

射干止咳胶囊镇咳作用及对RARs受体、HA、5-HT的影响*

甘雨, 李国信**, 陈贺, 包玉龙, 张宏, 孟莉, 乔敏,
朱竟赫, 武晓琳, 马跃海**

(辽宁省中医药研究院 沈阳 110034)

摘要:目的 探讨射干止咳胶囊镇咳作用部位及潜在的作用机制。方法 采用浓氨水诱发小鼠咳嗽模型,观察射干止咳胶囊镇咳作用的量效关系;采用电刺激豚鼠喉上神经引咳模型,观察射干止咳胶囊中枢性镇咳作用;采用机械刺激致辣椒素脱敏豚鼠咳嗽模型,观察射干止咳胶囊外周性镇咳作用;采用烟熏建立豚鼠慢性支气管炎模型,观察射干止咳胶囊对血管活性胺类物质组胺(HA)和5-羟色胺(5-HT)的影响。结果 射干止咳胶囊在43.00、86.00、172.00 mg提取物·kg⁻¹剂量下具有降低小鼠咳嗽次数的作用($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。射干止咳胶囊低、中、高剂量组在给药后30 min、60 min时,均无明显抑制电刺激豚鼠喉上神经引咳作用。射干止咳胶囊低剂量组在给药60 min,中剂量组在给药30 min,高剂量组在给药30 min、60 min时可显著抑制机械刺激所致的辣椒素脱敏豚鼠咳嗽($P<0.05$)。与模型对照组比较,射干止咳胶囊低、中、高剂量组豚鼠血清中HA含量明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$);射干止咳胶囊高剂量组豚鼠血清5-HT含量明显减少($P<0.05$)。结论 射干止咳胶囊的镇咳作用部位不在中枢,其外周性镇咳作用与抑制RARs受体有关,同时HA、5-HT等血管活性胺类物质也参与其中。

关键词:咳嗽 射干止咳胶囊 作用机制 组胺 5-羟色胺

doi: 10.11842/wst.20221123006 中图分类号: R285.5 文献标识码: A

咳嗽既是呼吸系统疾病常见的临床症状,又是机体重要的防御反射,生理状态下,咳嗽能有效清除呼吸道内异物,抵御致病菌的侵入,但频繁、剧烈咳嗽会对患者身心健康及生活质量造成负面影响^[1]。咳嗽的病因多种多样,上呼吸道感染^[2]、支气管扩张^[3]、慢性阻塞性肺疾病^[4]、哮喘^[5]、胃食管反流^[6]等都可以引起,除此以外,一些罕见的病因也逐渐被发现并报道,如颈椎病^[7]、心脏副神经节瘤、肺泡微结石症^[8]、舌下异位甲状腺等。近年来,针对咳嗽的发病机制研究越来越多,较为公认的是各种刺激因素导致咳嗽神经通路

(感受器受体)敏感性增高,传入延髓咳嗽中枢,再传向运动神经,引起呼吸肌运动而发生咳嗽。咳嗽感受器受体主要有快适应肺牵拉受体(RARs)^[9]、辣椒素受体(TRPV1)^[10]、瞬间受体电位离子通道A1(TRPA1)^[11]等。降低任一受体敏感性或阻断任一神经传导通路都可能起到镇咳作用,深入研究咳嗽的发病机制对治疗靶点开发极为重要。

当前现代医学对咳嗽的治疗多采用中枢镇咳药或吸入性糖皮质激素以缓解症状^[12],虽有一定成效,但停药后易复发,长时间服药又担心副作用,开发安全、

收稿日期:2022-11-23

修回日期:2023-09-10

* 国家科学技术部“十三五”重大新药创制项目(2017ZX09301019):基于组分中药创新模式的射干新药开发研究,负责人:李国信;辽宁省教育厅面上项目(LJKMZ20221330):固本止咳平喘颗粒调控NGF/TrkA信号通路对咳嗽变异性哮喘气道神经源性炎症网络机制的影响,负责人:甘雨;沈阳市科技局中青年科技创新人才支持计划项目(RC210297):从PKM2介导有氧糖酵解探讨射干苷抑制结肠癌增殖机制;负责人:陈贺。

** 通讯作者:李国信,主任医师,博士研究生导师,主要研究方向:临床药理学研究;马跃海,副研究员,硕士,主要研究方向:临床药理学研究。

高效的镇咳新药势在必行。射干止咳胶囊是经现代工艺提取、分离、纯化制得的组分中药制剂,以异黄酮类化合物为其主要药理活性成分,每粒胶囊装0.30 g,1 g胶囊内容物含0.33 g射干提取物。其具有清热止咳、祛痰利咽之功效。本课题组在前期研究中已从多角度验证射干提取物的镇咳作用^[13]。本研究拟进一步探讨射干止咳胶囊的作用部位及作用机制,为其开发成一类新药提供科学依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验动物

KM小鼠,SPF级,合格证号:211002300058146,生产许可证号:SCXK(辽)2015-0001;Hartley豚鼠,SPF级,合格证号:211002300066277、211002300065251、211002300061421,生产许可证号:SCXK(辽)2020-0001,均购自辽宁长生生物技术股份有限公司。

1.2 药品与试剂

射干止咳胶囊,辽宁中医药大学附属第二医院药学院提供,批号:20200402;枸橼酸喷托维林片,丹东医创药业有限责任公司,批号:20181001;磷酸可待因片,青海制药厂有限公司,批号:20190207;左羟丙哌嗪胶囊,湖南九典制药股份有限公司,批号:200301;醋酸地塞米松片,安徽金太阳生化药业有限公司,批号:1905122。乌拉坦,国药集团化学试剂有限公司,批号:20190805;辣椒素,大连美仑生物技术有限公司,批号:A0501A;氨茶碱注射液,河南润弘制药股份有限公司,批号:1909032;硫酸阿托品注射液,天津金耀药业有限公司,批号:2004081;豚鼠血清组胺(HA)试剂盒,批号:20210119,豚鼠血清5-羟色胺(5-HT)试剂盒,批号:20201104,均由南京建成生物工程研究所生产。

1.3 仪器设备

YLS-8A型多功能诱咳引喘仪,山东省医学科学院设备站;ELX800光吸收酶标仪,美国伯腾仪器有限公司;ML785多道生理记录仪,澳大利亚AD公司;TD5A-WS低速台式离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;YLS-9A生理药理电子刺激仪,济南益延科技发展有限公司;IES-GS01烟雾发生器,上海瑞曼信息科技有限公司;自制熏烟箱,不锈钢材质,长×宽×高:100cm×100cm×60cm(见图1)。

1.4 方法

1.4.1 射干止咳胶囊镇咳作用量效学研究

取体质量18~22 g的KM小鼠70只,按体质量随机分为7组,分别为空白对照组、射干止咳胶囊1~5组(10.80、21.50、43.00、86.00、172.00 mg提取物·kg⁻¹)和枸橼酸喷托维林片组(13.00 mg·kg⁻¹)。每天给药1次,共7天。最后1次给药之后1 h,使用诱咳引喘仪,雾化浓氨水13s,记录小鼠的咳嗽潜伏期和2 min内咳嗽次数。

1.4.2 对电刺激豚鼠喉上神经引咳的影响

取体质量300~400 g的Hartley豚鼠50只,按体质量随机分为5组,分别为空白对照组、射干止咳胶囊低、中、高剂量组和磷酸可待因片组。除磷酸可待因片组给药5天外,其余各组均连续给药7天,第7天灌胃给药后10 min,用乌拉坦(1.5 g·kg⁻¹)腹腔注射麻醉豚鼠,将其仰卧位固定,剪开颈部皮肤,小心分离喉上神经,穿线,结扎,然后尽可能靠外周端剪断,用含生理盐水的纱布覆盖。然后分离气管,连接呼吸传感器,采用多道生理记录仪记录呼吸参数。并用生理药理电子刺激仪刺激喉上神经,诱发咳嗽反射。分别于给药30 min、60 min后,采用最小引咳参数(电压1.5 V,电流1.69 mA,波宽1.00 ms,触发延时0 s),刺激喉上神经^[14-15],以呼吸波振幅变化为考察指标。

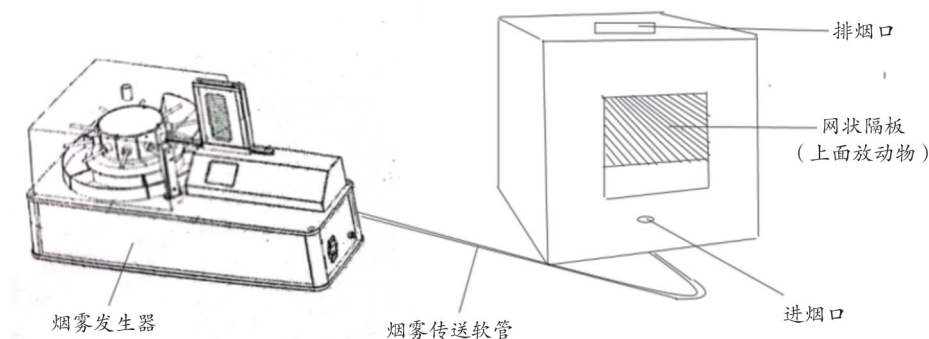


图1 自制熏烟箱示意图

1.4.3 对机械刺激所致辣椒素脱敏豚鼠咳嗽的影响

取体质量 300–400 g 的 Hartley 豚鼠 100 只,按体质量随机分为 10 组,分别为空白对照组、模型对照组、射干止咳胶囊低剂量组、射干止咳胶囊低剂量+辣椒素脱敏组、射干止咳胶囊中剂量组、射干止咳胶囊中剂量+辣椒素脱敏组、射干止咳胶囊高剂量组、射干止咳胶囊高剂量+辣椒素脱敏组、左羟丙哌嗪胶囊组、左羟丙哌嗪胶囊+辣椒素脱敏组。取模型对照及各脱敏组豚鼠,皮下注射总量为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的辣椒素进行脱敏,具体的脱敏方法如下:4 天内分别皮下注射剂量为 5、10、15、20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的辣椒素溶液,注射剂量共 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在注射辣椒素前 15 min,先腹腔注射以下药物预处理,以预防辣椒素对豚鼠呼吸道粘膜的损害:硫酸阿托品 ($1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和氨茶碱 ($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。豚鼠注射完最后 1 次辣椒素后连续给药 6 天,第 7 天对豚鼠进行机械刺激引咳,具体方法如下:用 25% 乌拉坦 ($1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 腹腔注射麻醉,切开颈部皮肤暴露气管,于第 5、6 气管环之间开一小口,插入刺激用猪鬃毛,找到刺激明感部位后,十二指肠给药,于给药后 30、60、90 min,用猪鬃毛机械刺激豚鼠呼吸道黏膜引起咳嗽,频率为每秒 1 次,时间为 10 s,观察 10 min 内豚鼠的咳嗽次数^[16]。

1.4.4 对烟熏致慢性支气管炎咳嗽豚鼠血清中 HA、5-HT 的影响

取体质量 300–400 g 的 Hartley 豚鼠,随机分成 6 组,即空白对照组、模型对照组、射干止咳胶囊低、中、高剂量组和醋酸地塞米松组。除空白对照组外,其余豚鼠放入自制熏烟箱,烟熏 30 min,持续 8 周,建立慢性支气管炎模型^[17–18]。于第 7 周开始,各组豚鼠灌胃给予治疗药物 2 周,最后 1 次给药 1 h 后,腹主动脉采血,分离血清。采用 ELISA 法测定血清中 HA 和 5-HT 含量。

表 1 射干止咳胶囊镇咳作用量效学研究 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量(mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$)	咳嗽次数(次)
空白对照组	—	37.2±9.5
射干止咳胶囊 1 组	10.80	30.6±13.8
射干止咳胶囊 2 组	21.50	26.6±18.2
射干止咳胶囊 3 组	43.00	28.7±6.6*
射干止咳胶囊 4 组	86.00	23.9±13.7*
射干止咳胶囊 5 组	172.00	22.9±10.5**
枸橼酸喷托维林片组	13.00 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	21.4±13.7**

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

1.5 统计学处理

所有研究数据均采用 DAS 2.1.1 软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验进行分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 射干止咳胶囊镇咳作用量效学研究

与空白对照组比较,射干止咳胶囊 3 组、4 组、5 组、枸橼酸喷托维林片组小鼠咳嗽次数显著减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。见表 1。

2.2 对电刺激豚鼠喉上神经所致咳嗽的影响

与空白对照组比较,磷酸可待因片组在给药后 30 min 时,出现抑制趋势($P>0.05$);给药后 60 min 时,出现明显的抑制作用($P<0.01$)。射干止咳胶囊低、中、高剂量组在给药后 30 min、60 min 时,都无明显的抑制作用。见表 2。给药后 30 min、60 min 时,各组大鼠电刺激引咳生物波电图见图 2,图 3。

2.3 对机械刺激所致辣椒素脱敏豚鼠咳嗽的影响

在正常豚鼠中,射干止咳胶囊中剂量(52 mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$)组在给药 60 min,高剂量(104 mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$)组在给药 30 min、60 min,左羟丙哌嗪胶囊 ($13.95 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组在给药 60 min、90 min 时可显著抑制机械刺激所致的咳嗽($P<0.05$, $P<0.01$)。在辣椒素脱敏的豚鼠中,左

表 2 射干止咳胶囊对电刺激豚鼠喉上神经所致咳嗽的影响 ($n=10$)

组别	剂量(mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$)	出现刺激波/不出现刺激波(只)	
		30 min	60 min
空白对照组	—	10/0	10/0
射干止咳胶囊低剂量组	26.00	10/0	10/0
射干止咳胶囊中剂量组	52.00	10/0	10/0
射干止咳胶囊高剂量组	104.00	10/0	10/0
磷酸可待因片组	6.98 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	1/9	0/10**

注:与空白对照组比较,** $P<0.01$ 。

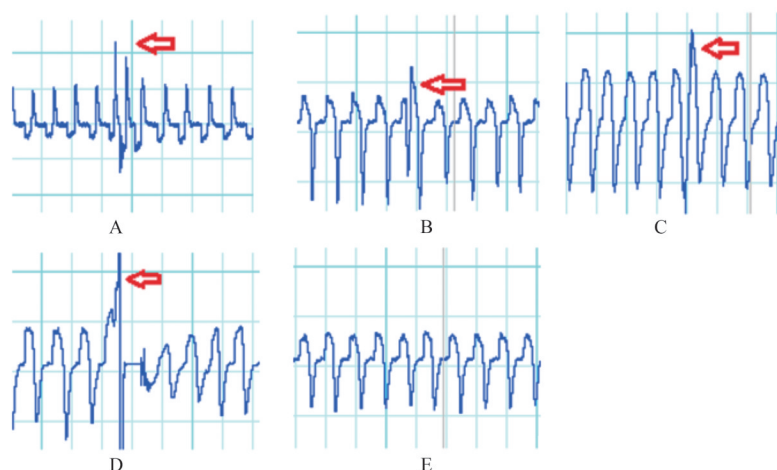


图2 各组大鼠电刺激引咳生物波电图(30 min)

注:A:空白对照组;B:射干止咳胶囊低剂量组;C射干止咳胶囊中剂量组;D射干止咳胶囊高剂量组;E磷酸可待因片组。

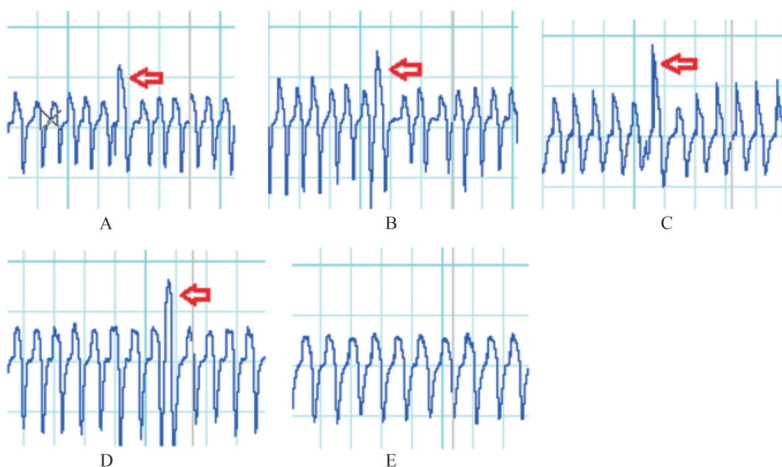


图3 各组大鼠电刺激引咳生物波电图(60 min)

注:A:空白对照组;B:射干止咳胶囊低剂量组;C射干止咳胶囊中剂量组;D射干止咳胶囊高剂量组;E磷酸可待因片组。

羟丙哌嗪胶囊($13.95 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组在给药30 min、60 min、90 min时对机械刺激所致的咳嗽均无抑制作用($P>0.05$),而射干止咳胶囊低剂量(26 mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$)组在给药60 min,中剂量(52 mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$)组在给药30 min,高剂量(104 mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$)组在给药30 min、60 min时仍可显著抑制机械刺激所致的咳嗽($P<0.05$)。提示辣椒素脱敏后,射干止咳胶囊对机械刺激通过RARs引起的咳嗽仍具有抑制作用,射干止咳胶囊的镇咳作用与RARs受体有关。见表3。

2.4 对烟熏致慢性支气管炎咳嗽豚鼠血清中HA、5-HT的影响

与空白对照组比较,模型对照组豚鼠血清中HA、5-HT含量明显增加($P<0.05$);与模型对照组比较,射干止咳胶囊各剂量组(26.00 mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$ 、 52.00 mg

提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$ 、 104.00 mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$),醋酸地塞米松组($0.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)豚鼠血清中HA含量明显减少($P<0.05$, $P<0.01$);射干止咳胶囊高剂量组(104.00 mg 提取物 $\cdot \text{kg}^{-1}$)、醋酸地塞米松组($0.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)豚鼠血清5-HT含量明显减少($P<0.05$, $P<0.01$)。见表4。

3 讨论

近半年来,我国呼吸道感染人数骤然上升,部分患者康复后仍久咳不愈,不但对患者身心健康造成困扰,而且严重影响了患者工作、生活质量,因此深入研究咳嗽的发病机制,开发疗效确切的镇咳药物势在必行。咳嗽是一种由多种神经元及信号传递因子共同参与的呼吸道防御保护性反射,探明咳嗽反射的神经通路以及参与其中的关键受体、靶点,对治疗药物的

表3 对机械刺激所致辣椒素脱敏豚鼠咳嗽的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量(mg 提取物·kg ⁻¹)	咳嗽次数(次)		
		30 min	60 min	90 min
空白对照组	—	7.80±2.30	6.90±2.69	5.00±2.45
模型对照组	—	7.30±2.16	6.20±2.44	4.00±2.71
射干止咳低剂量组	26.00	6.80±4.26	4.10±3.70	3.30±1.95
射干止咳低剂量脱敏组	26.00	5.20±2.62	3.30±2.67 [#]	2.70±2.71
射干止咳中剂量组	52.00	5.60±2.80	4.40±2.17 [*]	3.30±1.83
射干止咳中剂量脱敏组	52.00	4.60±2.22 [#]	4.70±1.95	2.90±1.66
射干止咳高剂量组	104.00	5.10±2.33 [*]	4.30±2.41 [*]	3.00±2.36
射干止咳高剂量脱敏组	104.00	5.00±2.49 [#]	4.00±1.89 [#]	2.30±1.89
左羟丙哌嗪胶囊组	13.95 mg·kg ⁻¹	6.00±3.68	3.70±2.00 ^{**}	2.50±2.27 [*]
左羟丙哌嗪胶囊脱敏组	13.95 mg·kg ⁻¹	6.30±2.11	5.80±2.25	4.10±1.91

注:与空白对照组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$ 。

表4 射干止咳胶囊对烟熏致慢性支气管炎豚鼠血清中HA、5-HT的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量(mg 提取物·kg ⁻¹)	HA(μg·mL ⁻¹)	5-HT(ng·mL ⁻¹)
空白对照组	—	5.97±1.33	213.42±115.88
模型对照组	—	8.62±1.61 [*]	318.03±129.25 [*]
射干止咳胶囊低剂量组	26.00	6.22±2.08 [#]	307.11±106.64
射干止咳胶囊中剂量组	52.00	5.56±1.71 [#]	235.28±132.31
射干止咳胶囊高剂量组	104.00	5.28±1.72 [#]	195.51±104.01 [#]
醋酸地塞米松组	0.93 mg·kg ⁻¹	6.14±1.59 [#]	82.28±62.72 [#]

注:与空白对照组比较,^{*} $P<0.05$;与模型对照组比较,[#] $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

研发极为重要,遏制其中任一环节均能达到止咳目的。当分布在鼻、咽喉、气道、肺及胸膜等部位的外界感受器受体接受到刺激后,就会通过传入神经传输到脑干,进入延髓中枢,最后经传出神经至效应器,诱发咳嗽,将侵入呼吸道的异物、分泌物、刺激因子等清除。偶发或轻度咳嗽有利于排痰,对机体有保护作用,无需止咳药物,但频繁剧烈咳嗽会影响患者休息,消耗体力,甚至破坏肺泡组织,诱发肺气肿,必需止咳药物干预。

咳嗽属中医肺系疾病“顽咳”“久咳”“干咳”等范畴^[19-20],典籍中有较多关于咳嗽的记载,早在《素问·咳论篇》有“感于寒则受病,微则为咳”的论述,金元时期《素问病机气宜保命集》指出:“寒、暑、燥、湿、风、火皆令人咳”^[21]。本课题组对感染后咳嗽的发病机制和演变过程进行了深入研究,认为外感风邪,由表侵肺,日久失治,邪入少阳,气机郁结,枢机不利,肝胆气郁,郁

则化火生风。既有外邪侵袭所致卫外不固,风邪未清;又有内伤因素所致肝失调达,郁火生风。风邪里外夹攻,正气受损,气虚肺失宣肃,故咳嗽迁延不愈。治疗应从宣肺达邪入手,以疏风清热、化痰止咳为治法。射干止咳胶囊主治风热郁肺之咳嗽,具有清热止咳、祛痰利咽之功效,其功能、主治正与感染后咳嗽的病因病机、临床特点相合。

现代神经生理学认为咳嗽的神经传导过程为:分布在咽喉、气道等部位的外界刺激感受器,沿迷走神经将神经冲动传入延髓咳嗽中枢,信号在该中枢整合后再经传出神经传递至运动神经,最后到达呼吸肌、声门等效应器官产生咳嗽^[22]。根据阻断神经传导部位不同,目前临床常用的镇咳药分为直接抑制延髓咳嗽中枢的中枢性镇咳药和作用于感受器、传入神经以及运动神经的外周性镇咳药^[23-24]。中枢性镇咳药一般镇咳作用较强,但副作用明显,且有成瘾性,也易产生耐受,同时可抑制呼吸道纤毛运动而不利于排痰^[25]。外周性镇咳药镇咳效果虽不及中枢性镇咳药,但无成瘾性,副作用少^[26]。本研究采用国际上通用的喉上神经引咳法对射干止咳胶囊镇咳作用机制进行了研究,以中枢性镇咳药代表药物磷酸可待因为对照,结果表明,与空白对照组比较,磷酸可待因片组在给药后60 min时,对电刺激豚鼠喉上神经引起的咳嗽有明显的抑制作用($P<0.01$);而射干止咳胶囊低、中、高剂量组在给药后30 min、60 min时,均无明显的抑制作用。说明射干止咳胶囊的镇咳方式不是中枢性镇咳,不会产生与磷酸可待因类似的成瘾性和中枢神经系统的不良反应。

咳嗽感受器是咳嗽的始动因素,根据功能、起源、

电生理学特征等可将其分为低阈值机械感受器和化学感受器两大类^[27],RARs是低阈值机械感受器中最重要的受体之一^[28]。RARs受体主要对机械刺激敏感,存在于喉、气管和近端支气管中,用猪鬃毛机械刺激豚鼠呼吸道黏膜即可诱发咳嗽^[29]。射干止咳胶囊中剂量组在给药 60 min,高剂量组在给药 30 min、60 min 时可显著抑制机械刺激所致的正常豚鼠咳嗽($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。大剂量的辣椒素能导致豚鼠神经肽耗竭而对辣椒素致咳脱敏,但对机械刺激仍然敏感,因此,对辣椒素脱敏豚鼠进行机械刺激,可以验证药物是否通过抑制RARs受体而发挥镇咳作用。在辣椒素脱敏的豚鼠中,通过抑制C纤维神经肽的分泌而起到镇咳作用的左羟丙哌嗪胶囊组在给药 30 min、60 min、90 min 时对机械刺激所致的咳嗽均无抑制作用($P>0.05$),而射干止咳胶囊低剂量组在给药 60 min,中剂量组在给药 30 min,高剂量组在给药 30 min、60 min 时仍可显著抑

制机械刺激所致的咳嗽($P<0.05$)。进一步说明射干止咳胶囊的镇咳作用与RARs受体有关。

除神经传导通路外,炎症通路也是咳嗽发病机制研究的一个重要方向^[30],多种呼吸系统炎症性疾病均伴有咳嗽症状。HA和5-HT属于血管活性胺,二者均能使血管扩张,增加小静脉的通透性,从而促使白细胞趋化而引起或加重炎症反应^[31-32]。本研究采用烟熏致豚鼠慢性支气管炎咳嗽,结果发现,射干止咳胶囊各剂量组豚鼠血清中HA含量明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$),高剂量组豚鼠血清5-HT含量明显减少($P<0.05$)。提示射干止咳胶囊能降低慢性支气管炎豚鼠血清中HA、5-HT含量,从而减轻炎症反应和咳嗽症状。

综上所述,射干止咳胶囊的镇咳方式不是中枢性镇咳,其外周性镇咳作用与抑制RARs受体有关,同时HA、5-HT等血管活性胺类物质也参与其中。

参考文献

- 陈丽平,李建生,杨淑慧,等.基于隐结构结合 Logistic 回归分析探讨 9323 例古籍咳嗽医案证候分布.中国实验方剂学杂志,2021,27(14): 175-182.
- Lucanska M, Hajtman A, Calkovsky V, et al. Upper airway cough syndrome in pathogenesis of chronic cough. *Physiol Res*, 2020, 69(Suppl 1): S35-S42.
- 滕瑞红,付丽,柳俊芳,等.儿童咳嗽变异性哮喘误诊原因分析.临床误诊误治,2020,33(7):1-4.
- 冯贞贞,谢洋,李建生.基于经典测量理论的慢性阻塞性肺疾病稳定期证候疗效评价量表条目筛选.中华中医药杂志,2022,37(8): 4635-4640.
- Chen L C, Zeng G S, Wu L L, et al. Diagnostic value of FeNO and MMEF for predicting cough variant asthma in chronic cough patients with or without allergic rhinitis. *J Asthma*, 2021, 58(3): 326-333.
- 陈强,张利,邱忠民.胃食管反流性咳嗽的诊治:共识与争议.中华结核和呼吸杂志,2022,45(1): 6-9.
- 龚小刚.针推并用治疗颈源性咳嗽的认识与体会.江西中医药大学学报,2018,30(6): 69-71.
- Tzilas V, Kyriazis P, Tzouveleakis A, et al. A 63-year-old woman with pulmonary micronodules and chronic cough. *Chest*, 2019, 156(2): e47-e50.
- Canning B J, Mazzone S B, Meeker S N, et al. Identification of the tracheal and laryngeal afferent neurones mediating cough in anaesthetized Guinea-pigs. *J Physiol*, 2004, 557(2): 543-558.
- Long L, Yao H M, Tian J, et al. Heterogeneity of cough hypersensitivity mediated by TRPV1 and TRPA1 in patients with chronic refractory cough. *Respir Res*, 2019, 20(1): 1-9.
- Xu X H, Chen Q, Qiu Z M, et al. Association of cough hypersensitivity with tracheal TRPV1 activation and neurogenic inflammation in a novel Guinea pig model of citric acid-induced chronic cough. *J Int Med Res*, 2018, 46(7): 2913-2924.
- Landt E, Çolak Y, Lange P, et al. Chronic cough in individuals with COPD. *Chest*, 2020, 157(6): 1446-1454.
- 甘雨,乔敏,张宏,等.抗病毒片的止咳祛痰作用.中华中医药杂志,2012,27(2): 466-467.
- 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学.4版.北京:人民卫生出版社,2010: 1152-1154.
- Kamei J, Nakanishi Y, Asato M, et al. Fentanyl enhances the excitability of rapidly adapting receptors to cause cough via the enhancement of histamine release in the airways. *Cough*, 2013, 9(1): 1-6.
- 李沛波,苏畅,毕福均,等.化州柚提取物止咳作用及其机制的研究.中草药,2008,39(2): 247-250.
- 张颖,王晓月,温雯,等.RORγt在感染后咳嗽大鼠肺组织中的表达及黄芩射干汤对其干预作用.中国新药杂志,2019,28(4): 418-422.
- 甘雨,马跃海,包玉龙,等.射干止咳胶囊缓解感染后咳嗽及对花生四烯酸代谢通路的影响.时珍国医国药,2023,34(4): 828-831.
- 贾飞凡,李磊,刘子馨,等.中医药治疗小儿慢性咳嗽的研究概况.中华中医药杂志,2021,36(9): 5426-5428.
- 王亚杰,史利卿,季坤,等.基于因子分析及聚类分析的241例感染后咳嗽中医证素证型研究.世界科学技术-中医药现代化,2021,23(8): 2795-2801.
- 朱金凤,洪玲玲,侯海慧,等.慢性咳嗽的中医诊治策略分析.中国中医基础医学杂志,2021,27(8): 1301-1303.
- Morice A H, Millqvist E, Bieksiene K, et al. ERS guidelines on the

- diagnosis and treatment of chronic cough in adults and children. *Eur Respir J*, 2020, 55(1): 1901136.
- 23 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南 (2021). 中华结核和呼吸杂志, 2022, 45(1): 13-46.
 - 24 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 中国难治性慢性咳嗽的诊断与治疗专家共识. 中华结核和呼吸杂志, 2021, 44(8): 689-698.
 - 25 Kang S Y, Song W J, Won H K, *et al*. Cough persistence in adults with chronic cough: A 4-year retrospective cohort study. *Allergol Int*, 2020, 69(4): 588-593.
 - 26 田之魁,王东军,周宗慧,等. 国内小儿咳嗽诊疗指南/共识质量评价. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(9): 3401-3407.
 - 27 Vertigan A E. Chronic cough: Prevention is better than cure. *Lancet Child Adolesc Health*, 2019, 3(12): 840-842.
 - 28 Cinelli E, Iovino L, Bongianini F, *et al*. GABAA- and glycine-mediated inhibitory modulation of the cough reflex in the caudal nucleus tractus solitarius of the rabbit. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 311(3): L570-L580.
 - 29 Basoglu O K, Pelleg A, Kharitonov S A, *et al*. Contrasting effects of ATP and adenosine on capsaicin challenge in asthmatic patients. *Pulm Pharmacol Ther*, 2017, 45: 13-18.
 - 30 Stanford K R, Hadley S H, Barannikov I, *et al*. Antimycin A-induced mitochondrial dysfunction activates vagal sensory neurons via ROS-dependent activation of TRPA1 and ROS-independent activation of TRPV1. *Brain Res*, 2019, 1715: 94-105.
 - 31 李煜,张毅,徐核,等. 基于网络药理学的芩暴红止咳口服液抗炎、止咳、祛痰、平喘的作用机制研究. 中国中药杂志, 2021, 46(22): 5902-5911.
 - 32 郑浩锋,许志威,陈佳敏,等. 大蒜素在氨水诱导的小鼠实验性咳嗽中的镇咳作用及机制. 中山大学学报(医学科学版), 2015, 36(6): 821-826.

Antitussive Effect of Shegan Zhike Capsule and Its Effect on RARs Receptor, HA and 5-HT

Gan Yu, Li Guoxin, Chen He, Bao Yulong, Zhang Hong, Meng Li, Qiao Min, ZhuJinghe, WuXiaolin, MaYuehai

(Liaoning Institute of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China)

Abstract: Objective To explore the antitussive action site and potential mechanism of Shegan Zhike Capsule. Methods The mouse cough model induced by concentrated ammonia was used to observe the dose effect relationship of the antitussive effect of Shegan Zhike capsule. The central antitussive effect of Shegan Zhike capsule was observed by using the cough model induced by electrical stimulation of superior laryngeal nerve in guinea pigs. The peripheral antitussive effect of Shegan Zhike capsule was observed by using the cough model of capsaicin desensitized guinea pigs induced by mechanical stimulation. The model of chronic bronchitis in guinea pigs was established by smoking, and the effects of Shegan Zhike Capsule on vasoactive amines histamine (HA) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) were observed. Results Shegan Zhike capsule could significantly reduce the number of coughs in mice at the doses of 43.00, 86.00 and 172.00 mg extract·kg⁻¹ ($P<0.05$ or $P<0.01$). The low-dose group, the middle-dose group, and the high-dose group of Shegan Zhike Capsule did not significantly inhibit the cough inducing effect of electrical stimulation of guinea pig superior laryngeal nerve at 30 min and 60 min after administration. Shegan Zhike capsule could significantly inhibit the cough of capsaicin desensitized guinea pigs caused by mechanical stimulation in the low dose group at 60 min, the medium dose group at 30 min and the high dose group at 30 min and 60 min ($P<0.05$). Compared with the model control group, the content of HA in serum of guinea pigs in low, medium and high dose groups of Shegan Zhike capsule decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). The content of serum 5-HT in the high dose group decreased significantly ($P<0.05$). Conclusion The antitussive effect of Shegan Zhike Capsule was not in the center, and its peripheral antitussive effect was related to the inhibition of RARs receptors, and vasoactive amines such as HA and 5-HT were also involved. **Keywords:** Cough, Shegan Zhike Capsule, Mechanism, HA, 5-HT

(责任编辑: 刘玥辰)