

Khảo sát tác động giảm đau và an thần của cao chiết ngó sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn. Nelumbonaceae) trên chuột nhắt trắng

Võ Thị Thu Hà*, Thái Gia Mẫn, Mai Thị Ngọc Ánh

Khoa Dược - Đại học Nguyễn Tất Thành
vttha*@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) thuộc dạng cây thủy sinh nổi trên mặt nước. Ở Việt Nam, các bộ phận của cây Sen đều có thể sử dụng trong y học cổ truyền. Mục tiêu của nghiên cứu là xác định độc tính cấp và tác dụng giảm đau, an thần của cao chiết ngó sen. Dùng phương pháp ngâm kiệt nguyên liệu sơ chế với cồn 70 độ để thu được cao đặc. Thử nghiệm độc tính cấp sử dụng liều tối đa trên chuột được theo dõi trong 14 ngày. Khảo sát tác động giảm đau trung ương trên mô hình nhúng đuôi chuột, tác động giảm đau ngoại biên trên mô hình gây đau quặn bụng bằng acid acetic. Tác động an thần được khảo sát bằng phương pháp Rotarod. Kết quả định tính xác định được liều dung nạp tối đa (LD₀) đối với cao chiết ngó sen là 61,6 g/kg. Cao chiết ngó sen liều 1,5 g/kg và 3 g/kg thể hiện tác động an thần và giảm đau ngoại biên nhưng không có tác động giảm đau trung ương trên mô hình thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu có thể được định hướng cho các nghiên cứu sâu hơn về các dạng chế phẩm từ tự nhiên trong hỗ trợ điều trị các bệnh căng thẳng, mất ngủ.

Nhận 22.10.2021
Được duyệt 07.11.2021
Công bố 10.11.2021

Từ khóa
ngó sen, độc tính cấp, an thần, giảm đau, rotarod.

© 2021 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Ở Việt Nam, Sen là một loài thực vật được trồng rất phổ biến và có nhiều lợi ích sử dụng trong dân gian. Đã có nhiều nghiên cứu khoa học chứng minh các tác dụng dược lí của cây Sen như chống oxy hóa, kháng viêm, hạ đường huyết,... [1-3]. Những năm gần đây, các nhà khoa học quan tâm nhiều đến tác dụng điều trị rối loạn thần kinh trung ương của cây Sen như giảm căng thẳng, giảm đau, trầm cảm và rối loạn nhận thức, mất ngủ. Trong nghiên cứu in vitro vào năm 2015, Mallika Kumarihamy và cộng sự đã chứng minh những dẫn chất chiết từ cây Sen như nuciferine, N-nor-nuciferine, asimilobine, arnepavine, O-methylcoclaurine, N-methylcoclaurine, coclaurine, neferine có ái lực với các thụ thể liên quan đến giảm đau và rối loạn hành vi [4]. Tại Việt Nam, tác giả Nguyễn Văn Đán trong đề tài “Nghiên cứu độc tính và tác dụng an thần của cao Bình vôi - Lạc tiên - lá Sen -

lá Vông nem trên chuột nhắt trắng” vào năm 2014 đã chứng minh cao chiết nước Bình vôi, Lạc tiên, lá Sen, lá Vông nem có tác dụng hợp đồng gây ngủ với thiopental [5]. Các nhà khoa học trong nước có nhiều đề tài nghiên cứu về hạt Sen, hoa Sen, tim Sen,... nhưng những nghiên cứu về ngó sen vẫn còn hạn chế. Việc xác định tác dụng dược lí của cao chiết ngó sen góp phần chứng minh cho các ứng dụng dân gian. Nghiên cứu tác động giảm đau và an thần của cao chiết ngó sen trên mô hình thực nghiệm nhằm cung cấp thêm nguồn dữ liệu khoa học về tác dụng dược lí của dược liệu đầy tiềm năng này.

2 Phương pháp nghiên cứu

2.1 Thú vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng, đực, trưởng thành, chủng *Swiss albino*, khối lượng (22 – 25) g, khỏe mạnh, không dị tật do Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang cung cấp. Chuột được chia nuôi trong các hộp nhựa

trắng (8 – 10) con, cho quen với môi trường ít nhất 2 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm.

2.2 Dược liệu nghiên cứu và chất đối chứng

Dược liệu nghiên cứu: ngó sen được thu hái tại huyện Hồng Ngự, tỉnh Đồng Tháp.

Ngó sen sau khi thu hái rửa sạch đem phơi trong 5 ngày đến khi khô hoàn toàn. Sau đó đem ngó sen khô đi xay nhuyễn thành bột.

Chiết ngâm kiệt với dung môi cồn 70 độ. Cô thành cao đặc trên bếp cách thủy ở nhiệt độ 70 °C.



Hình 1 a - ngó sen tươi; b - ngó sen khô; c - bột ngó sen

Chất đối chứng trong mô hình giảm đau:

- Aspirin (acid acetylsalicylic, Mekophar) hàm lượng 500 mg. Có tác dụng giảm đau, hạ sốt, kháng viêm, là thuốc đối chứng dùng trong giảm đau ngoại biên.

- Morphin (morphin sulfat, Công ty Cổ phần Dược phẩm Trung ương 2) hàm lượng 30 mg; morphin là thuốc giảm đau mạnh, tác động chủ yếu lên hệ thần kinh trung ương, được dùng làm chất đối chứng trong thử nghiệm giảm đau trung ương.

Chất đối chứng trong mô hình an thần:

- Diazepam (Vidipha): hàm lượng 5 mg diazepam. Có tác dụng an thần, gây ngủ, là thuốc đối chứng dùng trong thử nghiệm an thần.

Khảo sát độc tính cấp đường uống

Chọn chuột ngẫu nhiên, lô 6 con (gồm 3 con đực và 3 con cái). Cho chuột thử nghiệm uống nước bình thường và nhịn đói ít nhất 12 giờ. Cho chuột uống cao dược liệu với liều tối đa có thể qua đường uống (nồng độ đặc nhất qua kim uống, với thể tích uống 0,5 mL/10 g trọng lượng chuột). Theo dõi và ghi nhận tất cả các cử động, biểu hiện, số lượng chết của chuột trong 72 giờ đầu và tiếp tục theo dõi đến 14 ngày. Mô và quan sát đại thể của những con chết và số con còn sống sau 14 ngày quan sát [6].

Khảo sát tác động giảm đau trung ương

Chuột được cố định với đuôi thả tự do. Nhúng ngập đuôi chuột không quá 5 cm vào nước nóng trong bếp cách thủy đã được cài đặt ở nhiệt độ ổn định (55 ± 0,5) °C. Tiềm thời giết đuôi là thời gian tính từ lúc

nhúng đuôi chuột vào nước đến khi chuột giật mạnh đuôi ra khỏi mặt nước.

Trước khi tiến hành thí nghiệm, những chuột có tiềm thời giết đuôi không quá 5 giây được đưa vào thí nghiệm. Chuột đạt tiêu chuẩn chia ngẫu nhiên vào các lô, mỗi lô gồm 9 con. Chuột được cho uống liều duy nhất với thể tích 0,1 mL/10 g trọng lượng chuột [7]:

- Lô chứng: uống nước cất

- Lô đối chứng: uống morphin liều 5 mg/kg

- Lô thử nghiệm 1: uống cao ngó sen liều 1,5 g/kg

- Lô thử nghiệm 2: uống cao ngó sen liều 3 g/kg

Đo tiềm thời giết đuôi tại các thời điểm (30, 60, 90, 120) phút sau khi dùng thuốc. Lau khô đuôi chuột sau mỗi lần đo, nếu chuột không phản ứng sau 10 giây thì nhấc chuột ra để tránh bỏng đuôi chuột. Đo 2 lần liên tiếp và ghi nhận tiềm thời dài hơn.

Khảo sát tác động giảm đau ngoại biên

Chia chuột ngẫu nhiên vào các lô, mỗi lô gồm 9 con. Chuột được cho uống liều duy nhất với thể tích 0,1 mL/10 g trọng lượng chuột [7]:

- Lô chứng: uống nước cất

- Lô đối chứng: uống aspirin liều 50 mg/kg

- Lô thử nghiệm 1: uống cao ngó sen liều 1,5 g/kg

- Lô thử nghiệm 2: uống cao ngó sen liều 3 g/kg

Sau khi dùng thuốc 60 phút, tất cả các chuột được gây đau bằng cách tiêm phúc mô dung dịch acid acetic 1 % (0,1 mL/10 g). Mỗi chuột được đặt vào bocal thủy tinh riêng. Đếm số lần đau quặn ở chuột (biểu hiện: toàn thân vờn dài, ưỡn cong người, hóp bụng và duỗi ít nhất một chân sau) trong các khoảng thời gian: (5 – 10) phút, (10 – 15) phút, (15 – 20) phút, (20 – 25) phút, (25 – 30) phút, (30 – 35) phút, (35 – 40) phút, tính từ thời điểm tiêm dung dịch acid acetic.

Khảo sát tác động an thần

Chuột được tập chạy trên trục quay Rotarod với tốc độ 36 vòng/phút, 3 phút mỗi ngày trong 3 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Vào ngày thứ 4, những chuột bám trên trục quay Rotarod trong hơn 3 phút được đưa vào thí nghiệm [8, 9].

Chia chuột ngẫu nhiên vào các lô, mỗi lô gồm 9 con

- Lô chứng: uống nước cất.

- Lô đối chứng: uống diazepam liều 10 mg/kg.

- Lô thử nghiệm 1: uống cao ngó sen liều 1,5 g/kg.

- Lô thử nghiệm 2: uống cao ngó sen liều 3 g/kg

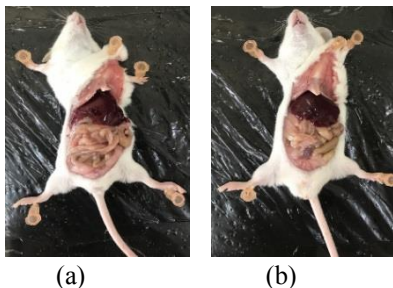
Cho chuột dùng thuốc với thể tích 0,1 mL/10 g trọng lượng chuột. Sau khi uống thuốc 30 phút, đặt chuột lên trục quay Rotarod với tốc độ 36 vòng/phút. Quan

sát trong 10 phút. Ghi nhận thời gian chuột bấm trên máy quay ở các thời điểm sau khi dùng thuốc (30, 60 và 90) phút của mỗi lô.

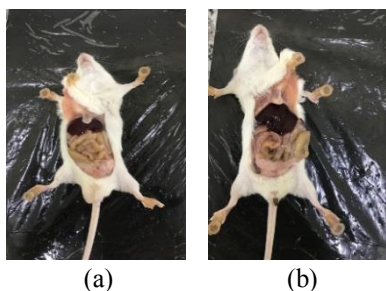
3 Kết quả và thảo luận

3.1 Khảo sát độc tính cấp

Sau khi chuột nhịn đói 12 giờ, cho chuột uống cao ngô sen với nồng độ đặc nhất qua kim uống là 1,23 g/mL (tương ứng với liều 61,6 g/kg), thể tích cho uống là 0,5 mL/10 g thể trọng chuột. Quan sát thấy sau 24 giờ đầu ở lô uống cao ngô sen, toàn bộ chuột không có dấu hiệu bất thường, vẫn ăn uống bình thường. Tiếp tục quan sát trong 48 giờ và 72 giờ, không có hiện tượng lạ xảy ra. Theo dõi tiếp tục 14 ngày, chuột vẫn sống khỏe mạnh và bình thường. Chuột được giải phẫu để quan sát các cơ quan trong cơ thể. Kết quả cho thấy không có bất kì thay đổi ở các đại thể như tim, gan, thận, phổi, hệ tiêu hóa.



Hình 2 Đại thể (a) chuột đực và (b) chuột cái sinh lí sau 14 ngày



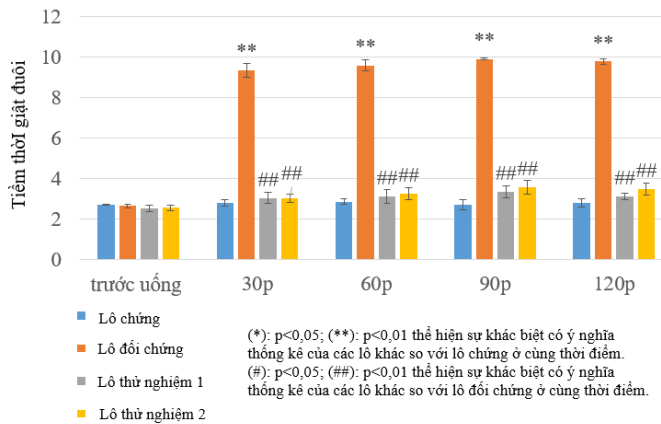
Hình 3 Đại thể (a) chuột đực và (b) chuột cái dùng cao liều 61,6 g/kg theo đường uống sau 14 ngày theo dõi

Như vậy, cao ngô sen không xác định được LD₅₀, không thể hiện độc tính cấp đường uống với liều tối đa có thể cho uống qua kim (Dmax) là 61,6 g/kg.

3.2 Khảo sát tác động giảm đau trung ương

Kết quả khảo sát tác động giảm đau trung ương của cao ngô sen

Kết quả khảo sát tác động giảm đau trung ương của cao ngô sen trên chuột nhắt được ghi nhận như sau (Hình 4):



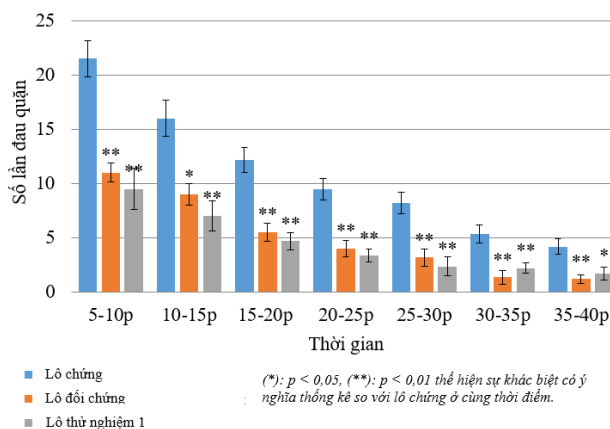
Hình 4 Tiềm thời giật đuôi giữa các lô vào các khoảng thời gian

Sau thử nghiệm, lô đối chứng dùng morphin liều 5 mg/kg đường uống có tiềm thời giật đuôi tăng thống kê so với lô chứng trong suốt thời gian thử nghiệm ($p < 0,01$) tại tất cả các thời điểm (30, 60 và 90) phút. Các lô thử nghiệm sử dụng cao ngô sen liều 1,5 g/kg và 3 g/kg đều không thể hiện tác động giảm đau trung ương, tiềm thời giật đuôi khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p > 0,05$).

3.3 Khảo sát tác động giảm đau ngoại biên

Kết quả khảo sát tác động giảm đau ngoại biên cao ngô sen

Với lô thử nghiệm 1, kết quả khảo sát tác động giảm đau ngoại biên của cao ngô sen được trình bày như sau (Hình 5):

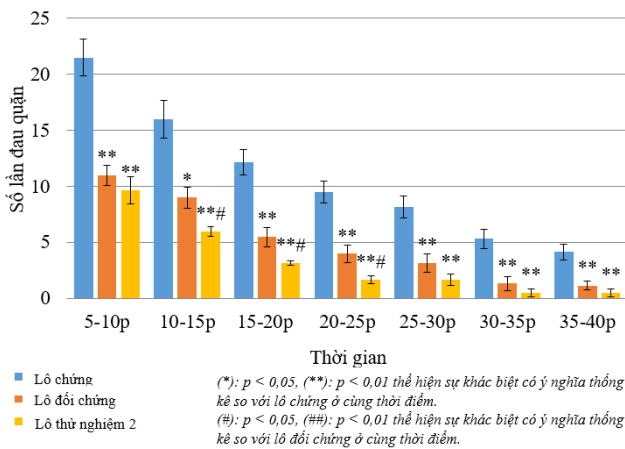


Hình 5 Số lần đau quận của lô chứng, lô đối chứng, lô thử nghiệm 1

Số lần đau quận của chuột ở lô đối chứng sử dụng aspirin liều 50 mg/kg giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với chuột ở lô chứng bắt đầu từ phút thứ 5 và kéo dài đến hết quá trình thí nghiệm. Lô thử nghiệm 1 sử dụng cao ngô sen với liều 1,5 g/kg có số lần đau quận giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô

chứng trong suốt thời gian thử nghiệm. Ở phút 25 đến phút 30 số lần đầu quận của lô thử nghiệm 1 giảm 3,5 lần so với lô chứng. Vào các khoảng thời gian còn lại số lần đầu quận giảm khoảng 2 lần so với lô chứng. So với lô đối chứng, số lần đầu quận của lô thử nghiệm 1 giảm hơn từ phút thứ 5 đến phút thứ 30 nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Với lô thử nghiệm 2, kết quả được trình bày như Hình 6:

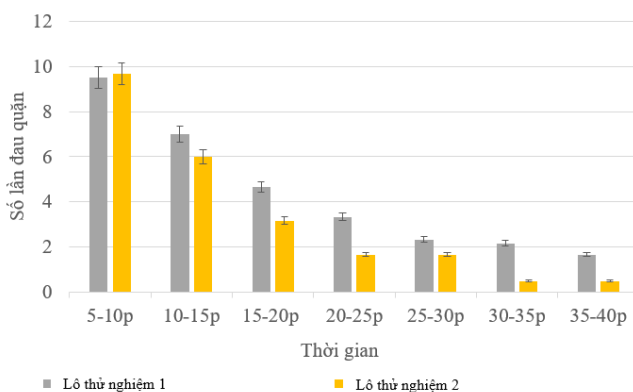


Hình 6 Số lần đầu quận của

lô chứng, lô đối chứng, lô thử nghiệm 2

Lô thử nghiệm 2 sử dụng cao ngô sen với liều 3 g/kg có số lần đầu quận giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) so với lô chứng trong suốt thời gian thử nghiệm. Số lần đầu quận của lô thử nghiệm giảm nhiều nhất so với lô chứng ở phút 30 đến phút 35 trong quá trình thử nghiệm. So với lô đối chứng, lô sử dụng aspirin liều 50 mg/kg, lô thử nghiệm 2 có số lần đầu quận giảm hơn và có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở phút thứ 10 đến phút thứ 25.

So sánh tác động giảm đau giữa 2 mức liều của cao ngô sen, kết quả được trình bày như Hình 7:



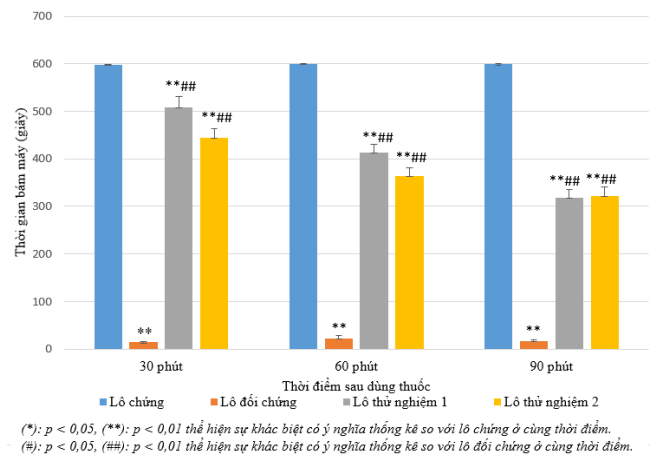
Hình 7 So sánh số lần đầu quận giữa 2 lô thử nghiệm

Ở phút thứ 5 đến phút 10, lô thử nghiệm 2 sử dụng cao ngô sen 3 g/kg có số lần đầu quận nhiều hơn lô thử nghiệm 1 sử dụng cao ngô sen 1,5 g/kg nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở phút thứ 10 đến phút thứ 40 của lô thử nghiệm 2 lại có số lần đầu quận ít hơn lô thử nghiệm 1 nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy, lô thử nghiệm sử dụng cao ngô sen liều 1,5 g/kg và 3 g/kg có số lần đầu quận giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,05$) và khả năng giảm đau khác nhau không có ý nghĩa giữa hai mức liều thử nghiệm. Vậy cao ngô sen ở liều 1,5 g/kg và 3 g/kg thể hiện tác động giảm đau ngoại biên trên mô hình thử nghiệm.

3.4 Khảo sát tác động an thần của cao ngô sen

Kết quả khảo sát tác động an thần được trình bày như sau (Hình 8):



Hình 8 Thời gian chuột bám trên trục quay Rotarod tại các thời điểm sau dùng thuốc của các lô

Lô đối chứng sử dụng diazepam liều 10 mg/kg bằng đường uống cho kết quả an thần có ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại tất cả các thời điểm của thử nghiệm. Tác động làm giảm thời gian bám trên trục quay Rotarod của chuột uống cao ngô sen liều 1,5 g/kg và liều 3 g/kg đều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở các thời điểm khảo sát. Tuy nhiên, tác động làm giảm thời gian bám trên trục quay Rotarod của chuột uống cao ngô sen liều 1,5 g/kg và liều 3 g/kg đều lớn hơn so với lô đối chứng và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Như vậy, cao ngô sen thể hiện tác động an thần trên mô hình thực nghiệm, nhưng tác động này yếu hơn so với diazepam 10 mg/kg (PO).

4 Kết luận

Kết quả của nghiên cứu cho thấy cao ngó sen liều 1,5 g/kg và 3 g/kg thể hiện tác động an thần và giảm đau ngoại biên nhưng không có tác động giảm đau trung ương trên mô hình thực nghiệm. Kết quả của nghiên cứu có thể được định hướng cho các nghiên cứu sâu

hơn về các dạng chế phẩm tự nhiên nhằm hỗ trợ bệnh nhân trong điều trị giảm đau hay giảm lo âu, căng thẳng.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, mã đề tài 2021.01.83/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Jiang X.L. et al (2018), “Flavonoid glycosides and alkaloids from the embryos of *Nelumbo nucifera* seeds and their antioxidant activity”, *Fitoterapia*, 125: p.184-190.
2. Moon S.H. et al (2019), “Lotus (*Nelumbo nucifera*) seed protein isolate exerts anti-inflammatory and antioxidant effects in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via inhibiting NF- κ B and MAPK pathways, and upregulating catalase activity”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 138: p.791-797.
3. Sakuljaitrong S. et al (2013), “Effects of Flower Extract from Lotus (*Nelumbo nucifera*) on Hypoglycemic and Hypolipidemic in Streptozotocin-induced Diabetic Rats”, *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 4(7): p.1441-1446.
4. Kumarihamy M. et al (2015), “In vitro opioid receptor affinity and in vivo behavioral studies of *Nelumbo nucifera* flower”, *J Ethnopharmacol*, 174 (4), p.57- 65
5. Nguyễn Văn Đàn (2014), “Nghiên cứu độc tính và tác dụng an thần của cao bình vôi – lạc tiên – lá sen – lá vông nem trên chuột nhắt trắng”, *Tạp chí Y học Tp. Hồ Chí Minh*, 18 (1).
6. Đỗ Trung Đàm (2017), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, NXB Y học, Hà Nội, tr. 15-189.
7. Đỗ Trung Đàm (2017), *Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lí*, NXB Y học Hà Nội, tr. 17-426.
8. Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Thị Bích Thủy (2016), “Đánh giá tác dụng an thần, giải lo của bài thuốc “Chè an thần” trên động vật thực nghiệm”, *Tạp chí Dược học*, 481: tr.40-44.
9. Moniruzzaman M. et al (2016), “Sedative and Anxiolytic-Like Actions of Ethanol Extract of Leaves of *Glinus oppositifolius* (Linn.) Aug. DC, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016, 8541017.

Evaluation of analgesic and anxiolytic activities of extract from the rhizome of *Nelumbo nucifera* Gaertn. Nelumbonaceae

Vo Thi Thu Ha, Thai Gia Man, Mai Thi Ngoc Anh
Pharmacy Faculty, Nguyen Tat Thanh University
vttha@ntt.edu.vn

Abstract In Viet Nam, *Nelumbo nucifera* Gaertn. Nelumbonaceae is a popular aquatic plant. All parts of *Nelumbo nucifera* Gaertn. have been used in traditional medicine. The objective of this study was to evaluate acute toxicity, analgesic and anxiolytic effects of extract of *Nelumbo nucifera* Gaertn. The percolation method with 70 % ethanol was conducted to obtain the extract. *Acute toxicity* test was performed on Swiss albino *mice* at the maximum possible *oral dose*. Mice were observed up to 14 days post-treatment. Central analgesic effect was evaluated with tail immersion model, peripheral analgesic effect was evaluated with writhing test using 1 % acetic acid in mice. The anxiolytic effect was investigated based on Rotarod performance. The results revealed that the maximum possible infralethal dose of the extract at 61,6 g/kg mouse body weight. The rhizome of *Nelumbo nucifera* Gaertn. extract at doses of 1,5 g/kg and 3 g/kg mouse body weight show anxiolytic and peripheral analgesic effects but no central analgesic effects. The results of this study would be useful for further study on natural medicine used in supporting the treatment of conditions as stress, insomnia.

Keywords *Nelumbo nucifera* Gaertn, acute toxicity, analgesic, anxiolytic, Rotarod.