

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GIẢM ĐAU CỦA CAO LÔNG CÂY THUỐC THƯỢNG TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nguyễn Trung Tường¹, Lê Hồng Phú¹, Nguyễn Hoàng Ngân²,
Nguyễn Văn Chiến¹, Trần Minh Đức¹

¹Viện Y học cổ truyền Quân đội,

²Học viện Quân y

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá tác dụng giảm đau của cao lỏng cây Thuốc thượng trên chuột. **Phương pháp tiến hành:** Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình gây đau bằng mâm nóng (Hotplate) và đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên bằng mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) sử dụng acid acetic. **Kết quả:** So với lô chứng, các lô dùng cao lỏng lá - CL1, cao lỏng thân cành - CL2 (cả liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg) và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac 20 mg/kg có số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic ít hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Cao lỏng CL1, CL2 và diclofenac đều thể hiện rõ tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn thực nghiệm, làm số cơn đau quặn giảm hơn so với lô chứng. Sau uống cao lỏng CL1 và CL2: thời gian đáp ứng đau của chuột nhất ở lô dùng thuốc tham chiếu (morphin liều 10 mg/kg) dài hơn có ý nghĩa thống kê so với các lô dùng cao lỏng CL1 và CL2 ở cả 2 mức liều ($p < 0,05$) và lô chứng ($p < 0,01$). **Kết luận:** Cao lỏng CL1 và CL2 với các mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn, tương đương với thuốc tham chiếu diclofenac liều 20 mg/kg; Cao lỏng CL1 và CL2 với các mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều có chiều hướng làm tăng thời gian phản ứng đau trên mô hình gây đau bởi mâm nóng tuy nhiên chưa có ý nghĩa thống kê.

Từ khóa: Giảm đau, cây thuốc Thượng.

RESEARCH ON THE ANALGESIC EFFECT OF PHAEANTHUS VIETNAMENSIS BAN LIQUID LIQUID EXTRACT ON EXPERIMENTAL ANIMALS

Abstract

The research aims to evaluate the analgesic effect of aqueous extract of *Phaeanthus vietnamensis* Ban on white mice. **Materials and Methods:** Evaluation of the central analgesic effect by using the pain-induced Hotplate model and the Writhing tests model with acetic acid. **Results:** The group was used aqueous extract of *Phaeanthus vietnamensis* Ban had a statistically significant greater time of pain occurrence ($p < 0.05$) compared to the control group and similar to the reference group (Diclofenac); the number of writhing pain, during 25 minutes after acetic acid injection, in both groups with dose 1 and dose 2 were statistically significantly lower ($p < 0.01$), equivalent to the

* Ngày nhận bài: 30/07/2024

* Ngày phản biện: 02/08/2024

* Ngày phê duyệt đăng bài: 24/08/2024

reference group (Diclofenac). **Conclusions:** Aqueous extract from leaves of *Phaeanthus vietnamensis* Ban at a oral doses of 2,4 g/kg/day and 4,8 g/kg/day has good analgesic effect according to peripheral analgesic mechanism.

Keywords: Pain relief, *Phaeanthus vietnamensis* Ban.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Thuốc thượng (tên khoa học là *Phaeanthus vietnamensis* Ban) còn có tên là Thuốc mọi, Da xà lắc. Cây Thuốc thượng là 1 loài đặc hữu của Việt Nam, được phân bố tại Trung Bộ Việt Nam: Thừa Thiên- Huế (Phú Lộc), Quảng Nam- Đà Nẵng. Có vị đắng, có tác dụng tiêu viêm, giảm đau, hoạt huyết. Dân gian dùng lá non hấp chín trên nồi cơm lấy nước nhỏ mắt chữa đau mắt đỏ; vỏ rễ, vỏ thân và lá đem nấu cao dán chỗ mụn nhọt sưng tấy; dùng chữa đau bụng, tiêu chảy, kiết lỵ, cầm máu vết thương ngoài da [3]. Cho đến nay chưa có công bố nào về tác dụng giảm đau của loài cây Thuốc thượng. Bài báo này, chúng tôi thông báo kết quả nghiên cứu về tác dụng giảm đau của cao lỏng (chiết nước) cây Thuốc thượng trên thực nghiệm.

II. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

Cao lỏng 1: 1 (dịch chiết nước) lá cây Thuốc thượng (ký hiệu là CL1). Cao lỏng 1: 1 (dịch chiết nước) thân cành cây Thuốc thượng (ký hiệu là CL2), do Viện Y học cổ truyền Quân đội cung cấp, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Liều dùng của thuốc Thượng

trên người theo kinh nghiệm dân gian là 10-15g dược liệu khô/người 50kg, tức 0,2-0,3g dược liệu khô/kg. Sử dụng hệ số ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa các loài động vật và người [1,2]. Lựa chọn giá trị 0,2g dược liệu khô/kg cơ sở quy đổi.

Đối với nghiên cứu trên chuột nhắt trắng (hệ số 12) ta được mức liều 1 cho cao lỏng lá, CL1.1 và cao lỏng thân cành, CL2.1 là 2,4g dược liệu khô/kg.

Mức liều 2 dùng trên chuột nhắt cho cao lỏng lá, CL1.2 và cao lỏng thân cành, CL2.2 là 4,8g dược liệu khô/kg.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng trưởng thành dòng Swiss, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng mỗi con 18 - 22g.

Động vật thí nghiệm do Ban chăn nuôi - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm. Động vật ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, uống nước sạch đun sôi để nguội. Thí nghiệm được lý được thực hiện tại Bộ môn Dược lý - Học Viện Quân Y.

2.2.2. Trang thiết bị nghiên cứu

- Máy đo giảm đau áp lực bàn

chân chuột Paw Pressure Analgesy Meter, Cat. No 37215, hãng Ugo Basile (Ý).

- Các hóa chất dung môi khác đạt tiêu chuẩn dược dụng.

- Các dụng cụ thí nghiệm cần thiết.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) sử dụng acid acetic

Theo phương pháp nghiên cứu của Koster và cs [4].

Chuột nhắt chia ngẫu nhiên làm 6 lô, mỗi lô 10 con. Chuột cho nhịn đói 12 giờ rồi cho uống mẫu nghiên cứu, thuốc tham chiếu hoặc nước cất với thể tích 10ml/kg.

- Lô 1 (Lô chứng): uống nước cất.

- Lô 2 (tham chiếu): uống diclofenac liều 20 mg/kg.

- Lô 3 (CL1.1): uống CL1 liều 2,4 g/kg.

- Lô 4 (CL1.2): uống CL1 liều 4,8 g/kg.

- Lô 5 (CL2.1): uống CL2 liều 2,4 g/kg.

- Lô 6 (CL2.2): uống CL2 liều 4,8 g/kg.

Chuột được uống mẫu nghiên cứu, thuốc tham chiếu hoặc nước cất 4 ngày liên tục. Ngày thứ 4, sau khi uống 60 phút, tiến hành gây đau quặn bằng cách tiêm phúc mạc bằng dung dịch acid acetic 0,6% liều 0,1 ml/10 g. Chuột sẽ xuất hiện những cơn đau quặn biểu hiện như thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi

dài thân và chân sau. Đếm số cơn đau quặn của chuột trong 25 phút sau khi tiêm acid acetic. So sánh kết quả giữa các lô nghiên cứu, tính % ức chế đau quặn theo công thức:

$$A\% = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100$$

Trong đó: A% là tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô thử; Dc là số cơn đau quặn của lô chứng; Dt là số cơn đau quặn của lô thử.

2.3.2. Tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bởi mâm nóng (Hotplate).

Dựa theo phương pháp nghiên cứu của Woolfe. G và Mc Donald [5].

Chuột nhắt chia ngẫu nhiên làm 6 lô, mỗi lô 10 con. Chuột nhịn đói 12 giờ trước khi uống mẫu nghiên cứu, sử dụng thuốc tham chiếu hoặc nước cất với cùng thể tích 10ml/kg.

- Lô 1 (Lô chứng): uống nước cất.

- Lô 2 (tham chiếu): Tiêm dưới da cổ morphin liều 10 mg/kg - 0,1 ml/10g chuột.

- Lô 3 (CL1.1): uống CL1 liều 2,4 g/kg.

- Lô 4 (CL1.2): uống CL1 liều 4,8 g/kg.

- Lô 5 (CL2.1): uống CL2 liều 2,4 g/kg.

- Lô 6 (CL2.2): uống CL2 liều 4,8 g/kg.

Thí nghiệm được tiến hành tại 2 thời điểm: trước và sau khi cho chuột uống thuốc thử 4 ngày (lô

chứng dương tiến hành thí nghiệm trước và sau khi tiêm Morphin 30 phút). Vào ngày thứ 4, sau khi uống 1 giờ, xác định thời gian đáp ứng với cảm giác đau do nhiệt. Chuột được đặt lên mâm nóng có nhiệt độ ổn định ở 56°C của máy đo đau bản nóng, lạnh. Thời gian chịu đau của chuột được tính từ lúc chuột đặt chân vào mâm nóng đến khi chuột liếm chân sau. Đánh giá tác dụng giảm đau thông qua chỉ tiêu mức tăng thời gian chịu đau của chuột. So sánh giữa các lô với nhau, tính phần trăm kéo dài thời gian đáp ứng.

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê y học, sử dụng phần mềm SPSS 18.0. Số liệu được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Bảng 1. Ảnh hưởng của cao lỏng CL1 và CL2 tới số cơn đau quận của chuột nhất trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic (n=10).

Lô TN	Số cơn đau quận trong 25 phút	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quận so với LC
LC	47,30 ± 10,90	-
CD	30,30 ± 8,68*	35,94 %
CL1.1	32,30 ± 6,50*	31,71 %
CL1.2	30,60 ± 8,00*	35,31 %
CL2.1	31,20 ± 7,81*	34,04 %
CL2.2	29,60 ± 8,68*	37,42 %

LC = Lô chứng (chuột uống nước cất); CD = Chứng dương (diclofenac, liều 20mg/kg);

CL1.1 = Lô CL1 liều 2,4g/kg; CL1.2 = Lô CL1 liều 4,8g/kg;

CL2.1 = Lô CL2 liều 2,4g/kg; CL2.2 = Lô CL2 liều 4,8g/kg; * $p < 0,01$ so với LC

Nhận xét: So với lô chứng, các lô dùng cao lỏng CL1, CL2 (cả liều 2,4g/kg và 4,8g/kg) và lô dùng

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao lỏng CL1 và CL2 trên mô hình gây đau quận

Sau khi tiêm acid acetic vào ổ bụng, ở tất cả các chuột nhất đều có những cơn đau quận với biểu hiện thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Thời gian xuất hiện đau (tính từ lúc tiêm acid acetic đến khi có cơn đau quận đầu tiên) và số cơn đau quận trong từng khoảng thời gian 5 phút cho đến kết thúc 25 phút sau tiêm acid acetic được ghi lại đối với từng chuột nhất trong mỗi lô.

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của cao lỏng CL1 và CL2 tới thời gian xuất hiện đau và số cơn đau quận của chuột nhất được thể hiện ở bảng dưới đây:

thuốc tham chiếu diclofenac 20mg/kg có số cơn đau quận trong 25 phút sau tiêm acid acetic ít hơn

có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Cao lỏng CL1, CL2 và diclofenac đều thể hiện rõ tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quận thực nghiệm, làm số cơn đau quận giảm hơn so với lô chứng. So sánh giữa các lô dùng CL1, CL2 và diclofenac, số cơn đau quận không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Cao lỏng CL1 và CL2 dùng với các mức liều

trong nghiên cứu (2,4g/kg và 4,8g/kg) có tác dụng giảm đau tương đương với thuốc tham chiếu diclofenac 20mg/kg.

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao lỏng CL1 và CL2 trên mô hình gây đau bởi mâm nóng (Hotplate).

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của cao lỏng CL1 và CL2 tới thời gian đáp ứng đau của chuột nhắt trắng (n=10).

Lô TN	Thời gian đáp ứng đau (giây)	
	Trước uống	Sau uống
LC	14,20 ± 3,11	14,09 ± 2,37
CD	14,11 ± 2,02	35,96 ± 10,93*,**
CL1.1	14,26 ± 2,35	16,49 ± 2,68
CL1.2	14,33 ± 2,60	18,38 ± 4,23
CL2.1	14,40 ± 2,63	16,97 ± 2,76
CL2.2	14,22 ± 1,86	18,68 ± 5,48

LC = Lô chứng (chuột uống nước cất); CD = Chứng dương (morphin, liều 10 mg/kg);

CL1.1 = Lô CL1 liều 2,4 g/kg; CL1.2 = Lô CL1 liều 4,8 g/kg;

CL2.1 = Lô CL2 liều 2,4 g/kg; CL2.2 = Lô CL2 liều 4,8 g/kg;

* $p < 0,01$ so với LC; ** $p < 0,05$ so với CL1.1, CL1.2, CL2.1, CL2.2;

Nhận xét: So sánh giữa các lô với nhau, trước khi uống cao lỏng CL1 và CL2: thời gian đáp ứng đau của chuột nhắt ở các lô nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Sau uống cao lỏng CL1 và CL2: thời gian đáp ứng đau của chuột nhắt ở lô dùng thuốc tham chiếu (morphin liều 10 mg/kg) dài hơn có ý nghĩa thống kê so với các lô dùng cao lỏng CL1 và CL2 ở cả 2 mức liều ($p < 0,05$) và lô chứng ($p < 0,01$). Thời gian đáp ứng đau của chuột nhắt ở các lô dùng cao lỏng CL1 và CL2 (cả 2 mức liều) dài hơn chưa có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p > 0,05$). So sánh trong từng lô, thời gian đáp ứng đau của chuột nhắt ở lô chứng

tại thời điểm trước và sau uống nước cất không có sự khác biệt ($p > 0,05$). Thời gian đáp ứng đau của chuột nhắt ở lô dùng thuốc tham chiếu (morphin liều 10mg/kg) tại thời điểm sau dùng thuốc dài hơn so với trước dùng thuốc ($p < 0,01$).

IV. BÀN LUẬN

4.1. Tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quận

Bằng việc tiêm acid acetic vào ổ bụng, những cơn đau quận của chuột nhắt biểu hiện sự kích thích tại chỗ của tác nhân hóa học. Thí nghiệm gây đau bằng tác nhân hóa học là thí nghiệm đại diện có ý nghĩa trong việc đánh giá đau và giảm đau [5,6]. Kết quả nghiên cứu cho thấy cao lỏng CL1 và CL2 và

thuốc tham chiếu diclofenac đều thể hiện rõ tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn. Cao lỏng CL1 và CL2 dùng với các mức liều (2,4g/kg và 4,8g/kg) có tác dụng giảm đau tương đương với thuốc tham chiếu diclofenac liều 20mg/kg.

4.2. Tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bởi mâm nóng

Phương pháp gây đau bởi mâm nóng được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng giảm đau theo cơ chế trung ương, được tiến hành theo nguyên tắc: đo thời gian phản ứng với nhiệt độ ở chuột nhất để đánh giá tiếp ngưỡng đau, thuốc có tác dụng giảm đau sẽ kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ và ngược lại. Vì phương pháp mâm nóng là một phương pháp đánh giá tác dụng giảm đau theo cơ chế trung ương, nó chỉ nhạy cảm với các thuốc tác dụng lên phần trên của hành tủy, có nghĩa là tác động lên vỏ não và trung tâm dưới vỏ (đồi thị) gây ra một phản ứng kích thích hệ thống giảm đau, thể hiện trong phương pháp này là phản ứng vận động làm cho chuột nhất nhấc chân sau và đưa lên liếm [5,6].

V. KẾT LUẬN

- Cao lỏng lá cây Thuốc thượng (CL1) và cao lỏng thân cành cây Thuốc thượng (CL2) với các mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn, tương đương với thuốc tham chiếu Diclofenac liều 20 mg/kg;

- Cao lỏng lá cây Thuốc thượng (CL1) và cao lỏng thân cành cây Thuốc thượng (CL2) với các mức liều 2,4 g/kg và 4,8 g/kg đều có chiều hướng làm tăng thời gian phản ứng đau trên mô hình gây đau bởi mâm nóng tuy nhiên chưa có ý nghĩa thống kê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Cục Khoa Học và Đào Tạo - Bộ Y tế (2015).** *Quyết định 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015 Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu.*
- 2. Nguyễn Thượng Dong (2006).** *Phương pháp nghiên cứu tác dụng của thuốc từ thảo dược*, NXB Khoa học kỹ thuật.
- 3. Võ Văn Chi (2012).** *Từ điển cây thuốc Việt Nam - tập 2*, NXB Y học, Hà Nội, tr.940-941.
- 4. Koster, R; Anderson, M and Debeer, FJ (1959).** Acetic acid for analgetic screening. *Fed. Proc*, 18, 412.
- 5. Woolfe G. and Macdonald A. D. (1944).** The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (demerol). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 80 (3) 300-307.
- 6. World Health Organization (2000).** General guidelines for methodologies on research and evaluational of traditional medicine.