

# 麻黄-苦杏仁药对通过调控巨噬细胞极化和 PI3K/Akt/mTOR 通路缓解急性肺损伤

马玉玮<sup>1</sup>, 李占涛<sup>2</sup>, 贾孟辉<sup>2</sup>, Judick Yap Wei Hoong<sup>1</sup>, 崔高畅<sup>1</sup>, 杨 早<sup>1\*</sup>

1. 东姑阿都拉曼大学 M. Kandiah 医学与健康科学学院, 马来西亚 雪兰莪州 43000

2. 银川市第一人民医院, 宁夏 银川 750004

**摘要:** 目的 基于磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) /哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路探讨麻黄-苦杏仁药对 (*Ephedrae Herba* and *Armeniacae Semen Amarum* combination, EAC) 通过调控巨噬细胞极化缓解急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 的作用机制。方法 采用高效液相色谱法 (high-performance liquid chromatography, HPLC) 检测 EAC 提取物中主要成分含量。结合网络药理学分析筛选 EAC 的潜在作用靶点及关键通路。建立脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 ALI 小鼠模型, 给予 EAC 或地塞米松干预后, 通过肺组织病理学、肺组织湿/干质量比、炎症因子水平检测, 结合免疫荧光、流式细胞术、qRT-PCR 及 Western blotting 评估 EAC 的抗炎效应及其对巨噬细胞极化和 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的调控作用。结果 网络药理学结果显示, PI3K/Akt/mTOR 通路为 EAC 治疗 ALI 的核心调控机制。动物实验结果显示, EAC 呈剂量相关性地缓解 ALI, 显著降低 ALI 小鼠肺组织病理评分、肺组织湿/干质量比及血清中促炎因子水平 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 显著升高血清中抗炎因子水平 ( $P < 0.01$ )。机制研究结果显示, EAC 可促进 M2 型巨噬细胞极化, 抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路异常激活, 从而有效减轻肺部炎症反应。结论 EAC 通过调节巨噬细胞 M1/M2 极化状态并抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路, 有效缓解 LPS 诱导的 ALI 炎症损伤。

**关键词:** 麻黄; 苦杏仁; 急性肺损伤; 巨噬细胞极化; PI3K/Akt/mTOR 通路; 抗炎; 麻黄碱; 伪麻黄碱; 苦杏仁苷

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2025)20 - 7407 - 15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.20.013

## *Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum* drug pair alleviates acute lung injury by regulating macrophage polarization and PI3K/Akt/mTOR pathway

MA Yuwei<sup>1</sup>, LI Zhantao<sup>2</sup>, JIA Menghui<sup>2</sup>, JUDICK YAP Wei Hoong<sup>1</sup>, CUI Gaochang<sup>1</sup>, YANG Zao<sup>1</sup>

1. M. Kandiah Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Tunku Abdul Rahman, Selangor 43000, Malaysia

2. First People's Hospital of Yinchuan, Yinchuan 750004, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of Mahuang (*Ephedra Herba*) and Kuxingren (*Armeniacae Semen Amarum*) combination (EAC) in alleviating acute lung injury (ALI) by regulating macrophage polarization based on phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. **Methods** High performance liquid chromatography (HPLC) was used to detect the contents of major components in EAC extract. Potential targets and key pathways of EAC were screened through network pharmacology analysis. Lipopolysaccharide (LPS)-induced ALI mouse model was established, EAC or dexamethasone were administered for intervention, the anti-inflammatory effect of EAC and its regulatory effect on macrophage polarization and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway were evaluated through detection of lung tissue pathology, lung tissue wet/dry weight ratio, inflammatory factor levels combined with immunofluorescence, flow cytometry, qRT-PCR and Western blotting. **Results** The results of network pharmacology showed that PI3K/Akt/mTOR pathway was the core regulatory mechanism of EAC in treatment of ALI. Animal experiment results showed that EAC dose dependently alleviated ALI, significantly reduced lung tissue pathological score, lung tissue wet/dry weight ratio and pro-inflammatory factors levels in serum of ALI mice ( $P < 0.05, 0.01$ ), and significantly increased anti-inflammatory factor level in serum ( $P < 0.01$ ). The mechanism research results showed that EAC could

收稿日期: 2025-05-29

基金项目: 2022 年银川市学术技术带头人储备工程项目

作者简介: 马玉玮 (1993—), 男, 博士研究生, 研究方向为中医内科学 (呼吸系统疾病)。E-mail: mayuwei@lutar.my

\*通信作者: 杨 早, 副教授, 博士生导师, 从事中医内科学研究。E-mail: yangz@utar.edu.my

promote polarization of M2 macrophages, inhibit abnormal activation of PI3K/Akt/mTOR pathway, and effectively alleviate pulmonary inflammatory response. **Conclusion** EAC effectively alleviates LPS-induced ALI inflammatory damage by regulating macrophage M1/M2 polarization and inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway.

**Key words:** *Ephedrae Herba*; *Armeniacae Semen Amarum*; acute lung injury; macrophage polarization; PI3K/Akt/mTOR pathway; anti-inflammatory; ephedrine; pseudoephedrine; amygdalin

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是一种由多种病因诱发的严重肺部炎症综合征。其可在短期内迅速进展为急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS), 主要特征为肺泡上皮和毛细血管内皮屏障破坏、难治性低氧血症及高病死率<sup>[1-2]</sup>。尽管包括机械通气 (mechanical ventilation, MV) 和体外膜肺氧合 (extracorporeal membrane oxygenation, ECMO) 在内的支持技术不断发展<sup>[3-4]</sup>, 但患者的总体死亡率仍未显著降低。目前临床治疗以对症支持为主, 缺乏针对炎症反应等关键病理环节的有效干预措施<sup>[5-6]</sup>。糖皮质激素如地塞米松因其抗炎作用用于抑制过度免疫反应<sup>[7]</sup>, 但长期应用可能引发免疫抑制、代谢紊乱等不良反应<sup>[8]</sup>, 限制了其临床推广。因此, 亟需开发兼具抗炎活性、靶向性和安全性的替代性治疗方案, 以实现为核心免疫机制的有效调控。中医药在炎症调节与免疫稳态维持方面展现出独特优势。麻黄-苦杏仁药对 (*Ephedrae Herba* and *Armeniacae Semen Amarum* combination, EAC) 为经典中药配伍, 广泛用于治疗哮喘、支气管炎等呼吸系统疾病<sup>[9-13]</sup>, 具有抗炎、镇咳、平喘等多重药理作用<sup>[14-16]</sup>。EAC 含有多种活性成分, 可能通过多靶点、多通路协同机制干预 ALI, 但其核心分子靶点及免疫调控机制尚缺乏系统性研究。

巨噬细胞在 ALI 发生发展中具有双重作用, 既可分泌促炎因子加剧组织损伤, 又能参与组织修复<sup>[17]</sup>。在炎症刺激下, 肺巨噬细胞可向 M1 型 [促炎型, 分泌肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)] 或 M2 型 (抗炎修复型, 分泌 IL-10) 极化<sup>[18]</sup>。M1 型的持续激活可引发炎症级联反应放大, 而 M2 型有助于恢复免疫平衡并促进组织再生<sup>[19-20]</sup>。磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) /哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路是调控巨噬细胞极化方向的重要信号轴<sup>[21]</sup>, 其过度激活往往偏向 M1 型反应, 而其适度调节有利

于 M2 型功能发挥<sup>[22]</sup>。已有研究表明, 该通路失衡与 ALI 炎症加剧密切相关<sup>[23-24]</sup>, 但中药是否可通过该通路实现免疫干预仍缺乏深入探讨。本研究建立脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 ALI 小鼠模型, 结合网络药理学与动物实验系统验证 EAC 的作用机制。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠, 8 周龄, 体质量 (22 $\pm$ 2) g, 购自宁夏医科大学实验动物中心, 动物许可证号 SYXK (宁) 2020-0001。动物饲养于宁夏医科大学动物实验中心, 温度 (22 $\pm$ 1)  $^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度 (55 $\pm$ 5) %, 12 h 光暗循环, 自由进食饮水。动物实验经宁夏医科大学动物伦理委员会批准 (批准号 IACUC-2024145)。

### 1.2 药材

麻黄和苦杏仁饮片 (批号分别为 212171、4500622111) 购自宁夏明德中药饮片有限公司, 经宁夏医科大学中医学院贾孟辉教授鉴定分别为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎、蔷薇科植物苦杏仁 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim. 的干燥种子。

### 1.3 药品与试剂

对照品麻黄碱 (批号 E862231, 质量分数为 99%)、伪麻黄碱 (批号 E2750, 质量分数 $\geq$ 98%)、苦杏仁苷 (批号 A6005, 质量分数 $\geq$ 99%) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; LPS (批号 SLBX0713) 购自北京索莱宝科技有限公司; IL-1 $\beta$  ELISA 试剂盒 (批号 ZC-37974)、IL-6 ELISA 试剂盒 (批号 ZC-37988)、IL-10 ELISA 试剂盒 (批号 ZC-37962)、TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒 (批号 ZC-39024) 购自上海茁彩生物技术有限公司; CD68 抗体 (批号 97778S)、CD16/32 抗体 (批号 80366S)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 抗体 (批号 13120)、p-PI3K 抗体 (批号 17366)、p-Akt 抗体 (批号 4060)、p-mTOR 抗体 (批号 5536)、Akt 抗体 (批号 9272)、mTOR 抗体 (批号 2983)、甘油醛-

3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (批号 5174)、HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (批号 14708) 购自美国 CST 公司;甘露糖受体 (mannose receptor, MR) 抗体 (批号 ab64693)、PI3K 抗体 (批号 ab182651) 购自英国 Abcam 公司;精氨酸 1 (arginine 1, Arg1) 抗体 (批号 ET1605-8) 购自杭州华必欧生物科技有限公司;总 RNA 提取试剂盒 (批号 DP419) 购自北京天根生化科技有限公司;反转录试剂盒 (批号 R223-01)、实时荧光定量 PCR 预混液 (批号 Q711-02) 购自南京诺唯赞生物科技有限公司;引物由上海赛百纯生物科技有限公司合成;PI3K 激动剂 740Y-P (批号 S7865, 质量分数 $\geq 99\%$ ) 购自美国 Selleck Chemicals 公司。

#### 1.4 仪器

Scientz-48 型高通量组织匀浆器 (宁波新芝生物科技股份有限公司);Fresco 17R 型低温高速离心机、QuantStudio 5 型荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司);HH-S 型恒温水浴锅 (上海恒平仪器有限公司);Mini-PROTEAN Tetra System 电泳及转膜系统 (美国 Bio-Rad 公司);Tanon 4600SF 型凝胶成像系统 (上海天能科技有限公司);RM2235 型石蜡切片机 (德国 Leica 公司);YD-6L 型组织包埋中心、YD-12P2 型组织脱水机 (益迪仪器有限公司);IX71 型荧光显微镜 (日本 Olympus 公司);AUW120D 型精密分析天平 (日本岛津公司);DW-86L338 型冷藏储存柜 (海尔生物医疗有限公司);1260 Infinity II 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司)。

## 2 方法

### 2.1 EAC 提取物的制备

参考《三拗汤》《麻杏石甘汤》等经典方剂,按麻黄与苦杏仁 1:1 的比例配伍。依据临床常用剂量范围 (麻黄 2~10 g, 苦杏仁 5~10 g), 本研究选用中等剂量, 即每种药材按成人体质量 70 kg 计为 6 g, 采用体表面积换算法 (换算系数 0.08) 折算为小鼠等效剂量, 并设定 EAC 的低、中、高剂量分别为 1.055、2.110、4.220 g/kg。

药材炮制依据《中国药典》2020 年版,麻黄经蜜炙处理,以增强宣肺平喘作用;苦杏仁经漂洗、去皮、晾干,以降低苦杏仁苷的不良反应。提取工艺如下:取蜜炙麻黄 50 g, 加入 1 000 mL 蒸馏水,浸泡 30 min 后于 100 °C 条件下煎煮 20 min, 煎煮过程中

维持微沸状态,适当搅拌并撇除泡沫。所得煎液通过 4 层纱布趁热滤过,收集滤液。将药渣与 50 g 苦杏仁混合,加入 1 300 mL 蒸馏水,于同样条件下再次煎煮 35 min, 滤过。合并 2 次滤液,于 60 °C、 $\leq 10$  kPa 条件下减压浓缩,浓缩终点相对密度控制在 1.10~1.15 (25 °C 时测定)。将浓缩液于 -50 °C、 $\leq 10$  Pa 条件下冻干 48 h, 获得冻干粉,得率为 8%~10%, 即每克冻干粉相当于 10.0~12.5 g 生药。

### 2.2 高效液相色谱法测定 EAC 提取物中主要成分的含量

**2.2.1 对照品溶液的配制** 精密称取对照品麻黄碱、伪麻黄碱及苦杏仁苷,分别溶于甲醇,配制为适宜浓度的对照品储备液。按浓度梯度混合配制对照品工作液,绘制标准曲线用于外标法定量分析。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取适量 EAC 提取物,以甲醇稀释至适宜浓度,经 0.22  $\mu$ m PVDF 微孔滤膜滤过,取滤液作为供试品溶液。

**2.2.3 色谱条件**<sup>[25]</sup> 采用 Agilent 1260 Infinity II 型高效液相色谱仪,配备 ZORBAX SB-Aq C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m)。流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B),梯度洗脱:0~5 min, 1%~8% A; 5~10 min, 8%~30% A; 10~20 min, 30%~35% A; 20~28 min, 35%~51% A; 28~50 min, 51%~1% A; 50~55 min, 1% A。检测波长为 250 nm;柱温为 (25 $\pm$ 5) °C;体积流量为 0.6 mL/min;进样量为 10  $\mu$ L。

**2.2.4 样品测定** 采用保留时间结合紫外吸收光谱特征进行定性分析,利用外标法 (标准曲线法) 结合峰面积进行定量,测定样品中麻黄碱、伪麻黄碱和苦杏仁苷含量。

### 2.3 网络药理学

**2.3.1 活性成分与靶点预测** 通过 TCMSP 数据库 (<https://www.tcmsp-e.com/>) 筛选 EAC 的活性成分,筛选条件设定为口服生物利用度 (oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$  和药物相似性 (drug-likeness, DL)  $\geq 0.18$ 。获得的潜在作用靶点结合 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 进行补充预测,并统一基因名称后用于后续分析。

**2.3.2 疾病相关靶点获取** 以 “acute lung injury” 为关键词,在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>)、TTD 数据库 (<https://db.idrblab.net/ttd/>) 以及

DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>) 中检索相关疾病靶点, 合并并去重。

**2.3.3 成分-疾病交集靶点筛选及蛋白质-蛋白质相互作用** (protein-protein interaction, PPI) 网络构建采用 Venny 2.1.0 工具 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 绘制成分-疾病靶点交集韦恩图, 将交集靶点导入 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>) 构建 PPI 网络, 物种为人, 置信度阈值 0.7, 使用 Cytoscape 3.9.1 软件进行可视化并筛选核心靶点。

**2.3.4 基因本体 (gene ontology, GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析** 将核心靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行 GO 功能及 KEGG 通路富集分析, 以  $P < 0.05$  为筛选标准, 结果通过 Bioinformatics 平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化。

## 2.4 动物实验验证

**2.4.1 EAC 给药溶液的制备** EAC 冻干粉使用无菌生理盐水按照所需剂量溶解, 配制相应质量浓度的溶液。各组给药溶液于使用前现配现用, 保持配制均一性。

**2.4.2 分组、造模及给药** 72 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松 (5 mg/kg) 组和 EAC 低、中、高剂量 (1.055、2.110、4.220 g/kg, 分别相当于临床等效剂量的 1、2、4 倍) 组, 每组 12 只。除对照组外, 其余小鼠 ip LPS (5 mg/kg) 诱导 ALI<sup>[26]</sup>。LPS 注射 1 h 后, 各给药组 ig 相应药物 (10 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水, 连续干预 3 d。

**2.4.3 取材** 末次给药 24 h, 小鼠吸入 3% 异氟烷充分麻醉后, 采用颈椎脱臼法处死。迅速采集肺组织、血液和支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF)。血液样本经眼眶采血获得, 4 000 r/min 离心 15 min, 分离血清, 分装后于 -80 °C 保存备用。取肺组织, 一部分置于 4% 多聚甲醛中固定, 用于病理切片与免疫组化分析; 另一部分迅速置入液氮速冻, 于 -80 °C 冰箱中保存。

**2.4.4 肺组织病理学评价** 肺组织经 4% 多聚甲醛固定 24 h 后, 依次进行梯度乙醇 (70%~100%) 脱水、二甲苯透明、石蜡浸渍 (60 °C、12 h) 及包埋, 制备 4  $\mu$ m 连续切片, 常规进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色。染色完成后, 在光学显微镜下观察肺组织形态学变化。按照参考文献

标准<sup>[27]</sup>, 从肺水肿、肺泡结构破坏、炎性细胞浸润及血管扩张充血 4 个方面进行半定量评分, 每项评分范围为 0 (无病变)~4 (重度病变)。

**2.4.5 肺湿/干质量比测定** 末次给药 24 h 后处死小鼠, 立即取出整个肺组织, 吸干表面血液, 迅速称取其湿质量。将肺组织置于 80 °C 恒温烘箱中干燥 24 h, 直至质量恒定 (连续 2 次称定质量差值 < 0.1 mg), 称取干质量。计算湿质量与干质量的比值以评估肺组织水肿程度。

**2.4.6 血清中炎性因子水平的检测** 按照 ELISA 试剂盒说明书检测小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 IL-10 水平, 以评估机体炎症反应变化。

**2.4.7 免疫荧光染色检测肺组织中巨噬细胞极化状态** 为观察不同亚型巨噬细胞在肺组织中的分布情况, 采用 CD68 与 CD16/32 联合标记 M1 型巨噬细胞, CD68 与 CD206 联合标记 M2 型巨噬细胞。细胞核采用 DAPI 染色, 并通过 Merge 通道整合观察。所有标记均采用相应一抗进行多重染色。

**2.4.8 流式细胞术检测巨噬细胞极化状态** 取小鼠肺组织, 经酶消化后制备成单细胞悬液, 采用流式细胞术检测巨噬细胞的极化状态。使用 F4/80 标记肺巨噬细胞, iNOS 标记 M1 型巨噬细胞, CD206 标记 M2 型巨噬细胞。分析各亚群细胞所占比例, 以评估 EAC 干预对巨噬细胞极化的调控作用。

**2.4.9 qRT-PCR 检测小鼠肺组织中炎症因子及极化相关基因的表达** 取右肺上叶组织, 按照试剂盒说明书提取总 RNA, 并使用反转录试剂盒合成 cDNA。以 cDNA 为模板, GAPDH 为内参基因, 采用实时荧光定量 PCR 系统进行扩增反应。PCR 条件: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 15 s, 共 40 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算各基因的相对表达量。引物序列见表 1。

**2.4.10 Western blotting 检测小鼠肺组织中信号通路及极化相关蛋白的表达** 取小鼠肺组织, 匀浆裂解, 提取总蛋白, 采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定上清液蛋白浓度。等量蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后, 转移至 PVDF 膜上, 加入 5% 脱脂牛奶, 室温封闭 1 h; 分别加入 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、iNOS 和 Arg1 抗体 (1:1 000), 4 °C 孵育过夜。TBST 洗膜 3 次后, 加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (1:5 000), 室温孵育 2 h。使用 ECL 发光试剂盒显影, 采用 Image J 软件分析条带的灰度值。

表 1 引物序列  
Table 1 Primer sequences

| 基因               | 正向引物序列 (5'-3')        | 反向引物序列 (5'-3')          |
|------------------|-----------------------|-------------------------|
| <i>TNF-α</i>     | AGGCACTCCCCAAAAGATG   | CCACTTGGTGGTTTGTGAGTG   |
| <i>IL-12 p40</i> | AGACCCTGCCCATTGAACTG  | CAGGAGTCAGGGTACTCCCA    |
| <i>iNOS</i>      | GAGCAACTACTGCTGGTGGT  | CGATGTCATGAGCAAAGGCG    |
| <i>Arg1</i>      | ATCGGAGCGCCTTTCTCAAA  | CAGACCGTGGGTTCCTCACA    |
| <i>Ym1</i>       | ACTGGAATTGGTGCCCCTAC  | GAGCCACTGAGCCTTCAACT    |
| <i>Fizz1</i>     | GGAACTTCTTGCCAATCCAGC | CAGTGGTCCAGTCAACGAGT    |
| <i>PI3K</i>      | ACACCACGGTTTGGACTATGG | GGCTACAGTAGTGGGCTTGG    |
| <i>Akt</i>       | AGAAGAGACGATGGACTTCCG | TCAAACCTCGTTCATGGTCACAC |
| <i>mTOR</i>      | ACCGGCACACATTTGAAGAAG | CACCACCAAGGATAAGGTAG    |

2.5 给予 PI3K 激动剂后对 EAC 调控巨噬细胞极化的影响

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、EAC (4.22 g/kg) 组、740Y-P (10 mg/kg) 组和 EAC+740Y-P 组, 每组 12 只。除对照组外, 其余小鼠 ip LPS (5 mg/kg) 诱导 ALI<sup>[26]</sup>。LPS 注射 1 h 后, 各给药组 ig EAC 或 ip 740Y-P, 对照组和模型组给予等体积的生理盐水, 连续干预 3 d。给药结束后, 眼眶取血, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 TNF-α、IL-1β、IL-6 及 IL-10 水平。取肺组织, 按“2.4.7”项下方法检测肺组织中巨噬细胞极化状态, 按“2.4.9”项下方法检测肺组织中巨噬细胞极化相关基因的表达。

2.6 统计学分析

采用 G\*Power 软件计算样本量, 显著性水平设为 0.05, 检验效能为 0.8。所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 使用 GraphPad Prism 8.0 和 SPSS 26.0 软件进行统计分析。两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间两两比较采用 Bonferroni 法。

3 结果

3.1 EAC 提取物主要成分分析

采用高效液相色谱法对 EAC 提取物中主要成分进行分析。如图 1 所示, 样品中麻黄碱、伪麻黄碱和苦杏仁苷分别在保留时间 6.607、20.861、25.827 min 处出现清晰对称峰, 峰形良好, 与各自对照品的保留时间 (分别为 6.765、20.773、26.197 min) 高度一致, 提示该方法具有一定的专属性和保留时间稳定性。定量分析结果显示, EAC 提取物中 3 种成分的质量浓度分别为麻黄碱 0.012 0 mg/mL、伪麻黄碱 0.000 2 mg/mL、苦杏仁苷 0.004 0 mg/mL。根据药液浓缩比例换算至单位生药质量后, 3 种成分的平均质量分数分别为麻黄碱 0.215 1 mg/g、伪麻

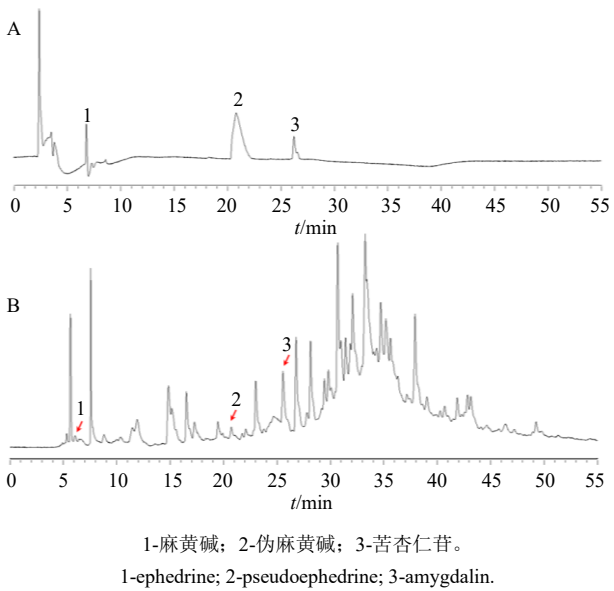


图 1 混合对照品溶液 (A) 和 EAC 提取物 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mix reference solution (A) and EAC extract (B)

黄碱 0.0026 mg/g、苦杏仁苷 0.048 3 mg/g。

3.2 网络药理学分析结果

3.2.1 EAC 活性成分与 ALI 靶点的获取 通过 HPLC 分析结合文献挖掘, 筛选出 EAC 中 45 个活性成分, 获得相应的基因靶标 246 个, 通过 OMIM、TTD、DisGeNET 及 GeneCards 数据库, 获取 ALI 相关靶标 2057 个。利用 Venny 2.1.0 进行靶点交集分析, 构建 EAC 和 ALI 靶点的韦恩图, 其中交叉基因靶点有 106 个 (图 2)。

3.2.2 PPI 网络构建 将获得的交叉基因靶点上传到 STRING 数据库, 分析交叉靶点的 PPI 网络, 并将结果导入 Cytoscape 3.9.1 软件, 构建 PPI 网络 (图 3), 基于介数中心性、接近中心性和度中心性等拓扑参数对 PPI 网络进行综合分析, 筛选出 21 个枢

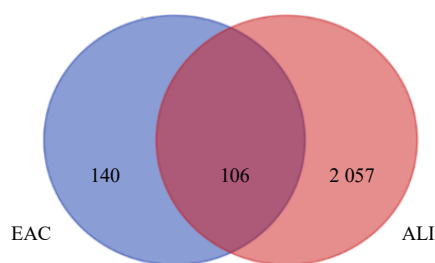


图 2 EAC 与 ALI 交集靶点 Venn 图

Fig. 2 Venn diagram of intersection targets of EAC and ALI

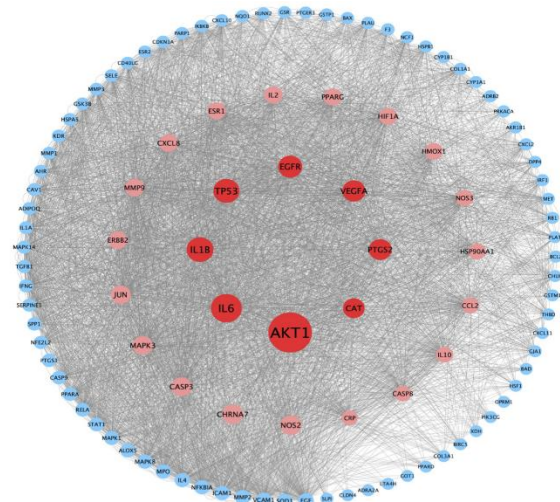


图 3 EAC 与 ALI 潜在靶点之间交互 PPI 网络

Fig. 3 Interaction PPI network of potential targets between EAC and ALI

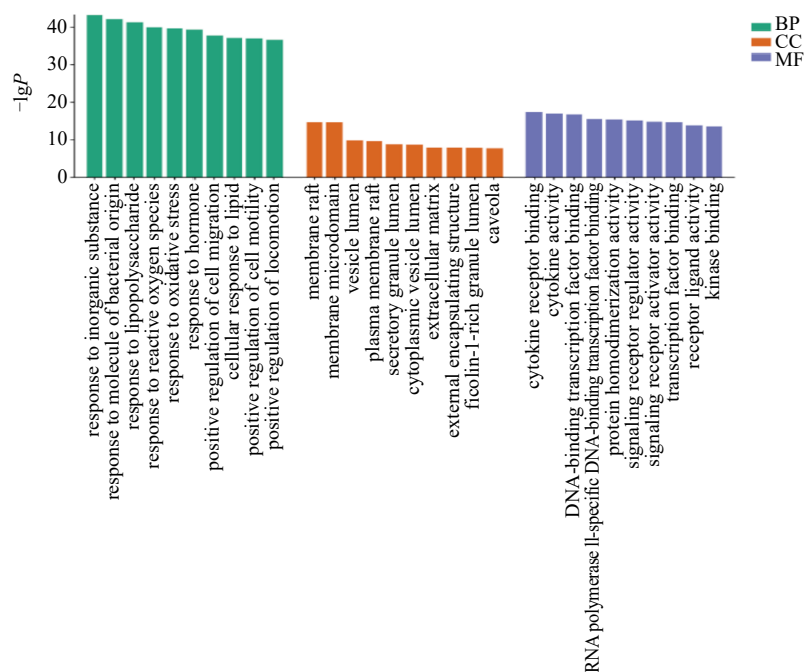


图 4 EAC 治疗 ALI 潜在作用靶点的 GO 富集分析

Fig. 4 GO enrichment analysis of potential targets of EAC in treatment of ALI

组基因, 其中 AKT1、IL-6、IL1B、肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 等为排名靠前的核心靶点。

**3.2.3 GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析** 为阐明 EAC 调控 ALI 的多靶点作用机制, 进行 GO 功能注释分析和 KEGG 通路富集分析。GO 功能注释共获得 1 840 个显著差异的功能条目 ( $P < 0.05$ ), 其中生物过程 (biology process, BP) 1 634 项, 主要涉及对 LPS 刺激反应、氧化应激应答、细胞迁移及炎症因子分泌等病理过程; 细胞组分 (cellular component, CC) 72 项, 主要富集于膜筏、囊泡腔及细胞质颗粒等结构; 分子功能 (molecular function, MF) 134 项, 主要与细胞因子受体结合、转录因子结合及酶活性调控密切相关。各条目取前 10 项进行可视化, 结果见图 4。KEGG 通路富集分析共筛选出 106 条显著通路 ( $P < 0.05$ ), 核心信号网络主要包括 PI3K/Akt 通路、IL-17 信号通路及 TNF 信号通路等炎症调控相关通路 (图 5)。结合靶点在通路中的网络拓扑地位及其与 ALI 的已知病理关联, PI3K/Akt 通路被确定为最具研究价值的关键通路, 并作为后续动物实验验证的重点对象。

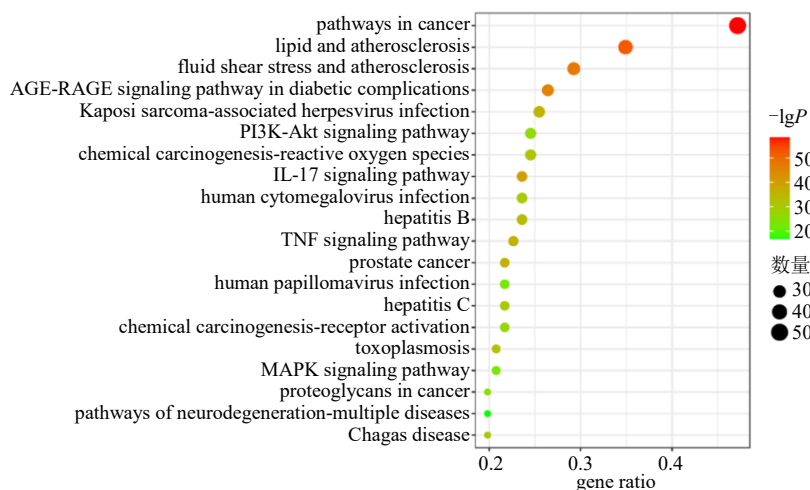


图 5 EAC 治疗 ALI 潜在作用靶点的 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of potential targets of EAC in treatment of ALI

### 3.3 动物实验结果

基于网络药理学分析, PI3K/Akt 通路被确定为与 EAC 缓解 ALI 关系最密切的核心通路。采用动物实验进一步验证 EAC 对 PI3K/Akt 通路及其下游 mTOR 信号分子的调控作用, 并系统评估其在组织学、炎症因子水平及巨噬细胞极化方面的影响。

**3.3.1 EAC 对 ALI 小鼠肺组织病理变化的影响** 如图 6-A 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织出现明显的病理性损伤, 主要表现为肺泡壁增厚、炎性细胞浸润及肺泡塌陷。与模型组比较, EAC 各给药组小鼠肺组织病理变化均有不同程度改善, 且呈剂量相关性, 其中 EAC 高剂量组改善效果最显著。肺损伤评分 (图 6-B) 和肺组织湿/干质量比 (图

6-C) 结果显示, 与模型组比较, 地塞米松组和 EAC 中、高剂量组肺损伤评分和肺组织湿/干质量比显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 提示 EAC 可有效减轻肺水肿并改善毛细血管通透性。

**3.3.2 EAC 对 ALI 小鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IL-10 水平的影响** 如图 7 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IL-10 水平显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 与模型组比较, EAC 各给药组血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), IL-10 水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。表明 EAC 能有效抑制炎症因子的释放并促进抗炎因子的表达, 从而在系统水平实现对炎症反应的双重调控。

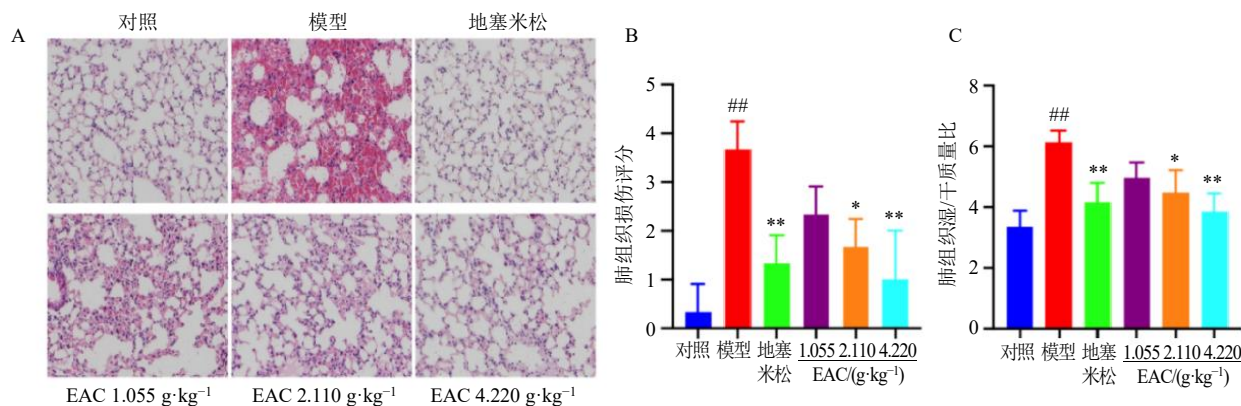


图 6 EAC 对 ALI 小鼠肺组织病理变化 (A, HE,  $\times 200$ )、肺组织损伤评分 (B) 和肺组织湿/干质量比 (C) 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig. 6 Effect of EAC on pathological changes of lung tissue (A, HE,  $\times 200$ ), lung tissue injury score (B) and lung tissue wet/dry weight ratio (C) in ALI mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

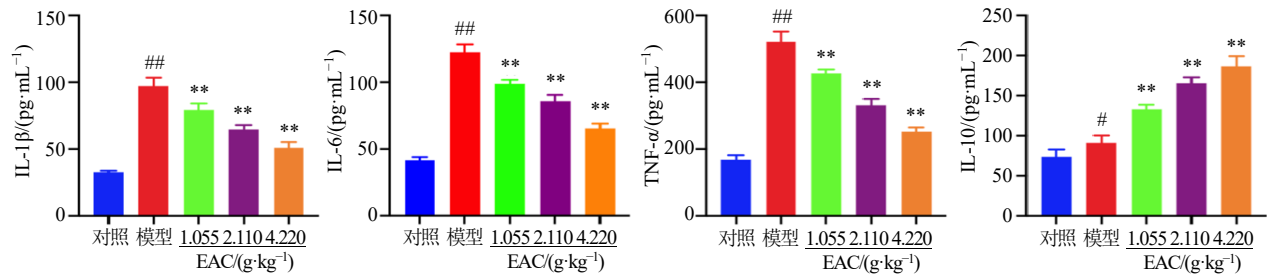


图 7 EAC 对 ALI 小鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IL-10 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 7 Effect of EAC on levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and IL-10 in serum of ALI mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

**3.3.3 EAC 对 ALI 小鼠肺组织中 M1/M2 型巨噬细胞分布的影响** 如图 8-A、B 所示, 与对照组比较, 模型组中 CD16/32<sup>+</sup> M1 型巨噬细胞数量显著增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, EAC 呈剂量相关性地抑

制 M1 型巨噬细胞浸润 ( $P < 0.05, 0.01$ )。如图 8-C、D 所示, 与模型组比较, EAC 呈剂量相关性地提高 CD206<sup>+</sup> M2 型巨噬细胞的比例 ( $P < 0.01$ )。表明 EAC 能够促进巨噬细胞向 M2 型抗炎表型转化。

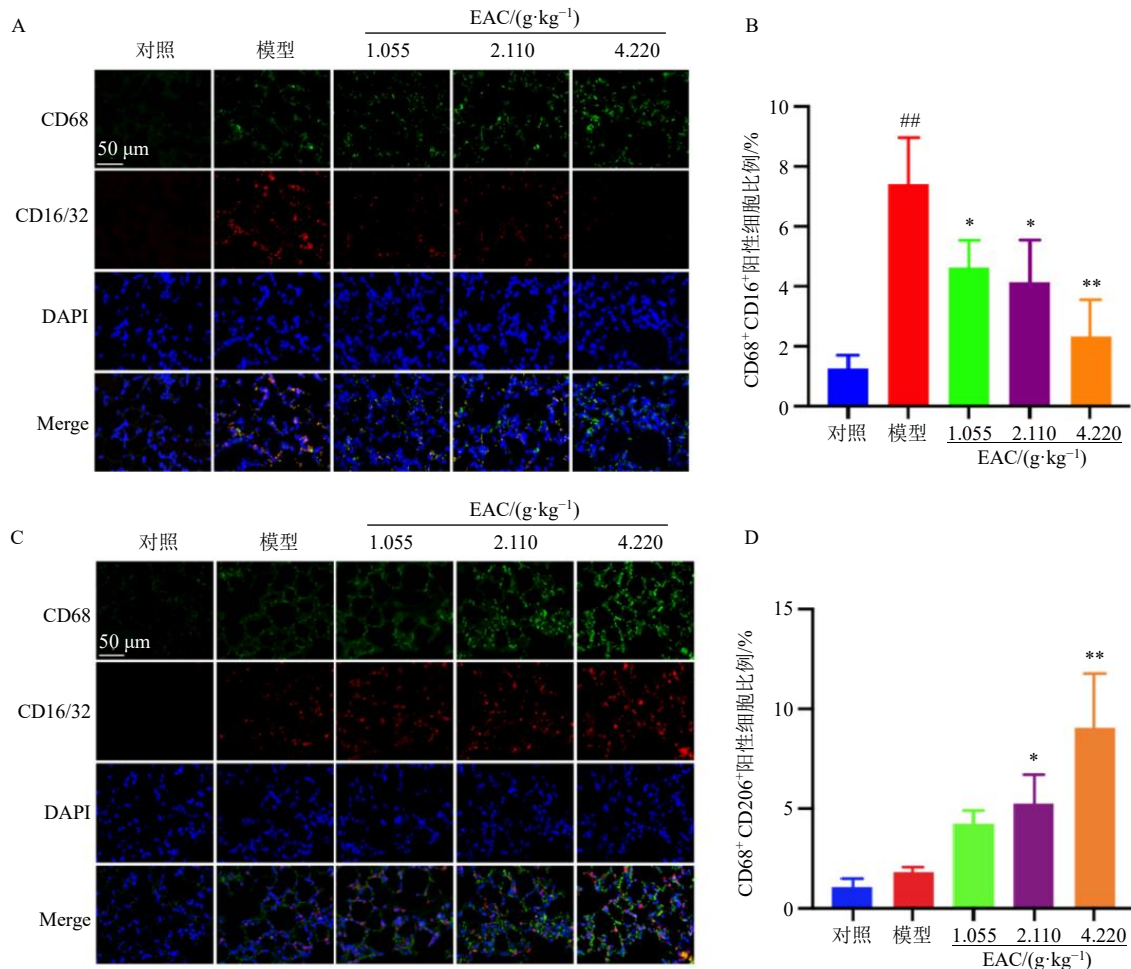


图 8 EAC 对 ALI 小鼠肺组织中 CD16/32<sup>+</sup> M1 型 (A、B) 和 CD206<sup>+</sup> M2 型 (C、D) 巨噬细胞比例的影响 ( $\times 200; \bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 8 Effect of EAC on proportion of CD16/32<sup>+</sup> M1 (A, B) and CD206<sup>+</sup> M2 (C, D) macrophages in lung tissue of ALI mice ( $\times 200; \bar{x} \pm s, n = 3$ )

**3.3.4 EAC 对 ALI 小鼠肺组织巨噬细胞极化的影响** 为进一步验证免疫荧光结果, 采用流式细胞术进行定量分析。如图 9 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织中  $iNOS^+$  M1 型巨噬细胞比例显著升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, EAC 各给药组显著降低  $iNOS^+$  M1 型巨噬细胞比例 ( $P<0.01$ ), 并显著升高  $CD206^+$  M2 型巨噬细胞比例 ( $P<0.01$ ), 且呈剂量相关性。表明 EAC 可有效抑制促炎型巨噬细胞极化, 并促进其向抗炎型表型转化。

**3.3.5 EAC 对 ALI 小鼠肺组织中 M1/M2 型巨噬细胞相关基因表达的影响** 如图 10-D~I 所示, 与对

照组比较, 模型组小鼠肺组织中 M1 型标志基因 ( $TNF-\alpha$ 、 $iNOS$ 、 $IL-12 p40$ ) 表达显著升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, EAC 中、高剂量组显著降低 M1 型标志基因表达并上调 M2 型标志基因 ( $Arg1$ 、 $Fizz1$ 、 $Ym1$ ) 表达 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ )。表明 EAC 能够在转录水平上调控巨噬细胞极化过程。

**3.3.6 EAC 对 ALI 小鼠肺组织中  $iNOS$  和  $Arg1$  蛋白表达的影响** 如图 11-E~G 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织中  $iNOS$  蛋白表达水平显著升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, EAC 中、高剂量组显著抑制  $iNOS$  表达并促进  $Arg1$  蛋白表达上调 ( $P<0.01$ )。

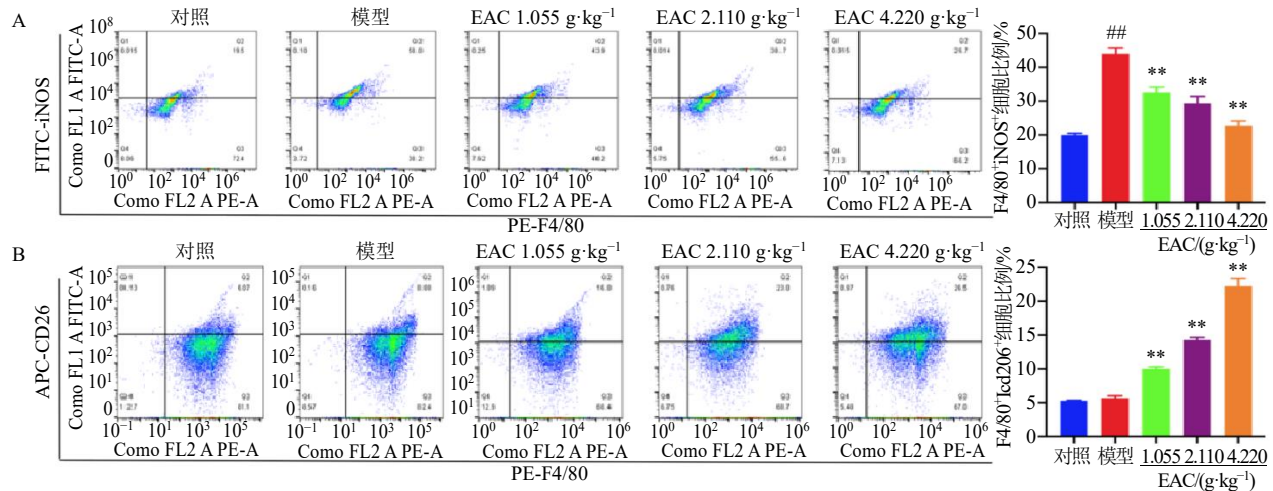


图 9 EAC 对 ALI 小鼠肺组织中  $iNOS^+$  M1 型 (A) 和  $CD206^+$  M2 型 (B) 巨噬细胞比例的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 9 Effect of EAC on proportion of  $iNOS^+$  M1 (A) and  $CD206^+$  M2 (B) macrophages in lung tissue of ALI mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

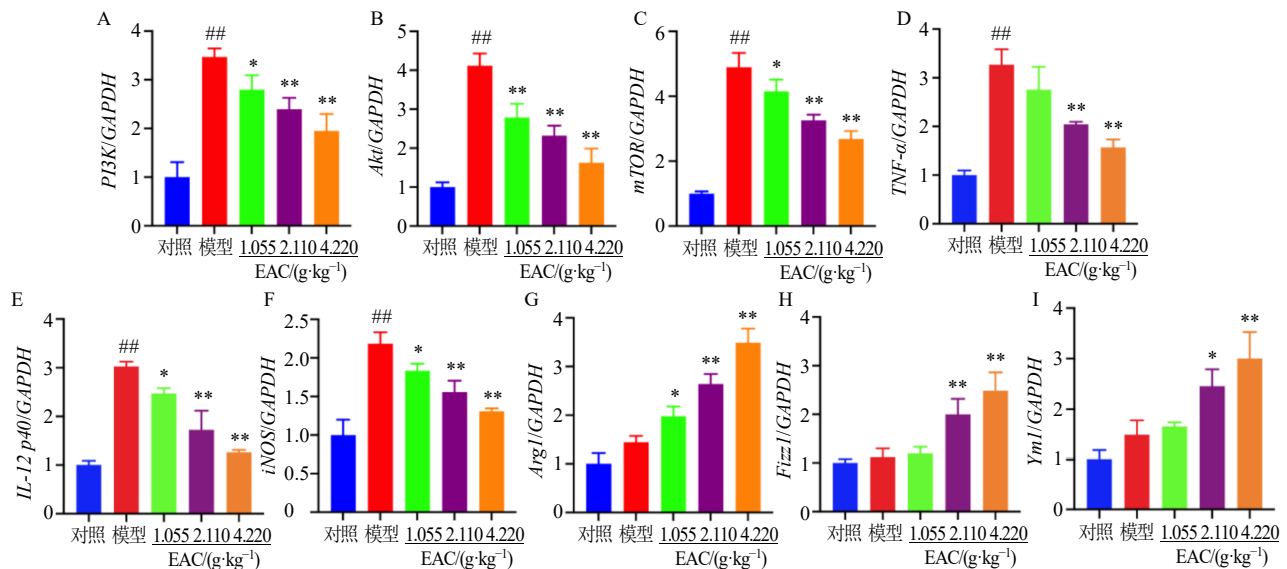


图 10 EAC 对 ALI 小鼠肺组织中 PI3K、Akt、mTOR (A~C) 及 M1/M2 型巨噬细胞标志基因 (D~I) mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 10 Effect of EAC on mRNA expressions of PI3K, Akt, mTOR (A—C) and M1/M2 macrophage marker genes (D—I) in lung tissues of ALI mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

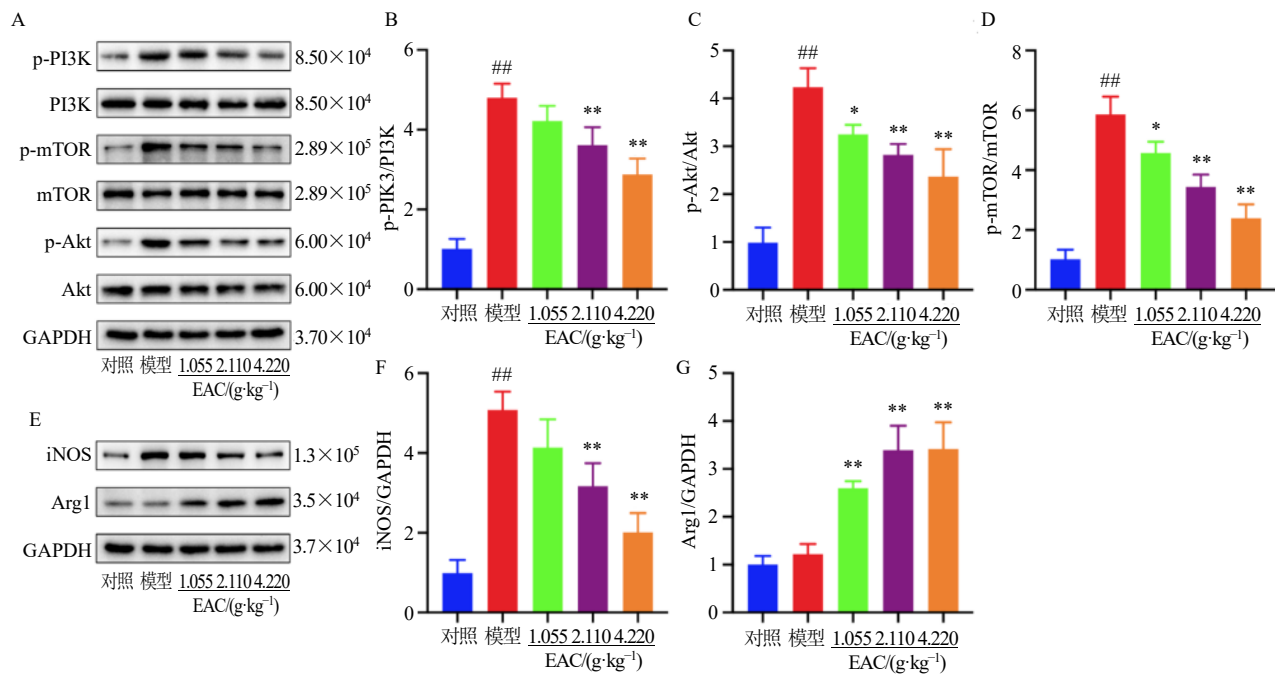


图 11 EAC 对 ALI 小鼠肺组织中 PI3K、Akt、mTOR (A~D) 及巨噬细胞极化相关蛋白 (E~G) 表达的影响  
( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 11 Effect of EAC on expressions of PI3K, Akt, mTOR (A~D) and macrophage polarization-related proteins (E~G) in lung tissues of ALI mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

表明 EAC 能够在蛋白水平上有效调控 M1/M2 型巨噬细胞相关蛋白表达。

**3.3.7 EAC 对 ALI 小鼠肺组织 PI3K/Akt/mTOR 通路的影响** 如图 10-A~C 和图 11-A~D 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR 的 mRNA 表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), PI3K、Akt 及 mTOR 的总蛋白及磷酸化水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), 提示该通路被激活; 与模型组比较, EAC 干预可显著下调 PI3K、Akt 和 mTOR 的 mRNA 表达 ( $P < 0.01$ ), 并降低 PI3K、Akt 及 mTOR 的总蛋白及磷酸化水平 ( $P < 0.05$ ,  $0.01$ )。表明 EAC 能够抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活。

**3.3.8 PI3K 激动剂对 ALI 小鼠肺组织中巨噬细胞极化的影响** 如图 12 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织中 M1 型巨噬细胞 ( $CD68^+ CD16/32^+$ ) 比例显著升高 ( $P < 0.01$ ), 而 M2 型巨噬细胞 ( $CD68^+ CD206^+$ ) 比例未见显著变化; 与模型组比较, EAC 高剂量组显著降低 M1 型细胞比例 ( $P < 0.01$ ), 并显著提高 M2 型细胞比例 ( $P < 0.01$ ); 与 EAC 高剂量组比较, 740Y-P+EAC 高剂量组 M1 型细胞比例显著升高 ( $P < 0.01$ ), M2 型细胞比例显著降低 ( $P < 0.01$ )。表明 EAC 对巨噬细胞极化的调控作用

至少在一定程度上依赖于 PI3K/Akt 信号通路。

**3.3.9 PI3K 激动剂对 ALI 小鼠血清中炎症因子水平的影响** 如图 13 所示, 与对照组比较, 模型组血清中 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), IL-10 水平无明显变化; 与模型组比较, EAC 高剂量组 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), IL-10 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与 EAC 高剂量组比较, 740Y-P+EAC 高剂量组 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), IL-10 水平显著降低 ( $P < 0.01$ )。提示 740Y-P 激活 PI3K 信号可部分抵消 EAC 的抗炎效应。

**3.3.10 PI3K 激动剂对 ALI 小鼠肺组织中巨噬细胞极化相关基因表达的影响** 如图 14 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织中 M1 型标志基因 ( $TNF-\alpha$ 、 $iNOS$ 、 $IL-12p40$ ) 表达显著上调 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比较, EAC 高剂量组显著下调 M1 型标志基因表达 ( $P < 0.01$ ), 同时显著上调 M2 型标志基因 ( $Arg1$ 、 $Fizz1$ 、 $Ym1$ ) 表达 ( $P < 0.01$ ); 与 EAC 高剂量组比较, 740Y-P+EAC 高剂量组 M1 型标志基因表达显著升高 ( $P < 0.01$ ), M2 型标志基因表达显著下降 ( $P < 0.01$ )。提示 PI3K 信号的激活可部分逆转 EAC 促进巨噬细胞向 M2 极化的作用, 使极化状态偏向促炎的 M1 表型。

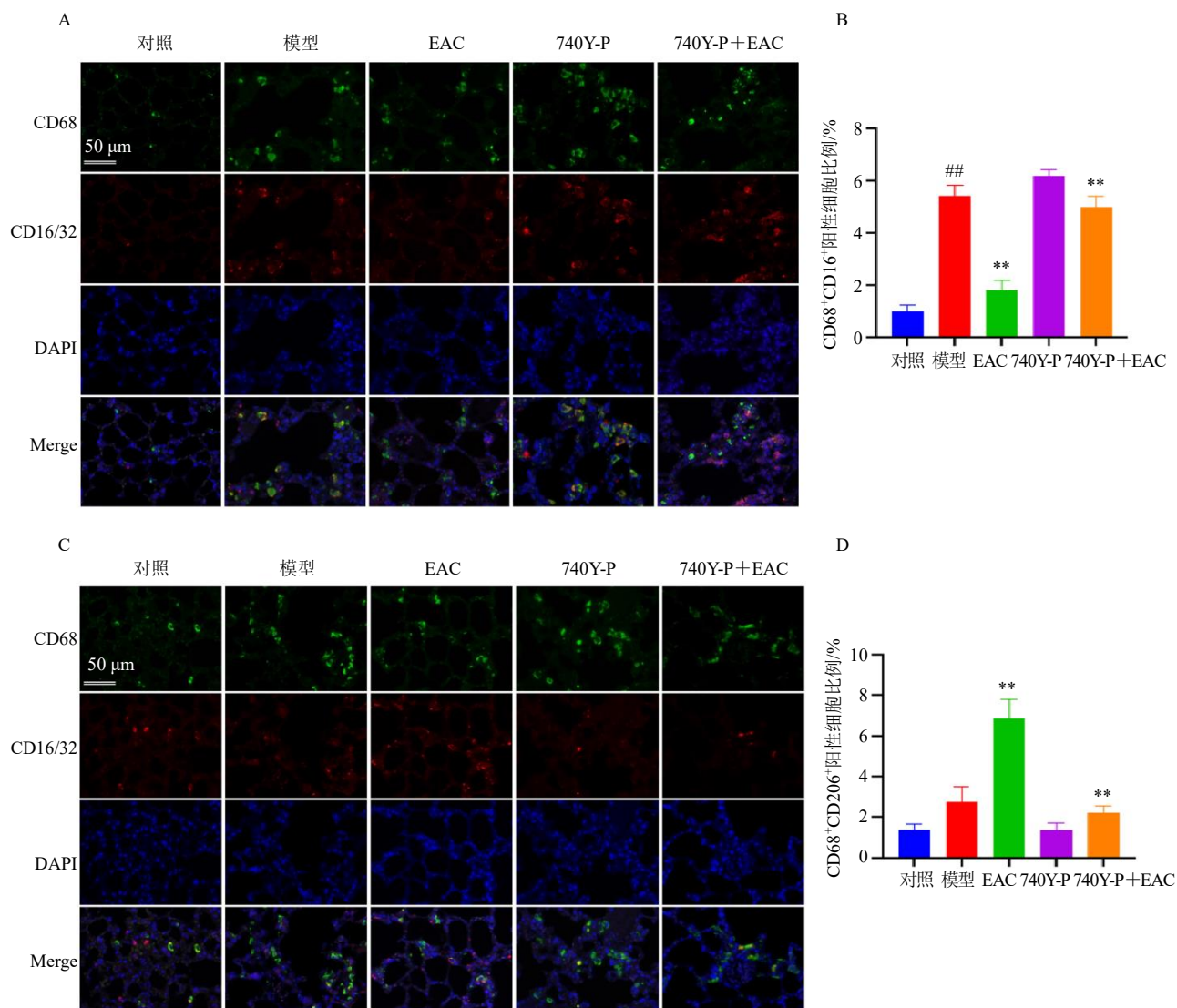


图 12 PI3K 激动剂对 ALI 小鼠肺组织中 CD16/32<sup>+</sup> M1 型 (A、B) 和 CD206<sup>+</sup> M2 型 (C、D) 巨噬细胞比例的影响 (×200;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 12 Effect of PI3K agonist on proportion of CD16/32<sup>+</sup> M1 (A, B) and CD206<sup>+</sup> M2 (C, D) macrophages in lung tissue of ALI mice (×200;  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

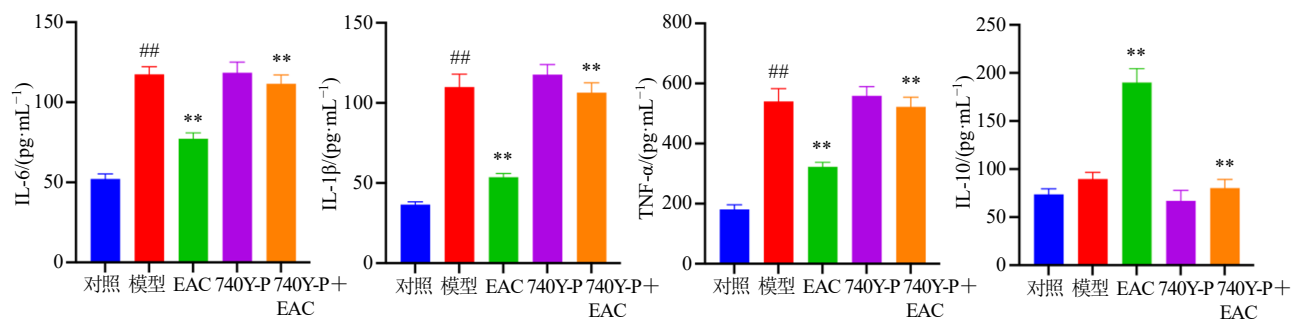


图 13 PI3K 激动剂对 ALI 小鼠血清中 IL-6、IL-1β、TNF-α 和 IL-10 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig. 13 Effect of PI3K agonist on levels of IL-6, IL-1β, TNF-α and IL-10 in serum of ALI mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

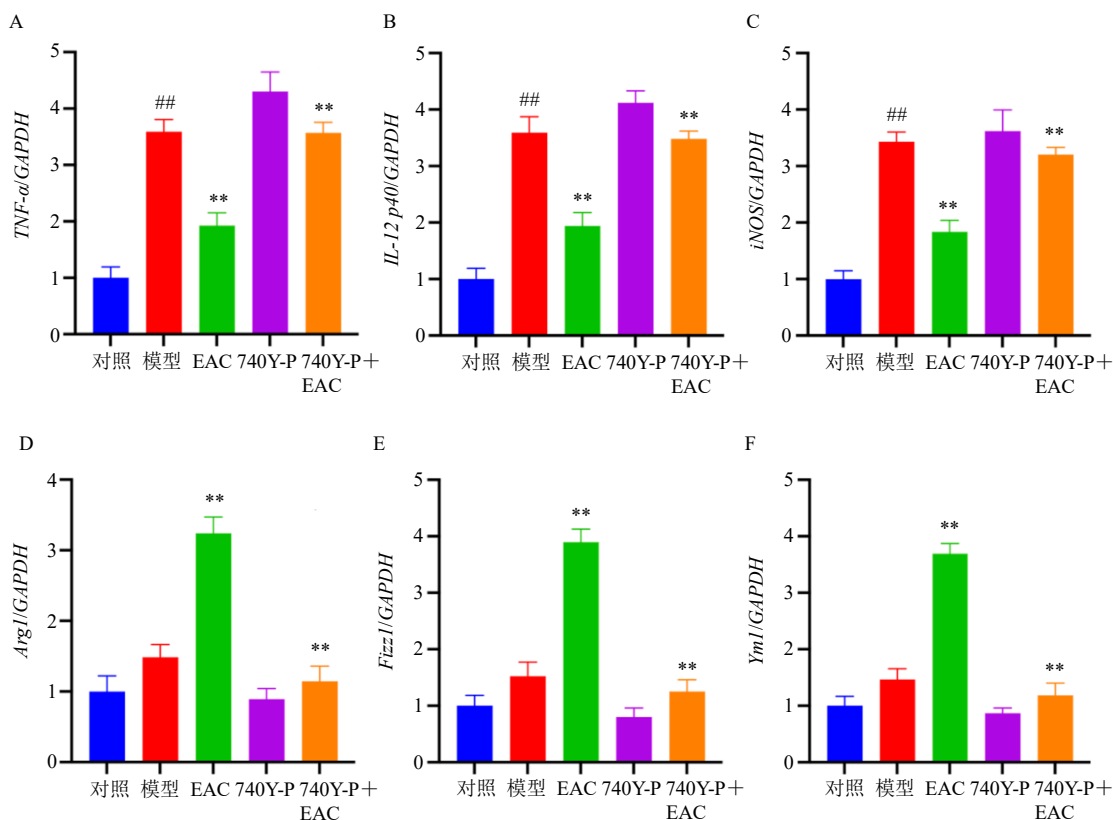


图 14 PI3K 激动剂对 ALI 小鼠肺组织中巨噬细胞 M1 型 (A~C) 及 M2 型 (D~F) 标志物 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 14 Effect of PI3K agonist on mRNA expressions of M1 (A—C) and M2 (D—F) macrophage markers in lung tissues of ALI mice ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

#### 4 讨论

本研究基于 LPS 诱导的 ALI 模型，系统评估了 EAC 在缓解肺组织损伤和抑制炎症反应方面的作用。动物实验结果显示，EAC 能显著减轻肺组织病理损伤，降低促炎因子水平，并促进 M2 型巨噬细胞极化。上述结果提示，EAC 的免疫调节效应与关键信号通路抑制密切相关。基于炎症因子变化、组织学改善及信号通路调控的综合证据，本研究从 PI3K/Akt/mTOR 通路及其介导的巨噬细胞表型转化展开讨论 EAC 干预 ALI 的作用机制。

本研究结合网络药理学预测与动物实验结果，发现 EAC 可能通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控巨噬细胞极化方向，从而发挥抗炎作用。病理切片显示肺泡结构损伤明显改善；ELISA 检测结果显示，EAC 处理后促炎因子 (IL-6、IL-1β、TNF-α) 水平显著下降，抗炎因子 IL-10 水平升高；免疫荧光及流式细胞分析表明 M1 型标志物表达下调，M2 型标志物表达上调，炎症微环境呈现由促炎向修复的转化趋势。同时，EAC 可抑制肺组织中 PI3K、

Akt 和 mTOR 的磷酸化，并降低其 mRNA 表达，体现出从转录到信号激活的双重抑制效应。进一步研究发现，PI3K 激动剂 740Y-P 可部分逆转 EAC 对信号通路活性及巨噬细胞极化的调节作用，使极化状态重新偏向 M1 型并增强炎症反应 (图 15)。以上结果进一步支持 PI3K/Akt/mTOR 轴在 EAC 抗炎作用中的关键地位，并表明 EAC 可在组织学、分子及细胞水平实现多层次的炎症调控。

除现代药理学机制外，EAC 的配伍基础及作用特点同样契合中医药理论。EAC 通过调控 PI3K/Akt/mTOR 通路实现免疫选择性调节的现代药理特征，也为配伍理论及安全性优化提供了科学依据。麻黄与苦杏仁的联合体现了“协同增效、减毒相辅”的配伍思想：苦杏仁中苦杏仁苷的水解产物虽具有平喘镇咳作用<sup>[28]</sup>，但亦存在氢氰酸毒性风险，而研究表明麻黄的有效成分可促进苦杏仁苷的立体选择性代谢，降低氢氰酸在体内的蓄积，从而增强药效并提高整体安全性<sup>[29]</sup>。这一过程体现了“相须相使”“佐使相成”的组方理念，实现疗效协同与毒性

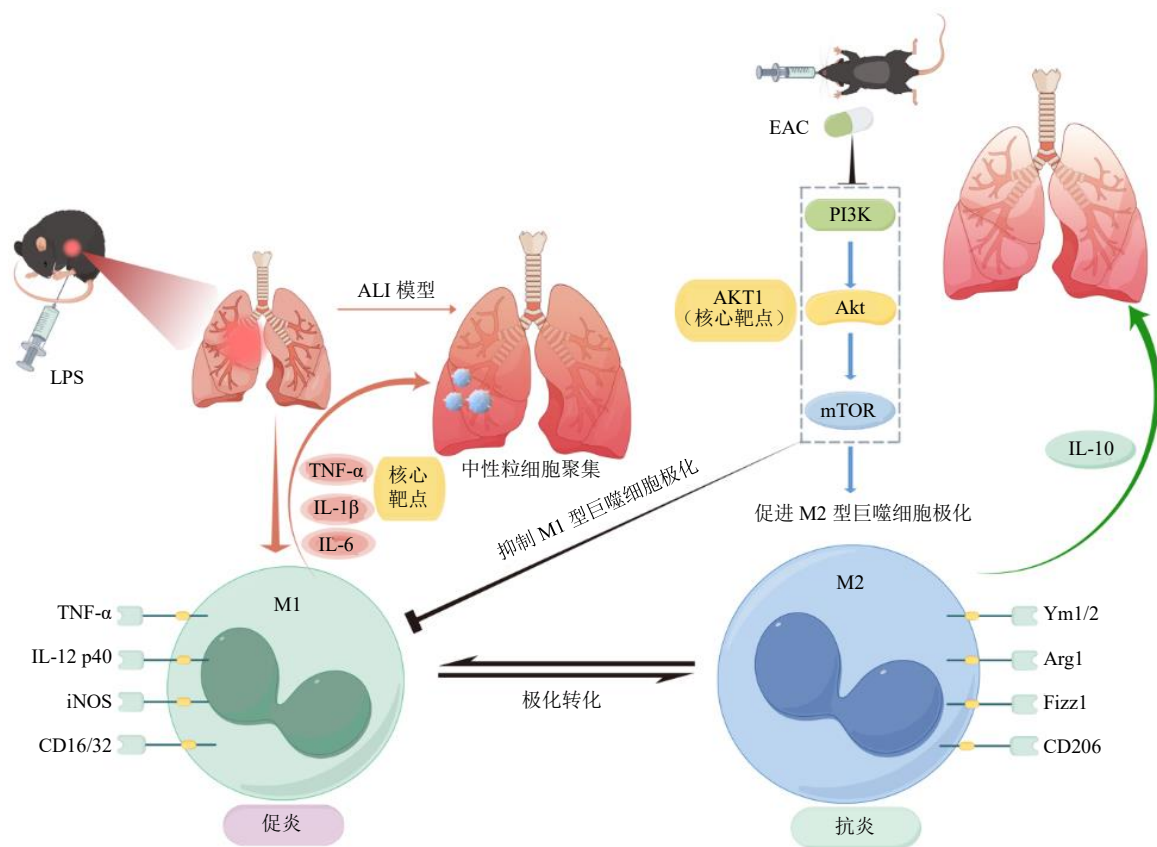


图 15 EAC 缓解 ALI 的作用机制

Fig. 15 Mechanism of EAC in alleviating ALI

平衡<sup>[30-31]</sup>。同时，现代中药炮制工艺在继承传统经验的基础上进一步提高了 EAC 的安全性。蜜炙处理可降低麻黄中的刺激成分<sup>[32]</sup>，水煮焯制可灭活苦杏仁苷酶<sup>[33]</sup>，从源头控制氢氰酸生成，符合“控制毒性、提高利用度”的原则。这些工艺优化为 EAC 的临床应用提供了基础。此外，在临床应用层面，EAC 相较于常规抗炎药物也显示出一定的互补性。与常用广谱抗炎药地塞米松相比，EAC 通过靶向 PI3K/Akt/mTOR 通路诱导巨噬细胞由 M1 向 M2 型极化，在有效控制炎症的同时维持免疫稳态，展现出更高的选择性和安全性。地塞米松虽能快速抑制炎症，但长期使用易导致免疫抑制和继发感染等不良反应<sup>[34]</sup>。尽管本研究主要聚焦于免疫调节机制，未系统评价其对气道症状的具体疗效，但已有文献表明 EAC 具有止咳、平喘等作用<sup>[35-36]</sup>。这些多靶点、多效应特性提示其在 ALI 治疗中具有辅助或替代潜力，并可能在慢性呼吸系统疾病管理中发挥优势。

尽管本研究初步验证了 EAC 的治疗潜力，仍存在以下局限需要关注：首先，本研究采用的 LPS 诱导模型主要模拟细菌感染引发的 ALI 病理过程，

尚未涵盖病毒感染、氧化应激、机械通气等其他诱因背景，未来应在多种 ALI 模型中验证 EAC 作用的普适性与机制适应性。其次，本研究尚未开展系统毒理学评价，缺乏关于长期使用安全性、代谢产物分布及靶器官蓄积的实验数据。后续需加强毒性剂量范围、药动学及组织分布等方面的系统评估，为临床安全性提供坚实依据。

综上，本研究表明，EAC 通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路，抑制 M1 型极化并促进 M2 型转化，显著减轻 ALI。这一发现验证了网络药理学的预测，体现了“预测-实证-机制”的研究闭环，并为 EAC 干预 ALI 的作用机制提供系统证据。此外，EAC 可能通过多靶点机制缓解呼吸道症状，具有成为 ALI 辅助或替代治疗方案的潜力。未来研究应探索雾化吸入、注射剂等现代剂型，并尝试与现有抗炎药物协同应用，为其早期临床转化提供技术基础与路径参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**参考文献**

[1] Xuan N X, Zhang X, Hu W Q, *et al.* Effects of the working

- experience, educational background, professional titles, and hospital grades of intensive care unit doctors on clinical glucocorticoid use in acute respiratory distress syndrome [J]. *Medicine*, 2022, 101(10): e29021.
- [2] Wu C P, Huang K L, Peng C K, *et al.* Acute hyperglycemia aggravates lung injury via activation of the SGK1-NKCC1 pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(13): 4803.
  - [3] Zhang S, Yue Y, Liu J, *et al.* Fusu mixture alleviates inflammatory reactions in lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome mice via regulation of surfactant-associated protein C, aquaporin 5, and Notch1 [J]. *J Thorac Dis*, 2023, 15(6): 3409-3420.
  - [4] Grotberg J C, Reynolds D, Kraft B D. Management of severe acute respiratory distress syndrome: A primer [J]. *Crit Care*, 2023, 27(1): 289.
  - [5] Chen L, Yu J M, He W J, *et al.* Risk factors for death in 1859 subjects with COVID-19 [J]. *Leukemia*, 2020, 34(8): 2173-2183.
  - [6] Papazian L, Aubron C, Brochard L, *et al.* Formal guidelines: Management of acute respiratory distress syndrome [J]. *Ann Intensive Care*, 2019, 9(1): 69.
  - [7] Dravid A, Kashiva R, Khan Z, *et al.* Combination therapy of Tocilizumab and steroid for management of COVID-19 associated cytokine release syndrome: A single center experience from Pune, Western India [J]. *Medicine*, 2021, 100(29): e26705.
  - [8] Zhou Z Z, Long Y, He X, *et al.* Effects of different doses of glucocorticoids on postoperative atrial fibrillation: A meta-analysis [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2023, 23(1): 16.
  - [9] 马心悦, 黄家望, 冯芷莹, 等. 麻杏石甘汤通过外泌体 *miR-1249-5p* 靶向 *SLC4A1* 抑制流感病毒细胞级联损伤效应研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(9): 2832-2840.
  - [10] 陈晓婷, 赵童童, 王满晗. 麻杏石甘汤联合止嗽散加减治疗小儿急性支气管炎伴肺炎支原体感染的效果分析 [J]. *现代医学与健康研究电子杂志*, 2025, 9(6): 29-31.
  - [11] 苏君毅, 刘海军. 麻杏石甘汤对慢性阻塞性肺疾病大鼠 Th17/Treg 平衡及肺功能的影响 [J]. *中医药学报*, 2025, 53(3): 19-23.
  - [12] Li J C, Huang Z L, Li K Y, *et al.* Study on the effect of self-made Lifei Dingchuan Decoction combined with western medicine on cough variant asthma [J]. *Comput Math Methods Med*, 2022, 2022: 9803552.
  - [13] 郝欧美, 李莹, 杨钦惠, 等. 麻杏石甘汤对流感病毒肺炎小鼠肺组织 NLRP3、IFITM3 的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2024, 35(14): 3113-3119.
  - [14] Zheng Y J, Yang Y, Li Y H, *et al.* Ephedrine hydrochloride inhibits PGN-induced inflammatory responses by promoting IL-10 production and decreasing proinflammatory cytokine secretion via the PI3K/Akt/GSK3 $\beta$  pathway [J]. *Cell Mol Immunol*, 2013, 10(4): 330-337.
  - [15] Zhang A, Pan W Y, Lv J, *et al.* Protective effect of amygdalin on LPS-induced acute lung injury by inhibiting NF- $\kappa$ B and NLRP3 signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2017, 40(3): 745-751.
  - [16] Mei J, Zhou Y T, Yang X P, *et al.* Active components in *Ephedra sinica* Stapf disrupt the interaction between ACE2 and SARS-CoV-2 RBD: Potent COVID-19 therapeutic agents [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 278: 114303.
  - [17] Ardura J A, Rackov G, Izquierdo E, *et al.* Targeting macrophages: Friends or foes in disease? [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1255.
  - [18] Merz J, Nettesheim A, von Garlen S, *et al.* Pro- and anti-inflammatory macrophages express a sub-type specific purinergic receptor profile [J]. *Purinergic Signal*, 2021, 17(3): 481-492.
  - [19] Morimoto M, Nakano T, Egashira S, *et al.* Haptoglobin regulates macrophage/microglia-induced inflammation and prevents ischemic brain damage via binding to HMGB1 [J]. *J Am Heart Assoc*, 2022, 11(6): e024424.
  - [20] Tang M L, Cai J M, Wang Y, *et al.* Tyrosine kinase nonreceptor 1 (TNK1) knockdown ameliorates hemorrhage shock-induced kidney injury via inhibiting macrophage M1 polarization [J]. *3 Biotech*, 2021, 11(12): 501.
  - [21] Chen Y Y, Chen S S, Chen K T, *et al.* Magnolol and 5-fluorouracil synergy inhibition of metastasis of cervical cancer cells by targeting PI3K/AKT/mTOR and EMT pathways [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(1): 94-105.
  - [22] Luo C, Ye Y H, Lv A Q, *et al.* The impact of astragaloside IV on the inflammatory response and gut microbiota in cases of acute lung injury is examined through the utilization of the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *PLoS One*, 2024, 19(7): e0305058.
  - [23] Qiao X, Wang H, He Y L, *et al.* Grape seed proanthocyanidin ameliorates LPS-induced acute lung injury by modulating M2a macrophage polarization via the TREM2/PI3K/Akt pathway [J]. *Inflammation*, 2023, 46(6): 2147-2164.
  - [24] Li R T, Zou X J, Huang H Y, *et al.* HMGB1/PI3K/Akt/mTOR signaling participates in the pathological process of acute lung injury by regulating the maturation and function of dendritic cells [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1104.
  - [25] 姜丽, 李惠兰, 张启云, 等. HPLC 法同时测定麻杏石

- 甘汤中 5 种成分的含量 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(2): 537-540.
- [26] Su Z Q, Liao J B, Liu Y H, *et al.* Protective effects of patchouli alcohol isolated from *Pogostemon cablin* on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(2): 674-682.
- [27] Zhou Z H, Kozlowski J, Schuster D P. Physiologic, biochemical, and imaging characterization of acute lung injury in mice [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172(3): 344-351.
- [28] Xu S Y, Xu X F, Yuan S X, *et al.* Identification and analysis of amygdalin, neoamygdalin and amygdalin amide in different processed bitter almonds by HPLC-ESI-MS/MS and HPLC-DAD [J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1425.
- [29] Song S, Ma Q H, Tang Q F, *et al.* Stereoselective metabolism of amygdalin-based study of detoxification of *Semen Armeniacae Amarum* in the *Herba Ephedrae-Semen Armeniacae Amarum* herb pair [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 179: 356-366.
- [30] Wang S P, Hu Y Y, Tan W, *et al.* Compatibility art of traditional Chinese medicine: From the perspective of herb pairs [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(2): 412-423.
- [31] 邵远洋, 张晨宁, 王娟, 等. 有毒中药配伍减毒的研究现状及发展思考 [J]. 中草药, 2025, 56(4): 1394-1403.
- [32] 高建, 窦志英, 付志飞, 等. <sup>1</sup>H NMR ERETIC2 结合多变量分析法定量分析生麻黄与蜜炙麻黄差异 [J]. 中南药学, 2023, 21(7): 1693-1699.
- [33] 秦艳. 苦杏仁苷的立体选择性吸收和脱氨代谢在麻黄杏仁药对解毒机制中的研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2022.
- [34] Johnson R M, Vinetz J M. Dexamethasone in the management of Covid-19 [J]. *BMJ*, 2020, 370: m2648.
- [35] Ma J X, Xiao X, Zhou K F, *et al.* Herb pair of *Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum* alleviates airway injury in asthmatic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 269: 113745.
- [36] Fei Y X, Zhao B, Yin Q Y, *et al.* Ma Xing Shi Gan Decoction attenuates PM<sub>2.5</sub> induced lung injury via inhibiting HMGB1/TLR4/NFκB signal pathway in rat [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1361.

[责任编辑 李亚楠]