

麻黄-杏仁药对对呼吸中枢的平喘作用及机制^Δ

田佳玉*,杨添翼,谢金根,陈林林,饶倩,肖雄,侯永春,李文宏[#](江西中医药大学药学院,南昌 330004)

中图分类号 R965;R974;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)07-0870-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.07.08



摘要 **目的** 初步探讨麻黄-杏仁药对对呼吸中枢的平喘作用及机制。**方法** 雄性SD大鼠随机分为空白组、模型组、地塞米松组(阳性对照)以及麻黄-杏仁2:1、1:1、1:2组。各组大鼠灌胃不同配比药对水煎液[均为18 g(生药)/kg]/地塞米松混悬液(0.5 mg/kg)/等体积生理盐水,每日灌胃2次,连续7 d。于末次给药40 min后,取含药脑脊液测定大鼠入脑有效成分的含量;于末次给药1.5 h后,通过脑立体定位仪定位孤束核,用10 μ L微量进样器以恒速1 μ L/min将磷酸组胺注入孤束核区域(体积1 μ L)模拟大鼠呼吸中枢兴奋状态,空白组注射生理盐水。检测延髓部脑组织中神经递质[神经生长因子(NGF)、P物质(SP)、去甲肾上腺素(NA)、5-羟色胺(5-HT)、乙酰胆碱(Ach)]的含量;检测延髓部脑组织中神经激肽1受体(NK-1R)、p38促分裂原活化的蛋白激酶(MAPK)、c-fos mRNA表达,以及孤束核区域NK-1R、p38 MAPK、c-fos蛋白表达。**结果** 麻黄-杏仁药对入脑的主要有效成分为麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱。与空白组相比,模型组大鼠NGF、SP、NA、5-HT、Ach含量,以及NK-1R、p38 MAPK、c-fos mRNA和蛋白的相对表达水平均显著升高($P<0.01$);与模型组相比,麻黄-杏仁药对不同配比组均能显著降低各神经递质含量,以及NK-1R、p38 MAPK、c-fos mRNA和蛋白的相对表达水平($P<0.01$),其中以质量比2:1与1:1配比的药对效果相对较好。**结论** 麻黄生物碱类为麻黄-杏仁药对影响呼吸中枢功能的主要有效成分;麻黄占比较大的配比组效应较强;麻黄-杏仁药对可通过下调孤束核NK-1R/MAPK/c-fos通路表达,减少NGF、SP等神经递质异常释放,降低呼吸中枢兴奋性。

关键词 麻黄-杏仁药对;平喘;呼吸中枢;脑立体定位;孤束核;NK-1R/MAPK/c-fos通路

Antiasthmatic effect and mechanism of Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum herb pair on the respiratory center

TIAN Jiayu, YANG Tianyi, XIE Jinggen, CHEN Linlin, RAO Qian, XIAO Xiong, HOU Yongchun, LI Wenhong (School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To preliminarily investigate the antiasthmatic effect and mechanism of Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum herb pair on the respiratory center. **METHODS** Male SD rats were randomly divided into blank group, model group, dexamethasone group (positive control), and Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum 2:1, 1:1 and 1:2 groups. Rats in each group were administered different ratios of the herb pair decoction [all at 18 g (crude drug)/kg], dexamethasone suspension (0.5 mg/kg), or normal saline intragastrically twice daily for seven consecutive days. Forty minutes after the last administration, medicated cerebrospinal fluid was collected to determine the content of effective components entering the brain. One and a half hours after the last administration, the nucleus tractus solitarius (NTS) was located using a stereotaxic apparatus. Histamine phosphate (1 μ L) was injected into the NTS region at a constant rate of 1 μ L/min using a 10 μ L microsyringe to induce excitation of the respiratory center in rats; the blank group was injected with normal saline. The contents of neurotransmitters [nerve growth factor (NGF), substance P (SP), norepinephrine (NA), 5-hydroxytryptamine (5-HT) and acetylcholine (Ach)] in the medulla oblongata brain tissue were detected. The mRNA expressions of neurokinin-1 receptor (NK-1R), p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK), and c-fos in the medulla oblongata, as well as the protein expressions of NK-1R, p38 MAPK, and c-fos in the NTS region, were determined. **RESULTS** The main active components of Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum herb pair entering the brain were ephedrine, pseudoephedrine, and methylephedrine. Compared with blank group, the contents of NGF, SP, NA, 5-HT and Ach, and the relative expression levels of NK-1R, p38 MAPK, and c-fos mRNA and protein were significantly increased in the model group ($P<0.01$). Compared with model group, Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum herb pair groups with different ratios significantly reduced the neurotransmitter contents and the relative expression levels of NK-1R, p38 MAPK, and c-fos mRNA and protein ($P<$

^Δ基金项目 国家自然科学基金项目(No.82360856)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中药药理。E-mail: 3203536116@qq.com

[#]通信作者 教授,博士生导师,博士。研究方向:中药药理。E-mail:20010037@jxutcm.edu.cn

0.01), with the 2:1 Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum herb pair and 1:1 mass ratios showing relatively better effects.

CONCLUSIONS Ephedrae Herba alkaloids are the main active components in affecting the function of the respiratory center. The herb pair groups with a larger proportion of Ephedrae Herba exhibit stronger effects. Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum herb pair can reduce the excitability of the respiratory center by down-regulating the expression of the NK-1R/MAPK/c-fos pathway in the NTS and decreasing the abnormal release of neurotransmitters such as NGF and SP.

KEYWORDS Ephedrae Herba-Armeniacae Semen Amarum herb pair; antiasthmatic; respiratory center; brain stereotaxis; nucleus tractus solitarius; NK-1R/MAPK/c-fos pathway

支气管哮喘(以下简称“哮喘”)是一种严重的呼吸道慢性炎症疾病,其全球患病率持续攀升,一旦发病难以得到有效根治^[1]。长期以来,哮喘的研究主要集中于气道局部的外周机制,包括辅助性T细胞1(T helper cell 1, Th1)/Th2免疫失衡、炎症细胞浸润及气道重塑等^[2]。然而,中枢神经系统,尤其是神经内分泌网络,在哮喘的发生发展及迁延过程中发挥着核心调控作用^[3],主要涉及中枢神经系统的多个神经核团^[4-5]。神经生长因子(nerve growth factor, NGF)是参与调节哮喘“神经-内分泌-免疫”网络失衡的重要因素^[6]。研究表明,哮喘状态下,神经紧张素区域的神经元兴奋性异常增高,可能通过增强副交感神经输出,加剧支气管痉挛;在这一过程中,NGF通过刺激神经节,使P物质(substance P, SP)合成增多,而SP与神经激肽1受体(neurokinin-1 receptor, NK-1R)所介导的神经通路可进一步激活下游的促分裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族成员(如p38 MAPK),并诱导即刻早期基因*c-fos*的表达,最终导致神经元敏化、中枢兴奋性增高以及神经递质[如NGF、去甲肾上腺素(norepinephrine, NA)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)等]的释放失调^[7]。而李志芳等^[8]研究表明,NGF促进NK-1R的表达可能是通过活化肾素-血管紧张素系统/MAPK/c-fos通路来实现的。

中医药在防治哮喘方面历史悠久。张欢等^[9]运用数据挖掘方法探究古今哮喘方的用药规律,结果显示,在所有哮喘方中,支持度最高的药对是麻黄-杏仁。仅《伤寒论》里,就有麻黄汤、大青龙汤、麻杏石甘汤等7首方剂均同时使用了麻黄和杏仁。作为中医经典药对,麻黄、杏仁同入肺经;麻黄辛散苦泄,可外开皮毛之郁闭,以宣发肺气,故善平喘;杏仁味苦微温,长于降利肺气而止咳平喘,为治咳喘之要药。二药相须而用,麻黄宣肺气,杏仁降肺气,一宣一降,相辅相成,符合肺之气机,更能加强定喘之功,故前人有“杏仁是麻黄的臂助”之说^[1]。研究显示,不同配比的麻黄-杏仁药对均有较好的平喘作用,其中麻黄-杏仁质量比为2:1是平喘、减轻气道损伤

作用的较优配比^[10]。但麻黄-杏仁药对调控哮喘的中枢机制及核心效应成分仍不明确。

本课题组前期体外神经药理实验表明,麻黄-杏仁药对可能通过抑制中枢神经NK-1R/MAPK/c-fos蛋白和mRNA的表达以及降低NGF、SP等神经递质含量发挥平喘作用^[11]。孤束核作为延髓背侧呼吸组的核心结构,同时也是外周呼吸、化学及机械感觉传入的第一级整合中枢^[12-13];组胺H₃受体在哮喘相关脑功能区(如孤束核)呈密集分布状态^[14],组胺可能通过刺激孤束核内的H₃受体对呼吸中枢的兴奋性进行调节,进而参与哮喘的发病过程。基于此,本研究在孤束核内微量注射磷酸组胺模拟大鼠呼吸中枢兴奋状态,从体内实验层面探究麻黄-杏仁药对不同配比(质量比分别为2:1、1:1、1:2)对孤束核区域NK-1R/MAPK/c-fos通路及神经递质含量的影响,旨在明确麻黄-杏仁药对中枢平喘“成分-通路-效应”的调控机制,加深对药对治疗哮喘的作用及机制的认识,为该药物临床平喘应用及后续研发提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括:T100型梯度聚合酶链式反应(PCR)仪、CFX96 Touch型qPCR仪(美国Bio-Rad公司),FA1004型万分之一天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),ZH-蓝星B型脑立体定位仪、ZH-RXZ型柔性颅骨钻(安徽正华生物仪器设备有限公司),Legato 130型微量注射泵(美国KD Scientific公司),SCIENTZ-24型高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司),Leica RM2016型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司),DGX-9003B型烤箱(上海福玛实验设备有限公司),XK-8型脱色摇床(江苏新康医疗器械有限公司),ECLIPSE Ci-E型显微镜、Nexera X2 LC-30A型超高效液相色谱仪(日本岛津公司),Triple TOF™ 5600+型四极杆-飞行时间质谱仪、电喷雾离子源、Analyst® TF1.6软件(美国SCIEX公司),BSA224S型十万分之一分析天平(德国Sartorius公司),S25型涡旋震荡仪(德国IKA Lab Dancer公司),KDM型可调控温电热套(山东鄞城华鲁

电热仪器有限公司),KQ5200DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),Milli-Q型超纯水仪(美国Millipore公司)。

1.2 主要药物及试剂

麻黄饮片(产地内蒙古,批号23011001)、燂苦杏仁饮片(产地河北,批号2403003)均购自江西樟树天齐堂中药饮片有限公司,经江西中医药大学药学院付小梅教授鉴定均为真品。盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、盐酸甲基麻黄碱对照品(批号分别为171241-201809、171237-201510、171247-201502,纯度分别为100.0%、99.8%、99.6%)均购自中国食品药品检定研究院;磷酸组胺(批号101516525)购自美国Sigma公司;醋酸地塞米松混悬液(规格0.75 mg,批号LB2353,国药准字H33020822)购自浙江仙琚制药股份有限公司;大鼠NGF、SP、乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)、5-HT、NA酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号分别为20250521、20250521、20250519、20250521、20250521)均购自南京建成生物工程研究所;SPARKeasy组织RNA快速提取试剂盒(批号FFEKZ)购自山东思科捷生物技术有限公司;二甲苯、无水乙醇、30% H₂O₂(批号分别为20240316、2405105、24060304)均购自国药集团上海有限公司;辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG(批号20240324)购自上海科瑞斯生物工程有限公司;苏木素、兔血清、牛血清白蛋白、增强型DAB显色试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号分别为20240506、20240516、20240318、20240514、240012030)均购自北京索莱宝科技有限公司;兔抗大鼠NK-1R多克隆抗体、兔抗大鼠c-fos多克隆抗体(抗体号分别为DF7405、AF5354)均购自美国Affinity公司;兔抗大鼠p38 MAPK多克隆抗体(抗体号14064-1-AP)购自武汉三鹰生物技术有限公司;甲醇、乙腈(均为色谱纯,批号分别为I1149907-119、K54140530-209)均购自德国Merck集团;甲酸(批号4806178)购自北京迪科马科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠66只,体重(220±20)g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,动物生产许可证号为SCXK(京)2019-0010。大鼠饲养条件:温度(23±2)℃,湿度(45±5)%,自由摄食、饮水,在实验前12 h禁食、不禁水。本实验经江西中医药大学实验动物伦理委员会批准(受理编号为20230304006)。

2 方法

2.1 麻黄-杏仁药对水煎液的制备

以往研究显示,麻黄-杏仁药对平喘、减轻气道损伤

作用的较优质量比为2:1^[10]。因此,本研究制备了质量比分别为2:1、1:1、1:2的麻黄-杏仁药对水煎液。精密称取各配比药材,3个配比的药对总质量均为100 g,将其中的麻黄加入800 mL纯水浸泡30 min后加热至沸腾,改用小火煎煮30 min,加入燂苦杏仁再煎煮40 min,趁热过滤后浓缩,定容至100 mL^[15],即得不同配比的麻黄-杏仁药对水煎液[1 g(生药)/mL]。

2.2 分组与给药

大鼠在常规环境中适应性喂养1周,分为空白组、模型组、地塞米松组(阳性对照)、麻黄-杏仁2:1组、麻黄-杏仁1:1组、麻黄-杏仁1:2组,每组11只。各给药组剂量根据人与大鼠体表面积比计算而得^[16]:地塞米松组大鼠灌胃地塞米松混悬液(0.5 mg/kg),麻黄-杏仁药对不同配比组大鼠灌胃相应药对水煎液[均为18 g(生药)/kg]。空白组、模型组大鼠同法灌胃等体积生理盐水。每日灌胃2次,连续7 d。

2.3 麻黄-杏仁药对含药脑脊液入脑有效成分的含量测定

参照文献[17]方法,于末次给药40 min后,麻黄-杏仁药对不同配比组各取3只大鼠腹腔注射1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉,经硬脊膜穿刺微量进样器提取大鼠脑脊液,在无菌操作台上将脑脊液用0.22 μm滤膜过滤除菌,即得不同配比麻黄-杏仁药对干预后的大鼠含药脑脊液,于-80℃冰箱短期保存备用。参考本课题组前期研究中采用仿生含药脑脊液法(bionic drug-containing cerebrospinal fluid method, B-D-CSF-M)制备的仿生含药脑脊液有效成分的检测条件^[11],采用液相色谱-质谱联用技术检测大鼠含药脑脊液入脑有效成分麻黄碱/伪麻黄碱、甲基麻黄碱的含量,作为方法学质控指标。

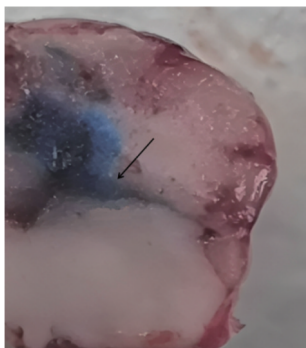
2.4 孤束核定位及大鼠呼吸中枢兴奋状态的模拟

2.4.1 孤束核定位

在造模前期,取实验以外的大鼠1~2只进行孤束核定位。固定大鼠于脑立体定位仪上,调整门齿钩高度使大鼠前囟与后囟处于同一水平面。剃除大鼠颈项毛发,以碘伏消毒手术区域后,正中切口暴露前囟,参照《大鼠脑立体定位图谱》定位孤束核^[18],具体坐标为:前后距离前囟12.80 mm,内外侧距离中线0.9 mm,背腹侧距离颅骨表面6.8 mm。钻孔暴露硬脑膜,避免损伤脑组织。用10 μL微量进样器以恒速1 μL/min注射蓝色墨水(体积1 μL),获得大鼠脑延髓部横切面图,通过观察颜色判断注射是否准确。如图1所示,孤束核区域可见明显蓝色,表明注射准确,可进行后续实验造模。

2.4.2 大鼠呼吸中枢兴奋状态的模拟

将各组实验大鼠于末次给药1.5 h后,腹腔注射1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉。按照“2.4.1”项下方法定位



注:箭头所指表示孤束核区域,蓝色表示蓝色墨水注射成功。

图1 大鼠脑延髓部孤束核定位横切面图

孤束核,除空白组外,其余各组大鼠使用10 μL 微量进样器,将37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的 6.4×10^{-3} mol/L磷酸组胺以恒速1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 注入孤束核区域(体积1 μL),留管5 min防止回流,拔针后用玻璃离子水门汀封闭进针点,以此诱导大鼠呼吸中枢兴奋以模拟整体动物的中枢病理状态;空白组大鼠实施假手术,同法注射等体积生理盐水。

2.5 取材

造模0.5 h后,每组取3只大鼠采用4%多聚甲醛灌注心脏后取全脑,于4%多聚甲醛溶液中固定72 h后放入25%蔗糖溶液中脱水,脱水后取大鼠孤束核所在冠状面进行冰冻切片(10 μm),用于后续免疫组化检测;每组另外8只大鼠采用生理盐水灌注心脏后取全脑,转移至-80 $^{\circ}\text{C}$ 液氮冻存,用于后续ELISA和qPCR检测。

2.6 延髓部脑组织中神经递质含量检测

取“2.5”项下每组各6只大鼠适量的延髓部脑组织,按9倍质量比加入冰磷酸盐缓冲液匀浆,以3 000 r/min离心20 min取上清液,按ELISA试剂盒说明书操作,检测NGF、SP、NA、5-HT、ACh含量。

2.7 延髓部脑组织中NK-1R/MAPK/c-fos通路相关基因mRNA表达检测

采用qPCR检测。选取“2.5”项下每组各6只大鼠适量的延髓部脑组织,依照试剂盒说明书提取总RNA,合成cDNA,开展PCR检测并进行统计分析。运用Universal SYBR Green qPCR Mix荧光定量预混试剂开展PCR分析,设计反应体系为20 μL ,反应程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s,随后95 $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火10 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,共计40个循环。以GAPDH作为内标进行归一化处理,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算各目标基因mRNA的相对表达水平。GAPDH引物序列:上游引物5'-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3',下游引物5'-TTTGAGGGTGCAGCGAACTT-3';NK-1R引物序列:上游引物5'-TGCGTGACTGTACTGATCTACT-3',下游引物5'-GACCTG-

CTGGATGAACTTCTTC-3';p38 MAPK引物序列:上游引物5'-TGGATATTTGGTCCGTGGGC-3',下游引物5'-CGCATTATCTGCTGAAGCTGG-3';c-fos引物序列:上游引物5'-CATGGAGCTGAAGGCTGAAC-3',下游引物5'-GAAGGAACCAGACAGGTCCA-3'。引物合成由北京鼎国昌盛生物技术有限公司完成。

2.8 孤束核区域中NK-1R/MAPK/c-fos通路相关蛋白表达检测

采用免疫组化法检测。取“2.5”项下每组各3只大鼠的冰冻切片,固定后置于预热的0.01 mol/L柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)中,95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴修复20 min,自然冷却至室温。用0.01 mol/L磷酸盐缓冲液漂洗3次,每次5 min。为淬灭内源性过氧化物酶活性,切片在含3% H_2O_2 的甲醇溶液中孵育15 min,再用磷酸盐缓冲液洗涤3次。随后,用含10%正常兔血清和0.3% Triton X-100的磷酸盐缓冲液室温封闭1 h。之后吸弃液体,直接滴加一抗工作液(NK-1R、c-fos、p38 MAPK稀释比例分别为1:400、1:500、1:500),置于湿盒内4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日,将切片复温,以磷酸盐缓冲液漂洗3次,每次10 min。滴加辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG二抗(稀释比例为1:2000),室温孵育2 h,之后再次用磷酸盐缓冲液漂洗。DAB显色液按照试剂盒说明书现配现用,将切片浸入其中,于显微镜下实时观察。待棕黄色特异性信号清晰显现而背景无明显着色时,立即浸入磷酸盐缓冲液终止反应。染色切片贴附于明胶载玻片,室温晾干。经苏木素复染核约30 s、1%盐酸酒精分化液酸性脱色及自来水返蓝后,依次通过梯度酒精(70%、95%、100%)脱水、二甲苯透明,最后以中性树胶封固。于200倍放大倍数视野下,采集每只大鼠孤束核相同解剖位置的图像。每张切片随机选取3个不重叠视野,采用Image J软件进行定量分析,设定统一阈值区分阳性染色区域(棕黄色)与背景,阳性表达水平以阳性细胞率表示:阳性细胞率=(阳性染色区域面积/选定视野总面积) $\times 100\%$ 。

2.9 统计学分析

采用GraphPad Prism 8软件进行统计学分析,计量资料满足正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用LSD- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 含药脑脊液入脑有效成分含量测定结果

含量测定结果显示,含药脑脊液中麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱为核心入脑有效成分,其中麻黄碱/伪麻

黄碱和甲基麻黄碱含量均随药对中麻黄比例升高呈逐渐升高趋势:麻黄-杏仁1:2组<麻黄-杏仁1:1组<麻黄-杏仁2:1组,这提示麻黄占比越高,该药对中的生物碱含量越高。结果见表1。

表1 含药脑脊液入脑有效成分含量测定结果($\bar{x} \pm s$, $n=3, \mu\text{g/mL}$)

组别	麻黄碱/伪麻黄碱	甲基麻黄碱
麻黄-杏仁1:2组	0.498 0±0.010 4	0.029 2±0.001 7
麻黄-杏仁1:1组	0.723 4±0.026 7	0.062 7±0.000 5
麻黄-杏仁2:1组	0.946 1±0.054 2	0.087 2±0.002 5

3.2 延髓部脑组织中神经递质含量检测结果

与空白组相比,模型组大鼠延髓部脑组织中NGF、SP、NA、5-HT、Ach含量均显著升高($P<0.01$);与模型组相比,地塞米松组和麻黄-杏仁药对不同配比组大鼠延髓部脑组织中各神经递质的含量均显著降低($P<0.01$),3个不同配比组中麻黄-杏仁1:1组和麻黄-杏仁2:1组大鼠各神经递质含量降低得相对明显。结果见表2。

表2 延髓部脑组织中神经递质含量比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	NGF/(ng/L)	SP/(ng/mL)	NA/(nmol/L)	5-HT/(ng/mL)	Ach/(μg/g)
空白组	46.14±5.73	169.50±12.42	3.95±0.79	75.84±12.25	1 565.00±155.90
模型组	257.00±13.80 ^a	304.70±8.45 ^a	18.22±0.51 ^a	205.80±9.87 ^a	2 286.00±31.40 ^a
地塞米松组	119.90±12.80 ^b	212.00±11.82 ^b	6.45±0.71 ^b	107.10±10.88 ^b	1 772.00±74.44 ^b
麻黄-杏仁1:2组	176.20±18.06 ^b	237.00±9.28 ^b	11.69±0.79 ^b	163.20±9.59 ^b	2 015.00±87.59 ^b
麻黄-杏仁1:1组	144.30±23.72 ^b	224.70±10.82 ^b	10.44±0.46 ^b	151.30±7.54 ^b	1 885.00±101.80 ^b
麻黄-杏仁2:1组	141.50±6.74 ^b	218.00±7.40 ^b	8.42±0.60 ^b	124.80±10.15 ^b	1 755.00±83.44 ^b

a:与空白组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.01$ 。

3.3 延髓部脑组织中NK-1R/MAPK/c-fos通路相关基因mRNA表达的检测结果

与空白组相比,模型组大鼠延髓部脑组织中NK-1R、p38 MAPK、c-fos mRNA的相对表达水平均显著升高($P<0.01$);与模型组相比,地塞米松组和麻黄-杏仁药对不同配比组大鼠延髓部脑组织中NK-1R、p38 MAPK、c-fos mRNA的相对表达水平均显著降低($P<0.01$),3个不同配比组中麻黄-杏仁1:1组和麻黄-杏仁2:1组的NK-1R、p38 MAPK、c-fos mRNA表达水平的降低程度相对明显。结果见表3。

表3 各组大鼠延髓部脑组织中NK-1R、p38 MAPK、c-fos mRNA表达水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	NK-1R mRNA	p38 MAPK mRNA	c-fos mRNA
空白组	1.015±0.077	1.017±0.203	1.038±0.308
模型组	4.525±0.709 ^a	3.098±0.202 ^a	7.203±1.304 ^a
地塞米松组	1.995±0.227 ^b	1.463±0.153 ^b	2.690±0.719 ^b
麻黄-杏仁1:2组	3.692±0.172 ^b	2.332±0.266 ^b	5.235±0.541 ^b
麻黄-杏仁1:1组	2.815±0.178 ^b	2.035±0.344 ^b	3.692±0.670 ^b
麻黄-杏仁2:1组	2.410±0.321 ^b	2.165±0.204 ^b	4.018±0.320 ^b

a:与空白组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.01$ 。

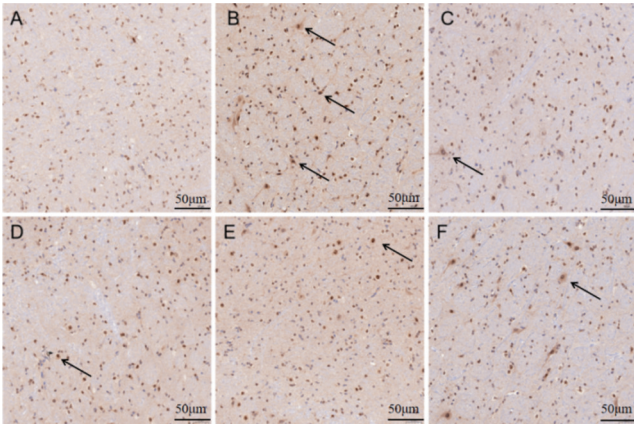
3.4 各组大鼠孤束核区域中NK-1R/MAPK/c-fos通路相关蛋白表达的检测结果

与空白组相比,模型组大鼠孤束核区域中NK-1R、p38 MAPK、c-fos蛋白的相对表达水平均显著升高($P<0.01$),着色较深;与模型组相比,地塞米松组和麻黄-杏仁药对不同配比组大鼠孤束核区域中NK-1R、p38 MAPK、c-fos蛋白的相对表达水平均显著降低($P<0.01$),着色较浅。结果见表4、图2~图4。

表4 各组大鼠孤束核区域中NK-1R、p38 MAPK、c-fos阳性细胞率比较($\bar{x} \pm s$, $n=3, \%$)

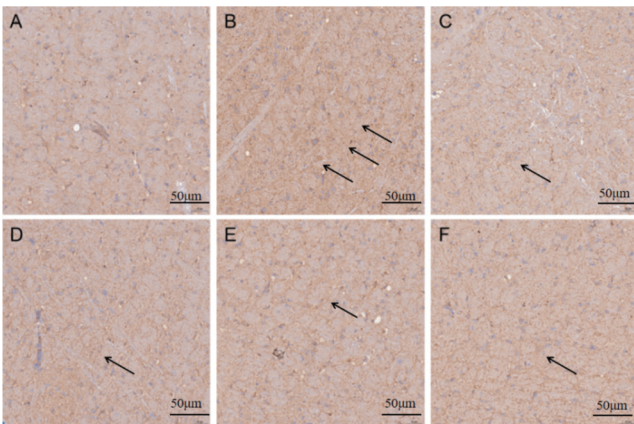
组别	NK-1R阳性细胞率	p38 MAPK阳性细胞率	c-fos阳性细胞率
空白组	0.648±0.258	1.016±0.194	0.620±0.068
模型组	6.750±1.519 ^a	12.570±0.958 ^a	2.802±0.015 ^a
地塞米松组	1.482±0.042 ^b	4.280±0.323 ^b	1.223±0.015 ^b
麻黄-杏仁1:2组	2.292±0.152 ^b	9.111±0.741 ^b	1.689±0.009 ^b
麻黄-杏仁1:1组	2.117±0.199 ^b	7.407±1.084 ^b	1.659±0.001 ^b
麻黄-杏仁2:1组	2.365±0.197 ^b	5.293±0.305 ^b	1.607±0.021 ^b

a:与空白组比较, $P<0.01$;b:与模型组比较, $P<0.01$ 。



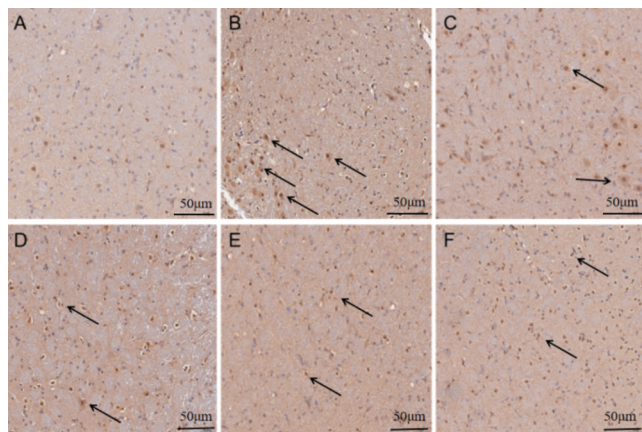
A:空白组;B:模型组;C:地塞米松组;D:麻黄-杏仁1:2组;E:麻黄-杏仁1:1组;F:麻黄-杏仁2:1组;箭头所指表示细胞阳性表达。

图2 各组大鼠孤束核区域c-fos染色显微图(免疫组化法)



A:空白组;B:模型组;C:地塞米松组;D:麻黄-杏仁1:2组;E:麻黄-杏仁1:1组;F:麻黄-杏仁2:1组;箭头所指表示细胞阳性表达。

图3 各组大鼠孤束核区域NK-1R染色显微图(免疫组化法)



A: 空白组; B: 模型组; C: 地塞米松组; D: 麻黄-杏仁1:2组; E: 麻黄-杏仁1:1组; F: 麻黄-杏仁2:1组; 箭头所指表示细胞阳性表达。

图4 各组大鼠孤束核区域p38 MAPK染色显微图(免疫组化法)

4 讨论

哮喘不仅是一种气道局部的炎症性疾病,更是一种涉及中枢系统调控的全身性病理过程,其典型特征涵盖气道慢性炎症、支气管高反应性以及可逆性气流受限^[19],且这些外周病变与中枢神经系统之间存在着紧密的双向通信^[7,20]。中枢系统与外周气道在神经信号分子表达方面虽表现出区域特性,但二者借助复杂的交互作用构建起了统一的调控体系,其中NGF是这一网络的关键枢纽。此外,组胺在哮喘发病的病理过程中,既是外周炎症进程的关键参与者,也是中枢神经调节的重要信使;组胺可通过负反馈机制抑制自身合成,同时还可交叉调控SP等神经递质的分泌,进而参与哮喘的中枢调节^[14]。

本研究通过脑部开颅注射磷酸组胺的方式,直接刺激孤束核,以此模拟脑内呼吸中枢组胺H₃受体激动的状态,探究该受体激动后对SP、5-HT等神经递质含量,以及NK-1R/MAPK/c-fos相关因子mRNA及蛋白表达的影响,同时明确麻黄-杏仁药对的中枢平喘作用机制。本研究结果显示,与空白组相比,模型组大鼠的神经递质(NGF、SP、NA、5-HT、ACh)含量均显著升高,NK-1R、p38 MAPK、c-fos的mRNA及蛋白表达均显著上调;给予麻黄-杏仁药对不同配比水煎液后,均能显著降低大鼠神经递质含量($P<0.01$),其中麻黄-杏仁2:1组、麻黄-杏仁1:1组效果较优。这提示麻黄占比较高的麻黄-杏仁药对整体效应较好。

本研究含药脑脊液入脑有效成分含量测定结果显示,含药脑脊液中麻黄碱、伪麻黄碱、甲基麻黄碱为核心入脑有效成分,其含量随药对中麻黄比例升高呈梯度递增趋势(麻黄-杏仁1:2组<麻黄-杏仁1:1组<麻黄-杏

仁2:1组),与药对平喘效应强度趋势一致^[11],表明麻黄生物碱类可能是该药对影响呼吸中枢功能的主要有效成分,且麻黄在药对中发挥主导作用。彭秘等^[21]研究表明,麻黄水煎液中麻黄生物碱类成分可快速通过大鼠血脑屏障进入脑部,主要分布于大脑皮层、海马区域,且不同生物碱在不同的脑区呈差异性分布。麻黄可上调小鼠海马神经元细胞中c-fos的mRNA表达及大鼠脑内的c-fos蛋白表达^[22]。杏仁中的有效成分是苦杏仁苷,经 β -葡萄糖苷酶水解生成微量氢氰酸,可轻微抑制呼吸中枢,从而发挥镇咳平喘作用^[23]。麻杏石甘汤能降低哮喘模型大鼠肺组织中降钙素基因相关肽、SP含量并下调NK-1R蛋白表达^[24],其镇咳机制部分与通过阻断乙酰胆碱能受体和组胺能受体、松弛支气管平滑肌有关^[25]。另有研究显示,伪麻黄碱可能通过提高微电刺激延髓孤束核诱发的假性咳嗽强度阈值达到镇咳目的^[26]。

本研究结果与本课题组前期研究结果相符。本课题组前期^[11]以B-D-CSF-M作为中药体外神经药理实验方法,采用大鼠星形胶质细胞与神经细胞株PC12共培养,以磷酸组胺刺激,证实麻黄-杏仁药对可通过抑制中枢神经NK-1R/MAPK/c-fos mRNA与蛋白的表达以及降低NGF、SP、ACh、5-HT、NA等神经递质含量发挥平喘作用;本研究则从整体动物层面通过脑部开颅注射磷酸组胺,直接激活延髓部孤束核区的H₃受体,模拟整体动物的呼吸中枢兴奋状态。体外和体内实验均一致证实,麻黄-杏仁药对能够显著降低哮喘相关神经递质含量,抑制NK-1R/MAPK/c-fos通路的激活(mRNA和蛋白表达),构成了“成分-通路-效应”的完整证据链,也充分论证了本课题组前期研究构建的B-D-CSF-M在体外药理学研究中的可行性。

本研究存在以下局限:(1)本研究采取脑部直接注射磷酸组胺模拟大鼠呼吸中枢兴奋状态,虽特异性强、干扰少,但与哮喘临床发病的病理生理过程存在明显差异,仅从呼吸中枢机制方面探究麻黄-杏仁药对的平喘作用。(2)本研究采用不同配比的麻黄-杏仁药对,仅对有效成分含量进行检测,并未对其量效关系进行深入探究。后续可进行哮喘临床发病病理模型研究及药对不同配比的量效关系研究。

综上所述,麻黄生物碱类为麻黄-杏仁药对中影响呼吸中枢功能的主要有效成分,尤以麻黄占比较大的配比组效应较强;麻黄-杏仁药对可通过下调孤束核NK-1R/MAPK/c-fos通路表达,减少NGF、SP等神经递质异常释放,从而降低呼吸中枢兴奋性。

参考文献

- [1] HUANG K W, YANG T, XU J Y, et al. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2019, 394 (10196): 407-418.
- [2] 邓亚胜, 习兰花, 范燕萍, 等. 中药活性成分调节哮喘 Th1/Th2、Th17/Treg 免疫应答平衡的作用及机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(4): 1000-1021.
- [3] KONSTANTINOOU G N, KONSTANTINOOU G N, KOULIAS C, et al. Further understanding of neuro-immune interactions in allergy: implications in pathophysiology and role in disease progression[J]. *J Asthma Allergy*, 2022, 15: 1273-1291.
- [4] COSTA-PINTO F A, BASSO A S, BRITTO L R G, et al. Avoidance behavior and neural correlates of allergen exposure in a murine model of asthma[J]. *Brain Behav Immun*, 2005, 19(1): 52-60.
- [5] EBNER K, FONTEBASSO V, FERRO F, et al. PACAP regulates neuroendocrine and behavioral stress responses via CRF-containing neurons of the rat hypothalamic paraventricular nucleus[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2025, 50(3): 519-530.
- [6] SHIMKO M J, ZACCONE E J, THOMPSON J A, et al. Nerve growth factor reduces amiloride-sensitive Na⁺ transport in human airway epithelial cells[J]. *Physiol Rep*, 2014, 2(7): e12073.
- [7] DRAKE M G, COOK M, FRYER A D, et al. Airway sensory nerve plasticity in asthma and chronic cough[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 720538.
- [8] 李志芳, 秦岭, 贺若曦, 等. 神经生长因子通过 c-fos 促进支气管上皮细胞 NK-1R 表达[J/OL]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2017, 10(2): 146-150.
- [9] 张欢, 范欣生, 王崇骏, 等. 古今哮喘方用药规律对比的关联规则研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2009, 16(3): 94-96.
- [10] 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.
- [11] 李文宏, 杨添翼, 谢金根, 等. 仿生含药脑脊液法在中药体外神经药理学的可行性研究: 以麻黄-苦杏仁药对为例[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(21): 6098-6108.
- [12] 姚泰. 呼吸性神经元在脑干中的分布及节律性呼吸的形
- 成[J]. *生理科学进展*, 1979, 10(2): 97-106.
- [13] GANNOT N, LI X Y, PHILLIPS C D, et al. A vagal-brainstem interoceptive circuit for cough-like defensive behaviors in mice[J]. *Nat Neurosci*, 2024, 27(9): 1734-1744.
- [14] 胡春梅, 董榕. 组胺 H₃ 受体与支气管哮喘[J]. *国外医学-呼吸系统分册*, 2002, 22(5): 270-272.
- [15] 李文宏, 樊学程, 雷婷, 等. 基于含药肝孵育液法的麻杏石甘汤抗气道上皮损伤的作用机制研究[J]. *中国药理学杂志*, 2022, 57(23): 2013-2023.
- [16] 陈林林, 谢金根, 樊学程, 等. 麻黄与杏仁配伍后在支气管哮喘模型大鼠体内的药动学研究[J]. *中国药房*, 2024, 35(13): 1588-1593.
- [17] 戴纪恒, 吴思鹏, 汪宁, 等. 通窍活血汤含药脑脊液对 OGD/R 损伤大鼠 BMECs 的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(14): 42-52.
- [18] 包新民, 舒斯云. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 91.
- [19] 李梦茵, 宋桂华, 任明月. 程序性细胞死亡在支气管哮喘中的分子机制及中医药干预研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(24): 6807-6815.
- [20] 邓亚胜, 林江, 郝域江, 等. 哮喘气道重塑发病机制及中药干预机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(8): 2050-2070.
- [21] 彭秘, 苏丹, 李晗芸, 等. UHPLC-QTOF-MS^E 与 UHPLC-MS/MS 分析麻黄生物碱在血脑屏障间的移行及脑区分布特征[J]. *药科学报*, 2017, 52(9): 1437-1443.
- [22] 牛波. 麻黄桂枝药对配伍通过抑制 cAMP/PKA 通路拮抗麻黄诱导的神经元兴奋毒性[D]. 广州: 南方医科大学, 2021.
- [23] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 2025 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2025: 218-219.
- [24] 徐晶晶, 饶沁玲, 鲍红娟, 等. 麻杏石甘汤对咳嗽变异性哮喘大鼠呼吸道中 TRPV1、NK-1R 表达的影响[J]. *中医药导报*, 2021, 27(6): 31-34, 44.
- [25] LIN Y C, CHANG C W, WU C R. Antitussive, anti-pyretic and toxicological evaluation of Ma-Xing-Gan-Shi-Tang in rodents[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16(1): 456.
- [26] MINAMIZAWA K, GOTO H, OHI Y, et al. Effect of d-pseudoephedrine on cough reflex and its mode of action in guinea pigs[J]. *J Pharmacol Sci*, 2006, 102(1): 136-142.

(收稿日期: 2025-12-04 修回日期: 2026-03-16)

(编辑: 舒安琴)