

# 咳停片对豚鼠咳嗽反射的抑制作用及析方研究

李志民 谢强敏<sup>1</sup> 郭磊<sup>1</sup> 沈文会<sup>1</sup> (杭州 310003 浙江康恩贝集团有限公司; <sup>1</sup> 杭州 310006 浙江大学医学院国家药品监督管理局浙江呼吸药物研究实验室)

**摘要** 目的: 观察咳停片的镇咳作用, 进行初步析方研究, 评价该处方的配伍合理性。方法: 分复方组(咳停片)、无氯组(不含氯化铵的咳停片)和氯化铵组 3 组, 比较 3 组对枸橼酸雾化吸入或电刺激喉上神经引起的豚鼠咳嗽反射的抑制作用。结果: 复方组和氯化铵组能抑制枸橼酸引起的豚鼠咳嗽反射, 复方组的作用强度是氯化铵组的 1.32 倍, 是无氯组 4 倍以上, 无氯组无明显作用。复方组、无氯组能抑制电刺激喉上神经引起的豚鼠咳嗽反射, 复方组的作用强度是无氯组的 2.94 倍, 氯化铵组无作用。结论: 咳停片处方中剔除氯化铵后镇咳作用减弱, 表明氯化铵与处方中的中药成分有协同作用, 初步证明了该处方的合理性。

**关键词** 咳停片; 中药; 氯化铵; 可待因; 枸橼酸; 喉上神经; 镇咳作用; 协同作用; 豚鼠

## The antitussive effect of Keting tablets and analysis of the prescription

Li Zhimin (Li ZM)<sup>1</sup>, Xie Qiangmin (Xie QM), Guo Lei (Guo L), et al (Zhejiang Respiratory Drugs Research Laboratory of State Drugs Administration of China, Medical School of Zhejiang University, Hangzhou 310031, <sup>1</sup>Zhejiang CONBA group Co. LTD, Hangzhou 310031)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** The study aimed to observe the antitussive effect of Keting tablets (KTT) and analyze the prescription to assess its reasonableness. **METHOD:** The prescription divided into three groups, such as compound prescription group (KTT), non-ammonium chloride group (including all the components of KTT but ammonium chloride) and ammonium chloride group. Firstly, the cough reflex induced by inhalation of citric acid aerosol was evaluated in conscious guinea pigs. Secondly, the centrally mediated cough reflex induced by afferent electrical stimulation of the superior laryngeal nerve were investigated in anesthetized guinea pigs. **RESULTS:** Both of KTT and ammonium chloride groups had antitussive effect on guinea pigs that induced by citric acid, the effect potent of KTT group was 1.32 times that of ammonium chloride group and over 4 times that of non-ammonium chloride group. Non-ammonium chloride group had no significant effects. Meanwhile, both KTT and non-ephedrine had antitussive effect on the centrally mediated cough reflex induced by afferent electrical stimulation of the superior laryngeal nerve in anesthetized guinea pigs. The effect potent of KTT group was 2.94 times that of non-

ammonium chloride group. Ammonium chloride group had no obvious effect. **CONCLUSION:** The antitussive effect of KTT excluding ammonium chloride was weaker than that of KTT. The results demonstrated that there was a synergism between ammonium chloride and the Chinese medicine of TKN, and the prescription was not only rational but also feasible.

**KEY WORDS** Keting tablet(KTT), traditional Chinese medicine(TCM), ammonium chloride, codeine, citric acid, superior laryngeal nerve, antitussive, synergism, guinea pig

咳停片(Keting Tablet, KTT)是一个复方制剂, 主要成分为贝母流浸膏、桔梗流浸膏、远志流浸膏、甘草流浸膏、甘草流膏、八角茴香油和氯化铵等。我们已经证明了该药具有祛痰作用(待发表资料)。本实验侧重研究该药在镇咳方面的作用, 并进行初步析方和作用机理研究, 评价该处方的配伍合理性。

1 材料

1.1 药品与试剂 枸橼酸, 上海化学试剂一厂, 用蒸馏水配制成 15% 的浓度备用; 磷酸可待因片, 青海制药厂, 蒸馏水配制成 0.5mg·mL<sup>-1</sup> 混悬液; 咳停片处方: 母桔流浸膏 40mL、桔梗流浸膏 60mL、远志流浸膏 60mL、甘草流浸膏 100mL、甘草浸膏 40g、氯化铵 50g、碳酸钙 60g、八角茴香油 4mL 等成分制成 1000 片, 每片含氯化铵 50mg。原料药由浙江省康恩贝研究开发中心提供。按处方将 1000 片咳停片的原料药加蒸馏水至 350mL (2.86 片/mL)。

1.2 动物 Hartley 豚鼠, 体重 350~500g, 雌雄不拘, 浙江大学实验动物中心提供, 合格证号 96-10218。

2 方法

2.1 豚鼠枸橼酸引咳试验

2.1.1 分组 设复方组(咳停片)、无氯组(不含氯化铵的咳

表 2 电刺激豚鼠喉上神经给药前后的阈值变化

组别	n	剂量	给药前 刺激阈值(V)	给药后 刺激阈值(V)	给药前后 刺激阈值%
生理盐水		10mL·kg <sup>-1</sup>	2.64±0.69	2.89±0.84	18.6
可待因	6	7.5mg·kg <sup>-1</sup>	1.87±0.97	2.75±0.91*	47.1
	6	15mg·kg <sup>-1</sup>	2.90±1.15	6.18±2.58**	113.1
	6	30mg·kg <sup>-1</sup>	2.84±0.93	6.37±1.91**	124.3
复方	7	1.0mL·kg <sup>-1</sup>	2.79±1.63	4.08±1.71*	46.2
	7	2.0mL·kg <sup>-1</sup>	1.78±1.04	3.50±1.57*	96.6
	7	4.0mL·kg <sup>-1</sup>	1.66±0.54	3.07±1.21**	84.9
无氯	6	1.0mL·kg <sup>-1</sup>	2.48±0.39	3.19±0.40*	28.9
	6	2.0mL·kg <sup>-1</sup>	2.16±0.78	2.72±0.77*	25.9
	6	4.0mL·kg <sup>-1</sup>	1.69±0.29	2.94±0.75**	74.0
15% 氯化铵	6	4.0mL·kg <sup>-1</sup>	3.17±1.74	3.23±1.42	1.9

统计方法: Paired t-test; 给药前后咳嗽刺激阈值比较\* P<0.05, \*\* P<0.01。

2.1.2 试验步骤 按文献方法用枸橼酸引咳豚鼠<sup>[1]</sup>, 对咳嗽记录装置加以改进。将豚鼠放入 20×10×10cm 体积描记盒中, 用压力换能器将豚鼠呼吸频率和容积信号输入微机 Pclab 生物信号采集系统, 记录豚鼠咳嗽次数。豚鼠放入体积描记盒稳定 1min 后, 用超声雾化器气雾 15% 枸橼酸 1min,

停片)和氯化铵组 3 组, 每组 3 个剂量; 磷酸可待因组为阳性对照, 生理盐水组为阴性对照(具体见表 1 和表 2)。

表 1 咳停片对枸橼酸引起豚鼠咳嗽反应的抑制作用(n=10,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	剂量	给药前咳嗽 次数 10min	给药后咳嗽 次数 10min	抑制%
生理盐水对照	10mL·kg <sup>-1</sup>	28.8±10.2	26.5±11.0	
磷酸可待因	15mL·kg <sup>-1</sup>	24.7±8.8	9.2±8.9**	65.3
复方	1.0mL·kg <sup>-1</sup>	25.9±10.6	18.7±12.6	29.4
	2.0mL·kg <sup>-1</sup>	23.6±6.3	15.1±7.7*	43.0
	4.0mL·kg <sup>-1</sup>	24.3±9.9	11.0±9.0**	58.5
无氯	1.0mL·kg <sup>-1</sup>	30.5±10.5	18.6±10.3	29.8
	2.0mL·kg <sup>-1</sup>	30.0±12.4	17.9±13.1	32.5
	4.0mL·kg <sup>-1</sup>	26.8±7.6	16.6±10.9	37.4
15% 氯化铵	1.0mL·kg <sup>-1</sup>	23.8±10.9	21.9±9.4	17.4
	2.0mL·kg <sup>-1</sup>	25.4±8.3	16.5±11.6	37.7
	4.0mL·kg <sup>-1</sup>	27.5±10.2	12.9±9.3**	51.3

统计方法: T-test, 与生理盐水组比较\* P<0.05, \*\* P<0.01。

选出即刻起 10min 内的咳嗽次数在 10 次以上的豚鼠。次日, 将选出的豚鼠按咳嗽次数均匀搭配分组后给予受试药物灌胃(ig), 1h 后按上述方法引咳, 计数自气雾开始 10min 内的咳嗽次数。

2.2 电刺激豚鼠喉上神经引咳试验

2.2.1 分组: 设复方组(咳停片)和无氯组(不含氯化铵的咳停片)每组3个剂量;氯化铵组设单个剂量,磷酸可待因组为阳性对照,设3个剂量;生理盐水组为阴性对照。各组的具体剂量见表2。

2.2.2 试验步骤: 按文献方法<sup>[2]</sup>,用25%乌拉坦按1g/kg腹腔注射麻醉豚鼠,麻醉后分离出豚鼠的喉上神经,及进行气管插管,用Y字型的接头一头与换能器相连,一头与大气相通。用高灵敏度压力换能器将豚鼠呼吸频率和容积信号通过AD、DA接口传入微机Pclab生物信号采集系统(版本1.1.36, Mic SignStar Corp),分别用刺激电极刺激气管和喉上神经,刺激参数为主周期1s,脉冲数10次,间隔10ms,波宽1ms。除电压外,其他所有参数不变,即以电压为唯一刺激变量。刺激电压由小加大,刺激时间为12s,两次刺激之间至少相隔5min,记录其刺激引咳阈值。每一次咳嗽均以听到豚鼠咳嗽声音和微机Pclab上见到的明显的咳嗽记录结合分析。

2.3 统计方法 用微机和Sigma Stat统计软件(Sigmastat1.01 for Windows 95, 1992, Jandel corporation, USA)具体方法见结果中的表注。ID<sub>50</sub>(95%可信限)和ED<sub>50</sub>(95%可信限)用上海科学技术出版社POMS 2.0版软件计算。

### 3 结果

3.1 对豚鼠枸橼酸引咳模型的抑制作用及析方比较 复方组和氯化铵组与生理盐水对照组比较,均能抑制枸橼酸引起的豚鼠咳嗽。复方组ID<sub>50</sub>(95%可信限)为2.72(2.02~3.67)m l·kg<sup>-1</sup>,相当于咳停片7.8片·kg<sup>-1</sup>;氯化铵组为3.58(2.66~4.82)m l·kg<sup>-1</sup>(即0.54g·kg<sup>-1</sup>),相当于咳停片11片·kg<sup>-1</sup>(每片咳停片含氯化铵50mg);见表1。无氯组ID<sub>50</sub>>8m l·kg<sup>-1</sup>,相当于23片·kg<sup>-1</sup>以上与对照组比较无明显差异(P>0.05)。阳性对照药可待因15mg·kg<sup>-1</sup>抑制率达65.3%。复方组作用强度是氯化铵组的1.32倍,是无氯组的4倍以上。

3.2 对电刺激豚鼠喉上神经引起的咳嗽的影响及析方比较 复方组、无氯组能抑制电刺激喉上神经引起的咳嗽反射,使引起咳嗽反射所需的阈值电压明显增高,见表2。复方组ED<sub>50</sub>(95%可信限)为0.85(0.64~1.14)m l·kg<sup>-1</sup>;无氯组ED<sub>50</sub>(95%可信限)为2.50(2.08~2.99)m l·kg<sup>-1</sup>;氯化铵组4m l·kg<sup>-1</sup>无作用,磷酸可待因15m l·kg<sup>-1</sup>可使阈值提高110%。复方组的作用强度是无氯组的2.93倍,至少是氯化铵组5倍以上。三者的强度依次为复方组>无氯组>氯化铵。

### 4 讨论

咳停片的主要成分是贝母、甘草、桔梗、远志等流浸膏、氯化铵、八角茴香油。贝母<sup>[3,4]</sup>、甘草<sup>[5]</sup>、桔梗<sup>[6]</sup>、远志<sup>[7]</sup>和氯化铵具有镇咳祛痰作用。这几种药物常常配伍成复方使用。考虑到咳停片是由8种成分组成的复方,如对每一组分都进行析方和组合,将会有247个组合,进行同步比较药效学试验有很大的困难。为此我们采用目前的实验方案来评估咳停片

拆方后3种组合的镇咳作用,比较它们的作用的强度,以证明该方组成成分之间是否有协同作用。

在本实验中,采用了两种不同实验方法。枸橼酸引起的豚鼠咳嗽反应主要通过刺激外周C纤维释放递质引起咳嗽反射和支气管收缩反应,因此可归类于外周性咳嗽模型,外周性镇咳药物对该模型有较强的抑制作用。而电刺激喉上神经能快速传导到咳嗽中枢,反射性引起咳嗽反应,因而把它归类于中枢性咳嗽模型。Ishii R等曾将豚鼠的喉上神经刺激模型用于研究一种外周镇咳药moguisteine时发现,可待因(中枢性和外周性混合作用)静脉注射(0.5~4mg·kg<sup>-1</sup>)和脑室内注射(5~20μg)呈剂量依赖抑制电刺激喉上神经引起的咳嗽,但moguisteine无论静脉注射(4和20mg·kg<sup>-1</sup>)还是脑室内注射(20μg)都不起作用,而对枸橼酸引咳模型却有非常明显的作用,证明moguisteine的作用机制是属于外周性的<sup>[2]</sup>。

本实验中,我们应用这一模型对咳停片的作用部位进行了初步探讨,发现复方组和无氯组均对电刺激喉上神经引起的豚鼠咳嗽反射有明显抑制作用,氯化铵组无作用;氯化铵对枸橼酸引起的豚鼠的咳嗽反射具有明显抑制作用,而无氯组则无作用。这些结果表明氯化铵镇咳作用可能是外周性的,而无氯组(中药成分)的镇咳作用可能是中枢性的,表明中药中可能含有某些中枢抑制成分。

将咳停片处方进行析方比较其镇咳作用强度。在本研究的两种模型中,该处方中的中药成分和氯化铵的镇咳作用均不强,无论是豚鼠枸橼酸引咳模型还是电刺激喉上神经引咳模型,复方组的镇咳效果均比无氯组或氯化铵组好,我们推测咳停片中的中药成分和氯化铵在镇咳方面具有协同作用,表明该处方的配伍是合理可行的。

### 参考文献

- 1 龚晓健,季晖,李萍,等.沙参提取物镇咳祛痰及免疫增强作用研究.中国现代应用药学,2000,17(4):258
- 2 Ishii R, Furuta M, Hashimoto M, et al. Effect of moguisteine on the cough reflex induced by afferent electrical stimulation of the superior laryngeal nerve in guinea pigs. Eur J Pharmacol, 1998, 362(2-3):207
- 3 于晓琳,季晖,王长礼,等.贝母的药理作用研究概况.中草药,2000;31(4):313
- 4 李萍.贝母类中药的镇咳祛痰作用的研究.中国药科大学学报,1993;(6):360
- 5 俞腾飞.甘草黄酮、甘草浸膏及甘草次酸的镇咳祛痰作用.中成药,1993;(3):32
- 6 谢强敏,唐法娣,王砚,等.镇咳宁胶囊的镇咳作用及机制研究.中药药理与临床,1998;14(4):39
- 7 彭汶铎,许实波.四种远志皂苷的镇咳和祛痰作用.中国药学杂志,1998;33(8):491

收稿日期:2002-03-06