

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM VÀ GIẢM ĐAU CỦA CAO CHIẾT CÂY HOÀNG TINH ĐỎ TRÊN MÔ HÌNH ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thị Thu Hiền¹, Trịnh Thị Thu Hằng¹,

Mẫn Hồng Phước², Phạm Hoàng Nam³

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính kháng viêm cấp và giảm đau của cao chiết cây Hoàng tinh đỏ (*Polygonatum kingianum* Coll. Et Hemsl.). Kết quả cho thấy, cao chiết thể hiện hoạt tính kháng viêm cấp tốt trên 2 mô hình gây phù chân chuột cống bằng carrageenan và dầu croton. Ở mô hình gây phù chân chuột cống bằng carrageenan thông qua độ phù và độ dày chân chuột tỷ lệ là 12,43% và 61,31% giảm rõ rệt so với lô chuột đối chứng là 28,65% và 91,7%. Với mô hình gây phù chân chuột bằng dầu croton, ở lô chuột thí nghiệm sử dụng cao hoàng tinh đỏ liều lượng 0,02 gam/lần bôi 1 lần và 3 lần, mức độ ức chế viêm tương ứng là 44,44% và 49,67%. Bên cạnh đó, cao chiết Hoàng tinh đỏ còn có tác dụng giảm đau, được đánh giá trên các mô hình gây đau bằng nhiều tác nhân khác nhau: tác nhân nhiệt độ (mô hình mâm nóng và tail-flick), tác nhân cơ học (phương pháp rê kim) thời gian xuất hiện đáp ứng đau lần lượt là 13,72 giây; 5,58 giây và 2,4 giây dài hơn các lô chuột đối chứng. Nghiên cứu cho thấy, cây Hoàng tinh đỏ là một dược liệu tiềm năng chứa hợp chất có tác dụng kháng viêm và giảm đau.

Từ khóa: *Anti-inflammatory, Cytokines, Polygonatum kingianum.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm khớp dạng thấp (VKDT - Rheumatoid Arthritis, RA) là bệnh lý tự miễn điển hình, diễn biến mạn tính với các biểu hiện tại khớp, ngoài khớp và toàn thân ở nhiều mức độ khác nhau, diễn biến phức tạp [1], [2]. Bệnh để lại hậu quả nặng nề với 90% bệnh nhân (BN) tiến triển nặng và mất chức năng vận động trong vòng 20 năm [3]. Nếu không được chẩn đoán sớm, điều trị đúng và kịp thời, bệnh tiến triển ngày càng nặng dẫn đến hủy hoại khớp, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của BN và là gánh nặng cho gia đình và xã hội [1].

Mục đích điều trị bệnh VKDT là nhằm kiểm soát quá trình miễn dịch và quá trình viêm khớp, phòng ngừa hủy khớp, bảo vệ và duy trì chức năng chung của khớp để làm chậm hoặc ngừng tiến triển và có thể thay đổi diễn tiến tự nhiên của bệnh, do đó giúp cải thiện chất lượng sống cho người bệnh và tránh được các biến chứng của bệnh và của các thuốc điều trị gây ra [4], [5]. Ngày nay sự ra đời các thuốc chống thấp khớp làm giảm nhẹ bệnh (Disease -

modifying anti Rheumatic drugs: DMARDs), liệu pháp sinh học (Biological Therapy) đã tạo ra cuộc cách mạng trong điều trị VKDT với hiệu quả cao, tác dụng nhanh và dung nạp tốt. Tuy nhiên nhóm thuốc này vẫn gây ra một số tác dụng không mong muốn nghiêm trọng như: hạ bạch cầu, suy gan, suy thận, tổn thương phổi mạn tính... Chính vì vậy việc tìm ra các thuốc có hiệu quả cũng như an toàn cho bệnh nhân vẫn là mục tiêu của các nhà khoa học hiện nay.

Trong những năm gần đây công nghệ dược và bào chế của y học cổ truyền (YHCT) đã có những bước phát triển vượt bậc, các chế phẩm YHCT dùng ngoài đã được đưa vào nghiên cứu, sản xuất và cung cấp phục vụ cho công tác điều trị.

Hoàng tinh đỏ là cây thuốc nam, được chứng minh là có tác dụng trong việc điều trị bệnh viêm khớp và VKDT. Nghiên cứu này được thực hiện vào năm 2020 để chứng minh tác dụng giảm viêm và giảm đau của chế phẩm cao hoàng tinh đỏ, tạo cơ sở khoa học cho các nghiên cứu bào chế dược phẩm điều trị bệnh viêm khớp, VKDT từ loài thực vật này.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Cao Hoàng tinh đỏ được Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam cung cấp.

¹ Trường Đại học Mở Hà Nội

² Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³ Trường Đại học Khoa học Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

- 250 con chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả hai giống khỏe mạnh, cân nặng từ 18 – 22 g, do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

- 60 con chuột cống trắng chủng Wistar trưởng thành, cả hai giống đực và cái, cân nặng từ 180-210 g, do Học viện Quân y 103 cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp xác định tác dụng chống viêm cấp

* *Gây phù chân chuột bằng carrageenin [8], [9].*
 Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 10 con. Lô 1: (đối chứng âm): không tác động gì. Lô 2: dùng Voltaren 0,2 g/1 chân chuột. Lô 3: sử dụng cao hoàng tinh đỏ 0,2 g/1 chuột. Chuột được dùng thuốc 5 lần trong 3 ngày liên tục. Ngày thứ 1, chuột sau khi dùng thuốc thử 1 giờ được gây viêm bằng cách tiêm carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý) 0,25 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột.

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng dụng cụ chuyên biệt vào các thời điểm: trước khi gây viêm (V_0); sau khi gây viêm 1 giờ (V_1), 2 giờ (V_2), 4 giờ (V_3) và 6 giờ (V_4), 24 giờ (V_5), 30 giờ (V_6) và 48 giờ (V_7). Kết quả đo thể tích được tính theo công thức của Fontaine.

+ Độ tăng thể tích chân của từng chuột được tính theo công thức:

$$\Delta V\% = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

Trong đó: $\Delta V\%$ là độ tăng thể tích chân chuột;
 V_0 là thể tích chân chuột trước khi gây viêm;
 V_t là thể tích chân chuột sau khi gây viêm.

+ Tác dụng chống viêm của thuốc được đánh giá bằng khả năng ức chế phản ứng phù ($I\%$).

$$I\% = \frac{\Delta Vc\% - \Delta Vt\%}{\Delta Vc\%} \times 100$$

Trong đó: $\Delta Vc\%$: trung bình độ tăng thể tích chân chuột ở lô đối chứng; $Vt\%$: trung bình độ tăng thể tích chân chuột ở lô dùng thuốc.

Cách đo độ dày chân chuột: một kỹ thuật viên giữ chuột cố định. Một người khác dùng thước đặt vào gan bàn chân chuột chỗ dày nhất, khi 2 mép của thước chạm chân chuột, màn hình điện tử sẽ hiện ra số đo tính theo đơn vị mm. Các thời điểm đo độ dày chân chuột giống như đo thể tích chân chuột.

+ Độ tăng độ dày chân của từng chuột được tính theo công thức: $\Delta D\% = \frac{D_t - D_0}{D_0} \times 100$

Trong đó: $\Delta D\%$ là độ tăng độ dày chân chuột; D_0 là độ dày chân chuột trước khi gây viêm; D_t là độ dày chân chuột sau khi gây viêm.

+ Tác dụng chống viêm của thuốc được đánh giá bằng khả năng ức chế phản ứng phù ($I\%$).

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

Trong đó: $\Delta Dc\%$: trung bình độ tăng độ dày chân chuột ở lô đối chứng; $\Delta Dt\%$: trung bình độ tăng độ dày chân chuột ở lô dùng thuốc.

* *Gây viêm tai bằng dầu croton*

60 chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con, được bố trí thí nghiệm như sau:

Lô 1 (gây viêm): Gây viêm bằng dung dịch dầu croton (trong acetone) ở tai phải. Lô 2 (clobetason): gây viêm + dùng clobetason liều 0,02 g/lần 1 lần ở tai phải. Lô 3 (Hoàng tinh đỏ 1 lần): gây viêm sau 1 giờ dùng cao Hoàng tinh đỏ liều 0,02g/lần ở tai phải 1 lần. Lô 4 (Hoàng tinh đỏ 3 lần): gây viêm + dùng Hoàng tinh đỏ liều 0,02 g/lần ở tai phải tại thời điểm 2 ngày trước khi gây viêm, 1 lần/ngày và sau gây viêm 1 giờ. Ở tất cả các chuột, tai trái không gây mô hình và không dùng thuốc gì.

6 giờ sau khi gây viêm, chuột được giết bằng ether, tai chuột được đo lại chiều dày, sau đó cắt ở phần trung tâm với đường kính 7 mm bằng dụng cụ sinh thiết để đo cân nặng.

Mức độ ức chế viêm ở mỗi lô được tính theo công thức (%):

$$\frac{(KL \text{ tai phải} - KL \text{ tai trái của nhóm gây viêm}) - (KL \text{ tai phải} - KL \text{ tai trái của nhóm dùng thuốc})}{(KL \text{ tai phải} - KL \text{ tai trái nhóm gây viêm})} \times 100$$

Chú thích: KL - Khối lượng

2.2.2. Phương pháp xác định mức độ giảm đau

* *Phương pháp mâm nóng” (hot plate).*

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (đối chứng âm): Không dùng gì vào 2 chân chuột.

- Lô 3 (chứng Salonpas): Dùng Salonpas Gel vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

- Lô 4 (Voltaren): Dùng Voltarel vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

- Lô 5 (Lidocain): Dùng lidocain vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

- Lô 6 (cao Hoàng tinh đỏ): Sử dụng cao Hoàng tinh đỏ vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

Sau thời gian 30 phút kể từ lúc được dùng, chuột được đặt lên mâm nóng (máy Hot plate), luôn duy trì ở nhiệt độ 56°C bằng hệ thống ổn nhiệt. Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt được tính từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột có phản xạ liếm chân sau. Loại bỏ những chuột phản ứng quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây). So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước và sau khi bôi thuốc thử và so sánh giữa các lô chuột với nhau [12].

* *Phương pháp tail - flick (vẫy đuôi)*: Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (đối chứng âm): không dùng gì vào đuôi chuột.

- Lô 3 (chứng Salonpas): dùng Salonpas Gel vào đuôi chuột.

- Lô 4 (Voltarel): dùng Voltarel vào đuôi chuột.

- Lô 5 (cao Hoàng tinh đỏ): sử dụng cao Hoàng tinh đỏ vào đuôi chuột.

Sau khi dùng thuốc 30 phút, cho chuột vào buồng đo, đợi khoảng 2 phút để chuột ổn định. Đưa đuôi chuột tiếp xúc với nguồn bức xạ nhiệt. Khoảng cách đo được xác định giống nhau cho mọi chuột là khoảng 2 – 3 cm tính từ đầu mút đuôi chuột. Khi xuất hiện phản xạ vẫy đuôi, xác định thời gian phản ứng của chuột với nguồn nhiệt.

* *Phương pháp rê kim*

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (đối chứng âm): không dùng gì vào 2 chân chuột.

- Lô 3 (chứng Salonpas): dùng Salonpas gel vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

- Lô 4 (Voltarel): dùng voltarel vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

- Lô 5 (cao Hoàng tinh đỏ): sử dụng cao Hoàng tinh đỏ vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

Sau khi dùng thuốc 30 phút, cho toàn bộ 10 chuột của một lô vào các buồng đo, đợi khoảng 5 phút trước khi để chuột ổn định. Rê kim (cảm ứng) sao cho đầu kim chạm vào giữa gan bàn chân chuột. Bấm nút để thực hiện việc đo, đo thời gian phản ứng với đau của chân chuột [10].

* *Phương pháp gây phù viêm chân chuột bằng carrageenin*

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (đối chứng âm): không gây phù viêm, không dùng gì.

- Lô 2 (gây viêm bằng cách tiêm 0,2 mL dung dịch carrageenin 0,1%): tiêm phù chân chuột, không dùng gì.

- Lô 3 (chứng dương Voltaren): tiêm phù chân, dùng Voltaren.

- Lô 4 (chứng dương Salonpas Gel): tiêm phù chân, dùng Salonpas.

- Lô 5 (Hoàng tinh đỏ): tiêm phù chân, dùng Hoàng tinh đỏ.

Sau khi gây phù viêm 1 giờ 30 phút, chuột được dùng thuốc hoặc tá dược tương ứng với từng lô. 30 phút sau khi dùng thuốc, chuột được đo ngưỡng đau bằng phương pháp rê kim. Đánh giá phản ứng đau của chuột tại thời điểm 30 phút sau khi dùng [6], [7], [8].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tác dụng chống viêm cấp của cao Hoàng tinh đỏ

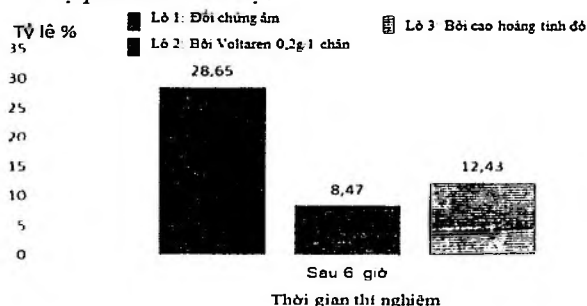
Viêm là phản ứng tự vệ và thích nghi của cơ thể nhằm loại trừ các vật lạ (kháng nguyên) khi chúng xâm nhập vào cơ thể. Các chất trong phản ứng viêm có thể gây nguy hại cho cơ thể, gây rối loạn chuyển hóa, tổn thương các tổ chức, rối loạn nhiều chức phận của cơ thể [6]. Dựa trên cơ sở sinh lý bệnh của quá trình viêm, tác dụng chống viêm cấp của cao Hoàng tinh đỏ được đánh giá trên các mô hình gây viêm cấp. Tình trạng viêm cấp được đặc trưng bởi các triệu chứng cổ điển: nóng, đỏ, sưng và đau. Đánh giá mức độ phù (sưng) là một chỉ số nghiên cứu rất hữu ích trong các mô hình gây viêm cấp tại chỗ trên thực nghiệm. Hai mô hình thực nghiệm được lựa chọn để đánh giá tác dụng chống viêm cấp của cao Hoàng tinh đỏ là mô hình gây phù chân chuột cống bằng carrageenin và mô hình gây viêm tai chuột nhắt bằng dầu croton.

3.1.1. Tác dụng chống viêm cấp của cao Hoàng tinh đỏ trên mô hình gây phù chân chuột cống bằng carrageenin

Carrageenin là một polysaccharid được sulfat hóa có nguồn gốc từ một số loài tảo [7]. Tiêm carrageenin vào gan bàn chân sau của chuột sẽ xuất hiện rất nhanh hiện tượng tăng tính thấm thành mạch, hình thành dịch rỉ viêm và bạch cầu thoát mạch, chủ yếu là bạch cầu trung tính, vào mô viêm [6]. Tác dụng chống viêm cấp của cao Hoàng tinh đỏ trên mô hình gây phù viêm chân chuột cống bằng

carrageenan 1% được thể hiện thông qua khả năng làm giảm độ phù và độ dày chân chuột.

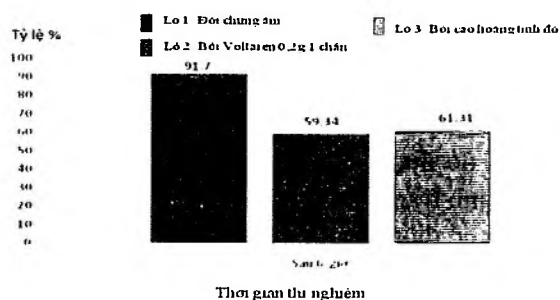
Độ phù chân chuột



Hình 1. Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột cống qua chỉ số độ phù chân chuột

Theo số liệu tại hình 1 cho thấy: mức độ tăng thể tích chân chuột tại tất cả các thời điểm sau khi gây viêm của nhóm dùng thuốc thấp hơn đáng kể so với lô đối chứng âm. Cụ thể, sau 6 giờ dùng thuốc thấy rằng đối với lô bôi cao Hoàng tinh đỏ và lô bôi Voltaren đều với nồng độ 0,2 g/1 chân chuột tỷ lệ tăng thể tích chân chuột là 12,43% và 8,47% giảm rõ rệt so với lô đối chứng âm không dùng thuốc 28,65%.

Độ dày chân chuột



Hình 2. Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột cống qua chỉ số độ dày chân chuột

Kết quả tại hình 2 cho thấy: mức độ tăng độ dày chân chuột tại tất cả các thời điểm sau khi gây viêm nhỏ nhất là của nhóm dùng Voltaren 59,34% và nhóm dùng cao Hoàng tinh đỏ 61,31% thấp hơn rõ rệt so với lô đối chứng âm là 91,7%. Nhóm dùng tá dược của cao Hoàng tinh đỏ có sự thay đổi mức độ tăng độ dày chân chuột.

Như vậy, cả 2 chỉ số về độ phù chân chuột và độ dày chân chuột đều cho kết quả tương đồng: giảm thể tích chân chuột, giảm độ dày chân chuột của lô dùng Voltaren và cao Hoàng tinh đỏ. Như vậy, cao Hoàng tinh đỏ có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm bằng carrageenin chân chuột cống trắng.

Đánh giá tình trạng viêm tại chân sau của chuột cống sau khi tiêm carrageenin thông qua đo thể tích chân chuột và độ dày chân chuột, kết quả nghiên cứu ở hình 1 và 2 cho thấy, dùng 5 lần cao Hoàng tinh đỏ vào gan bàn chân sau của chuột với liều lượng 0,2 gam/lần có tác dụng ức chế viêm trên mô hình viêm cấp tại chỗ chân chuột cống trắng bằng carrageenin, thể hiện ở tác dụng làm giảm thể tích và độ dày của chân chuột cống ở tất cả các thời điểm nghiên cứu.

3.1.2. Tác dụng chống viêm cấp của cao Hoàng tinh đỏ trên mô hình gây phù chân chuột cống bằng dầu Croton

Bảng 1. Mức độ ức chế viêm của cao Hoàng tinh đỏ

Lô	Khối lượng tai chuột (µg)		Mức độ ức chế viêm (%)
	Trái	Phải	
Lô mô hình gây viêm bằng croton	11,4	26,7	
Lô chứng dương clobetason 0,05%	11,4	18,3	54,90
Lô Hoàng tinh đỏ 1 lần	11,3	19,8	44,44
Lô Hoàng tinh đỏ 3 lần	11,4	19,1	49,67

Số liệu tại bảng 1 cho thấy, ở lô gây viêm bằng croton, khối lượng tai phải tăng rõ rệt so với tai bên trái, điều đó chứng tỏ tác dụng gây viêm cấp (phù nề) của dầu croton. Ở lô dùng clobetason, khối lượng tai giảm rõ rệt so với lô mô hình, mức độ ức chế viêm của clobetason là 54,90%, điều này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đó, corticoid có tác dụng mạnh trên mô hình gây viêm cấp bằng dầu croton [10, 11]. Ở lô sử dụng cao Hoàng tinh đỏ 1 lần và 3 lần, mức độ ức chế viêm tương ứng là 44,44% và 49,67%.

Dầu croton, một chất gây viêm được chiết xuất từ cây Ba đậu (*Croton tiglium* L.), thuộc họ Thầu dầu Euphorbiaceae, là một chất gây kích ứng mạnh trên da. Hoạt chất chính của dầu croton là các phorbol ester, với phorbol ester chủ yếu là 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate [10], [11]. Dùng dầu croton trên da sẽ thúc đẩy hình thành một phản ứng viêm cấp được đặc trưng bởi tình trạng giãn mạch, sự xâm nhập của các bạch cầu đa nhân vào các mô và hình thành phù. Clobetason là một loại corticoid được sử dụng để làm thuốc đối chứng dương do đã được chứng minh là thuốc có tác dụng mạnh nhất trên mô hình viêm cấp bằng dầu croton [10]. Từ kết

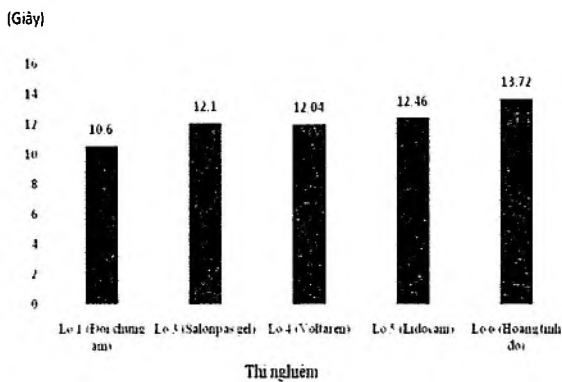
quả bảng 1 cho thấy, clobetason có tác dụng chống viêm cấp rõ rệt gây ra bởi dầu croton. Cao Hoàng tinh đồ và tá dược bào chế cao Hoàng tinh đồ với liều 0,02 gam/lần dùng 1 lần và 3 lần mặc dù tác dụng ức chế viêm thấp hơn so với clobetason nhưng ở mức độ thấp hơn.

Trên mô hình gây phù chân chuột cống thì tác nhân gây viêm là carrageenin, khi tiêm vào gan bàn chân chuột sẽ giải phóng ra các chất trung gian hóa học của quá trình viêm, cao Hoàng tinh đồ có tác dụng giảm viêm có lẽ do ức chế quá trình giải phóng ra các chất trung gian hóa học gây viêm. Tuy nhiên, do thời gian gây viêm theo dõi ngắn, trong khi đó cao Hoàng tinh đồ được nghiên cứu sử dụng cho mục đích hướng tới giảm viêm khớp nói chung và viêm khớp dạng thấp nói riêng, vì vậy cần có các nghiên cứu về thời gian tác dụng và các giải pháp kéo dài tác dụng của chế phẩm.

3.2. Tác dụng giảm đau

Trong các bệnh lý xương khớp, triệu chứng viêm và đau thường đi cùng với nhau. Tác dụng giảm đau của cao Hoàng tinh đồ được đánh giá trên các mô hình gây đau bằng nhiều tác nhân khác nhau: tác nhân nhiệt độ (mô hình mâm nóng và tail-flick), tác nhân cơ học (phương pháp rê kim) và tác nhân hóa học (mô hình gây phù viêm chân chuột bằng carrageenin).

3.2.1. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao Hoàng tinh đồ bằng phương pháp mâm nóng (hot plate)



Hình 3. Ảnh hưởng của cao Hoàng tinh đồ lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng

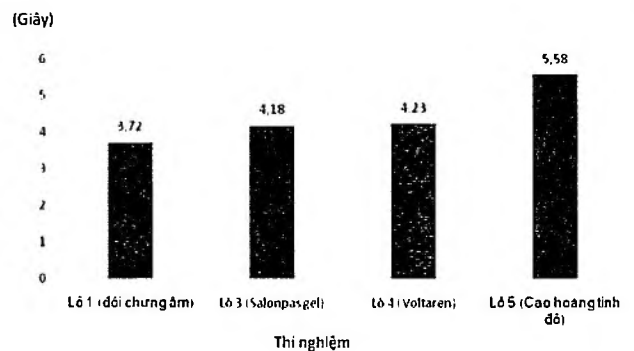
Theo số liệu tại hình 3, các thuốc đối chứng đều cho thấy tác dụng kéo dài thời gian xuất hiện phản ứng đau so với lô đối chứng. Thời gian xuất hiện đáp ứng đau của lô đối chứng là 10,6 giây, trong khi đó

cao Hoàng tinh đồ có tác dụng kéo dài thời gian xuất hiện đáp ứng đau là 13,72 giây, hơn cả các thuốc đối chứng là Salopas gel 12,1 giây, Voltaren 12,04 giây và Lidocain 12,46 giây.

Mô hình mâm nóng được sử dụng phổ biến để đánh giá tác dụng giảm đau của thuốc. Bàn chân của chuột nhắt rất nhạy cảm với nhiệt độ dù ở nhiệt độ đó vẫn chưa gây tổn thương da. Đáp ứng của chuột bao gồm: động tác nhảy lên, rút bàn chân và liếm bàn chân. Thuốc giảm đau có khả năng kéo dài thời gian xuất hiện những đáp ứng này của động vật nghiên cứu [12]. Điều này được thể hiện rõ qua kết quả nghiên cứu ở hình 3 các thuốc đối chứng, bao gồm Salonpas, Voltaren và Lidocain, là các thuốc giảm đau ngoại vi đều không làm kéo dài đáng kể thời gian xuất hiện đáp ứng đau so với lô đối chứng âm. Cao Hoàng tinh đồ được dùng 30 phút trước khi đo phản ứng đau cũng cho thấy tác dụng kéo dài thời gian xuất hiện đáp ứng hơn so với lô đối chứng âm.

3.2.2. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao hoàng tinh đồ bằng phương pháp tail - flick (vẫy đuôi)

Mô hình tail-flick cũng là một phương pháp nghiên cứu khác sử dụng tác nhân nhiệt độ để đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của một thuốc. Ban đầu, phương pháp này được phát triển bởi Schumacher và cộng sự (1940), Wolff và cộng sự (1940) nhằm xác định ngưỡng đau với bức xạ nhiệt và đánh giá tác dụng giảm đau của các opioat. Sau đó, các nhà khoa học đã sử dụng phương pháp này để đánh giá sự thay đổi mức độ nhạy cảm của đuôi chuột với các stress nhiệt sau khi cho chuột dùng thuốc thử. Test này phù hợp để phân biệt thuốc giảm đau giống morphin tác dụng trên thần kinh trung ương và thuốc giảm đau không opioat [9], [12].

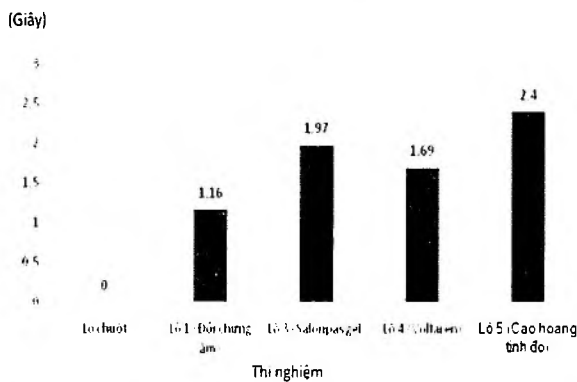


Hình 4. Ảnh hưởng của cao Hoàng tinh đồ lên thời gian phản ứng đau do bức xạ nhiệt

Quan sát kĩ các phản ứng của chuột đối với bức xạ nhiệt sẽ giúp đưa ra các đánh giá về ảnh hưởng của thuốc đến hoạt động của não. Động tác kéo đuôi và quay đầu lại của chuột khi tiếp xúc với bức xạ nhiệt có thể được coi như là một hiện tượng phức tạp được xử lý thông qua hoạt động của não. Ngược lại, nếu chuột chỉ xuất hiện động tác kéo đuôi đơn giản thì đây có thể chỉ là một phản xạ tủy. Kết quả nghiên cứu về tác dụng giảm đau của cao Hoàng tinh đồ trên mô hình tail-flick ở hình 4 cho thấy, thời gian đáp ứng ở lô sử dụng cao Hoàng tinh đồ là 5,58 giây khác biệt đáng kể so với lô đối chứng âm 3,72 giây. Như vậy, qua hai mô hình mâm nóng và tail - flick có thể thấy cao Hoàng tinh đồ có tác dụng giảm đau trên chuột thí nghiệm.

3.2.3. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của cao Hoàng tinh đồ bằng phương pháp rê kim

Phương pháp rê kim sử dụng tác nhân cơ học (đầu kim) tác động vào gan bàn chân chuột với lực gây đau tối đa là 5g (để tránh gây tổn thương mô) và tốc độ lực là 0,5 g/giây, chuột sẽ phản ứng bằng cách rút gan bàn chân ra khỏi đầu kim. Thời gian phản ứng đau của từng chuột được ghi lại.



Hình 5. Tác dụng giảm đau của cao Hoàng tinh đồ trên chuột nhắt trắng bằng máy rê kim

Số liệu tại hình 5 cho thấy: Salonpas gel và Voltaren làm kéo dài thời gian phản ứng đau nhưng sự khác biệt không nhiều so với lô đối chứng âm. Cao Hoàng tinh đồ làm kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng đau 2,4 giây so với lô đối chứng âm 1,16 giây. So sánh thời gian phản ứng đau lô chuột sử dụng cao Hoàng tinh đồ với lô chuột dùng Salonpas gel có hoạt chất chính là methyl salicylat, nhận thấy, thời gian phản ứng đau ở lô sử dụng cao Hoàng tinh đồ có xu hướng kéo dài hơn lô dùng Salonpas gel. Trên mô hình này, tác nhân gây đau là tác nhân cơ học, khi sử

dụng cao Hoàng tinh đồ dùng tại gan bàn chân chuột thấy có tác dụng kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng đau. Chứng tỏ cao Hoàng tinh đồ có tác dụng giảm đau đối với các tổn thương do các tác nhân cơ học gây ra. Từ kết quả này có thể giúp đưa ra một định hướng trong tương lai, để có thể mở rộng chỉ định điều trị của cao Hoàng tinh đồ không những trong bệnh viêm khớp mà có thể chỉ định cho những bệnh lý đau do các tổn thương đụng dập phần mềm hoặc các bệnh lý về chấn thương kín.

4. KẾT LUẬN

Cao Hoàng tinh đồ có tác dụng ức chế viêm trên mô hình viêm cấp tại chỗ chân chuột cống trắng bằng carrageenan thông qua độ phù và độ dày chân chuột tỷ lệ là 12,43% và 61,31%. Ở mô hình viêm cấp tại chỗ chân chuột cống bằng dầu croton mức độ ức chế viêm tương ứng là 44,44% và 49,67%. Tác dụng này tương đương với Voltaren.

Cao Hoàng tinh đồ dùng có tác dụng giảm đau rõ rệt trên mô hình mâm nóng, bức xạ nhiệt và rê kim với thời gian xuất hiện đáp ứng đau lần lượt là 13,72 giây; 5,58 giây và 2,4 giây.

LỜI CẢM ƠN:

Công trình được hoàn thành với kinh phí đề tài trọng điểm cấp Trường Đại học Mở Hà Nội, mã số MHN2019-02.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Ngọc Ân, Nguyễn Thị Ngọc Lan (2013). *Viêm khớp dạng thấp: Phác đồ chẩn đoán và điều trị các bệnh cơ xương khớp thường gặp*. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 9-20.
2. Nguyễn Quốc Anh, Ngô Quý Châu (2011). *Viêm khớp dạng thấp: Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội khoa*. Nhà xuất bản Y học, 609-613.
3. Trần Ngọc Ân, Hellmann David B (2001). *Viêm khớp dạng thấp: Các bệnh cơ xương khớp, chẩn đoán và điều trị y học hiện đại*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tập 1. 1182 - 1192.
4. Nguyễn Thị Ngọc Lan (2012). *Viêm khớp dạng thấp*. Bệnh học cơ xương khớp nội.
5. Singh JA. et al. (2012). *Update of 2008 American College of Rheumatology Recommendation for the use of Disease Modifying*

Antirheumatic Drugs and Biologic Agents in the treatment of Rheumatoid Arthritis. Arthritis Care & Research, vol 64, No 5, 625 – 639.

6. Smolen JS, Landewe R et al (2010). *EULAR recommendation for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease - modifying antirheumatic drugs*. Ann Rheum Dis, 10, 1-12.

7. Hoàng Ngọc Hùng, Muraviov L. A al Macarop V. A (1989). *Tác dụng chống viêm của một số đơn thuốc mỡ chứa nọc rắn hổ mang*. Tạp chí Dược học, 2, 21- 22.

8. Bộ môn Miễn dịch - Sinh lý bệnh - Trường Đại học Y Hà Nội (2008). *Sinh lý bệnh quá trình viêm, Sinh lý bệnh học*. Nhà xuất bản Y học, 209 – 230.

9. Necas, L. Bartosikova (2013). *Carrageenan: a review*. Veterinarni Medicina, 58 (4): 187-205.

10. Miri A, Sharifi-Rad J, Tabrizian K, Nasiri AA. (2015). *Antinociceptive and Anti - Inflammatory*

Activities of Teucrium persicum Boiss. Extract in Mice. Scientifica. 2827-33.

11. Ghanshyam D., Trilochan S., Amit R (2015). *Animal Models for Inflammation: A Review*. Asian J. Pharm. Res, (3) 207-212.

12. Satyam.S; Bairy. K; Musharraf. S et al (2014). *Inhibition of croton oil-induced oedema in rat ear skin by topical nicotinamid gel*. Archives, 3, 22-25.

13. Ezequiel Paulo Viriato, Erica Silva Bianchetti, Kelém Costa dos Santos et al (2009). *Study of high dilutions of copaiba oil on inflammatory process*. Int J High Dilution Res, 8(26): 9-14.

14. Hans G. Vogel, Wolfgang H. Vogel (2013). *Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays*. Pain in inflamed tissue test.

15. S.Parasuraman (2011). *Toxicological screening*. J Pharmacol Pharmacother. 2(2): 74-79.

STUDY THE ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC ACTIVITY OF *Polygonatum kingianum* Coll.Et Hemsl. EXTRACT ON EXPERIMENTAL ANIMAL MODELS

Nguyen Thi Thu Hien¹, Trinh Thi Thu Hang¹,

Man Hong Phuoc², Pham Hoang Nam³

¹Hanoi Open University

²Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

³Hanoi University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

Summary

This study aimed at evaluating the anti-inflammatory and analgesic activity of red rhubarb extract (*Polygonatum kingianum* Coll. Et Hemsl.). The results showed that the extract presented good anti-inflammatory activity in 2 edema models of rats' feet caused by carrageenan and croton oil. In the edema model of rats' feet with carrageenan through edema and thickness of the rat's feet, the rates were significantly reduced compared to the control group (12.43% and 61.31% to 28.65% and 91.7%). For the edema model of mouse's feet caused by croton oil, in the experimental group of mice using *Polygonatum kingianum* extract at the dose of 0.02 g/time and applying 1 time and 3 times, the level of inflammation inhibition was 44.44% and 49.67%, respectively. In addition, the extract showed analgesic effects, which are evaluated on pain models by many different agents: temperature agent (hot plate and tail-flick model), mechanical agent (needle drip method), time to respond to pain were 13.72 seconds; 5.58 seconds and 2.4 seconds longer than the control mice, respectively. Research has shown that *Polygonatum kingianum* is a potential medicinal plant containing bioactive compounds with anti-inflammatory and analgesic effects.

Keywords: *Anti-inflammatory, Cytokines, Polygonatum kingianum*.

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Thị Kim Lan

Ngày nhận bài: 3/11/2020

Ngày thông qua phản biện: 3/12/2020

Ngày duyệt đăng: 10/12/2020