

Đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ trên thực nghiệm

EVALUATING THE ANALGESIC EFFECT OF AN DA CAPSULES IN EXPERIMENTS

Vũ Đức Lợi¹, Phạm Thị Anh¹, Hà Quý Anh²

¹Học viện Y-Dược học cổ truyền Việt Nam

²Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ trên thực nghiệm.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ bằng hai phương pháp: mâm nóng, rê kim trên chuột nhắt trắng chủng Swiss.

Kết quả: Viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày, 1056 mg/kg/ngày trong 7 ngày làm tăng lực gây phản xạ đau, thời gian đáp ứng với đau so với trước khi uống mẫu thử, mức tăng so với lô chứng sinh học không có ý nghĩa thống kê. Viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày trong 7 ngày tăng thời gian phản ứng với nhiệt độ so với: Trước khi uống mẫu thử, lô chứng sinh học không có ý nghĩa thống kê. Viên nang An Dạ liều 1056 mg/kg/ngày trong 7 ngày tăng thời gian phản ứng với nhiệt độ so với: Trước khi uống mẫu thử, lô chứng sinh học có ý nghĩa thống kê.

Kết luận: Viên nang An Dạ liều 1056 mg/kg/ngày uống trong 7 ngày trên chuột nhắt trắng có tác dụng giảm đau trên phương pháp mâm nóng, không có tác dụng giảm đau trên phương pháp rê kim. Viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày uống trong 7 ngày trên chuột nhắt trắng không tác dụng giảm đau trên phương pháp mâm nóng và phương pháp rê kim.

Từ khóa: Viên nang An Dạ, giảm đau, phương pháp rê kim, phương pháp mâm nóng, chuột nhắt trắng.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the analgesic effect of An Da capsules in experiments.

Subjects and methods: The analgesic effect of An Da capsules was studied using two methods: Hot plate and needle prick on Swiss white mice.

Results: An Da capsules administered at doses of 528 mg/kg/day and 1056 mg/kg/day for 7 days increased pain reflex force and pain response time compared to pre-treatment levels; however, these changes were not statistically significant when compared to the blank control group. At a dose of 528 mg/kg/day for 7 days, An Da capsules increased the response time to temperature compared to both pre-treatment and the blank control group, but this difference was not statistically significant. In contrast, the 1056 mg/kg/day dose for 7 days significantly increased the response time to temperature compared to both pre-treatment and the blank control group.

Conclusions: An Da capsules administered orally at a dose of 1056 mg/kg/day for 7 days in white mice showed an analgesic effect in the hot plate test, but not in the needle prick test. At a lower dose of 528 mg/kg/day, An Da capsules did not have analgesic effects in either the hot plate or needle prick test.

Keywords: An Da capsules, analgesic, needle prick method, hot plate method, white mice.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*) tại Trung Quốc được sử dụng cho bệnh ho lao, đau họng, sốt cao, ho ra máu, nôn ra máu, và đi tiểu đau, được sử dụng bên ngoài cho các vết loét, nhọt và chất độc sưng tấy [1]. Theo Từ điển cây thuốc Việt Nam tập 2 (Võ Văn Chi) Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*) dùng toàn cây, vị ngọt, nhạt tính mát, có tác dụng hóa đàm tán kết [2]. Trên thế giới có một số nghiên cứu về tác dụng sinh học và bước đầu giải thích

cơ chế tác dụng giảm đau của Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*) qua cơ chế ức chế sản xuất NO với các thành phần được phân lập từ lá cây [3],[4]. Tuy nhiên, nghiên cứu tác dụng giảm đau trên thực nghiệm và lâm sàng của Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*) hiện chưa có nhiều. Viên nang An Dạ có thành phần chính là Cỏ rươi lá bắc, để có thêm cơ sở khoa học trước khi điều trị trên người bệnh chúng tôi thực hiện nghiên cứu với mục tiêu: Đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ trên thực nghiệm.



ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chất liệu nghiên cứu

Mẫu viên nang An Dạ (550mg/viên) gồm: 400mg Cao khô Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*), tá dược (tinh bột, magnesium stearate, talc, aerosil): Vừa đủ 550mg một viên (sản phẩm của đề tài mã số ĐTĐL.CN-27/21 do Vũ Đức Lợi chủ trì đề tài, bào chế và cung cấp). Liều dùng trên người dự kiến: 4 viên/ngày tương đương 2200mg bột dược liệu/ngày.

Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, thuần chủng, khỏe mạnh, trọng lượng 20 ± 2 g do Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

Hóa chất, dung môi, máy móc, dụng cụ và thuốc

Codein phosphat, cồn 70 độ, Máy Hot Plate, Máy đo ngưỡng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 (Ugo Basile, Ý). Dụng cụ và vật liệu dùng trong nghiên cứu (bông, khay, gạc, kéo, panh...).

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 05 năm 2024 đến tháng 09 năm 2024.

Địa điểm nghiên cứu: Viện Nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh - Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam và Trung tâm Dược lý lâm sàng - Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp mê nóng:

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm, có nhóm chứng.

Tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ (Viết tắt: MNC) được đánh giá bằng phương pháp mê nóng.

Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu:

Cỡ mẫu: 44 chuột nhắt trắng

Cách tiến hành: Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 11 con.

- Lô 1 (Chứng sinh học): Uống nước cất liều 0,2 mL/10 g/ngày.
- Lô 2: Uống Codein phosphat 20 mg/kg.
- Lô 3: Uống mẫu MNC liều 528 mg/kg/ngày.
- Lô 4: Uống mẫu MNC liều 1056 mg/kg/ngày.

Chuột các lô được uống nước hoặc thuốc mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 7 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 2 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. 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 uống thuốc thử [6].

Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp rê kim:

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm, có nhóm chứng.

Tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ (Viết tắt: MNC) được đánh giá bằng phương pháp rê kim.

Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu:

Cỡ mẫu: 44 chuột nhắt trắng.

Cách tiến hành: Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 11 con.

- Lô 1 (Chứng sinh học): Uống nước cất liều 0,2 mL/10 g/ngày.
- Lô 2: Uống Codein phosphat 20 mg/kg.
- Lô 3: Uống mẫu MNC liều thấp 528 mg/kg/ngày.
- Lô 4: Uống mẫu MNC liều cao 1056 mg/kg/ngày.

Chuột các lô được uống nước hoặc thuốc mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, với thể tích 0,2 mL/10g/ngày trong 7 ngày liên tục. Đo thời gian phản ứng với đau của chuột và lực gây đau đối với chuột (sử dụng máy Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của Ugo Basile) trước khi uống thuốc và sau khi uống thuốc lần cuối cùng 2 giờ. So sánh thời gian phản ứng với kích thích đau trước và sau khi uống thuốc thử [6].

Các chỉ số đánh giá:

Phương pháp mê nóng:

- Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước khi uống thuốc thử (s).
- Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt sau khi uống thuốc thử (s).

Phương pháp rê kim:

- Thời gian phản ứng với kích thích đau trước khi uống thuốc thử (s).
- Thời gian phản ứng với kích thích đau sau khi uống thuốc thử (s).
- Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau trước khi uống thuốc thử (gam).
- Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau sau khi uống thuốc thử (gam).



Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019, SPSS 22.0, Probit. Các giá trị ở mỗi lô được tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn ($\bar{X} \pm SD$). So sánh hai giá trị trung bình: Test t-student. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột, số lượng chuột

sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế của Bộ Y tế.

KẾT QUẢ

Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau theo phương pháp mâm nóng

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang An Dạ đến thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng

Lô chuột (n = 11)	Thời gian phản ứng với nhiệt độ (s)		p _{trước-sau}
	Trước	Sau	
Lô 1 (Chứng sinh học)	16,36 ± 3,12	15,98 ± 2,41	> 0,05
Lô 2 (Codein 20 mg/kg)	14,18 ± 3,01	21,20 ± 5,46**	< 0,001
Lô 3 (MNC 528 mg/kg/ngày)	16,29 ± 4,90 p ₃₋₂ >0,05 p ₃₋₁ >0,05	18,58 ± 4,94 p ₃₋₂ >0,05 p ₃₋₁ >0,05	> 0,05
Lô 4 (MNC 1056 mg/kg/ngày)	14,40 ± 2,98 p ₄₋₃ >0,05 p ₄₋₁ <0,05 p ₄₋₂ <0,05	20,03 ± 4,16* p ₄₋₃ >0,05 p ₄₋₁ <0,05 p ₄₋₂ <0,05	< 0,01

(*p<0,05, **p<0,01, khi so sánh với nhóm chứng)

Không có khác biệt có ý nghĩa thống kê về thời gian phản ứng với nhiệt độ ở tất cả các lô nghiên cứu tại thời điểm trước uống thuốc (p>0,05).

Codein 20 mg/kg/ngày có tác dụng kéo dài rõ rệt có ý nghĩa thống kê về thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống codein (p<0,001) và so với lô chứng sinh học (p<0,01).

Liều 528 mg/kg/ngày: Có xu hướng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc và so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Liều 1056 mg/kg/ngày: Kéo dài có ý nghĩa thống kê thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc (p<0,01) và so với lô chứng sinh học (p<0,05).

Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau theo phương pháp rê kim

Bảng 2. Tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ trên chuột nhắt trắng bằng máy đo phản ứng đau

Lô chuột (n = 11)	Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau (gam)		p sự thay đổi lực gây đau so với lô chứng sinh học	Thời gian phản ứng đau (s)		p sự thay đổi thời gian phản ứng đau so với lô chứng sinh học
	Trước	Sau		Trước	Sau	
Lô 1 (Chứng sinh học)	8,12 ± 1,29	8,09 ± 1,26		4,68 ± 0,84	4,66 ± 0,78	
Lô 2 (Codein 20mg/kg/ngày)	8,65 ± 1,12	10,11 ± 1,48	< 0,01	4,93 ± 0,67	5,81 ± 0,92	<0,01
p _{trước-sau}	< 0,01			< 0,01		
Lô 3 (MNC liều 528 mg/kg/ngày)	7,26 ± 1,85	8,67 ± 2,04	> 0,05	4,11 ± 1,12	4,97 ± 1,23	>0,05
p _{trước-sau}	< 0,05			<0,05		



Lô 4 (MNC liều 1056 mg/kg/ngày)	7,37 ± 0,91	8,94 ± 1,28	> 0,05	4,11 ± 0,59	5,15 ± 0,77	>0,05
p trước-sau	< 0,05			<0,01		

Không có sự khác biệt về lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau của chuột ở tất cả các lô nghiên cứu tại thời điểm trước uống thuốc ($p > 0,05$).

Codein 20mg/kg/ngày có tác dụng làm tăng rõ rệt có ý nghĩa thống kê lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột (p so với lô chứng sinh học và p so với trước khi uống codein đều có $p < 0,01$).

MNC ở cả hai liều nghiên cứu đều làm tăng có ý nghĩa thống kê lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc ($p < 0,05$), tuy nhiên mức tăng này chưa khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

Codein là một dẫn chất của phenanthren, có tên khác là methylmorphin, nhóm methyl thay thế vị trí của hydro ở nhóm hydroxyl liên kết với nhân thơm trong phân tử morphin, do vậy codein có tác dụng dược lý tương tự morphin, tức là có tác dụng giảm đau và giảm ho. Codein bị chuyển hóa ở gan bởi khử methyl (tại vị trí O- và N-methyl trong phân tử) tạo thành morphin, norcodein và những chất chuyển hóa khác như normorphin và hydrocodon. Sự chuyển hóa thành morphin gián tiếp chịu tác dụng của cytochrom P450 isoenzym CYP2D6 và tác dụng này rất khác nhau do ảnh hưởng của cấu trúc gen. So với morphin, codein được hấp thu tốt hơn ở dạng uống, ít gây táo bón và ít gây co thắt mật hơn. Codein và muối của nó có tác dụng giảm đau trong trường hợp đau nhẹ và vừa [7]. Trong nghiên cứu này sử dụng Codein phosphat làm thuốc đối chứng nhằm đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang An Dạ trên mô hình rê kim và mâm nóng.

Phương pháp rê kim sử dụng tác nhân gây đau là yếu tố cơ học thông qua thời gian phản ứng với đau và cường độ lực gây đau để đánh giá tác dụng giảm đau của Viên nang An Dạ trên chuột. Kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày và 1056 mg/kg/ngày trong 7 ngày liên tục đều làm tăng có ý nghĩa thống kê lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc ($p < 0,05$), tuy nhiên mức tăng này chưa khác biệt rõ rệt so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$). Có thể kết luận viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày và 1056 mg/kg/ngày trong 7 ngày trên chuột nhắt trắng không có tác dụng giảm đau với tác nhân cơ học khi đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp rê kim.

Phương pháp mâm nóng dùng nhiệt tác động vào da

và bộ phận nhận cảm giác đau gồm các loại thụ cảm thể nhận kích thích nhiệt. Khi kích thích bằng nhiệt, có sự dẫn truyền từ ngoại vi về tủy sống, từ tủy sống kích thích lên não, chuột có phản xạ liếm chân sau. Kết quả nghiên cứu cho thấy, viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày có xu hướng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc và so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê với ($p > 0,05$); Viên nang An Dạ liều 1056 mg/kg/ngày uống 7 ngày liên tục có xu hướng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi uống thuốc có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) và so với lô chứng sinh học có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Kết quả nghiên cứu trên đồng thuận với hướng giải thích về tác dụng giảm đau của thành phần chính viên nang An Dạ là Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*). Khi các đại thực bào được hoạt hóa, việc sản sinh quá mức nitric oxid (NO) thông qua NO synthase cảm ứng (iNOS) là một trong những yếu tố gây viêm, ngoài ra nitric oxid (NO) là một phân tử truyền tin đa năng có tác dụng thư giãn nội mô có vai trò trong sự nhạy cảm với cơn đau [1]. Nghiên cứu đánh giá dược lý của các đồng dạng synthase oxid nitric và sự đa dạng hạ lưu của tín hiệu NO trong việc duy trì tình trạng quá mẫn cảm về nhiệt và cơ học sau chấn thương dây thần kinh ngoại biên ở chuột đã chỉ ra nNOS và iNOS đều tham gia vào việc sản xuất NO để duy trì cơn đau thần kinh [3]. Trong nghiên cứu phân lập các hoạt chất và thử tác dụng trên iNOS ở các đại thực bào được hoạt hóa bởi lipopolysaccharid (LPS) của Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*), các thành phần hóa học được phân lập từ lá của Cỏ rươi lá bắc (*Murdannia bracteata*) gồm bracteanolid A, bracteanolid B, và isovitexin ức chế sự sản sinh nitric oxid (NO), hạn chế các tổn thương viêm khác nhau ở mô khi đại thực bào sản xuất quá nhiều NO [4].

KẾT LUẬN

Viên nang An Dạ liều 1056 mg/kg/ngày uống trong 7 ngày trên chuột nhắt trắng có tác dụng giảm đau trên phương pháp mâm nóng, không có tác dụng giảm đau trên phương pháp rê kim. Viên nang An Dạ liều 528 mg/kg/ngày uống trong 7 ngày trên chuột nhắt trắng không tác dụng giảm đau trên phương pháp mâm nóng và phương pháp rê kim.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Nhà nước, mã số: ĐTĐL.CN-27/21.



TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Yonehara, M Takemura, M Yoshimura, K Iwase, H G Seo, N Taniguchi, Y Shigenaga.** Nitric oxide in the rat spinal cord in Freund's adjuvant-induced hyperalgesia. *Jpn. J. Pharmacol*, 1997, pp.327–335.
2. **Võ Văn Chí.** Từ điển cây thuốc Việt Nam tập 2, Nhà xuất bản Y Học, 2012, pp.542.
3. **Mitsuo Tanabe, Yoshinori Nagatani, Kazuya Saitoh, Keiko Takasu, Hideki Ono.** Pharmacological assessments of nitric oxide synthase isoforms and downstream diversity of NO signaling in the maintenance of thermal and mechanical hypersensitivity after peripheral nerve injury in mice. *Neuropharmacology*, 2009, 56, pp.702–708.
4. **Guei Jane Wang, Shih Ming Chen, Wei Chou Chen, Yu Min Chang, Tzong Huei Lee.** Selective inducible nitric oxide synthase suppression by new bracteanolides from *Murdannia bracteata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 112, pp.221–227.
5. **H. Gerhard Vogel, Wolfgang H. Vogel.** Chapter: Analgesic, AntiInflammatory, and Anti-Pyretic Activity. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. 3rd edition, Springer, 2008, pp.670–773.
6. **Funai Y, P.A., Uta D.** 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.
7. **Bộ Y tế.** Codein Photphat. *Dược thư Quốc gia Việt Nam*, Hà Nội, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ Thuật, 2015, tr.459–460.