

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG GIẢM ĐAU VÀ CHỐNG VIÊM CỦA CAO LÔNG CỐT THỐNG TUỆ TĨNH TRÊN THỰC NGHIỆM

Tô Lê Hồng¹, Phạm Quốc Sự¹, Phạm Thị Vân Anh², Vũ Xuân Hải²
Nguyễn Việt Tiến² và Đinh Thị Thu Hằng^{2,✉}

¹Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam

²Trường Đại học Y Hà Nội

Cao lông Cốt thống Tuệ Tĩnh là một chế phẩm được chiết xuất từ 7 vị dược liệu bao gồm Hy thiêm, Dương quy, Thổ phục linh, Ngưu tất, Dây gắm, Trần bì và Củ dòm. Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng giảm đau và chống viêm của cao lông Cốt thống Tuệ Tĩnh trên thực nghiệm. Nghiên cứu tác dụng giảm đau được tiến hành trên ba mô hình: mâm nóng, tail-flick và mô hình gây quặn đau bằng acid acetic trên chuột nhắt trắng chủng Swiss. Tác dụng chống viêm cấp được đánh giá trên hai mô hình: gây phù chân chuột bằng carageenin và gây viêm màng bụng trên chuột cống trắng chủng Wistar và nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt trên chuột nhắt trắng chủng Swiss. Kết quả nghiên cứu cho thấy Cốt thống Tuệ Tĩnh ở 2 mức liều 12 g/kg/ngày và 24 g/kg/ngày đã thể hiện tác dụng giảm đau rõ rệt và xu hướng chống viêm mạn trên các mô hình; Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 6 g/kg/ngày và 12 g/kg/ngày có xu hướng tác dụng chống viêm cấp trên chuột cống trắng. Như vậy, cao lông Cốt thống Tuệ Tĩnh đã thể hiện tác dụng giảm đau và chống viêm trên thực nghiệm.

Từ khóa: Cao lông Cốt thống Tuệ Tĩnh, giảm đau, chống viêm, chuột nhắt chủng Swiss, chuột cống chủng Wistar.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm là một quá trình đáp ứng với các kích thích gây tổn thương, được kích hoạt bởi một loạt các tác nhân như nhiễm khuẩn, virus, chấn thương vật lý... Bất cứ yếu tố kích thích khởi phát nào cũng có thể gây ra các triệu chứng viêm cơ bản gồm sưng, nóng, đỏ và đau.¹ Acid arachidonic, cyclooxygenase và các chất trung gian viêm như leukotrien, prostaglandin, prostacyclin, thromboxan A2 và các yếu tố hoạt hóa tiểu cầu đóng vai trò then chốt trong quá trình phá hủy mô và đau liên quan đến quá trình viêm.² Dựa theo diễn biến, viêm được chia thành viêm cấp và viêm mạn. Trong viêm cấp có đáp ứng tức thời và sớm

với tổn thương. Viêm mạn bắt đầu 2 - 4 ngày sau khi khởi phát viêm cấp và có thể kéo dài hàng tuần đến hàng tháng hoặc năm do sự tồn tại của các kích thích ban đầu, quá trình sửa chữa tổn thương, nếu các cơ chế bảo vệ và chống viêm của cơ thể không sớm loại trừ được tác nhân gây viêm mà chỉ kìm chế được chúng, nhưng đa số là do viêm cấp chuyển sang.³ Cảm giác đau là một cảm giác đặc biệt, khác với cảm giác khác. Cảm giác này thông báo cho não biết kích thích có hại cho cơ thể và cần có các cơ chế sinh lý và tâm lý để loại trừ kích thích đó. Receptor đau có thể được kích hoạt bởi nhiều tác nhân như nhiệt độ, acid hoặc áp lực. Các chất trung gian viêm được giải phóng từ mô tổn thương làm tăng tính nhạy cảm của receptor đau và nhận thức cảm giác đau.¹ Việc sử dụng các thuốc chống viêm, giảm đau có nguồn gốc hóa học, được

Tác giả liên hệ: Đinh Thị Thu Hằng

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: dinhthuhang@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 07/04/2023

Ngày được chấp nhận: 19/04/2023

tổng hợp hoặc bán tổng hợp đem lại hiệu quả cao trong lâm sàng phòng và điều trị bệnh. Tuy nhiên, một số nhóm thuốc có nhiều tác dụng không mong muốn và chi phí cao trong quá trình điều trị. Trong khi đó, một số thuốc nguồn gốc tự nhiên có ưu điểm hơn về giá thành cũng như an toàn hơn cho người sử dụng.

Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh là một chế phẩm được chiết xuất từ 7 vị dược liệu bao gồm Hy thiêm, Đương quy, Thỏ phục linh, Ngưu tất, Dây gắm, Trần bì và Củ dòm. Hiệu quả giảm đau và chống viêm khi dùng riêng rẽ các dược liệu này đã được chứng minh trong nhiều y văn.^{4,5} Tuy nhiên, cho đến nay chưa có công trình nghiên cứu đánh giá về tác dụng khi phối hợp các vị dược liệu này trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Để có cơ sở khoa học về tác dụng dược lý, tạo tiền đề cho việc nghiên cứu tác dụng của cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh trên lâm sàng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu nghiên cứu tác dụng giảm đau và chống viêm của cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh trên thực nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Sản phẩm nghiên cứu

Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh là sản phẩm của Viện nghiên cứu Y - Dược Cổ truyền Tuệ Tĩnh. Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh được chiết với nước theo tỉ lệ 1:1 (1mL dịch chiết tương đương 1g dược liệu của bài thuốc).

Thành phần công thức Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh (01 thang): Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis* L., Asteraceae.), Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels., Apiaceae), Thỏ phục linh (*Smilax glabra* Roxb., Smilacaceae.), Ngưu tất (*Achyranthes Bidentata* Blume, Amaranthaceae), Dây gắm (*Cnetum montanum* Mgf., Gnetaceae), Trần bì (*Citrus reticulata* Blanco, Rutaceae) và Củ dòm (*Stephania dielsiana* Y. C. Wu, Menispermaceae).

Trong bài thuốc Cốt thống Tuệ Tĩnh, Hy thiêm đắng, lạnh, khu phong thấp, thông kinh lạc, thanh nhiệt giải độc là quân dược. Thỏ phục linh thanh nhiệt giải độc, trừ thấp, lợi gân cốt; Dây gắm khu phong trừ thấp, thư cân hoạt huyết; Củ dòm kiện tỳ chỉ thống, tiêu thũng trị đau nhức xương khớp là thần dược. Ngưu tất hoạt huyết thông kinh, mạnh gân cốt, bổ can thận; Đương quy bổ huyết, hoạt huyết, chỉ thống cũng là tá dược. Trần bì lý khí kiện tỳ, táo thấp hóa đàm, hỗ trợ các vị khu phong trừ thấp, là tá dược.

Các dược liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam V.

Liều dùng dự kiến trên người: mỗi ngày uống 50mL (tương đương 50 g/ngày)

Liều của thuốc thử dùng trên động vật nghiên cứu được quy từ liều dùng dự kiến trên người (50 g/ngày). Như vậy, liều dùng trên người khoảng 50 kg là 1 g/kg/ngày. Quy đổi ra liều tương đương trong nghiên cứu trên động vật: trên chuột cống trắng là $1 \times 6 = 6$ g/kg/ngày (hệ số quy đổi là 6) và trên chuột nhắt trắng là $1 \times 12 = 12$ g/kg/ngày (hệ số quy đổi là 12).

Thuốc và hóa chất nghiên cứu

Ibuprofen viên nén 400mg, sản phẩm của công ty CPDP AMPHARCO U.S.A. Methylprednisolon biệt dược Medrol, dạng viên nén hàm lượng 16mg, sản phẩm của hãng Pfizer Italia S.R.L., Ý. Diclofenac sodium 50mg (tên biệt dược Voltaren), sản phẩm của công ty Novartis Pharma Services AG (Thụy Sĩ). Codein phosphat do Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương cung cấp. Dung dịch acid acetic 1%. Carrageenin: dạng bột, sản phẩm của hãng BHD Chemicals Ltd., Anh. Nước muối sinh lý 0,9% (dạng tiêm truyền) do Công ty B. Braun Việt Nam sản xuất. Kit định lượng protein của hãng Hospitex Diagnostics (Italy).

Dụng cụ, máy móc phục vụ nghiên cứu

Máy Hot plate model - DS37 của hãng Ugo-Basile (Italy). Máy đo phản ứng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của Ugo Basile (Italy). Máy đo viêm Plethysmometer No 7250 của hãng Ugo - Basile (Italy). Máy sinh hóa bán tự động Erba của Ấn Độ. Máy xét nghiệm huyết học tự động Exigo-VET của hãng Exigo, Thụy Điển. Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001g. Chỉ khâu 5/0, sản phẩm của hãng SUREMED, Berlin, Đức.

2. Đối tượng

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, thuần chủng, cả 2 giống, trọng lượng $20 \pm 2g$ do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột cống trắng chủng *Wistar*, thuần chủng, cả 2 giống, trọng lượng 180 – 220g do Trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng - Hà Nội 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.

3. Phương pháp

Nghiên cứu tác dụng giảm đau

Nghiên cứu tác dụng giảm đau của Cốt thống Tuệ Tĩnh bằng phương pháp mâm nóng (Hot plate)

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

- Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất với thể tích 0,2 mL/10g/ngày.

- Lô 2: uống codein phosphat 20 mg/kg với thể tích 0,2 mL/10g/ngày.

- Lô 3: uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày (liều tương đương dự kiến trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12) với thể tích 0,2 mL/10g/ngày.

- Lô 4: uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 24 g/kg/ngày (gấp 2 lần liều tương đương dự kiến trên lâm sàng) với thể tích 0,2 mL/10g/ngày.

Chuột ở các lô được uống nước cất hoặc thuốc thử mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 5 ngày liên tục.

Đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ. Đặt chuột lên mâm nóng (hot plate) luôn duy trì ở nhiệt độ 56°C bằng hệ thống ổn nhiệt. Tính thời gian từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột liếm chân sau. So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt của các lô dùng thuốc thử so với lô 1.

Nghiên cứu tác dụng giảm đau của Cốt thống Tuệ Tĩnh trên máy tail-flick.

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên và uống thuốc như trong phương pháp mâm nóng. Chuột ở các lô được uống nước cất hoặc thuốc thử mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 5 ngày liên tục.

Ngày cuối cùng, sau khi uống thuốc 1 giờ, xác định thời gian phản ứng của chuột trên máy tail-flick. Chuột được đặt trong 1 lồng nhỏ, đuôi chuột được đưa ra bên ngoài và được giữ nhẹ nhàng bởi nghiên cứu viên. Một chùm ánh sáng bức xạ nhiệt được chiếu vào 1/3 trên của đuôi chuột, chuột sẽ phản ứng bằng cách cố gắng kéo đuôi ra khỏi vị trí chiếu xạ. Thời gian phản ứng của chuột trên máy tail-flick được tính từ khi đưa chiếu bức xạ nhiệt vào đuôi chuột đến khi chuột kéo đuôi ra khỏi vị trí chiếu xạ. So sánh thời gian phản ứng của các lô dùng thuốc thử so với lô 1.

Nghiên cứu tác dụng giảm đau của Cốt thống Tuệ Tĩnh bằng phương pháp gây quặn đau bằng acid acetic

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên và uống thuốc như trong phương pháp mâm nóng. Chuột ở các lô được uống nước cất, thuốc đối chứng hoặc thuốc thử mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 5 ngày liên tục.

Ngày cuối cùng, sau khi uống thuốc 1 giờ, tiêm vào ổ bụng mỗi chuột 0,2 mL dung dịch acid acetic 1%. Đếm số cơn quặn đau của từng chuột trong mỗi 5 phút cho đến phút thứ 30 sau khi tiêm acid acetic.

Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp

Mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin

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

- Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất với thể tích 1 mL/100g.

- Lô 2 (Chứng dương): uống diclofenac liều 10 mg/kg với thể tích 1 mL/100g.

- Lô 3: uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 6 g/kg/ngày (liều tương đương dự kiến trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 6) với thể tích 1 mL/100g.

- Lô 4: uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày (gấp 2 lần liều tương đương dự kiến trên lâm sàng) với thể tích 1 mL/100g.

Chuột được uống thuốc 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý) với thể tích 0,05 mL/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột [1], [2], [3].

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng máy đo viêm Plethysmometer No 7250 vào các thời điểm: trước khi gây viêm (V₀); sau khi gây viêm 2 giờ (V₂), 4 giờ (V₄), 6 giờ (V₆) và 24 h (V₂₄). Kết quả được tính theo công thức của Fontaine [1].

- 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:

V₀ 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%):

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

Trong đó:

ΔV_c : trung bình độ tăng thể tích chân chuột ở lô mô hình

ΔV_t : trung bình độ tăng thể tích chân chuột ở lô uống thuốc

Mô hình gây viêm màng bụng

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên và uống thuốc như mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin:

- Lô 1 (Mô hình): uống nước cất với thể tích 1 mL/100g.

- Lô 2 (Chứng dương): uống diclofenac liều 10 mg/kg với thể tích 1 mL/100g.

- Lô 3 (Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 6 g/kg/ngày): uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 6 g/kg/ngày (liều tương đương dự kiến trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 6) với thể tích 1 mL/100g.

- Lô 4 (Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày): uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày (liều gấp 2 lần liều dự kiến trên lâm sàng) với thể tích 1 mL/100g.

Chuột được uống nước cất hoặc thuốc 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm màng bụng chuột bằng dung dịch carrageenin 0,1g + formaldehyd 1,5mL, pha vừa đủ trong 100 mL nước muối sinh lý, với thể tích tiêm 1 mL/100g vào ổ bụng mỗi chuột. Sau gây viêm 24 giờ, mở ổ bụng chuột hút dịch rỉ viêm, đo thể tích, đếm số lượng bạch cầu/mL dịch rỉ viêm và định lượng protein trong dịch rỉ viêm.

Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn của Cốt thống Tuệ Tĩnh trên mô hình viêm mạn (gây u hạt)

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên

thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

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

- Lô 2 (Chứng dương): uống methylprednisolon liều 10 mg/kg với thể tích 0,2 mL/10g.

- Lô 3: uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày (liều tương đương dự kiến trên lâm sàng, hệ số ngoại suy 12) với thể tích 0,2 mL/10g.

- Lô 4: uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 24 g/kg/ngày (gấp 2 lần liều tương đương dự kiến trên lâm sàng) với thể tích 0,2 mL/10g.

Chuột được gây mê bằng cloralhydrat, sau đó tiến hành gây viêm mạn tính bằng cách cấy sợi amian trọng lượng 6mg tiết trùng (sấy 120°C trong 1 giờ) đã được tẩm carrageenin 1%, ở da gáy của mỗi chuột.

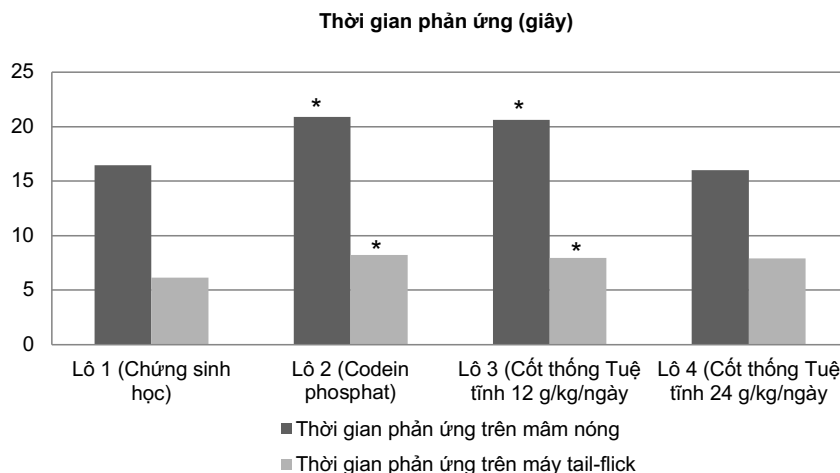
Sau khi cấy u hạt, các chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử liên tục trong 10 ngày. Ngày thứ 11 tiến hành giết chuột, bóc tách khối u hạt và cân tươi. Sau khi cân tươi, các khối u hạt được sấy khô ở nhiệt độ 56°C trong 18 giờ. Cân trọng lượng u hạt sau khi đã được sấy khô.

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

1. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của Cốt thống Tuệ Tĩnh lên thời gian phản ứng của chuột nhắt trắng trên mâm nóng và trên máy tail-flick

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

Δ , $\Delta\Delta$, $\Delta\Delta\Delta$: khác biệt so với lô 2 (codein phosphat) với $p < 0,05$; $p < 0,01$ và $p < 0,001$

Kết quả ở Biểu đồ 1 cho thấy: Codein phosphat có tác dụng kéo dài có ý nghĩa thống kê thời gian phản ứng trên mâm nóng và trên máy tail-flick của chuột so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày làm tăng có ý nghĩa thống kê thời gian phản ứng trên cả 2 máy mâm nóng và tail-flick của

chuột nhắt trắng so với lô chứng sinh học với $p < 0,05$. Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 24 g/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian phản ứng trên mâm nóng và tail-flick của chuột nhắt trắng so với lô chứng sinh học, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của Cốt thống Tuệ Tĩnh lên số cơn quận đau

Lô chuột (n = 10)	Số cơn quận đau (số cơn/5 phút)				
	>5 - 10 phút	>10 - 15 phút	>15 - 20 phút	>20 - 25 phút	>25 - 30 phút
Lô 1 Chứng sinh học	7,00 ± 3,40	15,70 ± 3,09	11,70 ± 3,13	8,20 ± 2,35	5,70 ± 1,49
Lô 2 Ibuprofen 100 mg/kg	4,00 ± 2,91*	11,40 ± 4,38*	8,40 ± 3,84*	6,20 ± 1,69*	4,20 ± 1,69*
Lô 3 Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày	4,50 ± 2,59	14,60 ± 2,27	9,90 ± 3,57	5,60 ± 2,76*	4,10 ± 1,79*
Lô 4 Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 24 g/kg/ngày	6,20 ± 3,12	14,30 ± 5,06	8,70 ± 3,27	5,10 ± 2,51*	3,90 ± 2,18*

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

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

Kết quả ở bảng 2 cho thấy: Ibuprofen liều 100 mg/kg có tác dụng làm giảm số cơn quận đau ở tất cả các thời điểm nghiên cứu so với lô chứng ($p < 0,05$). Cốt thống Tuệ Tĩnh ở cả hai mức liều nghiên cứu uống trong 5 ngày liên tục làm giảm số cơn quận đau tại tất cả các thời điểm nghiên cứu khi so sánh với lô chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các thời điểm >15 - 20 phút, >20 - 25 phút và 25-30 phút với $p < 0,05$.

2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp của Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh

Bảng 3. Tác dụng chống viêm cấp của Cốt thống Tuệ Tĩnh trên mô hình gây phù chân chuột cống

Lô nghiên cứu	Sau 2 giờ (V ₁)		Sau 4 giờ (V ₂)		Sau 6 giờ (V ₃)		Sau 24 giờ (V ₄)	
	Độ phù (%)	% giảm phù	Độ phù (%)	% giảm phù	Độ phù (%)	% giảm phù	Độ phù (%)	% giảm phù
Mô hình	71,48 ± 17,22		73,60 ± 12,64		41,82 ± 15,97		12,47 ± 7,04	
Diclofenac 10 mg/kg	19,54 ± 6,52****	72,67	26,21 ± 9,07****	64,39	25,75 ± 10,84*	38,43	6,43 ± 3,39*	48,49
Cốt thống Tuệ Tĩnh 6 g/kg/ngày	60,05 ± 10,48	15,99	51,10 ± 10,62****	30,56	41,38 ± 6,33	1,05	11,95 ± 5,15	4,19
Cốt thống Tuệ Tĩnh 12 g/kg/ngày	66,06 ± 16,81	7,59	75,66 ± 15,96	-2,81	49,17 ± 15,24	-17,59	11,34 ± 6,07	9,10

Chú thích: **, ***, ****: Khác biệt so với lô Mô hình với $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$

Kết quả ở bảng 3 cho thấy: Diclofenac liều 10 mg/kg có tác dụng chống viêm rõ rệt, thể hiện ở tác dụng làm giảm rõ thể tích phù chân chuột ở tất cả các thời điểm sau 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ và 24 giờ sau khi gây viêm cấp so với lô mô hình ($p < 0,001$ và $0,05$). Chuột uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 6 g/kg/ngày có xu hướng giảm thể

tích chân so với lô mô hình ở tất cả thời điểm nghiên cứu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở thời điểm sau 4 giờ tiêm carrageenin với $p < 0,05$. Thể tích chân chuột ở lô uống Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm đo ($p > 0,05$).

Bảng 4. Ảnh hưởng của Cốt thống Tuệ Tĩnh đến thể tích dịch rỉ viêm, số lượng bạch cầu và hàm lượng protein dịch rỉ viêm

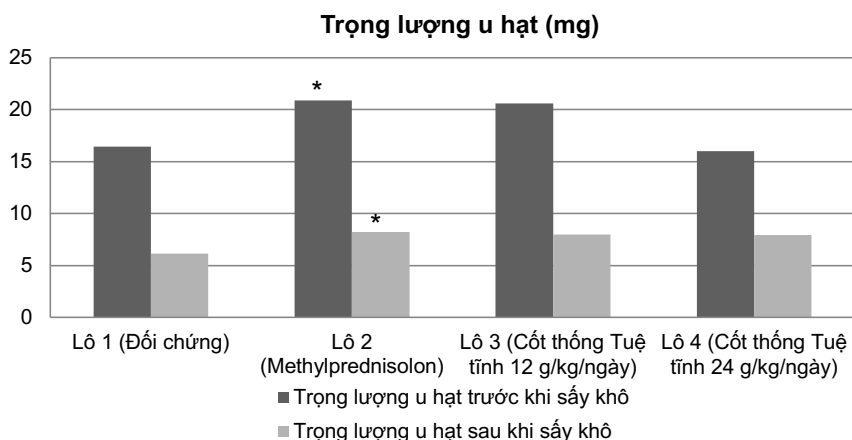
Lô nghiên cứu	n	Thể tích dịch rỉ viêm (mL/100g)	Số lượng bạch cầu ($10^3/\text{mm}^3$)	Hàm lượng protein (g/dL)
Lô 1: Mô hình	10	$5,33 \pm 1,79$	$13,83 \pm 3,24$	$3,31 \pm 0,17$
Lô 2: Diclofenac	10	$3,54 \pm 1,38^*$	$9,03 \pm 2,77^{**}$	$3,12 \pm 0,10^{**}$
Lô 3: Cốt thống Tuệ Tĩnh 6 g/kg/ngày	10	$4,73 \pm 1,62$	$8,27 \pm 3,18^{**}$	$2,90 \pm 0,37^{**}$
Lô 4: Cốt thống Tuệ Tĩnh 12 g/kg/ngày	10	$4,94 \pm 1,29$	$7,97 \pm 2,85^{***}$	$2,84 \pm 0,37^{**}$

Chú thích: *, **, ***: Khác biệt so với lô Mô hình với $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$

Kết quả ở bảng 4 cho thấy: Diclofenac liều 10 mg/kg làm giảm rõ rệt thể tích dịch rỉ viêm, số lượng bạch cầu và hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm so với lô mô hình với lần lượt $p < 0,05$, $p < 0,01$ và $p < 0,01$. Cốt thống Tuệ

Tĩnh liều 6 g/kg/ngày và 12 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm thể tích dịch rỉ viêm so với lô mô hình, làm giảm rõ rệt số lượng bạch cầu và hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm so với lô mô hình.

3. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn của Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh



Biểu đồ 2. Tác dụng của Cốt thống Tuệ Tĩnh lên trọng lượng u hạt trước và sau khi sấy khô

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

Kết quả ở Biểu đồ 2 cho thấy:

Methylprednisolon liều 10 mg/kg/ngày làm giảm có ý nghĩa thống kê trọng lượng khối u hạt sau khi sấy khô so với lô đối chứng (lô 1) với $p < 0,05$; tỷ lệ giảm trọng lượng u hạt so với lô đối chứng là 25,23%. Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày và liều 24 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm trọng lượng khối u hạt sau khi sấy khô so với lô đối chứng (lô 1), tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$); tỷ lệ giảm trọng lượng u hạt so với lô đối chứng lần lượt là 13,04% và 7,82%.

IV. BÀN LUẬN

Tác dụng giảm đau của Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh

Đau thường liên quan đến viêm, các kích thích gây đau làm tăng giải phóng các hoạt chất trung gian của viêm như prostaglandin, bradykinin, histamin, yếu tố tăng trưởng...⁶ Tác dụng giảm đau của Cốt thống Tuệ Tĩnh được thực hiện trên 3 mô hình: 2 mô hình đánh giá tác dụng giảm đau trung ương gồm mô hình mâm nóng và mô hình sử dụng máy tail-flick; và 1 mô hình giảm đau ngoại vi là mô hình gây quặn đau bằng acid acetic. Mô hình mâm nóng và mô hình sử dụng máy tail-flick đánh giá tính hiệu quả của chất thử nghiệm trong đáp ứng với đau do nhiệt độ (mô hình mâm nóng) hay tia bức xạ nhiệt (mô hình tail-flick).⁷ Kết quả nghiên cứu cho thấy Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày có tác dụng giảm đau rõ rệt trên cả 3 mô hình thông qua kéo dài thời gian phản ứng trên mâm nóng và trên máy tail-flick, làm giảm số cơn quặn đau của chuột nhắt trắng so với lô chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Mức liều 24 g/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian phản ứng trên mâm nóng và trên máy tail-flick, và làm giảm rõ rệt số cơn quặn đau trên chuột nhắt trắng.

Tác dụng chống viêm của Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh

Quá trình viêm cấp gồm có 4 triệu chứng điển hình là sưng, nóng, đỏ và đau. Quá trình sưng (phù) là thước đo hiệu quả để đánh giá quá trình viêm trên mô hình gây viêm cấp thực nghiệm. Carrageenin là 1 polysaccharid có nguồn gốc từ các loài tảo. Khi tiêm carrageenin vào gan bàn chân chuột và vào màng bụng làm tăng tính thấm mao mạch, dẫn đến sự rò rỉ dịch huyết tương và protein, với sự di tản bạch cầu trung tính chiếm ưu thế.⁸ Tác dụng chống viêm cấp của Cốt thống Tuệ Tĩnh được thực hiện trên: mô hình gây phù chân chuột bằng caragenin và mô hình gây viêm màng bụng. Trong cả hai mô hình này, diclofenac là một thuốc giảm đau chống viêm được sử dụng làm thuốc chứng dương trong các mô hình này. Kết quả cho thấy, Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 6 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm thể tích chân chuột, đặc biệt ở thời điểm sau 4 giờ tiêm carrageenin ($p < 0,05$), xu hướng làm giảm thể tích dịch rỉ viêm và làm giảm số lượng bạch cầu rõ rệt so với lô mô hình. Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm thể tích dịch rỉ viêm và làm giảm số lượng bạch cầu rõ rệt so với lô mô hình. Như vậy, Cốt thống Tuệ Tĩnh ở hai mức liều thử đã thể hiện tác dụng chống viêm cấp trên chuột cống trắng.

Amian là một silicat chất khoáng chứa sắt, magnesium và calci. Mô hình gây u hạt bằng amian được sử dụng để đánh giá tác dụng của thuốc trên quá trình chống viêm mạn. Trọng lượng ướt của u hạt liên quan đến dịch rỉ viêm và trọng lượng khô của u hạt liên quan đến số lượng các mô của u hạt.⁹ Trong mô hình gây u hạt, methylprednisolon được dùng làm thuốc đối chứng. Kết quả cho thấy, Cốt thống Tuệ Tĩnh ở cả 2 mức liều đều có xu hướng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt ở chuột nhắt trắng.

Các kết quả thu được cho thấy Cốt thống Tuệ Tĩnh có tác dụng giảm đau và chống viêm trên thực nghiệm; các kết quả này là phù hợp

với các báo cáo về tác dụng chống viêm và giảm đau của các thành phần trong Cốt thống Tuệ Tĩnh khi dùng riêng rẽ.^{4,5}

V. KẾT LUẬN

Tác dụng giảm đau trên thực nghiệm: Cốt thống Tuệ Tĩnh ở liều 12 g/kg/ngày (liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng) thể hiện tác dụng giảm đau rõ rệt trên cả 3 mô hình (mô hình mâm nóng, mô hình sử dụng máy tail-flick và mô hình gây quặn đau bằng acid acetic). Cốt thống Tuệ Tĩnh ở liều 24 g/kg/ngày (gấp 2 lần liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng) thể hiện tác dụng giảm đau trên mô hình gây quặn đau bằng acid acetic và có xu hướng giảm đau trên mô hình mâm nóng và mô hình sử dụng máy tail-flick trên chuột nhắt chủng *Swiss*.

Tác dụng chống viêm cấp trên thực nghiệm: Cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh cả 2 liều 6 g/kg/ngày (liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng) và 12 g/kg/ngày (gấp 2 lần liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng) có xu hướng thể hiện tác dụng chống viêm cấp thông qua mô hình gây phù chân chuột và mô hình gây viêm màng bụng trên chuột cống chủng *Wistar*.

Tác dụng chống viêm mạn trên thực nghiệm: Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 g/kg/ngày (liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng) và Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 24 g/kg/ngày (gấp 2 lần liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng) có xu hướng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt ở chuột nhắt trắng chủng *Swiss*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Goodman & Gilman's. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 13e, McGraw Hill Education; 2018.

2. Kabir I, Ansari I. A Review On In Vivo And In Vitro Experimental Models To Investigate The Anti-Inflammatory Activity Of Herbal Extracts. *Asian J Pharm Clin Res*. 2018; 11(11): 29.

3. Patil KR, Mahajan UB, Unger BS, et al. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(18): 4367.

4. Nguyen TD, Thuong PT, Hwang IH, et al. Anti-Hyperuricemic, Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Siegesbeckia orientalis* L. Resulting from the Fraction with High Phenolic Content. *BMC Complement Altern Med*. 2017; 17(1): 191.

5. Kim YJ, Lee JY, Kim HJ, et al. Anti-Inflammatory Effects of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels Water Extract on RAW 264.7 Induced with Lipopolysaccharide. *Nutrients*. 2018; 10(5).

6. Marchand F, Perretti M, McMahon SB. Role of the immune system in chronic pain. *Nat Rev Neurosci*. 2005; 6(7): 521-532.

7. Vogel HG. Analgesic, Anti-inflammatory, and Anti-pyretic Activity. In: Vogel HG, ed. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. Springer; 2008: 983-1116.

8. Giraldele CM, Zappellini A, Muscará MN, et al. Effect of arginine analogues on rat hind paw oedema and mast cell activation in vitro. *Eur J Pharmacol*. 1994; 257(1-2): 87-93.

9. Alemu A, Tamiru W, Nedi T, et al. Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of 80% Methanol Extract of *Leonotis ocymifolia* (Burm.f.) Iwarsson Leaves in Rodent Models. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*. 2018; 2018: 1614793.

Summary

EVALUATION OF ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF “COT THONG TUE TINH” LIQUID EXTRACT IN THE EXPERIMENT

“Cot thong Tue Tinh” liquid extract is a preparation extracted from 7 medicinal herbs including *Siegesbeckia orientalis* L., *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels., *Smilax glabra* Roxb., *Achyranthes Bidentata* Blume, *Cnetum montanum* Mgf., *Citrus reticulata* Blanco, and *Stephania dielsiana* Y. C. Wu. The study aimed to evaluate the analgesic and anti-inflammatory effects of “Cot thong Tue Tinh” liquid extract. The analgesic effect was assessed based on three models: hot plate, tail-flick, and acetic acid-induced writhing on Swiss mice. The acute anti-inflammatory effect was evaluated using two models: carrageenin-induced paw edema and peritonitis in *Wistar* rats and the chronic anti-inflammatory effect was assessed on amian-induced granulomas in *Swiss* mice. As a result, “Cot thong Tue Tinh” at both doses of 12 g/kg/day and 24 g/kg/day showed a significant analgesic effect and chronic anti-inflammatory tendency in the models; “Cot thong Tue Tinh” at doses of 6 g/kg/day and 12 g/kg/day tended to have acute anti-inflammatory effects in *Wistar* rats. In conclusion, “Cot thong Tue Tinh” liquid extract has shown experimental analgesic and anti-inflammatory effects.

Keywords: “Cot thong Tue Tinh” liquid extract, analgesic activity, anti-inflammatory activity, *Swiss* mice, *Wistar* rats.