



Nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm, giảm ho, long đờm của cao cát sâm

STUDY ON THE ANTI-INFLAMMATORY, ANTITUSSIVES AND EXPECTORANT EFFECTS OF MILLETTIA SPECIOSA EXTRACTION

Vũ Đức Lợi^{1,2}, Nguyễn Thúc Thu Hương¹,
Lê Hồng Dương¹, Nguyễn Thị Mai¹, Phạm Thị Minh Hải³

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Học viện Y-Dược học cổ truyền Việt Nam

³Khoa Dược, Trường Đại học Đại Nam

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm ho, long đờm của cao cát sâm trên chuột cống trắng, chuột nhắt trắng.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Thử nghiệm tác dụng chống viêm của cao cát sâm trên chuột cống trắng theo phương pháp gây phù chân chuột bằng carageenin của Winter C.A. Đánh giá tác dụng giảm ho bằng phương pháp N.A.Roe trên chuột nhắt trắng. Đánh giá tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp của Yu P.

Kết quả: Cao chiết của cát sâm liều 11,2g và 5,6g cao chiết/kg thể trọng chuột có tác dụng giảm phù viêm chân chuột có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$ và $< 0,05$). Cao cát sâm cả 2 liều làm kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho trên chuột nhắt trắng gây ra bởi amoniac, làm giảm số cơn ho ở thời điểm 10 phút, mức giảm tương ứng 9,83 và 15,16%. Cao cát sâm có xu hướng làm thay đổi mật độ quang ở bước sóng 265nm và làm tăng nhẹ mức độ hấp thụ quang chứng tỏ có tác dụng long đờm tuy nhiên tác dụng còn yếu.

Kết luận: Cao chiết của cát sâm liều 11,2g và 5,6g cao chiết/kg thể trọng chuột có tác dụng giảm phù viêm chân chuột, có tác dụng kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho trên chuột nhắt trắng gây ra bởi amoniac, có khả năng ức chế trực tiếp các cơn ho tại 10 thời điểm nghiên cứu gần tương đương với codein liều 20mg/kg/ngày và có tác dụng long đờm tuy nhiên tác dụng còn yếu.

Từ khóa: Cát sâm, chống viêm, giảm ho, long đờm, *Millettia speciosa*.

SUMMARY

Objectives: To evaluate of the anti-inflammatory, cough relief and expectorant effects of *Millettia speciosa* extraction in Swiss mice and Wistar rats.

Subjects and methods: Testing the anti-inflammatory effect of *Millettia speciosa* extraction on mice using the carageenin method of causing mice paw edema by Winter C.A. Evaluate the cough suppressant effect using the N.A.Roe method on mice. Evaluate the expectorant effect on mice using the method of Yu P.

Results: *Millettia speciosa* extraction at doses of 11.2g and 5.6g extraction/kg had statistically significant effects on reducing paw inflammation compared to the control group ($p < 0.01$ and < 0.05). *Millettia speciosa* extraction at both doses prolonged the potential duration of cough in ammonia-induced white mice, reduce the number of coughs at 10 minutes, the reductions were 9.83 and 15.16% respectively. *Millettia speciosa* extraction tended to change the optical density at 265nm and slightly increase the optical absorption, so *Millettia speciosa* extraction had expectorant effect, but the effect was still weak.

Tác giả liên hệ: Vũ Đức Lợi
Số điện thoại: 0917879959
Email: ducloi82@gmail.com

Ngày nhận bài: 20/4/2023
Ngày phân biện: 11/5/2023
Ngày chấp nhận đăng: 25/8/2023

Conclusions: *Millettia speciosa* extraction at doses of 11.2g and 5.6g extract/kg weight had statistically significant effects on reducing paw inflammation compared, had the effect of prolonging the duration of cough in white mice caused by ammonia and directly inhibiting coughs at 10 study time points was almost equivalent to that of codeine at a dose of 20mg/kg/day. *Millettia speciosa* extraction had expectorant effect, but the effect is still weak.

Keywords: Anti-inflammatory, cough relief, expectorant effect, *Millettia speciosa*.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây cát sâm (*Millettia speciosa* Champ.) là loài cây được sử dụng phổ biến trong dân gian với mục đích trị các bệnh ho có đờm, hay bị sốt về đêm, đau nhức đầu, kém ăn, suy nhược cơ thể, các bệnh lao phổi, viêm phế quản, viêm khớp, viêm gan, lợi tiểu...[1]. Một số nghiên cứu thực vật học trước đây đã cho thấy 12 hợp chất được phân lập từ rễ củ của cây cát sâm có các mức độ chống đông máu bằng cách khác nhau khi dùng phương pháp điện di mao mạch [2]. Hợp chất Medicarpin và maackiain trong rễ củ cây cát sâm, có khả năng chống lại các tế bào bệnh bạch cầu (HL-60) và ức chế bài tiết bạch cầu từ các tế bào RBL-2H3 [3]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh flavonoid có đặc tính kháng khuẩn, chống viêm và chống oxy hóa [4], [5].

Ở Việt Nam, cát sâm mọc hoang nhiều tại vùng núi Tây Bắc như tại tỉnh Tuyên Quang. Theo Y học cổ truyền, vị thuốc cát sâm có tính bình vị cam, quy vào các kinh phế, tỳ; Công năng: Sinh tân dịch, chỉ khát, nhuận phế, lợi tiểu; Chủ trị: Tân dịch hao tổn, háo khát, ho do phế nhiệt, đái buốt rất. Khi sao vàng thì cát sâm bỏ tỳ, ích khí, tiêu đờm. Tẩm gừng ích tỳ, tẩm mật bồi dưỡng cơ thể, chủ trị cơ thể suy yếu, nhức đầu, khát nước, sốt về chiều, bí tiểu tiện [6], [7]. Cho đến nay, các nghiên cứu về loài này trên thế giới cũng như ở Việt Nam còn tương đối ít. Vì vậy, đề tài tiến hành đánh giá tác dụng chống viêm, giảm ho, long đờm của cao cát sâm nhằm làm sáng tỏ hơn tác dụng dược lý của cây cát sâm.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Cao chiết từ rễ củ cây cát sâm theo quy trình: Rễ củ cây cát sâm đã thái phiến, sấy khô (3,5 kg), nghiền nhỏ 1-3 mm, được chiết Soxhlet trong 6-8 giờ bằng nước cất. Gộp dịch chiết và cô quay chân không dưới áp suất giảm tới khi thu được cao lỏng toàn phần, đem cô tạo cao đặc. Sau đó đem sấy trong tủ sấy thu được cao khô (300,3g cao khô, độ ẩm <5%).

Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cân nặng từ 18 - 22g,

khỏe mạnh.

Chuột cống trắng chủng Wistar, cả 2 giống, cân nặng từ 180 – 200 g, khỏe mạnh.

Chuột do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Dược 3 - 5 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột, uống nước tự do.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp đánh giá tác dụng chống viêm:

Cách tiến hành: Theo phương pháp gây phù chân chuột cống trắng bằng carrageenin của Winter C. A và công sự đã công bố [8]. Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô:

+ Lô 1: (đối chứng): Uống nước cất 1ml/100 g;

+ Lô 2: Uống aspirin liều 200mg/kg/ngày;

+ Lô 3: Uống mẫu nghiên cứu cao chiết liều dự kiến 5,6 g/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng);

+ Lô 4: Uống mẫu nghiên cứu cao chiết liều dự kiến 11,2 g/kg/ngày (liều gấp 2 lần lô 3).

Chuột được uống thuốc 4 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 4, gây viêm bằng carrageenin 1% pha trong nước muối sinh lý 0,1 ml/chuột tiêm vào gan bàn chân sau bên phải của chuột. Đánh giá kết quả vào các thời điểm: 6 giờ và 24 giờ. Kết quả được tính theo công thức của Fontaine:

$$X (\%) = (V_t - V_o) / V_o \times 100 \quad (1)$$

Trong đó:

V_o: thể tích chân chuột trước khi gây viêm

V_t: thể tích chân chuột sau khi gây viêm

X%: độ tăng thể tích chân chuột

Sau đó tính trung bình tỷ lệ % độ tăng thể tích chân của các chuột trong mỗi lô.

Tỷ lệ % ức chế phù của lô thử so với lô chứng được tính theo công thức (2):

$$I\% = (X_c.tb\% - X_t.tb\%) / X_c.tb\% \times 100 \quad (2)$$

Trong đó:

I%: tỷ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột.

X_{c.tb}%: Trung bình tỷ lệ % độ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng.



Xt.tb%: Trung bình tỷ lệ % độ tăng thể tích chân chuột ở lô thử.

Phương pháp đánh giá tác dụng giảm ho:

Tiến hành nghiên cứu theo phương pháp sử dụng chất đối dương codein phosphate của N. A. Roe và cộng sự đã công bố [9].

Nghiên cứu tiến hành trên chuột nhắt trắng được chia thành 4 lô, mỗi lô 10 con: Lô 1 (đối chứng): Uống nước cất, thể tích 0,2ml/10 g;

Lô 2: Uống codein phosphate liều 20mg/kg/ngày;

Lô 3: Uống dịch cao chiết cát sâm liều dự kiến 5,6g cao/kg/ngày (12 là hệ số tương đương giữa người và chuột nhắt trắng);

Lô 4: Uống dịch cao chiết cát sâm liều dự kiến 11,2g cao/kg/ngày. Chuột được uống thuốc thử liên tục trong 3 ngày vào các buổi sáng. Ngày thứ 3 sau khi uống thuốc thử 1 giờ, tiến hành gây ho cho cả 4 lô chuột bằng khí amoniac liều 0,5ml/ bình thủy tinh chuyên dụng. Xác định thời gian tiềm tàng (t) là thời gian tính từ khi thả chuột vào bình đến khi chuột xuất hiện cơn ho đầu tiên và đếm số cơn ho trong mỗi một phút cho đến hết phút thứ 10.

Phương pháp đánh giá tác dụng long đờm:

Tiến hành nghiên cứu theo phương pháp sử dụng chất đối chứng N-acetylcystein của Yu P và cộng sự đã công bố [9].

Nghiên cứu tiến hành trên chuột nhắt trắng được chia thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

Lô 1 (chứng): Uống nước cất với thể tích 20 ml/kg/ngày;

Lô 2 (đối chiếu): Uống dung dịch N-acetylcystein 120 mg/kg/ngày;

Lô 3: Uống cao cát sâm liều 5,6 g/kg/ngày;

Lô 4: Uống cao cát sâm liều 11,2 g/kg/ngày.

Cho chuột uống thuốc thử với liều như trên trong 3 ngày. Ngày thứ 3, sau uống thuốc 1 giờ, tiêm màng bụng cho tất cả các chuột dung dịch phenol đỏ 0,25% với liều 25 ml/ kg. Sau 30 phút tiêm nhắc lại một liều như vậy. Chờ 30 phút sau, giết chuột bằng gây ngạt hơi chloroform, bóc lộ khí quản và luồn vào đó một kim tù. Rửa khí quản bằng cách dùng bơm tiêm lấy 0,5 ml dung dịch NaHCO3 5% bơm vào khí quản, hút nhẹ nhàng rồi chuyển vào trong một ống nghiệm đã được đánh dấu từ trước, làm như vậy 3 lần đối với mỗi con, tập trung dịch rửa của cùng một con trong một ống nghiệm (thể tích dịch rửa thu được của các chuột bằng nhau). Ly tâm dịch rửa lấy dịch trong. Định lượng đỏ phenol được tiết ra dịch tiết đường hô hấp của hòng chuột có trong dịch rửa, đo độ hấp thụ quang (ABS) của dịch rửa ở bước sóng 265nm, độ hấp thụ quang của dung dịch tương ứng với lượng phenol đỏ tiết ra trong dịch tiết khí quản chuột càng nhiều, độ hấp thụ quang càng lớn thì khả năng long đờm càng tốt. So sánh độ hấp thụ quang trung bình của các lô dùng thuốc so với lô chứng và đối chứng dương.

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu thực nghiệm được xử lý thống kê theo phương pháp thống kê sinh học, sử dụng công cụ Data analysis của Microsoft Excel. Kết quả thí nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình cộng/ trừ sai số chuẩn (M±SE). Đánh giá, so sánh giữa các lô thí nghiệm bằng phương pháp thống kê sử dụng chuẩn t-Student [4].

Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đáp ứng các yêu cầu về đạo đức khi tiến hành trên chuột thí nghiệm.

KẾT QUẢ

Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm

Bảng 1. Tác dụng chống viêm cấp của cao chiết cát sâm trên mô hình gây phù chân chuột

Lô chuột nghiên cứu	% giảm phù viêm so với chứng			
	Sau 2 giờ (V2)	Sau 4 giờ (V4)	Sau 6 giờ (V6)	Sau 24 giờ (V24)
Aspirin liều 200mg/kg/ngày	56,39 p < 0,001	46,09 p < 0,001	48,58 p < 0,001	58,42 p < 0,001
Cao chiết liều 11,2g/kg/ngày	-3,02 p > 0,05	3,18 p > 0,05	1,68 p > 0,05	32,46 p < 0,01
Cao chiết liều 5,6g/kg/ngày	- 28,40 p > 0,05	-8,73 p > 0,05	-2,33 p > 0,05	17,84 p < 0,05

Các giá trị p: so với chứng ở cùng thời điểm

Cao chiết của cát sâm liều 11,2g và 5,6g cao chiết/kg ttc có tác dụng giảm phù viêm chân chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại thời điểm sau uống thuốc 24 giờ ($p < 0,01$ và $< 0,05$), các thời điểm 2, 4, 6 giờ

sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trong khi lô chứng dương dùng Aspirin với liều 200 mg/kg có tác dụng chống viêm rất rõ rệt tại tất cả các thời điểm nghiên cứu so với lô chứng với các giá trị $p < 0,001$.

Kết quả đánh giá tác dụng giảm ho

Bảng 2. So sánh tác dụng giảm ho của cao cát sâm với nhóm chứng

Lô chuột	Thời gian tiềm tàng (giây)	p
Lô 1: Chứng	50,06 ± 15,68	
Lô 2: Codein 20 mg/kg/ngày	76,71 ± 14,92	$p < 0,05$
Lô 3: Cao cát sâm liều 5,6 g/kg/ngày	93,68 ± 25,56	$p < 0,05$
Lô 4: Cao cát sâm liều 11,2 g/kg/ngày	86,62 ± 26,32	$p < 0,05$

Cao cát sâm cả 2 liều làm kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho trên chuột nhắt trắng gây ra bởi amoniac, tác dụng này gần tương đương với codein liều 20mg/kg/ngày.

Bảng 3. So sánh tác dụng của cao cát sâm lên số cơn ho thời điểm 10 phút

Lô chuột	Số cơn ho	p
Lô 1: Chứng	3,56 ± 1,16	
Lô 2: Codein 20mg/kg/ngày	1,58 ± 1,20	$p < 0,01$
Lô 3: Cao cát sâm liều 5,6g/kg/ngày	3,21 ± 2,34	$p > 0,05$
Lô 4: Cao cát sâm liều 11,2g/kg/ngày	3,02 ± 1,64	$p > 0,05$

Cao cát sâm ở cả 2 liều thử nghiệm có xu hướng làm giảm số cơn ho ở thời điểm 10 phút, mức giảm tương ứng 9,83 và 15,16%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ so với lô chứng.

Về tác dụng ức chế trực tiếp các cơn ho tại 10 thời điểm nghiên cứu, cao cát sâm ở cả 2 liều nghiên cứu đều thể hiện tác dụng gần tương đương codein liều 20mg/kg/ngày.

Kết quả đánh giá tác dụng long đờm

Bảng 4. So sánh tác dụng long đờm của cao cát sâm với nhóm chứng

Lô chuột	Định lượng đồ phenol (ml/kg)	p
Lô 1: Chứng	0,171 ± 0,029	
Lô 2: Chứng dương (N-acetyl cystein liều 120 mg/kg)	0,341 ± 0,062	$p < 0,05$
Lô 3: Cao cát sâm liều 5,6 g/kg/ngày	0,244 ± 0,051	$p > 0,05$
Lô 4: Cao cát sâm liều 11,2 g/kg/ngày	0,292 ± 0,028	$p > 0,05$

Dịch rửa phế quản ở những lô chuột uống acetylcystein, cao cát sâm ở cả hai liều làm tăng nhẹ mức độ hấp thụ. Kết quả nghiên cứu cho thấy cao cát sâm có xu hướng làm thay đổi mật độ quang ở bước

sóng 265nm và làm tăng nhẹ mức độ hấp thụ quang. Như vậy, cao cát sâm có tác dụng long đờm tuy nhiên tác dụng còn yếu (vì chỉ làm tăng nhẹ nồng độ đồ phenol trong dịch rửa khí phế quản chuột nhắt trắng).



BÀN LUẬN

Tác dụng chống viêm

Thử tác dụng chống viêm cấp của dịch chiết cây cát sâm theo mô hình gây phù chân chuột cống trắng bằng carrageenan, một mô hình kinh điển để đánh giá tác dụng chống viêm của một hoạt chất hay một dược liệu. Kết quả cho thấy cao chiết của cát sâm liều 11,2g và 5,6g cao chiết/kg thể trọng chuột có tác dụng giảm phù viêm chân chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại thời điểm sau uống thuốc 24 giờ ($p < 0,01$ và $< 0,05$).

Tác dụng giảm ho

Ho là một phản xạ sinh lý bảo vệ cơ thể tổng những dị vật tại đường hô hấp ra khỏi cơ thể đồng thời cũng là một triệu chứng của nhiều loại bệnh thuộc đường hô hấp hoặc bệnh của các cơ quan khác trong cơ thể có ảnh hưởng đến chức năng hô hấp. Ho là triệu chứng của phế thường gặp ở các bệnh viêm đường hô hấp trên, viêm phế quản, viêm phổi, giãn phế quản v.v... Kết quả nghiên cứu cho thấy cao cát sâm ở cả 2 liều làm kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho trên chuột nhắt trắng gây ra bởi amoniac, tác dụng này gần tương đương với codein liều 20 mg/kg/ngày. Bên cạnh đó, cao cát sâm ở cả 2 liều thử nghiệm có xu hướng làm giảm số cơn ho ở thời điểm 10 phút, mức giảm tương ứng 9,83 và 15,16%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ so với lô chứng. Về tác dụng ức chế trực tiếp các cơn ho tại 10 thời điểm nghiên cứu, cao cát sâm ở cả 2 liều nghiên cứu đều thể hiện tác dụng gần tương đương codein liều 20mg/kg/ngày.

Tác dụng long đờm

Theo Y học cổ truyền, đờm do tân dịch ngưng tụ gây ra và ảnh hưởng đến phế, tỳ, thận. Kết quả nghiên cứu cho thấy cho thấy dịch rửa phế quản ở những lô chuột uống acetylcystein, cao cát sâm ở cả hai liều làm tăng nhẹ mức độ hấp thụ. Cao cát sâm có xu hướng làm thay đổi mật độ quang ở bước sóng 26 nm và làm tăng nhẹ mức độ hấp thụ quang. Như vậy, cao cát sâm có tác dụng long đờm tuy nhiên tác dụng còn yếu (vì chỉ làm tăng nhẹ nồng độ đồ phenol trong dịch rửa khí phế quản chuột nhắt trắng).

KẾT LUẬN

Cao cát sâm liều 11,2g và 5,6g cao khô/kg thể trọng chuột có tác dụng giảm phù viêm chân chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại thời điểm sau uống thuốc 24

giờ ($p < 0,01$ và $< 0,05$). Về tác dụng giảm ho, cao cát sâm cả 2 liều làm kéo dài thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho trên chuột nhắt trắng gây ra bởi amoniac, tác dụng này gần tương đương với codein liều 20mg/kg/ngày. Cao cát sâm ở cả 2 liều thử nghiệm có xu hướng làm giảm số cơn ho ở thời điểm 10 phút, mức giảm tương ứng 9,83 và 15,16%. Về tác dụng ức chế trực tiếp các cơn ho trong 10 phút, cao cát sâm ở cả 2 liều nghiên cứu đều thể hiện tác dụng gần tương đương codein liều 20mg/kg/ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy cao cát sâm có xu hướng làm thay đổi mật độ quang ở bước sóng 26 nm và làm tăng nhẹ mức độ hấp thụ quang nên cao cát sâm có tác dụng long đờm tuy nhiên tác dụng còn yếu.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài: “Nghiên cứu phát triển nguồn dược liệu và tạo sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh viêm đường hô hấp từ cây Cát sâm (*Millettia speciosa* Champ) trồng tại tỉnh Tuyên Quang”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jena, R., et al. A review on genus *Millettia*: Traditional uses, phytochemicals and pharmacological activities. *Saudi Pharm J*, 2020, 28(12), pp. 1686-1703.
2. Zhang, S., et al. Interactions between thrombin and natural products of *Millettia speciosa* Champ. using capillary zone electrophoresis, 2008, 29(16), pp. 3391-3397.
3. Uchiyama, T., M. Furukawa, and S.J.H. Isobe. New oleanane-type triterpene saponins from *Millettia speciosa*. 2003, 60(3), pp. 655-661.
4. Ahmad, A., et al. Therapeutic potential of flavonoids and their mechanism of action against microbial and viral infections—A review, 2015, 77, pp. 221-235.
5. Sasaki, T., et al. Antioxidant lignoids from leaves of *Ribes nigrum*, 2013, 95, pp. 333-340.
6. Bộ Y tế. *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, 2018.
7. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Hồng Đức, 2007.
8. Winter, C.A., E.A. Risley, and G.W. Nuss. Carrageenin-Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1962, 111(3), pp. 544-547.
9. Tạ Thanh Hà. *Nghiên cứu thuốc xịt họng HL*, 2011, Trường Đại học Y Hà Nội.