沉 3 次作为无力游泳的指标, 记录各组小鼠游泳时间。将造模成功后的肾虚证小鼠按体质量随机分为模型组、MXF (1.8 g/kg, 相当于人临床等效剂量) 组、MGF (1.8 g/kg, 相当于人临床等效剂量) 组和奥司他韦 (22.53 mg/kg, 相当于人临床等效剂量) 组, 每组 12 只。除对照组外, 其余小鼠采用鼻腔滴注的方式感染 H1N1 流感病毒鸡胚尿囊液 (血凝滴度为 1:320), 每只 5 μL , 对照组小鼠鼻腔滴注等体积的生理盐水。感染病毒 24 h 后 ig 相应药物 (10 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水, 每天 1 次, 连续 7 d。

2.3 取材

给药期间观察小鼠一般体征, 并记录肛温、体质量及死亡情况。给药 7 d 后, 处死小鼠, 剖取小鼠的肺、脾、肾上腺、胸腺, 计算脏器指数。取右叶肺组织于 4% 多聚甲醛中固定, 经梯度乙醇脱水、石蜡包埋后切片, 进行苏木素-伊红 (HE) 染色, 于显微镜下观察肺组织病理变化。取部分肺组织置于 RNastore 溶液中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜渗透后弃去溶液, 采用 qRT-PCR 检测小鼠肺组织中 H1N1 流感病毒 M 基因的表达。

2.4 qRT-PCR 检测肺组织中 H1N1 流感病毒 M 基因的表达

用离心柱法提取小鼠肺组织总 RNA, 反转录为 cDNA, 采用荧光染料法进行 qRT-PCR 检测。反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 、15 min; 95 $^{\circ}\text{C}$, 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$, 32 s, 共 40 个循环。以 *Grec10* 为内参基因, H1N1 流感病毒 M 基因特异性引物序列为 F: 5'-CTGAG-AAGCAGATACTGGGC-3', R: 5'-CTGCATTGTCT-CCGAAGAAAT-3'; *Grec10* 基因特异性引物序列为 F: 5'-GCGGAGGTGATTCAAGCG-3', R: 5'-TGAC-CAGGCGGGCAAAC-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各组

小鼠肺组织 H1N1 流感病毒 M 基因的相对表达量。

2.5 气管及肺部灌洗液中 SIgA 水平的检测

小鼠安乐死后，打开胸腔，通过钝性分离法将小鼠的气管和肺组织与周围组织剥离，使其充分暴露，将气管自中间长度位置横向剪开，分为上、下 2 部分。将小鼠头部向下，向气管内缓慢注入预冷的生理盐水，灌洗 3 次，每次 0.4 mL，自小鼠鼻腔收集气管灌洗液。用棉线结扎肺右主支气管，向气管内注入 0.4 mL 预冷的生理盐水，停留 10~20 s 后，缓慢回抽液体，重复灌洗 3 次，收集肺部灌洗液。将收集的气管灌洗液和肺部灌洗液于 4 °C、1 500 r/min 离心 10 min 后，取上清液，按照 ELISA 试剂盒说明书测定 SIgA 水平。

2.6 血清中细胞因子水平的检测

收集小鼠血清，按试剂盒说明书进行样品处理，利用流式细胞仪检测血清中白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10、IL-13、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis- α , TNF- α)、 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 水平，利用 Biolegend 软件对数据进行处理分析。

为了分析 MXF 和 MGF 对小鼠血清中细胞因子的整体影响，将细胞因子划分为促炎细胞因子 (IL-2、IL-6、TNF- α 、IFN- γ) 和抗炎细胞因子 (IL-4、IL-10、IL-13)。将所有促炎细胞因子和抗炎细胞因子分别作为一个整体进行分析，采用几何平均值 (geometric average, GM) 计算促炎因子平均值和抗炎因子平均值，并比较促炎因子与抗炎因子总值、促炎因子与抗炎因子比值以及促炎因子比例，综合分析 MXF 和 MGF 对肾阳虚外感证模型小鼠血清中细胞因子的影响。

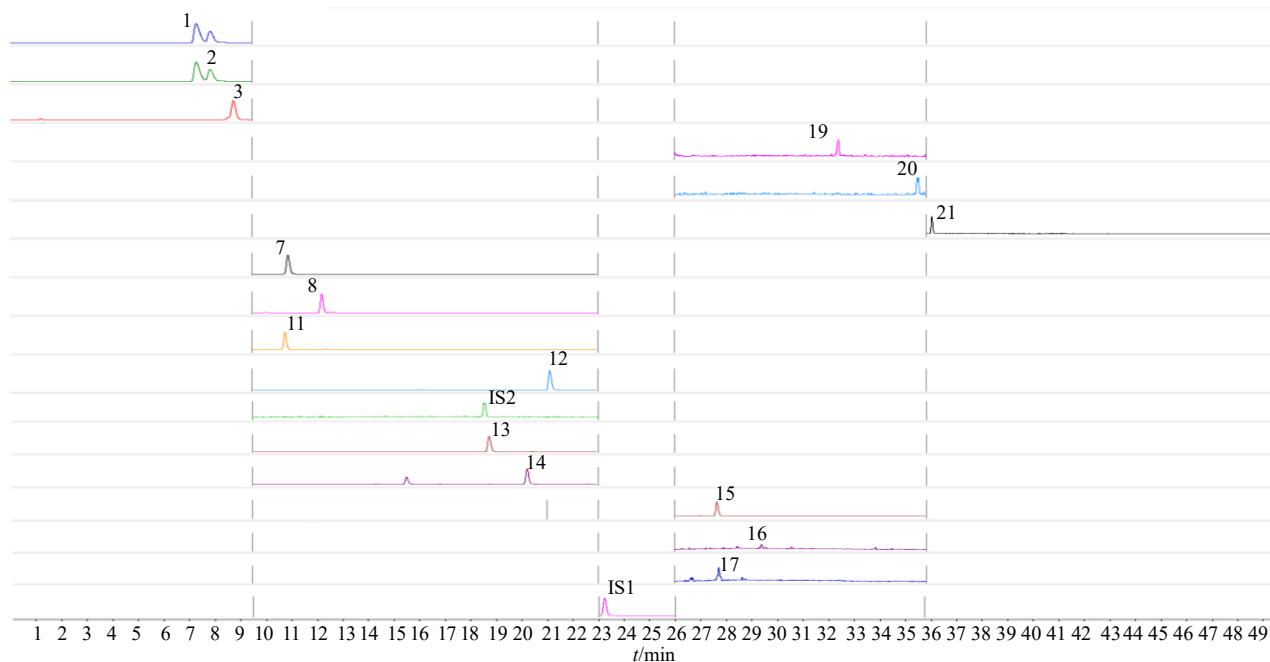
2.7 统计学分析

采用 IBM SPSS Statistics 25 统计学软件分析数据，使用 GraphPad Prism 9 软件进行作图分析，多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) LSD 检验，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 MXF、MGF 中化学成分含量比较

采用超高效液相色谱-三重四极杆质谱 (UPLC-QQQ/MS) 测定了 MXF 中 15 种化学成分与 MGF 中 18 种化学成分含量 (图 1、2 和表 1)，结果显示，



1-伪麻黄碱；2-麻黄碱；3-甲基麻黄碱；4-甘草素；5-异甘草素；6-甘草查耳酮 C；7-宋果灵；8-甘草苷；9-异甘草苷；10-附子灵；11-乌头原碱；12-苯甲酰次乌头原碱；13-苯甲酰新乌头原碱；14-苯甲酰乌头原碱；15-次乌头碱；16-新乌头碱；17-乌头碱；18-甘草酸；19-卡枯醇；20-芝麻酯素；21-细辛脂素；图 2 同。

1-pseudoephedrine; 2-ephedrine; 3-methylephedrine; 4-liquiritigenin; 5-isoliquiritigenin; 6-glycyrrhizic chalcone C; 7-shogogenin; 8-liquiritin; 9-isoliquiritin; 10-fuziline; 11-aconine; 12-benzoylhypaconitine; 13-benzoylmesaconine; 14-benzoylaconine; 15-hypaconitine; 16-neoaconitine; 17-aconitine; 18-glycyrrhizic acid; 19-cakool; 20-sesamol; 21-asarinin; Same as Fig. 2.

图 1 MXF 样品的 UPLC-QQQ/MS 色谱图

Fig. 1 UPLC-QQQ/MS chromatograms of MXF samples

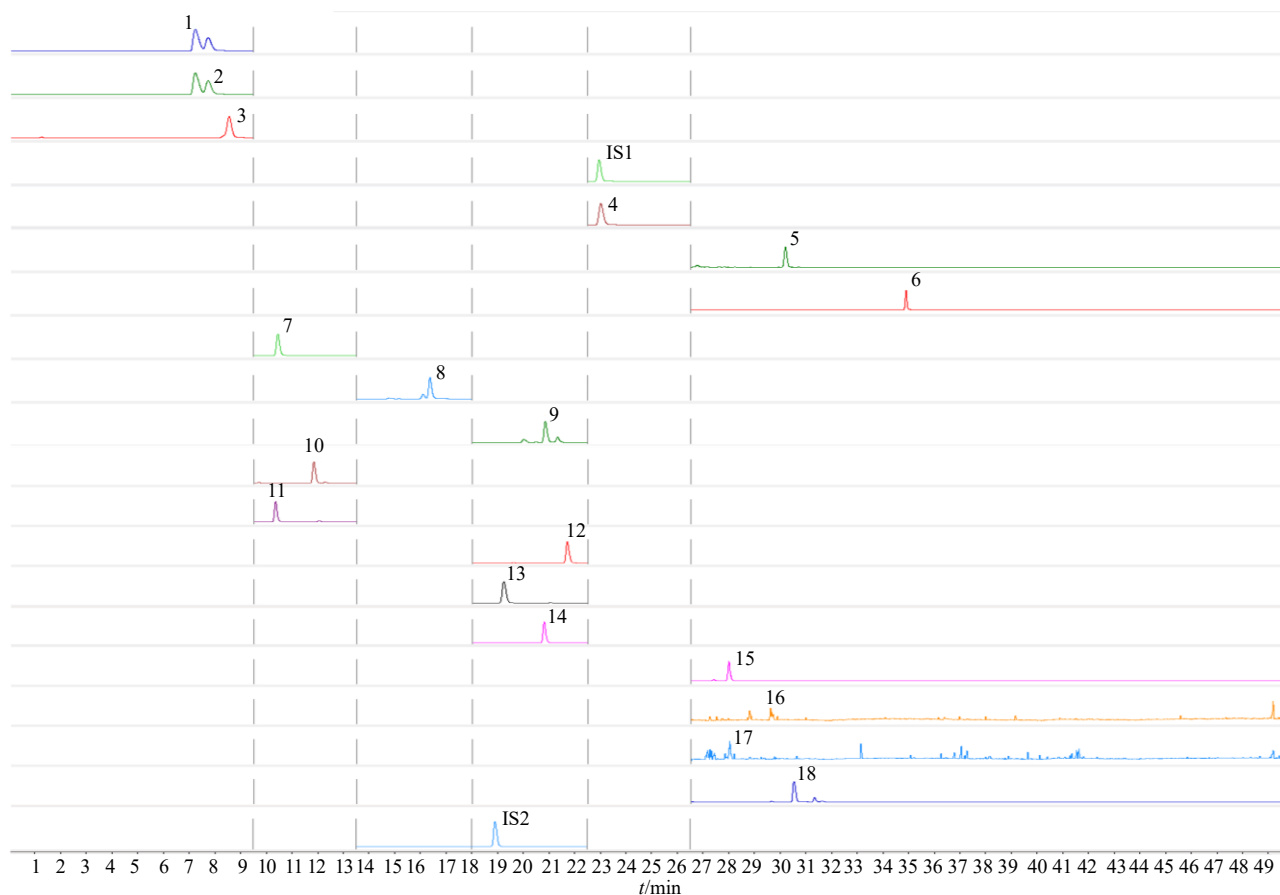


图2 MGF样品的UPLC-QQQ/MS色谱图

Fig. 2 UPLC-QQQ/MS chromatograms of MGF samples

表1 MXF与MGF中各成分的含量 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Contents of various components in MXF and MGF ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)						
	伪麻黄碱	麻黄碱	甲基麻黄碱	乌头原碱	苯甲酰次乌头原碱	苯甲酰新乌头原碱	苯甲酰乌头原碱
MXF	455.01 ± 13.19	577.77 ± 15.35	140.73 ± 4.46	434.46 ± 18.21	7 812.72 ± 245.87	4 710.17 ± 182.57	865.05 ± 27.33
MGF	301.12 ± 14.09	380.28 ± 18.08	92.05 ± 3.27	879.75 ± 30.57	5 016.49 ± 217.05	5 588.56 ± 155.67	1 273.76 ± 24.80
组别	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)						
	次乌头碱	新乌头碱	乌头碱	宋果灵	附子灵	卡枯醇	芝麻酯素
MXF	27.58 ± 1.22	3.74 ± 0.08	1.20 ± 0.04	3 175.61 ± 98.30	4 388.03 ± 104.42	81.33 ± 1.63	266.36 ± 13.17
MGF	160.68 ± 5.61	39.06 ± 1.14	1.14 ± 0.02	3 495.48 ± 146.19	4 308.53 ± 204.12	—	—
组别	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)						
	细辛脂素	甘草素	异甘草素	甘草查耳酮C	异甘草苷	甘草苷	甘草酸
MXF	1 306.42 ± 61.50	—	—	—	—	—	—
MGF	—	7 065.56 ± 173.99	680.52 ± 29.57	41.46 ± 1.81	6 086.14 ± 173.71	76.80 ± 1.64	140.61 ± 5.73

MXF中麻黄类生物碱(麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱)含量高于MGF; 附子双酯型生物碱(次乌头碱、新乌头碱、乌头碱)是附子的毒性成分, 同时也是有效成分, MXF和MGF中双酯型生物碱的总含量虽略有不同, 但含量均较低, 其水解产物单酯型生物碱(乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱)的总量, MXF略高

于MGF。推测可能是由于2个复方中佐药不同, 细辛、甘草中的某些成分影响了麻黄碱类成分和附子生物碱类成分的溶出, 从而导致了麻黄碱类成分和附子生物碱类成分在2个复方中含量的差异。

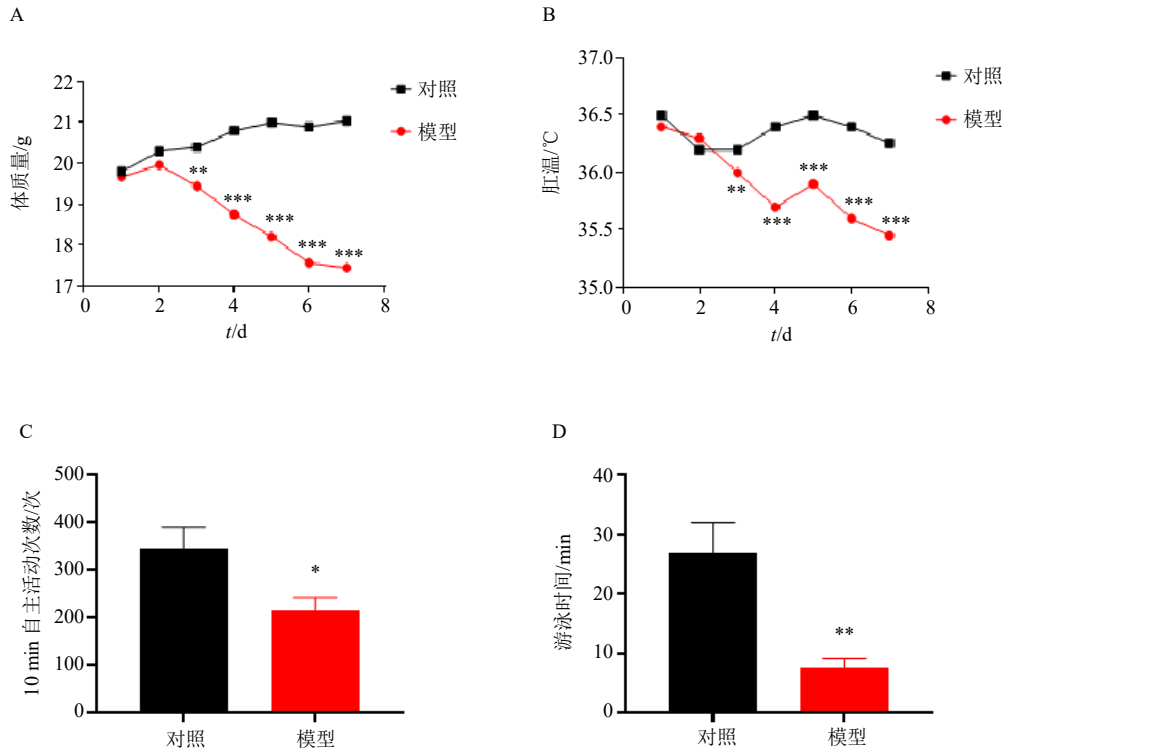
3.2 MXF、MGF对肾阳虚外感证小鼠的药效学评价

3.2.1 肾阳虚证小鼠模型评价 造模后, 肾阳虚证组小鼠出现弓背蜷缩、精神萎靡、消瘦、体毛无光

泽等症。如图3所示,自第3天起,小鼠体质量、肛温显著下降 ($P < 0.01$ 、 0.001),自主活动次数和负重游泳时间显著减少 ($P < 0.05$ 、 0.01),表明肾阳虚证小鼠模型成功建立。

3.2.2 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠体质量和

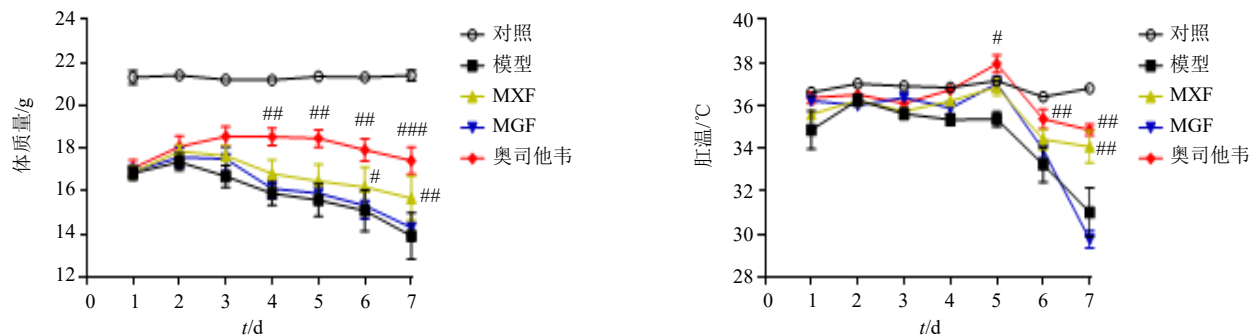
肛温的影响 如图4所示,对照组小鼠体质量无明显变化;模型组小鼠自感染病毒第3天起体质量和肛温逐渐降低;与模型组比较,MXF组和奥司他韦组小鼠体质量和肛温显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。



A-体质量; B-肛温; C-小鼠 10 min 内的自主活动次数; D-小鼠负重游泳时间; 与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
A-body weight; B-rectal temperature; C-number of spontaneous activities in mice within 10 min; D-duration of load-bearing swimming in mice; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图3 肾阳虚证小鼠模型的评价

Fig. 3 Evaluation of mouse model of kidney-yang deficiency syndrome



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$, 下图同。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group, same as below figures.

图4 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠体质量和肛温的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9 \sim 12$)

Fig. 4 Effects of MXF and MGF on body weight and anal temperature in mice with kidney-yang deficiency and external infection syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 9 \sim 12$)

3.2.3 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠生存率和脏器指数的影响 如图 5-A 所示, 对照组小鼠精神状态良好, 无小鼠死亡; 模型组在第 3、5、6 天各有 1 只小鼠死亡, 生存率为 75%; MGF 组在第 5 天

有 1 只小鼠死亡, 生存率为 91.67%; MXF 组和奥司他韦组无小鼠死亡。如图 5-B 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠脾指数和胸腺指数均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 肾上腺指数显著升高 ($P < 0.01$); 与模

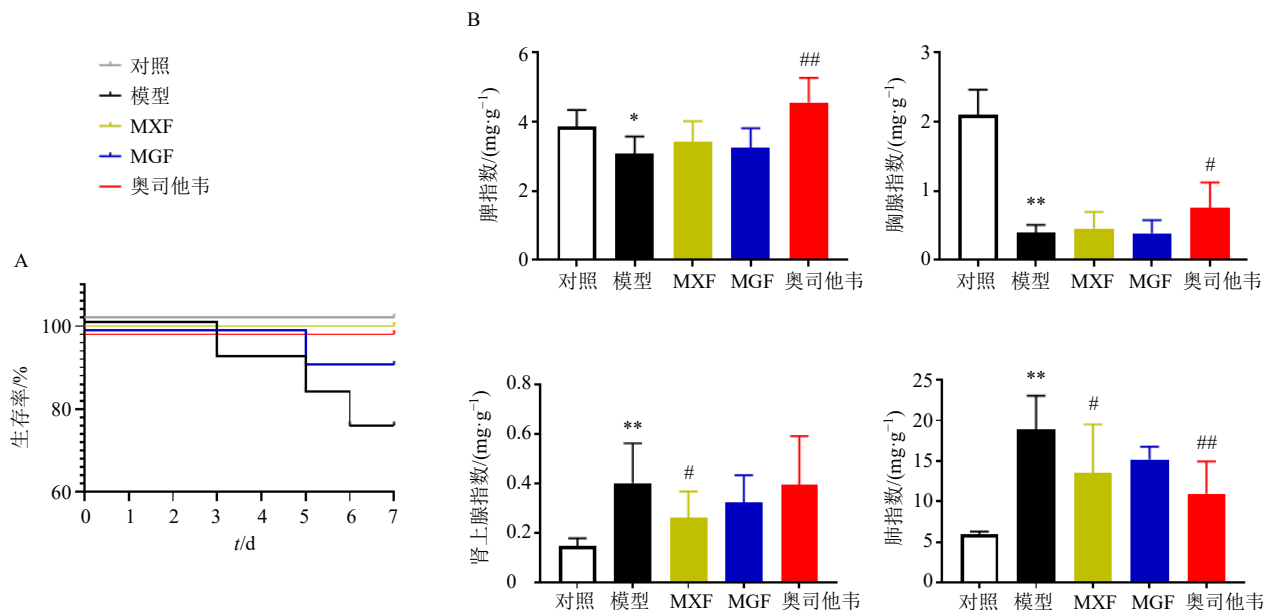


图 5 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠生存率 (A) 和脏器指数 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9 \sim 12$)

Fig. 5 Effects of MXF and MGF on survival rate (A) and organ indexes (B) of mice with kidney-yang deficiency and external infection syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 9 \sim 12$)

型组比较, 奥司他韦组脾指数和胸腺指数显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 肺指数显著降低 ($P < 0.01$); MXF 组肾上腺指数和肺指数显著降低 ($P < 0.05$)。表明造模后小鼠肺部发生肿胀以及炎症, 给药治疗后小鼠肺部感染程度明显改善。

3.2.4 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠肺组织病理变化的影响 如图 6 所示, 对照组小鼠肺泡组织清晰, 无红细胞外渗, 排列有序; 模型组小鼠肺部病变严重, 肺泡组织萎缩, 有生理病变, 红细胞外渗, 炎性细胞浸润, 肺组织有严重水肿和炎症特征;

给药干预后, 小鼠肺组织病变明显改善, 结构清晰, 炎症减轻, 其中奥司他韦组趋于正常, MXF 组明显改善。

3.2.5 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠肺组织中 H1N1 流感病毒 M 基因表达的影响 如图 7 所示, 与模型组比较, 各给药组小鼠肺组织中 H1N1 流感病毒 M 基因表达量均有不同程度的下降, 其中 MXF 组和奥司他韦组病毒载量显著降低 ($P < 0.05$), 表明 MGF、MXF 及奥司他韦能促进肺部病毒的清除, 且 MXF 效果更佳。

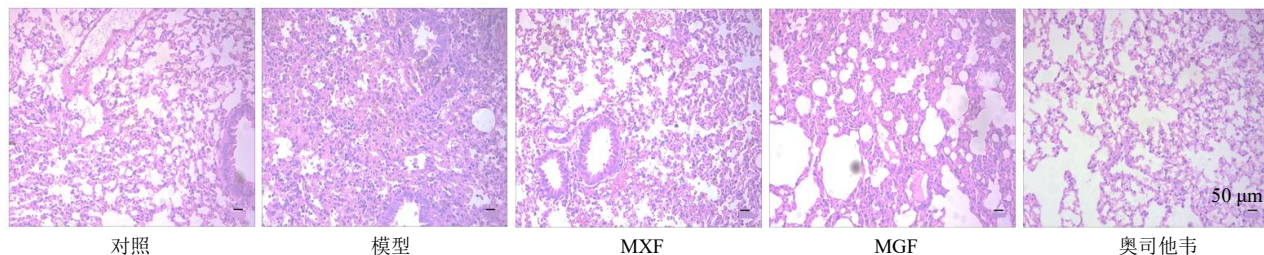


图 6 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠肺组织病理变化的影响 (HE, $\times 200$)

Fig. 6 Effects of MXF and MGF on pathological changes in lung tissues of mice with kidney-yang deficiency and external infection syndrome (HE, $\times 200$)

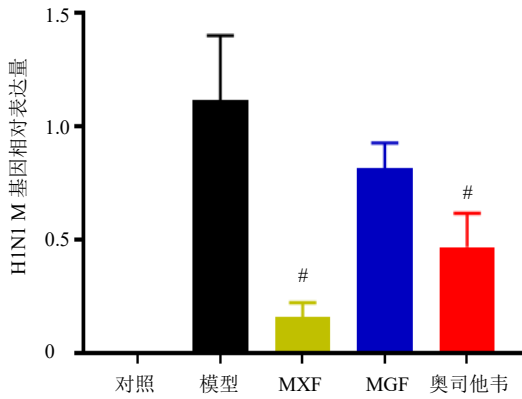


图7 MXF、MGF对肾阳虚外感证小鼠肺组织H1N1流感病毒M基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

Fig. 7 Effects of MXF and MGF on expression of H1N1 influenza virus M gene in lung tissues of mice with kidney-yang deficiency and external infection syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

3.2.6 MXF、MGF对肾阳虚外感证小鼠气管及肺部灌洗液中SIgA水平的影响 如图8所示,各组小鼠气管灌洗液中SIgA水平无明显差异。与对照组比较,模型组小鼠肺部灌洗液中SIgA水平显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,MGF组SIgA水平显著升高 ($P < 0.05$)。

3.2.7 MXF、MGF对肾阳虚外感证小鼠血清中促炎细胞因子水平的影响 如图9所示,与对照组比较,模型组小鼠血清中促炎细胞因子IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平显著升高 ($P < 0.01$),IL-2水平呈升高趋势;与模型组比较,MXF组和MGF组IL-6、TNF- α 和IFN- γ 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$),奥司他韦组IL-6、TNF- α 水平显著降低 ($P < 0.01$),MXF组和MGF组IL-2水平降低但无统计学差异。

3.2.8 MXF、MGF对肾阳虚外感证小鼠血清中抗炎细胞因子水平的影响 如图10所示,除奥司他

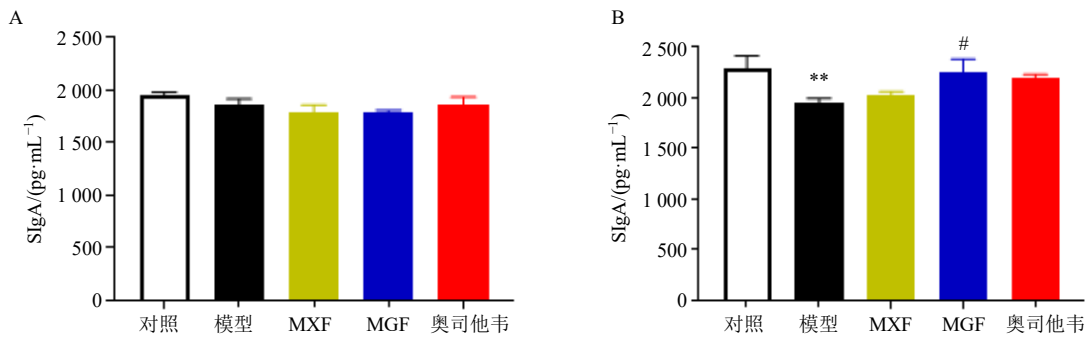


图8 MXF、MGF对肾阳虚外感证小鼠气管(A)及肺部(B)灌洗液中SIgA水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 5$)

Fig. 8 Effects of MXF and MGF on level of SIgA in trachea (A) and lung (B) lavage fluid of mice with kidney-yang deficiency and external infection syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 5$)

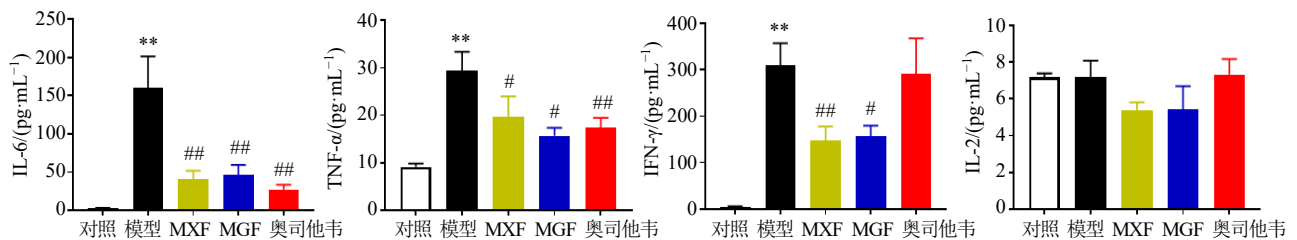


图9 MXF、MGF对肾阳虚外感证小鼠血清中促炎细胞因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 9$)

Fig. 9 Effects of MXF and MGF on levels of pro-inflammatory cytokines in serum of mice with kidney-yang deficiency and external infection syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 9$)

韦组小鼠血清中抗炎细胞因子IL-4水平显著高于模型组 ($P < 0.05$),其余各组抗炎细胞因子IL-4、IL-10、IL-13水平均无统计学差异。

3.2.9 MXF和MGF对肾阳虚外感证小鼠血清中细

胞因子的整体影响 如图11所示,感染流感病毒后,模型组和各给药组小鼠血清中促炎因子与抗炎因子总值、促炎因子与抗炎因子比值和促炎因子比例均升高;与模型组比较,各给药组小鼠血清中促

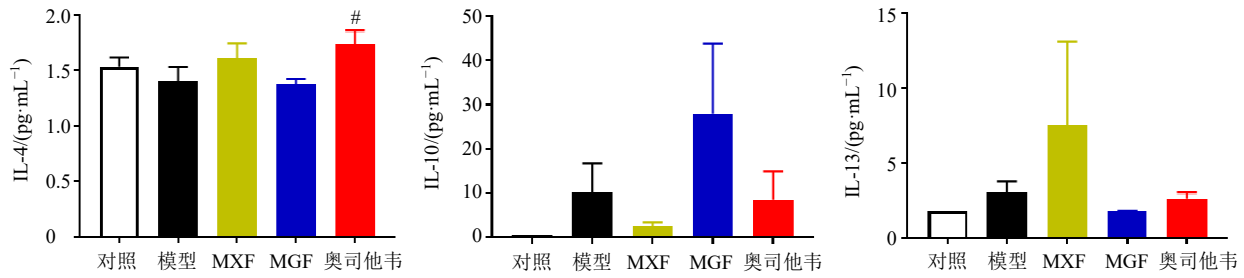


图 10 MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠血清中抗炎细胞因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 9$)

Fig. 10 Effects of MXF and MGF on levels of anti-inflammatory cytokines in serum of mice with kidney-yang deficiency and external infection syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 9$)

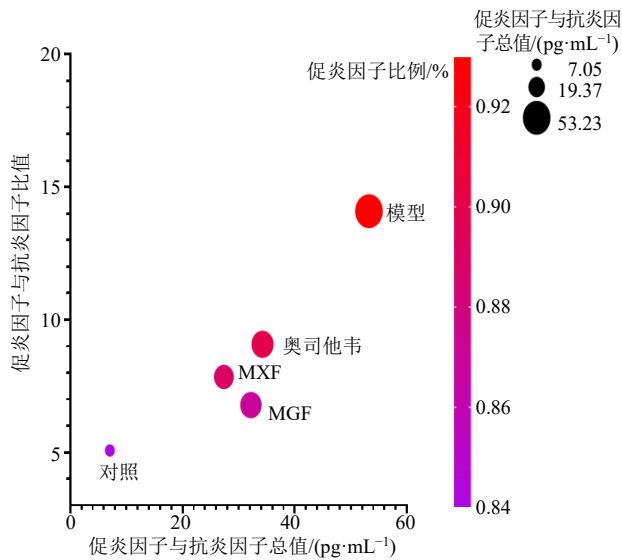


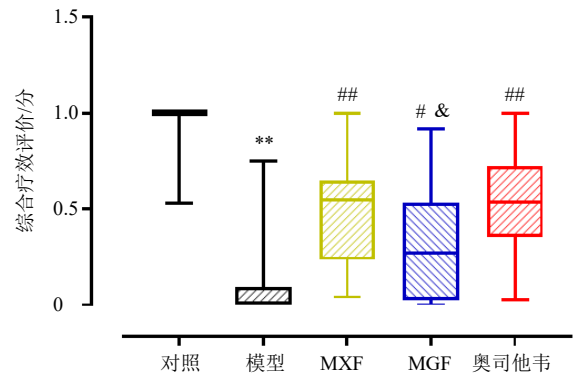
图 11 各组促炎因子与抗炎因子的气泡图

Fig. 11 Bubble chart of pro-inflammatory factors and anti-inflammatory factors in each group

炎因子与抗炎因子总值、促炎因子与抗炎因子比值和促炎因子比例均降低，其中 MGF 组促炎因子与抗炎因子总值虽然高于 MXF 组，但其促炎因子与抗炎因子比值和促炎因子比例均低于 MXF 组。表明奥司他韦、MXF 和 MGF 下调了小鼠血清中整体细胞因子含量、促炎细胞因子含量及促炎因子与抗炎因子的比值，其中 MXF 组促炎水平高于 MGF，MGF 组抗炎水平高于 MXF 组。

3.2.10 MXF 和 MGF 对肾阳虚外感证小鼠的综合疗效评价 由于各组小鼠的药理指标变化趋势不同，为了比较 MXF 和 MGF 的整体药效评价，将所有指标进行量纲化，分为正相关和负相关 2 部分，分别进行正向化处理和逆向化处理，其中体质量、肛温、生存率、脾指数、胸腺指数、气管灌洗液 SIgA 水平、肺部灌洗液 SIgA 水平进行正向化，肾上腺指数、肺指数、病毒载量、促炎因子与抗炎因子比值、

促炎因子与抗炎因子总值、促炎因子比例进行逆向化，将各组小鼠各项指标的数据都归一化到 0~1，综合分析 MXF 和 MGF 对肾阳虚外感证模型小鼠的治疗作用。如图 12 所示，与模型组比较，各给药组的综合疗效均显著升高 ($P < 0.05, 0.01$)，其中 MXF 组的综合疗效高于 MGF。



与奥司他韦组比较: $&P < 0.05$ 。
 $&P < 0.05$ vs oseltamivir group.

图 12 MXF 和 MGF 对肾阳虚外感证小鼠的综合疗效评价 ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

Fig. 12 Comprehensive therapeutic evaluation of MXF and MGF on mice with kidney-yang deficiency and external infection syndrome ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

4 讨论

MXF 与 MGF 均为《伤寒论》中治疗少阴病兼具表证的经典名方。《伤寒论》中指出，少阴病，若“始得之”，则“麻黄细辛附子汤主之”；若“得之二三日”，则“麻黄甘草附子汤微发汗”^[10]。现代研究证实麻黄类生物碱具有发汗、抗炎、抗病毒、舒张支气管平滑肌等作用^[14]，附子单酯型生物碱具有抗炎、镇痛等功效^[15]。细辛祛风散寒、镇痛发汗，可

助麻黄解表邪,加强外宣之功,促肺络溢卫之效^[16],有效缓解机体恶寒发热、头痛咽痛等证。本研究发现, MXF 和 MGF 中都含有大量麻黄碱类和乌头碱类成分,但由于佐药(细辛、甘草)不同, MXF 中麻黄类生物碱总量和附子单酯型生物碱总量高于 MGF,这种物质基础决定了 MXF 的发散解表作用强于 MGF,更快解除表证,因此 MXF 适用于少阴病“始得之”。而病两三日,邪气未深入到里,但正气虚弱,需发散且不可过之,因此用甘草替代细辛,一则以甘草甘缓之性缓和麻黄发汗之力,以求微微得汗而解,二则与附子相配,辛甘化阳,固护少阴阳气,同时补助中焦汗液之源。本研究中 MGF 麻黄类生物碱成分的含量较 MXF 降低, MGF 的发散减弱,而增加了固护正气的功效^[17-19],同时 MGF 中甘草素、异甘草素等有效成分有较好的抗炎作用^[20],因此适用于“得之二三日”。

通过比较 MXF 和 MGF 对肾阳虚外感证模型小鼠的炎症因子调节水平和整体药效评价发现,在流感感染的初始阶段, MXF、MGF 对肾阳虚外感证小鼠的体质量、肛温均有一定的改善作用,但到了感染的中后期, MXF 对模型小鼠体质量、肛温的恢复效果及对小鼠死亡的保护作用要优于 MGF,且 MXF 对改善肺部炎性病变、降低肺部流感病毒 M 基因表达作用更强,更能提高机体对病毒的清除率。SIgA 是黏膜免疫的主要抗体,覆盖在黏膜表面,阻止病原微生物黏附于黏膜而穿越上皮细胞进入机体,可以保护宿主免受感染^[21]。呼吸道分泌液中 SIgA 的含量与呼吸道黏膜对病原体的抵抗力呈正相关^[22],肾阳虚证小鼠感染流感病毒后,由于机体自身免疫机能下降,无力抵抗病毒侵袭,因此模型组小鼠肺泡灌洗液中 SIgA 的含量显著低于对照组; MXF 与 MGF 均能提高黏膜 SIgA 的分泌水平,且 MGF 对 SIgA 免疫调节作用更强。

当病毒侵入机体时,促炎细胞因子开始大量分泌,启动免疫应答,来消灭病原微生物,同时也会引起机体产生炎症反应^[23-24],当病毒导致感染和损伤后引起的炎症反应过度时,则会诱发细胞因子风暴,导致机体严重损伤甚至危及生命^[25]。另一方面,机体通过分泌抗炎细胞因子来抑制体内高水平的炎症因子表达,抑制炎症反应,使机体的生理水平和免疫水平恢复至正常状态。本研究比较了 MXF 和 MGF 对多种细胞因子的调节作用,发现小鼠在感染 H1N1 流感病毒后,促炎细胞因子和抗炎细胞因子

的水平均明显升高,肺部免疫应答激活,并且发生炎症反应; MXF 和 MGF 均能显著抑制血清中促炎性细胞因子 IL-6、TNF- α 和 IFN- γ 的水平。

本研究测定了实验终点的细胞因子变化,重点分析了炎症因子的整体调控作用,而不是不针对单一因子。不同的细胞因子在机体中发挥着不同的作用,且各因子间通常互相交织互相影响,相互作用复杂,因此分析炎症因子整体的作用比单个因子逐一分析更具说服力。结果表明 MXF 和 MGF 均能有效降低促炎因子与抗炎细胞因子总值、促炎细胞因子与抗炎因子比值和促炎因子比例,减轻机体炎症反应。其中, MGF 的促炎因子与抗炎细胞因子总值虽然高于 MXF,但 MGF 的促炎因子与抗炎因子比值和促炎因子比例均低于 MXF, MGF 的整体抗炎水平高于 MXF,更有利于恢复机体促炎细胞因子和抗炎细胞因子的平衡。综合 MXF、MGF 对肾阳虚外感证模型小鼠呼吸道灌洗液中 SIgA 水平和血清中细胞因子水平数据分析,可发现 MXF、MGF 对 SIgA 和炎症因子的免疫调节作用均强于阳性对照药奥司他韦,且 MGF 的作用略强于 MXF。为了综合评价各组间的药效我们将测得的各指标数据进行归一化处理,综合分析 MXF 和 MGF 对肾阳虚外感证模型小鼠的治疗作用,发现给药组能明显回调综合药理指标,并且 MXF 的综合疗效明显优于 MGF。

综上,本研究采用 UPLC-QQQ/MS 明确了 MXF 和 MGF 的物质基础,发现 MXF 与 MGF 中佐药(细辛、甘草)不同,对麻黄类生物碱成分的影响不同,与 MGF 比较, MXF 中细辛增加了麻黄类生物碱的含量及附子单酯型生物碱总量;而与 MXF 相比, MGF 中甘草提供了甘草素、异甘草素等黄酮类化学成分。药效学实验结果表明, MXF 与 MGF 均可用于治疗肾阳虚外感证,能够改善小鼠的体质量和肛温,减轻病毒感染后对机体造成的损伤,调节炎症因子的表达。二者比较, MXF 对肾阳虚外感证小鼠基本体证的改善作用较好,病毒清除率更高, MXF 对模型小鼠的综合疗效更优,用现代科学阐释了 MXF 在肾阳虚外感证初期(“始得之”)应用的合理性;而 MGF 对机体 SIgA 和细胞因子的免疫调节作用强于 MXF。本研究为临床上流感高危人群的感染患者应用 MXF、MGF 治疗提供基础研究证据和参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Mifsud E J, Kuba, Barr I G. Innate immune responses to

- influenza virus infections in the upper respiratory tract [J]. *Viruses*, 2021, 13(10): 2090.
- [2] Neuzil K M, Reed G W, Mitchel E F, *et al.* Impact of influenza on acute cardiopulmonary hospitalizations in pregnant women [J]. *Am J Epidemiol*, 1998, 148(11): 1094-1102.
- [3] Walsh E E, Cox C, Falsey A R. Clinical features of influenza A virus infection in older hospitalized persons [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2002, 50(9): 1498-1503.
- [4] 罗道清. 接种流感疫苗对流感疾病的预防控制作用分析 [J]. *临床医学工程*, 2020, 27(8): 1035-1036.
- [5] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制综合组. 全国流行性感胃防控工作方案 (2020年版) [J]. *中国病毒病杂志*, 2020, 10(6): 401-402.
- [6] Grohskopf L A, Alyanak E, Broder K R, *et al.* Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: Recommendations of the advisory committee on immunization practices-United States, 2020-21 influenza season [J]. *MMWR Recomm Rep*, 2020, 69(8): 1-24.
- [7] 吕小琴, 李敏, 刘清泉. 流行性感胃不同病原的中医辨证研究 [J]. *中国中医急症*, 2020, 29(1): 61-64.
- [8] 彭伟, 卢洪洲, 卜建宏, 等. 中医药治疗甲型流行性感胃研究进展 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(2): 960-963.
- [9] 范怀昌, 李炜弘, 袁世宏, 等. 从2067例流行病调查资料探讨肾虚证辨证细化分型 [J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(4): 952-954.
- [10] 刘渡舟. 伤寒论校注 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 5-183.
- [11] 李静, 杨勇, 容蓉. 小鼠腹腔水液体积检测方法建立及肾阳虚模型小鼠水负荷的评价 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(2): 74-78.
- [12] 孙启慧, 付业佩, 李灿, 等. 基于代谢组学方法研究麻黄细辛附子汤治疗肾阳虚外感小鼠的作用机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(5): 1752-1757.
- [13] 陈素红, 吕圭源, 范景, 等. 海马不同提取物对雌二醇致肾阳虚小鼠的影响 [J]. *中草药*, 2009, 40(2): 258-262.
- [14] 田楠楠, 杨茜和, 朱雅暄, 等. 麻黄的化学成分及其药效作用和药代特征 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(13): 3409-3424.
- [15] 咎珂, 过立农, 马双成, 等. 附子质量控制研究进展 [J]. *中国药事*, 2019, 33(7): 767-773.
- [16] 王天娇, 于睿智, 刘勇明, 等. 麻黄细辛附子汤在肺络病中的运用 [J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(10): 38-40.
- [17] 陈永炎. 古方麻黄汤及其加减方的临床应用 [J]. *中医杂志*, 2009, 50(S1): 2-3.
- [18] 王玉明. 麻黄附子细辛汤证与麻黄附子甘草汤证区别之我见 [J]. *四川中医*, 1995, 13(7): 3.
- [19] 肖德发. 麻黄附子甘草汤治太少两感证的体会 [J]. *江西中医药*, 1980, 11(4): 27-28.
- [20] 贾世亮, 武雪玲, 李筱筱, 等. 甘草中黄酮类物质的功能研究进展 [J]. *北京联合大学学报*, 2016, 30(4): 67-73.
- [21] Suzuki T, Ainai A, Hasegawa H. Functional and structural characteristics of secretory IgA antibodies elicited by mucosal vaccines against influenza virus [J]. *Vaccine*, 2017, 35(39): 5297-5302.
- [22] 刘亮. 减味小柴胡汤对小鼠反复上呼吸道感染模型呼吸道 SIgA 及 IgG、IgM 的影响 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2017.
- [23] Betakova T, Kostrabova A, Lachova V, *et al.* Cytokines induced during influenza virus infection [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(18): 2616-2622.
- [24] Damjanovic D, Divangahi M, Kugathasan K, *et al.* Negative regulation of lung inflammation and immunopathology by TNF- α during acute influenza infection [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(6): 2963-2976.
- [25] 李俏琦, 杨茜, 高玲, 等. 细胞因子风暴与病毒性肺炎 [J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2021, 20(1): 70-75.

[责任编辑 李亚楠]