



Nghiên cứu tính kích ứng da và tác dụng giảm đau của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh trên động vật thực nghiệm

STUDY ON SKIN IRRITATION AND ANALGESIC EFFECTS OF COT THONG TUE TINH SPRAY ON EXPERIMENTAL ANIMALS

Nguyễn Thị Minh Thu¹, Phan Trường Vũ¹

Phạm Quốc Sự¹, Bùi Thị Hảo¹, Phạm Thị Vân Anh²

¹ Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam, ² Đại học Y Hà Nội

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tính kích ứng da thỏ và tác dụng giảm đau của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh trên chuột nhắt trắng.

Đối tượng và phương pháp: Thử kích ứng da thỏ theo hướng dẫn của Bộ Y tế và OECD. Thử tác dụng giảm đau bằng phương pháp dùng nhiệt kích thích và châm kim. Ở mỗi thử nghiệm, chuột được chia thành 4 lô, mỗi lô 10 con, trong đó 1 lô chứng âm được xịt nước cất, 1 lô chứng dương xịt Salonpas Jet Spray và 2 lô còn lại dùng Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh.

Kết quả: Với liều 1,0 ml bôi trên da thỏ diện tích 2,5 cm x 2,5 cm, mẫu thử không gây viêm, ban đỏ hay phù nề da thỏ. Với liều 0,36 ml, mẫu thử có tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với đau do nhiệt ($p < 0,001$), làm tăng có ý nghĩa thống kê lực gây đau và thời gian phản ứng với đau do châm kim so với trước khi dùng thuốc ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).

Kết luận: Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh và hỗn hợp Xịt Cốt thống-ethanol 70° (1:1) không gây kích ứng da thỏ, đồng thời có tác dụng giảm đau trung ương và giảm đau ngoại vi ở chuột nhắt trắng với liều 0,36 ml/ngày.

Từ khóa: Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh, kích ứng da, mô nóng, châm kim, tác dụng giảm đau.

SUMMARY

Objectives: To assess whether Cot Thong Tue Tinh spray causes rabbits' skin irritation and has analgesic effect on mice.

Subject and methods: Skin irritation testing on rabbits was conducted following the guidelines of the Ministry of Health and the OECD. The analgesic effect was evaluated by thermal stimulation (hot plate) and needle prickling methods. In each experiment, mice were divided into 4 groups, 10 animals each, of which the negative control group was sprayed with distilled water, the positive control group was sprayed with Salonpas Jet Spray and the remaining 2 groups were given Cot Thong Tue Tinh spray.

Results: With a dose of 1.0 ml applied to rabbit skin in an area of 2.5 cm x 2.5 cm, the test sample did not cause inflammation, erythema, or edema. Additionally, at a dose of 0.36 ml, the test sample had effects including prolonging heat-pain response time ($p < 0.001$), statistically significant increase in pain force and pain reaction time due to needling compared to those before applying the test samples ($p < 0.05$ and $p < 0.01$).

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Minh Thu

Số điện thoại: 0912750167

Email: minhthunimpe@gmail.com

Mã DOI: <https://doi.org/10.60117/vjmap.v54i01.270>

Ngày nhận bài: 03/11/2023

Ngày phản biện: 26/01/2024

Ngày chấp nhận đăng: 28/05/2024



Conclusions: *Cot Thong Tue Tinh spray as well as its combination with ethanol 70° (1:1) did not irritate rabbits' skin and had both central and peripheral analgesic effects in mice at a dose of 0.36 ml/day.*

Keywords: *Cot Thong Tue Tinh spray, skin irritation, hot plate, needle prickling, analgesic effect.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiều bệnh lý của cơ thể được biểu hiện bằng triệu chứng đau, trong đó có bệnh lý về xương khớp. Bên cạnh các thuốc hóa dược có tác dụng giảm đau như các opioid hay NSAIDs, nhiều thuốc có nguồn gốc dược liệu cũng thể hiện tác dụng giảm đau tốt và được áp dụng trong điều trị ở nhiều nước, như: Nghệ được dùng để trị đau dạ dày, nụ đinh hương có thành phần eugenol có tác dụng gây tê và giảm đau, quả anh đào có tác dụng trị đau do viêm khớp, do gout, ...

Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh được bào chế từ 5 vị dược liệu, dựa trên kinh nghiệm một bài thuốc nam, đã được gia giảm gồm địa liền (giảm đau, chống viêm, hạ sốt), củ dền (trừ phong, giảm sưng đau), thiên niên kiện (trừ phong thấp, mạnh gân cốt), quế chi (hoạt huyết, trừ hàn, trị đau khớp) và can khương (hồi dương, thông mạch, gây tê thần kinh trung khu vận động). Các vị dược liệu này được sử dụng trong dân gian để chữa đau lưng, đau đầu, đau xương khớp, đau dạ dày,...[1],[2],[3]. Cho đến nay, mới có một vài nghiên cứu về tác dụng giảm đau của quế chi khi phối hợp với các dược liệu khác [4], chưa có nghiên cứu nào đánh giá độc tính và tác dụng giảm đau của chế phẩm phối hợp 5 vị dược liệu trên.

Với mục tiêu phát triển Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh thành sản phẩm thuốc dùng ngoài, dạng xịt trong điều trị các chứng đau, nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá khả năng kích ứng da, tác dụng giảm đau trung ương và ngoại vi của mẫu thử trên động vật thực nghiệm.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu: Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh do Viện nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh nghiên cứu và phát triển, được sản xuất tại công ty TNHH Bách Thảo Dược, đạt TCCS. Các dược

liệu đạt tiêu chuẩn ĐVN V hoặc TCCS, gồm: Địa liền 8 g, củ dền 1 g, thiên niên kiện 8 g, quế chi 2 g, can khương 2 g, ethanol 70° vừa đủ 100 ml. Sản phẩm là thuốc xịt với dung dịch trong suốt, màu vàng đậm, có mùi thơm đặc trưng, được đóng chai xịt định liều. Mỗi nhát xịt tương ứng 0,12 ml dịch chiết.

Động vật: Thỏ trưởng thành (*Oryctolagus cuniculus* L.), 12 con, cân nặng trung bình $2,1 \pm 0,2$ kg, 2 tháng tuổi, khỏe mạnh, không phân biệt đực - cái, do Trung tâm Nghiên cứu dê và thỏ Sơn Tây cung cấp, được nuôi ổn định 7 ngày trong điều kiện thí nghiệm trước khi tiến hành nghiên cứu. Động vật cái không mang thai, không nuôi con bú và chưa sinh sản lần nào.

Chuột nhắt trắng (*Mus musculus* L.), chủng Swiss, tổng số 80 con, 4 - 5 tuần tuổi, trọng lượng 20 ± 2 g, trưởng thành, khỏe mạnh, không phân biệt đực cái, do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp, được nuôi ổn định 3 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

Thiết bị, dụng cụ: Máy đo mức đau Dynamic Planta Aesthesiometer 37450 (Ugo Basile, Italya), kẹp, tông đơ điện, kéo, cốc thủy tinh chia vạch, băng gạc, đồng hồ bấm giờ.

Hóa chất và thuốc dùng trong nghiên cứu: Nước cất 2 lần, ethanol 70°, Salonpas Jet spray (Hisamitsu), lô Y6A6N, hạn dùng 19/6/2025, SĐK VN-21768-19. Mỗi 100 g dịch thuốc gồm methyl salicylate 10 g, L-menthol 3 g.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 4 đến tháng 11 năm 2023, tại Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam và Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp tiến hành

Thử tác dụng kích ứng da: Theo hướng dẫn của Bộ Y tế và OECD [5], [6].

Chuẩn bị động vật: Trước ngày thí nghiệm, làm sạch lông thỏ ở vùng hai bên sườn đều về hai bên cột sống một khoảng đủ rộng để đặt các



mẫu thử và đối chứng (khoảng 10 cm x 15 cm). Chỉ những thỏ có da khỏe mạnh, đồng đều và lành lặn mới được dùng vào thí nghiệm.

Đặt mẫu thử: Chuẩn bị mẫu thử: Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh và Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh pha trong ethanol 70°, tỷ lệ 1:1.

Lô 1 (n = 6): Đặt lên vùng bên sườn trái mỗi thỏ 1 miếng gạc tẩm dung dịch trong Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh và 1 miếng gạc tẩm ethanol 70°, cách nhau 3 cm. Làm tương tự như vậy với vùng bên sườn phải. Như vậy, có 12 miếng gạc tẩm dung dịch trong Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh và 12 miếng gạc tẩm ethanol 70°.

Lô 2 (n = 6): Đặt lên vùng bên sườn trái mỗi thỏ 1 miếng gạc tẩm dung dịch trong Xịt cốt thống

Tuệ Tĩnh pha với ethanol 70° (1:1) và 1 miếng gạc tẩm nước cất, cách nhau 3 cm. Làm tương tự như vậy với vùng bên sườn phải.

Lượng chất thử hoặc dung môi trên mỗi miếng gạc là 1,0 ml. Tẩm mẫu thử hoặc dung môi lên miếng gạc không gây kích ứng kích thước 2,5 cm x 2,5 cm có độ dày thích hợp rồi đắp lên da. Cố định miếng gạc bằng băng dính không gây kích ứng trong 24 giờ. Sau đó bỏ gạc và băng dính, làm sạch mẫu thử còn lại trên da.

Quan sát và ghi điểm: Quan sát và ghi điểm phản ứng trên chỗ da đặt chất thử so với da không đặt chất thử ở các thời điểm 1 giờ, 4 giờ và 6 giờ sau khi làm sạch mẫu thử. Đánh giá phản ứng trên da ở các mức độ gây ban đỏ, phù nề theo qui định ở bảng sau.

Mức độ phản ứng trên da thỏ

	Phản ứng	Điểm đánh giá
Sự tạo vảy và ban đỏ	Không ban đỏ	0
	Ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
	Ban đỏ nhận thấy rõ	2
	Ban đỏ vừa phải đến nặng	3
	Ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) đến tạo thành vảy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ	4
Gây phù nề	Không phù nề	0
	Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
	Phù nề nhận thấy rõ (viền phù nề phồng lên rõ)	2
	Phù nề vừa phải (da phồng lên khoảng 1mm)	3
	Phù nề nghiêm trọng (da phồng lên trên 1mm và có lan rộng ra vùng xung quanh)	4
Tổng số điểm kích ứng tối đa có thể		8

Những thay đổi khác trên da sẽ được theo dõi và ghi chép đầy đủ.

Đánh giá kết quả: Trên mỗi thỏ, điểm phản ứng được tính bằng tổng số điểm ở hai mức độ ban đỏ và phù nề chia cho số lần quan sát. Điểm kích ứng của mẫu thử được lấy trung bình điểm phản ứng của các thỏ đã thử.

Trong trường hợp có dùng mẫu đối chứng, điểm phản ứng của mẫu thử được trừ đi số điểm của mẫu đối chứng. Chỉ sử dụng các điểm tại thời gian quan sát ở 6 giờ để tính kết quả. Đối chiếu điểm kích ứng với các mức độ quy định ở bảng sau để xác định khả năng gây kích ứng trên da thỏ của mẫu thử:

Phân loại các phản ứng trên da thỏ

Loại phản ứng	Điểm trung bình
Kích ứng không đáng kể	0-0,5
Kích ứng nhẹ	> 0,5-2,0
Kích ứng vừa phải	> 2,0-5,0
Kích ứng nghiêm trọng	> 5,0 - 8,0



Nghiên cứu tác dụng giảm đau bằng phương pháp kích thích bằng nhiệt:

Chia chuột nhắt trắng thành 4 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (n = 10): Xịt nước cất lên bàn chân chuột, mỗi ngày xịt 3 nhát, mỗi nhát xịt cách nhau 3 phút, × 7 ngày liên tiếp.

- Lô 2 (n = 10): Xịt Salonpas Jet spray lên bàn chân chuột, mỗi ngày xịt 3 nhát, mỗi nhát xịt cách nhau 3 phút, × 7 ngày liên tiếp.

- Lô 3 (n = 10): Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh pha với ethanol 70o (1:1) lên bàn chân chuột, mỗi ngày xịt 3 nhát, mỗi nhát xịt cách nhau 3 phút, × 7 ngày liên tiếp.

- Lô 4 (n = 10): Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh lên bàn chân chuột, mỗi ngày xịt 3 nhát, mỗi nhát xịt cách nhau 3 phút, × 7 ngày liên tiếp.

Trước xịt thuốc lên 4 bàn chân chuột, đặt từng chuột lên mâm nóng đã được duy trì nhiệt độ ổn định ở 56°C bằng hệ thống ổn nhiệt. Tính thời gian từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột có biểu hiện co chân sau lên hoặc liếm chân. Loại bỏ những chuột có phản ứng quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây).

Sau đó, xịt nước cất hoặc thuốc theo liều lượng ở từng lô như trên, mỗi chuột xịt 3 lần, cách nhau 3 - 5 phút để thuốc ngấm vào da, rồi đặt chuột lên mâm nóng và ghi lại thời gian phản ứng của chuột như đã mô tả ở trên. So sánh thời gian phản ứng với nhiệt trước và sau khi dùng thuốc. Làm như vậy liên tục trong 7 ngày và lấy giá trị trung bình. [7]

Thử nghiệm đo độ đau ở chân bằng phương pháp châm kim:

Chia chuột nhắt trắng thành 4 lô, mỗi lô có 10 con, gồm:

- Lô 1 (n = 10): Xịt nước cất lên bàn chân chuột, 3 nhát, mỗi nhát xịt cách nhau 3 phút.

- Lô 2 (n = 10): Xịt Salonpas Jet spray lên bàn chân chuột, 3 nhát, mỗi nhát xịt cách nhau 3 phút.

- Lô 3 (n = 10): Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh pha với ethanol 70o (1:1) lên bàn chân chuột, 3 nhát, mỗi nhát xịt cách nhau 3 phút.

- Lô 4 (n = 10): Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh lên bàn chân chuột, 3 nhát, mỗi nhát xịt cách nhau 3 phút.

Trước khi xịt nước cất hoặc mẫu thử, đặt từng

chuột lên máy, đo lực gây đau và thời gian phản ứng với đau. Sử dụng tác nhân cơ học (đầu kim) tác động vào gan bàn chân chuột với lực gây đau ban đầu là 5 gam (để tránh tổn thương mô) và tốc độ lực là 0,5 gam/giây. Chuột sẽ phản ứng bằng cách rút gan bàn chân ra khỏi đầu kim. Ghi lại lực gây đau và thời gian phản ứng đau của từng chuột. Sau đó, xịt nước cất hoặc thuốc thử cho chuột theo liều lượng ở từng lô như trên, mỗi chuột xịt 3 lần, cách nhau 3 - 5 phút để thuốc ngấm vào da. Mỗi ngày, sau lần xịt thuốc cuối 3 - 5 phút, đặt chuột lên máy, đo lực gây đau và thời gian phản ứng với đau. So sánh lực gây đau và thời gian phản ứng với đau trước và sau khi dùng thuốc [8].

Chỉ tiêu đánh giá:

Tác dụng kích ứng da: Những thay đổi bất thường trên da, cho điểm đánh giá sự tạo vảy và ban đỏ, đánh giá khả năng gây phù nề của mẫu thử.

Tác dụng giảm đau: Thời gian phản ứng với nhiệt (giây), lực gây đau (gam), thời gian phản ứng với đau (giây).

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 4 đến tháng 11 năm 2023, tại Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam và Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu nghiên cứu được biểu thị bằng trị số $\bar{X} \pm SD$.

Số liệu được xử lý bằng chương trình Excel (Microsoft XP) theo phương pháp thống kê y học với cỡ mẫu nhỏ (< 30), sử dụng Student's t-test và Fisher's exact test để so sánh các số liệu trước, trong và sau thử nghiệm và so sánh giữa lô dùng thuốc và lô chứng.

Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các quy định về thử nghiệm trong nghiên cứu y sinh học. Động vật sau thử nghiệm được loại bỏ theo quy định. Số liệu được phản ánh trung thực, khách quan với phương pháp khoa học.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Ảnh hưởng của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh đến khả năng kích ứng da thỏ



Hình 1. Ảnh chụp da thử thực nghiệm (Bên trái: Vùng da chứng; Bên phải: Vùng da đặt chất thử)

Ở hai lô thử thử nghiệm với Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh và hỗn hợp Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 70° (1:1), trong và sau thời gian theo

Bảng 1. Ảnh hưởng của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh tới thời gian phản ứng với nhiệt của chuột nhắt trắng (n = 10)

Lô	Thời gian phản ứng với nhiệt, trung bình 7 ngày (giây, TB $\bar{X} \pm SD$)		P (Trước - Sau)
	Trước	Sau	
Lô 1: Xịt nước cất	15,38 ± 0,65	15,54 ± 0,56	>0,05
Lô 2: Xịt Salonpas Jet spray	15,42 ± 0,72	16,63 ± 0,66	< 0,001
Lô 3: Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 70° (1:1)	15,70 ± 0,64	16,52 ± 0,67	< 0,05
Lô 4: Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh	15,60 ± 0,62	16,70 ± 0,60	< 0,05
p(1 - 2), p(1 - 3), p(1 - 4), p(2 - 3)*, p(2 - 4)*, p(3 - 4)*	> 0,05	< 0,05; * > 0,05	

Thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở lô chứng trước và sau khi xịt nước cất khác nhau không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Trước khi dùng thuốc, chuột ở cả 4 lô đều có thời gian phản ứng với nhiệt tương đương nhau (các giá trị p>0,05). Sau khi xịt thuốc, chuột ở các lô 2, 3 và 4 đều có thời gian phản

đổi, vùng da đặt thuốc thử vẫn bình thường, không có dấu hiệu ban đỏ, không bị kích ứng và không phù nề. Vùng da đặt chất thử và vùng da chứng tương tự nhau (hình 1).

Thử tác dụng giảm đau

Trước, trong và sau 7 ngày dùng thuốc, các chuột sẽ được ghi thời gian phản ứng với nhiệt để đánh giá ảnh hưởng. Kết quả trung bình của 7 ngày được thể hiện như sau:

ứng với nhiệt tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc (các giá trị p<0,001 và p<0,05), nhưng giữa các lô dùng thuốc, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Thời gian phản ứng với nhiệt sau khi dùng thuốc ở các lô 2, 3 và 4 so với lô 1 tăng có ý nghĩa thống kê (các giá trị p<0,05).

Bảng 2. Ảnh hưởng của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh đến thời gian phản ứng với nhiệt ở chuột nhắt trắng được gây đau cơ học

Lô	Thời gian phản ứng nhiệt (giây)		p (Thời gian, Trước - Sau)
	Trước	Sau	
Lô 1: Xịt nước cất	4,66 ± 0,6	4,86 ± 0,32	> 0,05
Lô 2: Xịt Salonpas Jet spray	4,59 ± 0,48	5,76 ± 0,32	4,5E-06 (< 0,001)
Lô 3: Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 70° (1:1)	4,75 ± 0,46	5,28 ± 0,45	0,019 (< 0,05)
Lô 4: Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh	4,69 ± 0,59	5,53 ± 0,36	0,0011 (< 0,01)
p(1 - 2), p(1 - 3), p(1 - 4), p(2 - 3), p(2 - 4)*, p(3 - 4)**	> 0,05	< 0,01; * và ** > 0,05	

Thời gian phản ứng với đau trước khi dùng thuốc của lô chứng và tất cả các lô dùng thuốc không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

(p>0,05). Ở lô dùng Xịt Salonpas Jet spray, thời gian phản ứng với đau sau khi dùng thuốc tăng lên có ý nghĩa thống kê so với xịt mẫu



thử ($p < 0,001$). Ở hai lô mẫu thử, thời gian phản ứng với đau sau khi dùng thuốc cũng tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng ($p < 0,05$ và $< 0,01$). Thời gian phản ứng với đau của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 70° (1:1) so với Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

Ảnh hưởng của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh đến khả năng kích ứng da thỏ

Việc xác định tính an toàn của thuốc được coi là một trong những điều kiện tiên quyết trước khi áp dụng một loại thuốc mới vào điều trị cho cộng đồng. Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh trong nghiên cứu là chế phẩm dự định dùng ngoài da, dưới dạng xịt với tác dụng giảm đau. Để có cơ sở khoa học, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu tác dụng gây kích ứng da thỏ và tác dụng giảm đau trên chuột nhắt trắng. Các thử nghiệm tiến hành theo hướng dẫn của OECD [5] và Bộ Y tế [6].

Động vật được lựa chọn nghiên cứu đường bôi da là thỏ hoặc chuột. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn thỏ vì da thỏ mỏng, diện tích da lớn nên có thể tạo được vùng da bôi thuốc thử có diện tích đủ lớn để quan sát các dấu hiệu tại chỗ trên da như ban đỏ, phù nề, xung huyết, teo nang lông, bội nhiễm,... nếu có. Chỉ sử dụng các điểm tại thời gian quan sát ở 6 giờ để tính kết quả.

Các thỏ được chọn đều khỏe mạnh, đồng lứa, vùng da được chọn không có tổn thương để đảm bảo hạn chế sai số trong nghiên cứu. Kết quả cho thấy, cả Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh và hỗn hợp Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 70° (1:1) đều không gây kích ứng da thỏ sau khi cho tiếp xúc với mẫu thử (1,0 ml/mẫu) tại các thời điểm 1, 4, 6 và 24 giờ. Không có hiện tượng da bị ban đỏ, phù nề hay viêm. Các vùng da đặt mẫu thử tương tự vùng da đặt mẫu chứng (hình 1). Điều đó chứng tỏ, Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh và hỗn hợp Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 70° (1:1) đều không gây kích ứng da thỏ và mẫu thử có thể sử dụng để bôi hay xịt ngoài da.

Chưa có nghiên cứu nào tiến hành đánh giá tính an toàn của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh trên

thực nghiệm và lâm sàng. Đây là nghiên cứu đầu tiên đánh giá độc tính trên của mẫu thử trên động vật thí nghiệm.

Tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bằng phương pháp mâm nóng

Phương pháp mâm nóng (hot plate) [7] dùng tác nhân là nhiệt độ để đánh giá tác dụng giảm đau của các thuốc có cơ chế tác dụng giảm đau như nhóm opioid hoặc các thuốc có tác dụng gây tê như menthol hay lidocaine. Vì vậy, Xịt Salonpas Jet spray được chọn là thuốc đối chứng dương, do trong thành phần có chứa menthol.

Trong nghiên cứu này, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở lô chứng trước và sau khi xịt nước cất trong 7 ngày khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trước khi dùng thuốc, chuột ở cả 4 lô đều có thời gian phản ứng với nhiệt tương đương nhau ($p > 0,05$), cho thấy các chuột được lựa chọn vào nghiên cứu có đáp ứng đau tương đối đồng đều. Sau khi xịt thuốc, chuột ở các lô 2, 3 và 4 đều có thời gian phản ứng với nhiệt tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc ($p < 0,001$). Kết quả trên chứng tỏ, Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh và hỗn hợp Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 700 (1:1) có tác dụng giảm đau tốt, làm tăng rõ rệt thời gian để chuột đáp ứng với đau do nhiệt ($p < 0,001$ và $p < 0,05$). Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh có tác dụng giảm đau tốt hơn hỗn hợp Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 700 (1:1) ($p < 0,001$). Ngoài ra, tác dụng giảm đau Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh tương đương tác dụng giảm đau của Xịt Salonpas Jet spray ($p < 0,001$).

Một số tác giả trên thế giới cũng sử dụng phương pháp mâm nóng để đánh giá tác dụng giảm đau của chế phẩm dạng xịt và sử dụng lidocaine (có tác dụng gây tê ngọn sợi thần kinh, giảm đau do gây tê) làm chất đối chứng. Gao Wei-song và cộng sự (2009) đã nghiên cứu tác dụng giảm đau của chế phẩm Yatongling Spray trên chuột nhắt trắng [9] hoặc nghiên cứu của Sneha Ranade và cộng sự năm 2017 [10].

Tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bằng phương pháp châm kim

Mô hình gây đau bằng phương pháp châm kim [4] dùng tác nhân cơ học (đầu kim) tác động vào gan bàn chân chuột để đánh giá tác dụng



giảm đau của các thuốc có cơ chế tác dụng giảm đau ngoại biên như nhóm giảm đau chống viêm không steroid (NSAIDs). Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng Xịt Salonpas Jet spray là thuốc đối chứng dương, do có thành phần methyl salicylat là chất thuộc nhóm NSAIDs.

Bảng 2 cho thấy, lô chứng và tất cả các lô dùng thuốc không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về lực gây đau và thời gian phản ứng với đau tại thời điểm trước khi dùng thuốc ($p > 0,05$). Ở lô dùng Xịt Salonpas Jet spray, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau sau khi dùng thuốc tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước uống thuốc (các giá trị $p < 0,001$). Ở cả hai lô dùng Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh và hỗn hợp Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 700 (1:1), lực gây đau và thời gian phản ứng với đau sau khi dùng thuốc cũng tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc ($p < 0,05$ và $p < 0,01$). Lực gây đau và thời gian phản ứng với đau của hai lô dùng Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh và hỗn hợp Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 700 (1:1) khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Các kết quả trên cũng phù hợp với ứng dụng trong y học cổ truyền của nhiều nước. Theo đó, các thành phần dược liệu trong Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh được dùng để giảm đau nhức xương khớp, đau mỗi cơ, rất hiệu quả trong điều trị đau mỗi vai gáy, thắt lưng, nhức mỗi cơ khớp [1],[2],[3].

Như vậy, kết quả 2 thí nghiệm trên cho thấy, Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh có tác dụng giảm đau trên cả 2 mô hình với 2 tác nhân gây đau là nhiệt độ và vật lý. Tác dụng giảm đau của Xịt cốt thống Tuệ Tĩnh tương đương với tác dụng giảm đau của Xịt Salonpas Jet spray.

KẾT LUẬN

Thử nghiệm khả năng kích ứng da và tác dụng giảm đau của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh và hỗn hợp Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh - ethanol 700 (1:1) đã cho thấy:

Với liều 1,0 ml bôi trên da thử diện tích 2,5 cm x 2,5 cm, mẫu thử không gây kích ứng da thử, không có dấu hiệu ban đỏ và không gây phù nề trên thử thực nghiệm.

Với liều 0,36 ml, mẫu thử có tác dụng giảm đau với mô hình gây đau bằng nhiệt và cơ học ở các lô thử nghiệm so với lô chứng ($p < 0,001$ và $p < 0,005$). Tác dụng giảm đau của Xịt Cốt thống Tuệ Tĩnh tương đương với tác dụng của Xịt Salonpas Jet spray.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- BỘ Y TẾ.** *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2017.
- ĐỖ TẮT LỢI.** *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản thời đại, 2011.
- ĐỖ HUY BÍCH, ĐẶNG QUANG CHUNG và CS.** *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, 2006, Tập I, Tập II.
- Huỳnh Thị Kiều Nương, Nguyễn Ngọc Chi Lan, Nguyễn Hoàng Ngân, Lê Minh Hoàng.** Nghiên cứu tác dụng giảm đau của bài thuốc Hoàng kỳ quế chi ngũ vật thang trên động vật thực nghiệm. *Tạp Chí Y học Việt Nam*, 2022, 519(2).
- OECD.** *OECD Guidelines for testing of Chemicals, Acute Dermal Irritation/Corrosion*, 2015, N.404.
- BỘ Y TẾ.** *Tiêu chuẩn giới hạn vi khuẩn, nấm mốc trong mỹ phẩm và phương pháp thử kích ứng trên da*, Quyết định số 3113/1999/QĐ-BYT ngày 11 tháng 10 năm 1999 của Bộ trưởng Bộ Y tế, 1999.
- Gerhard Vogel H.** *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer, 2016, pp.669-774.
- Deuis J. R., Dvorakova L. S., Vetter I.** Method used to evaluate pain behaviors in rodents. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10, pp.284.
- GAO Wei-song, ZHU Jian-ping.** Analgesic effect of Yatongling Spray on experimental pain in mice. *China Academic Journal Electronic Publishing House*, 2009, 14 (5), pp.528-530.
- Sneha Ranade, Amrita Bajaj, Vaishali Londhe, Najib Babul, Danny Kao.** Fabrication of topical metered dose film forming sprays for pain management. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, Volume 100, pp.132-141.