



Đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan trên động vật thực nghiệm

ANALGESIC EFFECTS OF ICH PHU DAN CAPSULES ON EXPERIMENTAL ANIMALS

Ninh Thị Tố Anh, Phạm Thanh Tùng, Nguyễn Thị Lan

Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan trên động vật thực nghiệm.

Đối tượng và phương pháp: Tiến hành nghiên cứu trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp mâm nóng, phương pháp tail flick, phương pháp gây đau bằng acid acetic.

Kết quả: Viên nang cứng Ích phụ đan liều dùng 1,44 viên/kg/ngày và 2,88 viên/kg/ngày có tác dụng giảm đau so với lô chứng sinh học và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô uống thuốc đối chứng dương.

Kết luận: Mẫu viên nang cứng Ích phụ đan thể hiện có tác dụng giảm đau theo cả cơ chế trung ương và ngoại biên.

Từ khóa: Ích phụ đan, tác dụng giảm đau, động vật thực nghiệm.

SUMMARY

Objectives: The study aimed at evaluating the analgesic effect of Ich phu dan capsules in experimental animal.

Subjects and methods: The research was conducted on white mice by hot plate method, tail flick method, pain method with acetic acid.

Results: Ich phu dan capsules at doses of 1.44 tablets/kg/day and 2.88 tablets/kg/day analgesic effects compared to the biological controls and there was no significant difference statistics compared with the control group.

Conclusions: Ich phu dan tablets contributes analgesic effects in both central and peripheral mechanisms.

Keyword: Ich phu dan, analgesic effects, experimental animals.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Lan

Số điện thoại: 038.315.9757

Email: lannguyenh88@gmail.com

Ngày nhận bài: 2/2/2023

Ngày phản biện: 9/2/2023

Ngày chấp nhận đăng: 14/5/2023

ĐẶT VẤN ĐỀ

Đau là cảm giác khó chịu, xuất hiện cùng lúc với sự tổn thương của các mô tế bào, thông qua cảm giác đau, người bệnh có phản ứng, phản xạ hay rút ra kinh nghiệm để không tiếp tục bị tổn thương [1]. Điều trị đau, y học hiện đại sử dụng các nhóm thuốc NSAIDs, corticoid, thuốc này có tác dụng nhanh và khá hiệu quả, tuy nhiên có nhiều tác dụng không mong muốn. Do đó, xu hướng sử dụng thảo dược và các chế phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên ngày càng được quan tâm. Giải thưởng Nobel y sinh học 2015 được trao cho phát minh ra loại thuốc chống sốt rét Artemisinin được nghiên cứu từ một loại thảo dược của ba nhà khoa học: William C. Campbell (Đại học Drew, New Jersey, Mỹ), Satoshi Omura (Đại học Kitasato, Tokyo, Nhật Bản) và Tu Youyou (Học viện Y học cổ truyền Trung Quốc) đã minh chứng cho điều đó [2]. Việc nghiên cứu các cây thuốc nam dùng trong chữa bệnh cũng được Nhà nước và Bộ Y tế khuyến khích bởi đây là một hướng đi đúng đắn hướng đến mục đích tăng cường cung cấp nguồn thuốc tốt cho cộng đồng xét trên các phương diện tính hiệu quả, tính an toàn, giá thành và tính sẵn có. Ích phụ đan là bài thuốc kinh nghiệm được sử dụng điều trị đau bụng kinh nhiều thập kỷ nay. Theo YHCT bài thuốc có tác dụng bổ khí huyết, hành khí hoạt huyết chỉ thống, điều hòa kinh nguyệt [3]. Để có thêm cơ sở khoa học chứng minh tác dụng của Ích phụ đan, thuận lợi hơn cho người bệnh trong quá trình sử dụng, đề tài tiến hành chuyển dạng thuốc thành dạng viên nang cứng, thử nghiệm trên động vật thực nghiệm nhằm đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc, tạo tiền đề cho thử nghiệm phase I trên người khỏe mạnh tình nguyện.

NGUYÊN LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu nghiên cứu

Viên nang cứng Ích phụ đan với thành phần gồm 361,9 mg cao khô chiết xuất (tỷ lệ cao: 9,09:1) từ hỗn hợp nguyên liệu gồm Ích mẫu 800mg, Hương phụ 600mg, Hoàng kỳ 140mg, Ngải cứu 500mg, Cam thảo 50mg, Xuyên đương quy 500mg, Huyền hồ 400mg, Bạch thược 200mg, Xuyên khung 100mg. Phụ liệu: calcium carbonat, bột talc, muối magnesium stearate, hợp chất sodium benzoate, vỏ nang gelatin vừa đủ 1 viên. Liều lượng, đường dùng: uống mỗi lần 3 viên, ngày uống 2 lần, sau ăn 30 phút.

Thuốc đối chứng dương: Codein photphat 20 mg/kg/ngày và aspirin liều 150 mg/kg/ngày.

Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss cả 2 giống khỏe mạnh, trọng lượng $20 \pm 2g$ do viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

Tất cả động vật được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn riêng cho từng loại tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp nghiên cứu

- Đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan bằng phương pháp mâm nóng [1],[4]:

+ Nguyên tắc: Chuột được chia làm 4 lô, mỗi lô 10 con gồm: lô chứng sinh học, lô uống Codein phosphat 20mg/kg/ngày, lô uống viên nang cứng Ích phụ đan 1,44 viên/kg/ngày, uống viên nang cứng Ích phụ đan 2,88 viên/kg/ngày.

+ Cách tiến hành: Chuột ở các lô được uống nước cất hoặc thuốc thử mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng trong 5 ngày liên tục. Đặt chuột



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.

+ Phương pháp đánh giá: đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ. Phương pháp đo: So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt giữa các lô chuột với nhau.

- Đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan bằng phương pháp máy đo ngưỡng đau [5]:

+ Nguyên tắc: Chuột được chia làm 4 lô, mỗi lô 10 con gồm: lô chứng sinh học, lô uống Codein phosphat 20mg/kg/ngày, lô uống viên nang cứng Ích phụ đan 1,44 viên/kg/ngày, uống viên nang cứng Ích phụ đan 2,88 viên/kg/ngày.

+ Cách tiến hành: Chuột ở các lô được uống nước cất hoặc thuốc thử mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng trong 5 ngày liên tục. Đặt chuột lên máy tail flick, đuôi chuột được đặt vào khe chiếu bức xạ nhiệt tự động. Thời gian phản ứng được tính từ lúc đặt đuôi lên khe chiếu bức xạ nhiệt đến khi chuột có phản xạ vẩy đuôi ra khỏi nguồn nhiệt.

+ Phương pháp đánh giá: Đo thời gian phản ứng của chuột sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ. So sánh thời gian phản ứng giữa các lô chuột với nhau.

- Đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan bằng phương pháp gây quặn đau bằng acid acetic [6],[7]:

+ Nguyên tắc: Chuột được chia làm 4 lô, mỗi lô 10 con gồm: lô chứng sinh học, lô uống Aspirin liều 150mg/kg, lô uống viên nang cứng Ích phụ đan 1,44 viên/kg/ngày, uống viên nang cứng Ích phụ đan 2,88 viên/kg/ngày.

+ Cách tiến hành: Chuột ở các lô được uống nước cất hoặc thuốc thử mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng trong 5 ngày liên tục. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc 1 giờ, tiêm vào ổ bụng mỗi chuột 0,2 ml dung dịch acid acetic 1%.

+ Phương pháp đánh giá: Đếm số cơn quặn đau của từng chuột trong mỗi 5 phút cho đến hết phút thứ 30 sau khi tiêm acid acetic. So sánh số cơn quặn đau của chuột giữa các lô với nhau.

Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được thu thập và xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo t-test-Student và test trước sau (Avant-après). Biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan bằng phương pháp mâm nóng

Nhóm nghiên cứu sử dụng mô hình sử dụng tác nhân nhiệt độ gây đau nhằm đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của thuốc và so sánh với tác dụng của codein liều tương đương lâm sàng. Sau 5 ngày tiến hành thu được kết quả dưới đây:

Codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày có tác dụng kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng ($p < 0,01$). Viên nang cứng Ích phụ đan cả 2 liều 1,44 viên/kg/ngày và 2,88 viên/kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục làm tăng rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng ($p < 0,01$). Thời gian phản ứng với nhiệt độ ở 2 lô dùng viên nang cứng Ích phụ đan không có sự khác biệt với nhau và không có sự khác biệt với lô chuột uống codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang cứng Ích phụ đan lên thời gian phản ứng của chuột nhắt trắng bằng phương pháp mâm nóng

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng (giây)
Lô 1: chứng sinh học	10	12,45 ± 3,97
Lô 2: uống Codein phosphat 20mg/kg/ngày	10	19,05 ± 5,66
p ₂₋₁		< 0,01
Lô 3: uống viên nang cứng Ích phụ đan 1,44 viên/kg/ngày	10	21,14 ± 3,59
p ₃₋₁		< 0,001
p ₃₋₂		> 0,05
Lô 4: uống viên nang cứng Ích phụ đan 2,88 viên/kg/ngày	10	18,78 ± 4,64
p ₄₋₁		< 0,01
p ₄₋₂		> 0,05
p ₄₋₃		> 0,05

Tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan bằng phương pháp tail flick

Sau 5 ngày uống thuốc/nước cất liên tục, nhóm nghiên cứu thu được kết quả sau:

Bảng 2. Tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan lên thời gian phản ứng của chuột nhắt trắng bằng phương pháp tail flick

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng (giây)
Lô 1: chứng sinh học	10	8,26 ± 3,02
Lô 2: uống Codein phosphat 20mg/kg/ngày	10	11,36 ± 1,30
p ₂₋₁		< 0,01
Lô 3: uống viên nang cứng Ích phụ đan 1,44 viên/kg/ngày	10	10,61 ± 1,11
p ₃₋₁		< 0,05
p ₃₋₂		> 0,05
Lô 4: uống viên nang cứng Ích phụ đan 2,88 viên/kg/ngày	10	11,08 ± 2,62
p ₄₋₁		< 0,05
p ₄₋₂		> 0,05
p ₄₋₃		> 0,05

Codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày có tác dụng làm tăng thời gian phản ứng của chuột so với lô chứng sinh học ($p < 0,01$). Viên nang cứng Ích phụ đan cả 2 liều 521,1mg cao khô/kg/ngày và 1042,2mg cao khô/kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục làm tăng thời gian

phản ứng của chuột so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$). Thời gian phản ứng của chuột ở 2 lô dùng viên nang cứng Ích phụ đan không có sự khác biệt với nhau và không có sự khác biệt với lô chuột uống codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày ($p > 0,05$).



Tác dụng giảm đau của viên nang cứng Ích phụ đan bằng phương pháp gây đau bằng acid acetic

Sau 5 ngày uống thuốc/nước cất, nhóm nghiên cứu thu được kết quả sau:

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nang cứng Ích phụ đan lên số cơn quặn đau của chuột nhắt trắng

Lô chuột	n	Số cơn quặn đau (số cơn/ 5 phút)					
		0 - 5 phút	> 5 - 10 phút	> 10 - 15 phút	> 15 - 20 phút	> 20 - 25 phút	> 25 - 30 phút
Lô 1; chứng sinh học	10	6,90 ± 2,13	21,00 ± 5,83	16,30 ± 4,27	13,90 ± 4,36	11,90 ± 3,73	7,70 ± 2,95
Lô 2: uống Aspirin liều 150mg/kg	10	2,90 ± 2,13	14,00 ± 5,64	11,40 ± 4,55	9,70 ± 2,45	8,00 ± 1,25	5,40 ± 1,07
p_{2-1}		<0,01	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,05
Lô 3: uống viên nang cứng Ích phụ đan (1,44 viên/kg/ngày)	10	5,90 ± 2,02	12,80 ± 4,42	10,80 ± 3,97	8,20 ± 3,12	6,40 ± 3,03	4,00 ± 2,26
p_{3-1}		> 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
p_{3-2}		< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 4: uống viên nang cứng Ích phụ đan (2,88 viên/kg/ngày)	10	6,20 ± 3,43	13,90 ± 4,33	10,70 ± 4,69	8,40 ± 3,60	6,50 ± 2,84	4,40 ± 2,12
p_{4-1}		> 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,05
p_{4-2}		< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p_{4-3}		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Nghiên cứu cho thấy viên nang cứng Ích phụ đan liều 1,44 viên/kg/ngày và 2,88 viên/kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục làm giảm số cơn quặn đau ở tất cả các thời điểm nghiên cứu: liều 1,44 viên/kg/ngày có tác dụng giảm đau xuất hiện sớm trong vòng 5 phút kể từ khi

gây đau, nhưng chỉ kéo dài đến 25 phút. Liều 2,88 viên/kg/ngày xuất hiện tác dụng giảm đau sau 5 phút nhưng kéo dài tác dụng đến 30 phút sau gây đau. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số cơn đau quặn khi so sánh 2 lô với nhau và so với lô uống aspirin.



KẾT LUẬN

Viên nang cứng Ích phụ đơn liều dùng 1,44 viên/kg/ngày và 2,88 viên/kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục thấy có tác dụng giảm đau khi nghiên cứu tác dụng giảm đau bằng:

- Phương pháp hâm nóng: thể hiện bằng tăng rõ rệt thời gian chuột phản ứng với nhiệt độ so với lô chứng sinh học và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô uống codein phosphat 20 mg/kg/ngày.

- Phương pháp tail flick: thể hiện bằng tăng thời gian phản ứng của chuột so với lô chứng sinh học và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô uống codein phosphat 20 mg/kg/ngày.

- Phương pháp gây quặn đau bằng acid acetic: thể hiện bằng giảm rõ rệt số cơn quặn đau ở các thời điểm nghiên cứu (trừ thời điểm 0 đến 5 phút) so với lô chứng sinh học và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô uống aspirin 150 mg/kg/ngày.

Như vậy, qua nghiên cứu bước đầu cho thấy viên nang cứng Ích phụ đơn có tác dụng giảm đau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vogel HG, Chapter H. *Analgesic, Anti-Inflammatory, and Anti-Pyretic Activity*, 2016. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological*

Assays, pp.983-1116.

2. Wesley C Van Voorhis , Rob Hooft van Huijsduijnen, Timothy N C Wells. Profile of William C. Campbell, Satoshi Ōmura, and Youyou Tu. *Nobel Laureates in Physiology or Medicine. Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015 Dec 29,112(52), pp.15773-15776.

3. Nguyễn Nhược Kim chủ biên. *Phương tế học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2015.

4. Mishra D, Ghosh G, Kumar PS, et al. An experimental study of analgesic activity of selective COX-2 inhibitor with conventional NSAIDs. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2011, 4(1), pp.78-81.

5. Funai Y, Pickering AE, Uta D, et al. Systemic dexmedetomidine augments inhibitory synaptic transmission in the superficial dorsal horn through activation of descending noradrenergic control: an in vivo patch-clamp analysis of analgesic mechanisms. *Pain*, 2014,155(3), pp.617-628.

6. Đỗ Trung Đàm. *Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2017, tr.17-426.

7. Daniel Le Bars, et al. Animal Models of Nociception, *Pharmacological Reviews*, 2001, 53(4), pp. 597- 652.