

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GIẢM HO VÀ LONG ĐỜM CỦA CHANH GỪNG ĐƯỜNG PHÈN TRÊN THỰC NGHIỆM

Phạm Thị Vân Anh, Đinh Thị Thu Hằng
Trường Đại học Y Hà Nội

Tóm tắt

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng giảm ho, long đờm của Chanh gừng đường phèn trên thực nghiệm. Tác dụng giảm ho của Chanh gừng đường phèn được đánh giá trên mô hình gây ho bằng amoniac trên chuột nhắt trắng. Tác dụng long đờm của Chanh gừng đường phèn được đánh giá dựa trên nồng độ phenol đỏ của dịch rửa khí quản chuột nhắt trắng. Kết quả nghiên cứu cho thấy Chanh gừng đường phèn cả 2 liều 12 mL/kg và 24 mL/kg có tác dụng làm giảm số cơn ho và khả năng ức chế cơn ho rõ rệt, xu hướng kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho. Về tác dụng long đờm, Chanh gừng đường phèn liều 12 mL/kg/ngày xu hướng làm tăng nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa khí quản, trong khi đó, Chanh gừng đường phèn liều 24 mL/kg/ngày làm tăng nồng độ phenol đỏ tiết ra ở khí quản có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng. Như vậy, Chanh gừng đường phèn là thuốc thử nguồn gốc từ dược liệu thể hiện tác dụng giảm ho, long đờm rõ rệt trên thực nghiệm.

Từ khóa: Chanh gừng đường phèn, giảm ho, long đờm.

EVALUATION OF ACUTE TOXICITY, ANTITUSSIVE AND EXPECTORANT ACTIVITIES OF “CHANH GUNG DUONG PHEN” IN THE EXPERIMENT

Abstract

The study aimed to evaluate acute toxicity, antitussive and expectorant activities of “Chanh gung duong phen” in the experiment. The antitussive effect of “Chanh gung duong phen” liquid extract was measured using a murine model of ammonia-induced cough. The expectorant effect of “Chanh gung duong phen” liquid extract was evaluated by measuring mice's tracheal phenol red output. “Chanh gung duong phen” liquid extract at both doses of 12 mL/kg and 24 mL/kg significantly inhibited the cough frequency, increased the inhibition of cough, and tended to increase the latent period of cough. In terms of expectorant effect, “Chanh gung duong phen” at the dose of 12 mL/kg tended to enhance mice's tracheal phenol red output while “Chanh gung duong phen” at the dose of 24 mL/kg significantly improved mice's tracheal phenol red output as compared with the control group. In conclusion, “Chanh gung duong phen” was a product derived from herbal medicine, and posed remarkable antitussive, expectorant effects in the experiment.

Keywords: “Chanh gung duong phen”, acute toxicity, antitussive, expectorant.

* Ngày nhận bài: 31/07/2024

* Ngày phản biện: 06/08/2024

* Ngày phê duyệt đăng bài: 24/08/2024

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ho là một triệu chứng thường gặp khiến người bệnh đến các cơ sở chăm sóc sức khỏe ban đầu và chuyên sâu để chẩn đoán nguyên nhân và điều trị. Mặc dù ho là phản xạ bảo vệ quan trọng của đường hô hấp, tuy nhiên, đối với ho kéo dài, ho làm ảnh hưởng nhiều đến sinh hoạt hàng ngày thì nên được thăm khám và điều trị sớm.[1] Tình trạng ho kèm theo đờm là triệu chứng phổ biến của các bệnh đường hô hấp. Khi lượng đờm tăng lên có thể gây kích ứng niêm mạc đường hô hấp và dẫn đến ho. Trong một số trường hợp, đờm nhiều có thể gây khó thở và tắc nghẽn.[2] Cho đến nay, tỷ lệ mắc các bệnh lý đường hô hấp đang ngày càng tăng cao. Trên thế giới, tính đến năm 2017, có khoảng 545 triệu người mắc các bệnh lý đường hô hấp mạn tính (chiếm 7,4% dân số thế giới), trong đó có 3,9 triệu người tử vong do các bệnh lý này.[3]

Bên cạnh các thuốc giảm ho, long đờm có nguồn gốc tổng hợp thường được dùng trên lâm sàng, các thuốc có nguồn gốc tự nhiên cũng được sử dụng nhiều theo kinh nghiệm dân gian cho thấy hiệu quả cao, tuy nhiên, chúng chưa được nghiên cứu một cách hệ thống để chứng minh tác dụng. Vì vậy, việc tìm kiếm và nghiên cứu những thuốc có tác dụng giảm ho, long đờm từ nguồn dược liệu với hiệu quả cao, ít độc tính, chi phí thấp là một vấn đề cấp thiết có giá trị khoa học và thực tiễn.[4]

Chanh gừng đường phèn là một chế phẩm gồm có các thành phần chính là Chanh, Gừng và đường phèn. Hiệu quả giảm ho và long đờm khi dùng riêng rẽ các thành phần này đã

được chứng minh trong nhiều y văn; [5],[6] tuy nhiên, cho đến nay chưa có công trình nghiên cứu đánh giá về tác dụng khi phối hợp các thành phần này trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng giảm ho và long đờm của Chanh gừng đường phèn trên chuột nhắt trắng thực nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Sản phẩm nghiên cứu

Chanh gừng đường phèn được sản xuất bởi Công ty TNHH Y Dược Vi Diệu Nam. Thuốc thử đạt tiêu chuẩn cơ sở. Dạng bào chế: cao lỏng. Quy cách đóng gói: Hộp 1 lọ x 500mL. Thành phần gồm có Chanh, gừng, đường phèn...

Liều dùng và cách dùng dự kiến trên người:

- Người trên 15 kg mỗi lần dùng 5mL/10kg trọng lượng cơ thể.

- Với trẻ nhỏ:

- + Trẻ từ 01 – 03 tháng: 5 – 6 giọt

- + Trẻ từ 04 tháng – 1 tuổi: 0,05 – 1mL

- + Trẻ từ 1 – 2 tuổi: 1 – 5 mL tùy thể trạng.

Người đang điều trị bệnh ngày uống 3-4 lần. Uống để dưỡng, đề phòng thì duy trì ngày 1 - 2 lần.

Liều của thuốc thử dùng trên động vật nghiên cứu được quy từ liều dùng dự kiến trên người (liều thấp tương đương 10mL/ 10 kg thể trọng người/ngày và liều cao tương đương 20mL/ 10 kg thể trọng người /ngày).

2.2. Thuốc và hóa chất nghiên cứu

Codein phosphat: dạng bột do Công ty Cổ phần Dược Trung ương Mediplantex cung cấp. Dung dịch

amoniac 25%: sản phẩm của công ty Xilong, Trung Quốc, CAS 1336-21-6. Ambroxol dạng viên nén, biệt dược Ambroxol Boston, hàm lượng 30 mg do Công ty cổ phần Dược phẩm Boston Việt Nam sản xuất. Phenol đỏ: dạng bột, sản phẩm của Xilong Scientific Co., Ltd, Trung Quốc. Số đăng ký (CAS): 143-74-8.

2.3. Dụng cụ, máy móc phục vụ nghiên cứu

Cân phân tích Model 321LX typ 2200C, hãng Precisa của Thụy Sĩ, số seri: 327-9454-002. Bình thủy tinh chuyên dụng dung tích 1,5 L. Máy đo quang phổ SmartSpecTM plus Spectrophotometer của hãng BIO-RAD (Mỹ), số seri 273 BR05679. Máy ly tâm Hettich EBA20 với tốc độ ly tâm tối đa 6000 vòng/phút, sản xuất tại Andreas Hettich GmbH & Co. KG, 78532 Tuttlingen, Đức. Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam. Đồng hồ bấm giây. Kim đầu tù cho chuột uống, cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

2.4. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, thuần chủng, cả 2 giống, trọng lượng 20 ± 2 g do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội từ 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

2.5. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thực nghiệm Bộ môn Dược lý, trường Đại học Y Hà Nội. Xét nghiệm đo mật độ quang được thực hiện tại Bộ môn Sinh lý bệnh – Miễn dịch, trường Đại học Y Hà Nội.

2.6. Phương pháp nghiên cứu

2.6.1. Nghiên cứu tác dụng giảm ho

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (đối chứng): Uống nước cất, thể tích uống 0,2ml/ 10g chuột.

- Lô 2 (codein phosphat): Uống codein phosphat liều 30mg/ kg, thể tích uống 0,2ml /10g chuột.

- Lô 3 (Chanh gừng đường phèn liều thấp): Uống Chanh gừng đường phèn liều 12mL /kg (tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng là 10mL /10kg thể trọng người/ngày, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12), thể tích uống 0,2ml /10g chuột.

- Lô 4 (Chanh gừng đường phèn liều cao): Uống Chanh gừng đường phèn liều 24mL/ kg (tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng là 20mL/ 10kg thể trọng người/ngày, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12), thể tích uống 0,2ml/10g chuột.

Chuột được uống Chanh gừng đường phèn liên tục trong 3 ngày vào các buổi sáng. Vào ngày thứ 3 sau khi uống Chanh gừng đường phèn 1 giờ, tiến hành gây ho cho cả 4 lô chuột bằng dung dịch amoniac liều 0,5ml/bình thủy tinh chuyên dụng. Đặt mỗi chuột vào 1 bình, đếm số cơn ho trong mỗi một phút cho đến hết phút thứ 5. Cơn ho được xác định khi chuột há miệng đi kèm với có tiếng ho, co thắt các cơ ở ngực, ở bụng và giật thân trước.

Các chỉ số nghiên cứu gồm có:

- Thời gian tiềm tàng (t) là thời gian tính từ khi thả chuột vào bình đến khi chuột xuất hiện cơn ho đầu tiên.

- Số cơn ho trong 5 phút.

- Phần trăm ức chế số cơn ho được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = (C_0 - C_t) / C_0 \times 100\%$$

Trong đó: C_0 : số con ho ở lô 1 (đối chứng); C_t : số con ho ở lô dùng thuốc

2.6.2. Nghiên cứu tác dụng long đờm

Nghiên cứu tác dụng long đờm của thuốc thử được áp dụng theo phương pháp của Yu P và cộng sự.[2]

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (lô đối chứng): uống nước cất với thể tích 0,2mL /10g

- Lô 2 (chứng dương): uống ambroxol liều 250mg/kg/ngày với thể tích 0,2mL/ 10 g.

- Lô 3 (Chanh gừng đường phèn liều thấp): uống Chanh gừng đường phèn liều 12mL /kg /ngày (tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng là 10mL/10kg thể trọng người/ngày, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12) với thể tích 0,2mL/ 10g.

- Lô 4 (Chanh gừng đường phèn liều cao): uống Chanh gừng đường phèn liều 24mL /kg /ngày (tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng là 20mL /10kg thể trọng người/ngày, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt là 12) với thể tích 0,2mL /10g.

Cho chuột uống nước cất và thuốc thử với liều như trên liên tục trong 3

ngày. Vào ngày thứ 3, sau uống thuốc 1 giờ, tiêm màng bụng cho tất cả các chuột dung dịch phenol đỏ 5% với liều 0,1mL/10g chuột.

30 phút sau khi tiêm phenol đỏ, giết chuột, bóc lộ khí quản và luồn vào khí quản một kim tù. Rửa khí quản bằng 0,8mL dung dịch NaHCO₃ 5%, ly tâm dịch rửa 2500 vòng trong 5 phút, lấy dịch trong và đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 546 nm.

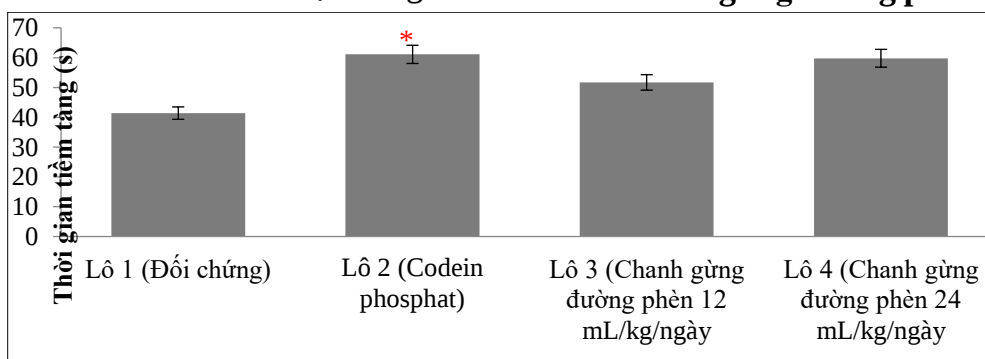
Độ hấp thụ quang (OD) của dung dịch tương ứng với lượng phenol đỏ tiết ra trong dịch tiết khí quản chuột càng nhiều (độ hấp thụ quang càng lớn) thì khả năng long đờm càng tốt. So sánh độ hấp thụ quang và nồng độ phenol đỏ trung bình của các lô dùng thuốc so với lô đối chứng và lô chứng dương.

2.7. Phân tích và xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý trong Excel 2016 bằng phương pháp thống kê y sinh học T test-Student. Kết quả được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p \leq 0,05$.

III. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả nghiên cứu giảm ho của Chanh gừng đường phèn



Chú thích: *, **, ***: Khác biệt so với lô đối chứng với $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$
^A, ^{AA}, ^{AAA}: khác biệt so với lô 2 (codein phosphat) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của Chanh gừng đường phèn lên thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho gây ra do amoniac trên chuột nhắt trắng

Nhận xét: Codein phosphat làm tăng có ý nghĩa thống kê thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho trên chuột nhắt trắng gây ra do amoniac so với lô đối chứng với $p < 0,05$. Chanh gừng đường phèn cả 2 mức liều 12mL /kg /ngày và 24mL /kg /ngày có xu hướng làm kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho trên

chuột nhắt trắng gây ra do amoniac so với lô đối chứng; tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa khi so sánh thời gian tiềm tàng ở lô dùng Chanh gừng đường phèn với lô dùng codein phosphat ($p > 0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của Chanh gừng đường phèn lên số cơn ho trong 5 phút của chuột nhắt trắng gây ra ho bằng ammoniac

Lô chuột	n	Số cơn ho trong 5 phút	% ức chế
Lô 1 (Đối chứng)	10	11,80 ± 3,88	-
Lô 2 (Codein phosphat 30 mg/kg)	10	7,80 ± 2,49*	33,90
Lô 3 (Chanh gừng đường phèn liều 12 mL/kg/ngày)	10	7,50 ± 2,80*	36,44
Lô 4 (Chanh gừng đường phèn liều 24 mL/kg/ngày)	10	8,40 ± 2,67*	28,81

Chú thích: *, **, ***: khác biệt so với lô 1 (đối chứng) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

^Δ, ^{ΔΔ}, ^{ΔΔΔ}: khác biệt so với lô 2 (codein phosphat) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$.

Nhận xét: Codein phosphat làm giảm có ý nghĩa thống kê số cơn ho trong 5 phút so với lô đối chứng với $p < 0,05$. Chanh gừng đường phèn cả 2 mức liều 12mL/kg/ngày và 24mL/kg/ngày đều làm giảm có ý nghĩa thống kê số cơn ho trong 5 phút so với lô đối chứng với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa khi so sánh số

cơn ho trong 5 phút ở các lô dùng Chanh gừng đường phèn so với lô dùng codein phosphat ($p > 0,05$). Codein phosphat và Chanh gừng đường phèn ở cả 2 mức liều 12mL/kg/ngày và 24mL/kg/ngày đều thể hiện rõ rệt khả năng ức chế cơn ho (trong khoảng 25% - 40%).

3.2. Kết quả nghiên cứu long đờm của Chanh gừng đường phèn

Bảng 3. Ảnh hưởng của Chanh gừng đường phèn lên độ hấp thụ quang và nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản trên chuột nhắt trắng

Lô nghiên cứu	Độ hấp thụ quang OD (546 nm)	Phenol đổ ($\mu\text{g/mL}$)
Lô 1 (Đối chứng)	$0,005 \pm 0,002$	$0,502 \pm 0,175$
Lô 2 (Ambroxol 250 mg/kg)	$0,008 \pm 0,003^{**}$	$0,828 \pm 0,240^{**}$
Lô 3 (Chanh gừng đường phèn liều 12 mL/kg/ngày)	$0,007 \pm 0,003$	$0,703 \pm 0,283$
Lô 4 (Chanh gừng đường phèn liều 24 mL/kg/ngày)	$0,008 \pm 0,003^*$	$0,809 \pm 0,318^*$

Chú thích: *, **, ***: Khác biệt so với lô 1 (Đối chứng) với $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$.

+, ++, +++: Khác biệt so với lô 2 (Chứng dương) với $p < 0,01$; $p < 0,01$; $p < 0,001$

Nhận xét: Ambroxol liều 250mg/kg có tác dụng làm tăng rõ rệt độ hấp thụ quang (OD) và nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản so với lô đối chứng (lô 1) với $p < 0,01$. Chanh gừng đường phèn liều 12 mL/kg/ngày có xu hướng làm tăng độ hấp thụ quang (OD) và nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản so với lô đối chứng, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Chanh gừng đường phèn liều 24mL/kg/ngày có tác dụng làm tăng có ý nghĩa thống kê độ hấp thụ quang (OD) và nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản so với lô đối chứng (lô 1) với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản của các lô dùng Chanh gừng đường phèn so với lô chứng dương (ambroxol) ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Động vật thực nghiệm được lựa chọn trong các nghiên cứu tác

dụng giảm ho, long đờm có thể là chuột nhắt trắng, chuột lang, chó, mèo. Việc lựa chọn động vật thực nghiệm tùy thuộc vào phương pháp nghiên cứu, đường dùng thuốc và điều kiện của phòng thí nghiệm.[7] Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn chuột nhắt trắng làm đối tượng nghiên cứu.

Các tác nhân gây ho đã được sử dụng trong các nghiên cứu thực nghiệm là dòng điện 1 chiều, cơ học và hóa chất. Trong đó, việc sử dụng hóa chất là tác nhân được sử dụng nhiều nhất như amoniac, acid citric,...[8] Trong nghiên cứu này, tác nhân gây ho được lựa chọn là amoniac vì dễ áp dụng, chi phí rẻ và gây được nhiều đáp ứng ho trên thực nghiệm.

Codein và ambroxol được lựa chọn làm thuốc chứng dương trong nghiên cứu giảm ho, long đờm của Chanh gừng đường phèn vì đây là các thuốc giảm ho, long đờm được

dùng phổ biến trên lâm sàng cũng như trong các nghiên cứu thực nghiệm.[9]

Kết quả nghiên cứu cho thấy Chanh gừng đường phèn ở cả 2 mức liều 12mL /kg /ngày và 24mL /kg /ngày có xu hướng kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho, giảm số cơn ho trong 5 phút và thể hiện rõ rệt khả năng ức chế cơn ho (lần lượt 36,44% và 28,81%) so với lô đối chứng. Phần trăm ức chế cơn ho của Chanh gừng đường phèn ở cả 2 mức liều 12mL /kg /ngày và 24mL /kg /ngày chênh lệch ít so với codein phosphat với độ chênh lệch lần lượt là 2,54% và 5,09%. Như vậy, Chanh gừng đường phèn cả 2 mức liều đều có tác dụng giảm ho trên mô hình gây ho bằng amoniac.

Chanh gừng đường phèn liều 12mL /kg xu hướng làm tăng độ hấp thụ quang (OD) và nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản, trong khi đó mức liều 24mL /kg làm tăng rõ rệt độ hấp thụ quang (OD) và nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản so với lô đối chứng. Như vậy, tác dụng long đờm của Chanh gừng đường phèn liều 24mL /kg thể hiện rõ hơn mức liều 12mL /kg trên mô hình thực nghiệm.

Kết quả nghiên cứu phù hợp với các công bố về tác dụng của các thành phần trong Chanh gừng đường phèn khi dùng riêng rẽ. Bera K và cộng sự đã tiến hành đánh giá tác dụng ức chế cơn ho của Gừng, kết quả cho thấy

polysacharid chiết xuất từ Gừng giúp làm giảm số cơn ho gây ra bởi acid citric trên chuột lang.[6] Tác dụng giảm ho và long đờm của Chanh và Gừng cũng được đề cập trong bài review của Gairola S và cộng sự (2010) về tác dụng của các thuốc có nguồn gốc từ thảo dược.[10]

V. KẾT LUẬN

Về tác dụng giảm ho, Chanh gừng đường phèn ở cả 2 mức liều 12mL /kg /ngày (tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng là 10mL /10 kg thể trọng người/ngày) và liều 24mL /kg /ngày (tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng là 20mL /10 kg thể trọng người/ngày) có tác dụng giảm ho trên mô hình gây ho bằng amoniac ở chuột nhắt trắng thể hiện qua xu hướng kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho, làm giảm số cơn ho của chuột và khả năng ức chế cơn ho rõ rệt.

Về tác dụng long đờm, Chanh gừng đường phèn liều 12mL/ kg (tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng là 10mL/ 10kg thể trọng người/ngày) uống liên tục trong 3 ngày trên chuột nhắt trắng có xu hướng thể hiện tác dụng long đờm thông qua xu hướng làm tăng nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản so với lô đối chứng. Chanh gừng đường phèn liều 24mL/ kg (tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng là 20mL/ 10kg thể trọng người/ ngày) uống liên tục trong 3 ngày trên chuột nhắt trắng thể hiện

tác dụng long đờm thông qua làm tăng nồng độ phenol đổ tiết ra ở khí quản có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Quý Châu. *Bệnh Học Nội Khoa*. Trường Đại học Y Hà Nội, NXB Y học; 2020.

2. Yu P, Cheng S, Xiang J, et al. "Expectorant, antitussive, anti-inflammatory activities and compositional analysis of *Aster tataricus*". *J Ethnopharmacol*. 2015;164:328-333.

doi:10.1016/j.jep.2015.02.036

3. Prevalence and attributable health burden of chronic respiratory diseases, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Respir Med*. 2020;8(6):585-596.

doi:10.1016/S2213-2600(20)30105-3

4. Kraft K. "The importance of herbal antitussives and expectorants". *Pharm Unserer Zeit*. 2008;37(6):478-483.

doi:10.1002/pauz.200800287

5. Maksoud S, Abdel-Massih RM, Rajha HN, et al. Citrus aurantium L. Active Constituents, Biological Effects and Extraction Methods. An Updated Review. *Molecules*.

2021;26(19):5832.

doi:10.3390/molecules26195832

6. Bera K, Nosalova G, Sivova V, Ray B. Structural Elements and Cough Suppressing Activity of Polysaccharides from *Zingiber officinale* Rhizome. *Phytother Res PTR*. 2016;30(1):105-111.

doi:10.1002/ptr.5508

7. Hock FJ. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays, Fourth Edition.*; 2015:4314.

doi:10.1007/978-3-319-05392-9

8. Plevkova J, Brozmanova M, Matloobi A, Poliacek I, Honetschlager J, Buday T. Animal models of cough. *Respir Physiol Neurobiol*. 2021;290:103656.

doi:10.1016/j.resp.2021.103656

9. Hu JR, Jung CJ, Ku SM, Jung DH, Ku SK, Choi JS. Antitussive, expectorant, and anti-inflammatory effects of *Adenophorae Radix* powder in ICR mice. *J Ethnopharmacol*. 2019;239:111915.

doi:10.1016/j.jep.2019.111915

10. Gairola S, Gupta V, Bansal P, Singh R, Maithani M. Herbal antitussives and expectorants - A review. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2010;5:5-9.