

Tài liệu tham khảo

1. Kalia L. V., Lang A. E. (2015), Parkinson's disease, *Lancet*, 386(9996), 896-912.
2. Rizek P., Kumar N., Jog M. S. (2016), An update on the diagnosis and treatment of parkinson disease, *CMAJ (Canadian Medical Association journal)*, 188(16), 1157-1165.
3. Reiter L. T., Potocki L., Chien S., Gribskov M., Bier E. (2001), A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*, *Genomeresearch*, 11(6), 1114-1125.
4. Mel B. (2000), A *Drosophila* model of parkinson's disease, *Nature*, 400, 394-398.
5. Nichols C. D., Becnel J., Pandey U. B. (2012), Methods to assay *Drosophila* behavior, *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 61, e3795.
6. Gerber B., Biernacki R., Thum J. (2013), Odor-taste learning assays in *Drosophila* larvae, *Cold Spring Harbor Protocols*, 2013(3).
7. Pham Thanh Ky, Pham Thanh Huong, Than Kieu My, Pham Tuan Anh, Phan Van Kiem, Chau Van Minh, Nguyen Xuan Cuong, Nguyen Phuong Thao, Nguyen Xuan Nhiem, Jae-Hee Hyun, Hee-Young Kang, Yong Ho Kim (2010), Dammarane-type saponins from *Gynostemma pentaphyllum*, *Phytochemistry*, 71(8-9), 994-1001.
8. Đỗ Mạnh Hưng, Nguyễn Hải Hà, Nguyễn Đăng Tôn (2021), Bệnh parkinson: Một số đặc điểm bệnh lý, di truyền và cơ chế bệnh sinh, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 19, 411-432.
9. Liu Z., Wang X., Yu Y., Li X., Wang T., Jiang H., Ren Q., Jiao Y., Sawa A., Moran T., Ross C. A., Montell C., Smith W. W. (2008), A drosophila model for LRRK2-linked parkinsonism, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(7), 2693-2698.
10. Tạ Ngọc Khánh, Trần Quốc Đạt, Nguyễn Trọng Tuệ (2021), Rối loạn khả năng vận động trên mô hình ruồi giấm biểu hiện protein alpha-synuclein gây bệnh Parkinson, *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 138(2), 28-36.
11. Marder K. S., Tang M. X., Mejia-Santana H., Rosado L., Louis E. D., Comella C. L., Colcher A., Siderowf A. D., Jennings D., Nance M. A., Bressman S., Scott W. K., Tanner C. M., Cote L. J., Frucht S., Ford B., Alcalay R. N., Rezak M., Novak K., Friedman J. H., Pfeiffer R. F., Marsh L., Hiner B., Neils G. D., Verbitsky M., Kisselev S., Caccoppolo E., Ottman R., Clark L. N. (2010), Predictors of parkin mutations in early-onset parkinson disease: the consortium on risk for early-onset Parkinson disease study, *Archives of Neurology*, 67(6), 731-738.
12. Varga S. J., Qi C., Podolsky E., Lee D. (2014), A new *Drosophila* model to study the interaction between genetic and environmental factors in Parkinson's disease, *Brain Research*, 1583, 277-286.
13. Ryabova E., Schuvalova P., Golomidov I., Bolshakova O. (2014), Overexpression of human SNCA gene in *Drosophila* motor neurons causes morphological and functional abnormalities in larval neuromuscular junction, *Visnyk of the Lviv University*, 105-109.
14. Balestrino R., Schapira A. (2020), Parkinson disease, *Neurol*, 27(1), 27-42.
15. Zhao X., Sun X., Cai S., Ran D., Yan Y., Pei Z. (2015), Role of α -synuclein in cognitive dysfunction: Studies in *Drosophila melanogaster*, *Molecular Medicine Reports*, 12(2), 2683-2688.
16. Volders K., Scholz S., Slabbaert J. R., Nagel A. C., Verstreken P., Creemers J. W. M., Callaerts P., Schwärel M. (2012), *Drosophila rugose* is a functional homolog of mammalian neurobeachin and affects synaptic architecture, brain morphology, and associative learning, *Journal of Neuroscience*, 32(43), 15193-15204.

Tạp chí Dược liệu, tập 27, số 5/2022 (Trang 291 - 297)

TÁC DỤNG HẠ ACID URIC MÁU, GIẢM ĐAU VÀ KHÁNG VIÊM CỦA DÂY ĐAU XƯƠNG TRONG HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ BỆNH GÚT

**Chương Thị Ngọc Hiếu³, Hà Quang Thanh¹, Chung Thị Mỹ Duyên¹,
Nguyễn Hoàng Minh¹, Nguyễn Thị Thu Hương^{2,*}**

¹Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh - Viện Dược liệu;

²Đại học Quốc tế Hồng Bàng; ³Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh

*Email: huongsam@hotmail.com

(Nhận bài ngày 07 tháng 9 năm 2022)

Tóm tắt

Tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh gút của cao chiết ethanol 80% từ dây đau xương [*Tinospora sinensis* (Lour.) Merr.] được nghiên cứu bao gồm các thực nghiệm đánh giá các tác dụng hạ acid uric máu, giảm đau và kháng viêm trên chuột nhắt trắng. Khảo sát khả năng hạ acid uric máu của cao thử nghiệm được thực hiện trên mô hình chuột gây tăng acid uric máu bởi kali oxonate. Tác dụng giảm đau được khảo sát trên thực nghiệm mỡ nóng, tác dụng kháng viêm được đánh giá trên mô hình gây phù chân chuột bởi carrageenan. Kết quả cho thấy ở phác đồ điều trị dự phòng, lô bệnh cho uống cao chiết dây đau xương (liều uống 0,231 g/kg và 0,462 g/kg, tương đương 2,5 g và 5 g dược liệu khô/kg) có nồng độ acid uric máu trở về mức giá trị bình thường, tương tự tác dụng của thuốc đối chiếu allopurinol (liều uống 10 mg/kg). Bên cạnh đó, cao chiết ethanol 80% từ dây đau xương còn thể hiện giúp làm kéo dài thời gian chịu nhiệt của chuột với kích thích nhiệt do mỡ nóng và giảm 00 độ phù chân chuột gây bởi carrageenan, thể hiện tác dụng giảm đau tương tự với lô điều trị bằng thuốc đối chiếu là morphin (10 mg/kg, tiêm phúc mạc) và tác dụng kháng viêm tương tự Celebrex® liều uống 25 mg/kg. Tóm lại, cao chiết ethanol 80% của dây đau xương có tác dụng dự phòng điều trị bệnh gút.

Từ khóa: Dây đau xương, Hạ acid uric máu, Giảm đau, Kháng viêm.

Summary

Anti-Hyperuricemic, Anti-Nociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr. as a Potential Candidate for Gout Treatment

An ethanolic extract of *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr. was assayed for anti-hyperuricemic, anti-nociceptive, and anti-inflammatory activities in mice. The hyperuricemic mouse model was induced by intraperitoneal injection of potassium oxonate. The hot-plate test and carrageenan-induced hind paw edema assay were applied to investigate anti-nociceptive activity and anti-inflammatory activity, respectively. The results revealed that pretreatment with *T. sinensis* extracts (oral doses of 0.231 g/kg and 0.462 g/kg which are equivalent to 2.5 g and 5 g raw materials/kg), as well as a reference drug allopurinol (oral dose of 10 mg/kg), significantly reduced plasma uric acid levels of hyperuricemic mice and restored to the baseline levels. Besides, oral administration of the extract significantly delayed the reaction time of mice to pain (or an increased the latency to licking/jumping) caused by thermal stimulus and markedly attenuated the carrageenan-induced mouse paw edema, as the same as the effects of respective reference drugs morphine (intraperitoneal dose of 10 mg/kg) and Celebrex® (oral dose of 25 mg/kg). In summary, the 80% ethanolic extract of *T. sinensis* has a prophylactic effect on the management of gout.

Keywords: *Tinospora sinensis*, Anti-hyperuricemic effect, Anti-nociceptive effect, Anti-inflammatory effect.

1. Đặt vấn đề

Bệnh gút đang gia tăng và có xu hướng trẻ hóa, đặc biệt ở các nước đang phát triển. Tại Việt Nam, tỷ lệ bệnh gút tăng từ 0,14% lên 1,0% dân số từ năm 2003 đến 2014. Trong đó, 96% là nam giới khoảng 75% trong độ tuổi lao động và hơn 50% bệnh nhân gút có tăng huyết áp và các bệnh rối loạn chuyển hoá khác [1]. Bên cạnh đó, các loại tân dược sử dụng điều trị bệnh gút như allopurinol, colchicin đều gây ra tác dụng phụ khi chỉ định dài ngày. Do đó, việc tìm kiếm nguồn dược liệu hỗ trợ điều trị bệnh gút, giảm tác dụng phụ của tân dược và cải thiện chất lượng sống cho bệnh nhân đang được quan tâm. Theo đông y, dây đau xương [*Tinospora sinensis* (Lour.) Merr.] là loại dược liệu điều trị các bệnh về xương khớp, chứng viêm sưng. Các nghiên cứu đã chỉ ra dây đau xương có tác dụng chống oxy hóa, hoạt tính kháng viêm, giảm đau [2],[3]. Tại Việt Nam, chưa có nhiều nghiên cứu về tác dụng hạ acid uric từ dây đau xương. Nghiên cứu này tiến hành nhằm đánh giá các tác dụng của cao chiết ethanol 80% dây đau xương trong hỗ trợ điều trị bệnh gút dựa trên cải thiện các triệu chứng điển hình của bệnh gút là tăng acid uric máu, tình trạng viêm và đau.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu dây đau xương thu hái tại Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội vào tháng 03/2022, được Bộ môn Tài nguyên Dược

liệu - Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh định danh và lưu mẫu (Mã lưu mẫu ký hiệu TDBT-022022DL). Dây đau xương sau thu hái được rửa sạch, phơi khô đạt độ ẩm dược liệu $\leq 13,0\%$ và được xay thành bột qua rây số 250. Bột dược liệu được chiết ngâm kiệt với ethanol 80% theo tỷ lệ 1:20 (dược liệu: dung môi). Dịch chiết được tiếp tục cô thu hồi dung môi và cô cách thủy để thu được cao đặc ethanol 80% với hiệu suất chiết 9,24% và có độ ẩm không quá 20% (gọi tắt là cao chiết dây đau xương). Tham khảo từ liệu sử dụng dây đau xương trên người thuộc chuyên luận dây đau xương (ĐDVN V, trang 1139) và hệ số ngoại suy liều tương đương của chuột nhắt trắng và người suy ra liều sử dụng cho các thí nghiệm được lý là 0,231 g/kg và 0,462 g/kg (tương đương 2,5 g và 5 g dược liệu khô /kg).

2.2. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng đực chủng *Swiss ICR*, 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 22 ± 2 g. Chuột và thực phẩm nuôi được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế - thành phố Nha Trang. Chuột được nuôi ổn định 1 tuần trước khi tiến hành thử nghiệm. Thể tích cho uống hoặc tiêm màng bụng là 10 ml/kg trọng lượng chuột.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Đánh giá tác dụng hạ acid uric trên mô hình gây tăng acid uric máu bởi kali oxonat: Chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 8 con như sau:

Bảng 1. Bố trí lô thí nghiệm gây tăng acid uric máu bởi kali oxonat

Lô		Thử nghiệm
Chứng sinh lý		Uống nước cất
Tiêm kali oxonat	Chứng bệnh lý	Uống nước cất
	Đối chiếu	Uống allopurinol (Sigma; Mỹ) liều 10 mg/kg
	Thử liều 1	Uống cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg
	Thử liều 2	Uống cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg

Các lô được cho uống cao chiết, nước cất và thuốc đối chiếu liên tục 4 ngày, ngày thứ 5 tiêm phúc mô kali oxonat 300 mg/kg (Sigma; Mỹ) và dung dịch natri clorid 0,9% ở lô chứng sinh lý. Một giờ sau khi tiêm, cho các lô chuột uống nước cất, cao chiết và thuốc đối chiếu. Một giờ tiếp theo tiến hành lấy máu đuôi để

định lượng hàm lượng acid uric trong huyết tương bằng kit định lượng Uric acid Liquicolor (Human; Đức) [2].

2.3.2. Đánh giá tác dụng giảm đau trên thử nghiệm mâm nóng (hot-plate test):

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 8 con như Bảng 2.

Bảng 2. Bố trí lô thí nghiệm tắm nóng

Lô	Thử nghiệm
Chứng sinh lý	Uống nước cất
Đối chiếu	Tiêm phúc mạc Morphin liều 10 mg/kg
Thử liệu 1	Uống cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg
Thử liệu 2	Uống cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg

Chuột được cho uống nước cất (lô chứng), cao chiết (các lô thử) liên tục 5 ngày. Đối với lô đối chiếu, morphin (VIDIPHA, Việt Nam) được tiêm phúc mạc liều duy nhất 10 mg/kg vào ngày thứ 5. Đặt chuột lên hệ thống mâm nóng (UgoBasil Ltd. Co) được duy trì ở nhiệt độ 55°C, tính thời gian thời gian từ lúc chuột đặt chân lên mâm nóng đến khi chuột liếm chân sau (licking) hoặc nhảy (jumping). Ghi nhận thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột trước khi cho uống (T_0) vào ngày đầu tiên, loại bỏ chuột có phản ứng quá nhanh

(trước 8 giây) hoặc phản ứng quá chậm (sau 30 giây). Vào ngày thứ 5, ghi nhận thời gian phản ứng với nhiệt độ sau khi uống thuốc thử và tiêm thuốc đối chiếu sau 30 phút (T_{30}) và sau 90 phút (T_{90}). So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt ở thời điểm trước khi cho uống (T_0) và sau khi cho uống (T_{30} và T_{90}) [3].

2.3.3. Đánh giá tác dụng kháng viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bởi carrageenan:

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 8 con như bảng 3.

Bảng 3. Bố trí lô thí nghiệm gây phù chân chuột bởi carrageenan

Lô	Thử nghiệm
Chứng bệnh lý	Uống nước cất
Đối chiếu	Uống Celebrex [®] liều 25 mg/kg
Thử liệu 1	Uống cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg
Thử liệu 2	Uống cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg

Thuốc đối chiếu là celecoxib (Celebrex[®]; Pfizer) liều 25 mg/kg. Ghi nhận thể tích chân phải chuột trước khi gây mô hình (V_0) bằng thiết bị đo thể tích chân chuột (UgoBasil, Ý). Tiến hành tiêm 50 μ L carrageenan (Sigma; Mỹ) nồng độ 1% vào vùng da gan bàn chân phải. Tiến hành cho chuột các lô uống theo mốc thời gian sau tiêm là 1 giờ, 23 giờ, 47 giờ và 71 giờ. Để đánh giá mức độ viêm, thể tích chân chuột được xác định tại các thời điểm là 3 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau tiêm carrageenan.

Thể tích chân được đo 2 lần và lấy trị số trung bình. Độ sưng phù chân chuột biểu thị mức độ viêm và được tính theo công thức: [4]

$$V (\%) = \frac{(V_{st} - V_{tt})}{V_{tt}} \times 100$$

Trong đó: V: Độ sưng phù bàn chân chuột, Vst: Thể tích chân phải sau khi tiêm carrageenan, Vtt: Thể tích chân phải trước khi tiêm carrageenan.

Mức độ giảm viêm chân chuột ở các lô thử, lô đối chiếu so với lô chứng được tính theo công thức:

$$\text{Mức độ giảm viêm (\%)} = \frac{X-Y}{X} \times 100$$

Trong đó: X: Mức độ viêm ở lô chứng, Y: Mức độ viêm ở lô đối chiếu/ lô thử nghiệm.

2.4. Đánh giá kết quả

Số liệu thực nghiệm thể hiện bằng số trung bình (M) $\pm$ sai số chuẩn của giá trị trung bình (SEM). Xử lý số liệu bằng phần mềm MS Excel 2016, xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One - Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student - Newman - Keuls test (phần mềm SigmaStat 3.5). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$ so với lô chứng.

3. Kết quả

3.1. Tác dụng của dây đau xương trên mô hình gây tăng acid uric máu bằng kali oxonat

Bảng 4. Ảnh hưởng của cao chiết dây đau xương đến hàm lượng acid uric trong huyết tương chuột

Nhóm	Lô (n=8)	Hàm lượng acid uric (mg/dl)
Chứng sinh lý		2,85 ± 0,21
Tiêm kali oxonat	Chứng bệnh lý	3,86 ± 0,15 [#]
	Allopurinol liều 10 mg/kg	2,55 ± 0,22*
	Cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg	2,85 ± 0,04*
	Cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg	2,94 ± 0,05*

[#] $p < 0,001$ có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng sinh lý.

* $p < 0,001$ có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng bệnh lý

Kết quả Bảng 4 cho thấy lô chứng bệnh lý có hàm lượng acid uric máu tăng (26,17%) đạt ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$). Lô đối chiếu cho uống allopurinol liều 10 mg/kg có tác dụng làm giảm (33,94%) hàm lượng acid uric máu trong huyết tương đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$). Tương tự, các lô cho uống cao chiết dây đau

xương liều 0,231 g/kg và liều 0,462 g/kg có mức độ giảm acid uric máu đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý lần lượt là 26,17% và 23,83%, đưa hàm lượng acid uric trong huyết tương về mức bình thường khi so sánh với chứng sinh lý.

3.2. Tác dụng giảm đau của dây đau xương trên thử nghiệm mâm nóng (hot plate)

Bảng 5. Ảnh hưởng của cao chiết dây đau xương đến thời gian phản ứng với kích thích nhiệt ở chuột nhắt trắng

Lô chuột (n = 8)	Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt (giây)		
	T ₀	T ₃₀	T ₉₀
Chứng sinh lý	22,79 ± 1,05	11,24 ± 0,80	11,51 ± 0,89
Morphin liều 10 mg/kg	23,93 ± 0,82	23,75 ± 1,98*	24,30 ± 2,88*
Cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg	20,78 ± 1,78	16,04 ± 1,46 [#]	16,85 ± 1,58 [#]
Cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg	24,19 ± 1,30	18,12 ± 1,02 [#]	20,80 ± 2,02*

* $p < 0,05$ có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng cùng thời điểm

[#] $p < 0,05$ có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô đối chiếu cùng thời điểm.

Kết quả bảng 5 cho thấy thời gian phản ứng với kích thích nhiệt tại thời điểm trước thử nghiệm (T₀) không có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê ở tất cả các lô nghiên cứu. Thuốc đối chiếu morphin liều 10 mg/kg có tác dụng làm tăng thời gian phản ứng với kích thích nhiệt (tăng tiềm thời của đáp ứng đau) ở chuột so với lô chứng sinh lý ở thời điểm đo 30 phút và 90 phút sau tiêm ($p < 0,01$).

Tại thời điểm 30 phút sau khi cho uống, cao chiết dây đau xương ở liều 0,231 g/kg và 0,462 g/kg đều kéo dài thời gian phản ứng với kích thích nhiệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô

chứng sinh lý ($p = 0,021$; $p = 0,004$; tương ứng), tuy nhiên thể hiện tác dụng giảm đau yếu hơn so với morphin ($p < 0,05$). Tại thời điểm 90 phút sau khi cho uống, cao chiết dây đau xương thể hiện tác dụng giảm đau phụ thuộc liều và ghi nhận ở liều 0,462 g/kg có thời gian phản ứng với kích thích nhiệt tăng khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng sinh lý ($p = 0,007$) và tương đương với tác dụng của thuốc đối chiếu morphin.

3.3. Tác dụng kháng viêm cấp của dây đau xương trên mô hình gây viêm phù chân chuột bởi carrageenan

Bảng 6. Ảnh hưởng của cao chiết dây đau xương trên mô hình gây viêm phù chân chuột bởi carrageenan

Lô (n = 8)		Chứng bệnh lý	Celebrex [®] liều 25 mg/kg	Cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg	Cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg
Sau 3 giờ (V1)	Độ phù chân chuột (%)	87,19 ± 5,78	60,67 ± 4,56*	72,26 ± 2,98*	66,41 ± 3,16*
	Mức độ giảm viêm (%)		30,41	17,12	23,83

Lô (n = 8)		Chứng bệnh lý	Celebrex® liều 25 mg/kg	Cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg	Cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg
Sau 24 giờ (V2)	Độ phù chân chuột (%)	71,62 ± 3,89	46,04 ± 3,58*	51,83 ± 3,89*	52,84 ± 4,17*
	Mức độ giảm viêm (%)		35,71	27,63	26,22
Sau 48 giờ (V3)	Độ phù chân chuột (%)	61,11 ± 2,83	40,09 ± 4,08*	40,05 ± 1,85*	45,41 ± 3,86*
	Mức độ giảm viêm (%)		34,00	34,46	25,69
Sau 72 giờ (V4)	Độ phù chân chuột (%)	59,95 ± 6,44	32,43 ± 2,49*	38,76 ± 5,07*	39,07 ± 6,05*
	Mức độ giảm viêm (%)		45,90	35,35	34,83

* $p < 0,05$ có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với chứng sinh lý cùng thời điểm.

Kết quả từ bảng 6 cho thấy, độ phù chân chuột ở lô đối chiếu Celebrex® ở 3 giờ sau tiêm là 60,67% và độ phù chân chuột giảm còn 32,43% sau 72 giờ, có khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng bệnh lý tại cùng thời điểm ($p < 0,001$; $p = 0,005$; tương ứng). Tác dụng kháng viêm của thuốc đối chiếu Celebrex® thể hiện qua mức độ giảm viêm chân chuột sau 72 giờ đạt đến 45,9%.

Độ phù chân chuột của lô điều trị bằng cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg từ 72,26% (sau 3 giờ) giảm còn 38,76% (sau 72 giờ) khi so với chứng sinh lý cùng thời điểm ($p = 0,02$; $p = 0,021$; tương ứng). Tương tự, cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg có tác dụng giảm độ phù chân chuột từ 66,41% (sau 3 giờ) đến còn 39,07% (sau 72 giờ) khi so với chứng sinh lý cùng thời điểm ($p = 0,005$; $p = 0,009$; tương ứng).

4. Thảo luận

Bệnh gút đặc trưng bởi những đợt viêm khớp cấp tái phát do sự lắng đọng tinh thể monosodium urat tại mô và quanh khớp. Nguyên nhân gây bệnh gút là tăng acid uric máu. Biểu hiện sớm của bệnh gút là viêm khớp cấp tính gây đau nhức, nóng đỏ và sưng tấy tại chỗ viêm. Phương pháp điều trị bệnh gút bao gồm hai hướng: một là sử dụng thuốc nhằm giảm triệu chứng các cơn gút cấp như giảm đau và kháng viêm, hướng thứ hai là điều trị tăng acid uric máu thông qua ức chế quá trình tạo thành hoặc tăng thanh thải acid uric.

Nghiên cứu đã sử dụng tác nhân gây mô hình tăng acid uric máu là kali oxonat trên chuột nhắt trắng, đây là một chất ức chế uricase cạnh tranh có chọn lọc nhằm ngăn chặn tác động của uricase ở gan loài gặm nhấm, sự thiếu hụt

uricase sẽ gây tăng acid uric máu nội sinh [5]. Thuốc đối chiếu allopurinol thể hiện tác dụng giảm acid uric máu thông qua ức chế hoạt động xanthin oxidase. Xanthin oxidase là enzym cần thiết trong quá trình sinh tổng hợp acid uric bằng cách phân hủy các nucleotid purin. Cả hai liều thử nghiệm của cao chiết dây đau xương có tác dụng hạ acid uric máu, riêng cao chiết dây đau xương liều 0,231 g/kg đưa mức độ acid uric máu về giá trị sinh lý bình thường. Cơ chế đề xuất cho tác động này có thể dựa trên sự hiện diện của nhiều hợp chất có tác dụng sinh học đã được công bố. Nghiên cứu sơ bộ về phân tích hóa thực vật toàn cây dây đau xương đã xác định sự hiện diện của steroid, carbohydrat, glycosid, saponin, tannin, phenolic, flavonoid và alkaloid [8]. Trong nghiên cứu của Anindita Banerjee và cs. năm 2020, tác giả đã xác định các thành phần chính trong thân dây đau xương là berberin, acid caffeic, myricetin và acid ferulic [9]. Hoạt chất myricetin có tác dụng ức chế xanthin oxidase, do myricetin liên kết trực tiếp với vòng isalloxazin ở miền FAD (flavin adenine dinucleotid) của enzym xanthin oxidase [10]. Bên cạnh đó, berberin thể hiện tác dụng giảm nồng độ acid uric huyết thanh trên mô hình chuột cống tăng acid uric máu thông qua cơ chế đào thải acid uric qua nước tiểu [11]. Trong nghiên cứu của A. Srinivasa Rao và cs. năm 2014, tác dụng lợi niệu của dây đau xương cũng đã được chứng minh tương tự đối chiếu furosemid (20 mg/kg) khi thử nghiệm trên mô hình chuột cống [16]. Do đó, tác dụng lợi niệu giúp tăng thanh thải acid uric cũng là một cơ chế gợi ý cho cao chiết dây đau xương và cần được đánh giá ở các nghiên cứu tiếp.

Mô hình mâm nóng dựa trên sự kích thích sợi Aδ được áp dụng nhằm đánh giá hiệu quả giảm đau của cao chiết dây đau xương. Các chỉ tiêu khảo sát về hành vi của chuột phản ứng đau với kích thích nhiệt như liếm chân sau (licking) hoặc nhảy (jumping) được ghi nhận, hai hành vi này dựa trên sự phản xạ từ sừng lưng tủy sống, phản ứng này nhạy cảm với các thuốc giảm đau opioid. Mâm nóng duy trì nhiệt độ 55°C, tại nhiệt độ này chỉ có các tác nhân giống thuốc giảm đau opioid hoạt động. Morphin được sử dụng là thuốc đối chiếu do tác động chủ vận trên các thụ thể opioid trên hệ thần kinh trung ương và giảm cảm giác đau bằng cách làm gián đoạn cách truyền tín hiệu đau giữa các dây thần kinh não và cơ thể [6]. Cao chiết dây đau xương có tác dụng giảm đau đối với kích thích nhiệt độ, ở liều cao 0,462 g/kg cho thấy hiệu quả kéo dài thời gian phản ứng với cơn đau đến 90 phút sau khi uống. Hợp chất acid ferulic hiện diện trong dây đau xương khi thử nghiệm trên mô hình mâm nóng, có tác dụng giảm đau trung ương thông qua trung gian noradrenergic và opioid trên sừng lưng tủy sống [13]. Tuy nhiên, để có thể kết luận dây đau xương có cơ chế giảm đau giống morphin hay không thì cần có những nghiên cứu tiếp theo sử dụng các tác nhân đối kháng cạnh tranh trên receptor opioid như naloxon.

Mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan nhằm đánh giá hiệu quả kháng viêm của cao chiết. Mô hình này nhạy cảm với các chất ức chế cyclooxygenase (COX) và thích hợp để đánh giá tác động kháng viêm của mẫu thử theo cơ chế tương tự các NSAID. Quá trình gây phù do carrageenan được biểu hiện qua hai giai đoạn. Giai đoạn đầu tiên liên quan đến giải phóng histamin, serotonin và bradykinin. Giai đoạn thứ hai liên quan sản xuất quá mức prostaglandin trong mô, do enzym COX-2 được giải phóng tại vị trí tổn thương ở mô để tạo ra prostaglandin E2 kích thích đau và viêm [7]. Trong nghiên cứu của Inmaculada Posadas và cs. trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan, kết quả đã ghi nhận thể tích phù chân chuột đạt đỉnh ở thời điểm từ 48 - 72 giờ và giảm dần tại thời điểm từ 72 - 96 giờ sau tiêm, nghiên cứu cũng đưa ra kết luận là hàm lượng prostaglandin E2 có nguồn gốc từ COX-2 đạt đến đỉnh cao nhất tại điểm 72 giờ sau tiêm [4]. Và kết quả nghiên cứu cũng cho thấy độ phù chân chuột của lô chứng bệnh lý đạt đỉnh sau

3 giờ gây viêm, mức độ viêm gan bàn chân chuột của lô chứng bệnh lý ổn định sau 48 giờ và 72 giờ gây viêm; điều này cho thấy mô hình thử nghiệm có sự ổn định của độ phù chân chuột đến 72 giờ, phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Celebrex® với thành phần hoạt chất chính là celecoxib- một NSAID ức chế có chọn lọc COX-2 hiệu quả nên được sử dụng làm thuốc đối chiếu. Cao chiết dây đau xương cả hai liều đều có tác dụng giảm độ phù chân chuột sau 72 giờ khi so với lô chứng bệnh lý. Các thành phần chính trong thân dây đau xương là berberin được chứng minh có tác dụng kháng viêm trên mô hình chuột gây viêm bởi tinh thể monosodium urat, theo cơ chế ức chế các yếu tố tiền viêm (IL-1 β , TNF- α), giảm hoạt động của elastase ở khớp và kích hoạt con đường chống oxy hóa Nrf2 [12]. Trong nghiên cứu của Punitha và cs. năm 2013, hợp chất diosgenin phân lập từ thân dây đau xương có hoạt tính kháng viêm gần như tương đương đối chiếu celecoxib, thể hiện khả năng ức chế COX-2 dẫn đến giảm viêm và đau [14]. Ngoài ra, gốc tự do superoxid và elastase là những sản phẩm chủ yếu được sản sinh từ bạch cầu hạt trung tính trong các mô/tổ chức bị viêm góp phần làm phá hủy tế bào trong bệnh lý viêm mạn. Các hợp chất phân lập trong thân dây đau xương như rhodiolol, tinosporin A, tinosporin B và cycloeucalenol được chứng minh có tác dụng ức chế gốc superoxid và elastase *in vitro* [15].

Do đó, tác dụng hạ acid uric máu, giảm đau và kháng viêm của cao chiết ethanol 80% dây đau xương được cho là do sự có mặt của các hoạt chất hoặc nhóm chất đã nêu trên.

5. Kết luận

Cao chiết ethanol 80% dây đau xương ở hai liều thử nghiệm 0,231 g/kg và 0,462 g/kg (tương đương với 2,5 g và 5 g dược liệu khô) cho thấy tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh gút thông qua việc làm giảm acid uric máu, giảm đau và kháng viêm trên mô hình dược lý tương ứng, tác dụng điển hình nhất là ở cao chiết dây đau xương liều 0,462 g/kg.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ nguồn sách thuộc đề tài cấp cơ sở của Viện Dược liệu, năm 2022 “Nghiên cứu định hướng phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh Gút từ dây gấm (*Gnetum montanum* Markgr), dây đau xương (*Tinospora sinensis* (L.) Merr.), đinh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms)”.

Tài liệu tham khảo

1. Ho-Pham L. T., Lai T. Q., Mai L. D., Doan M. C., Pham H. N., Nguyen T. V. (2014), Prevalence of radiographic osteoarthritis of the knee and its relationship to self-reported pain, *Public Library of Science*, 9(4), 1-6.
2. Lê Minh Triết, Trần Thị Kiều Trang, Nguyễn Minh Khuê (2012), Tác dụng hạ acid uric máu của quả nhàu trên chuột nhắt bị gây tăng acid uric máu bằng kali oxonat, *Tạp chí Dược liệu*, 17(2), 78-82.
3. Özdemir H., Yaren B., Oto G. (2015), Antinociceptive activity of aqueous extract of *Lepidium sativum* L. in mice, *Eastern Journal of Medicine*, 20, 131-135.
4. Posadas I., Bucci M., Parente L., Sautebin L., Cirino G. (2004), Carrageenan-induced mouse paw edema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression, *British Journal of Pharmacology*, 142, 331-338.
5. Shirasaka T., Shimamoto Y., Fukushima M. (1993), Inhibition by oxonic acid of gastrointestinal toxicity of 5-fluorouracil without loss of its antitumor activity in rats, *Cancer Research*, 53(17), 4004-4009.
6. Demsie D. G., Yimer E. M., Berhe A. H., Altaye B. M., Berhe D. F. (2019), Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of crude root extract and solvent fractions of *Cucumis ficifolius* in mice model, *Journal of Pain Research*, 12, 1399-1409.
7. Patil K. R., Mahajan U. B., Unger B. S., Goyal S. N., Belemkar S., Patil C. R. (2019), Animal models of inflammation for screening of anti-inflammatory drugs: Implications for the discovery and development of phytopharmaceuticals, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 43-67.
8. Hegde S., Jayaraj M. (2016), A review of the medicinal properties, phytochemical and biological active compounds of *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr., *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 6(2), 84-94.
9. Anindita B., Siddhartha S., Shilpi K. P., Sourav K., Oly B., Tapan S., Bithin K. M. (2020), Protective efficacy of *Tinospora sinensis* against streptozotocin-induced pancreatic islet cell injuries of diabetic rats and its correlation to its phytochemical profiles, *Journal of Ethnopharmacology*, 4-5.
10. Zhang C., Zhang G., Liao Y., Gong D. (2017), Myricetin inhibits the generation of superoxide anion by reduced form of xanthine oxidase, *Food chemistry*, 221, 1569-1577.
11. Naz H., Naz S., Miraj R., Zaheer A., Azam N., Ishaq M., Hanif M. (2021), The effect of berberine, a drug from chinese folk medicine, on serum and urinary uric acid levels in rats with hyperuricemia, *Cureus Journal Medical Science*, 13(2), 131-186.
12. Dinesh P., Rasool M. K. (2017), Berberine, an isoquinoline alkaloid suppresses TXNIP mediated NLRP3 inflammasome activation in MSU crystal stimulated RAW 264.7 macrophages through the upregulation of Nrf2 transcription factor and alleviates MSU crystal induced inflammation in rats, *International Immunopharmacology*, 44, 26-37.
13. Nurcan B. T., Rana A. (2016), The centrally - mediated mechanisms of action of ferulic acid-induced antinociception, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20, 303-310.
14. Punitha M. R. D., Udhayasankar U., Danya K., Shalimol A. A. (2013), Anti-inflammatory activity of characterized compound diosgenin isolated from *Tinospora malabarica* Miers in Ann. (*Menispermaceae*) in animal model, *International Journal of Herbal Medicine*, 1(3), 76-78.
15. Lam S. H., Chen P. H., Hung H. Y., Hwang T. L., Chiang C. C., Tran D. T., Kuo P. C., Wu T. S. (2018), Chemical constituents from the stems of *Tinospora sinensis* and their bioactivity, *Molecules*, 23(10), 25-41.
16. Rao A. S., Sastry V. G., Chandrakanth B., Prasad B. D., Devilal J. (2014), Evaluation of diuretic activity of aqueous and methanol extracts of *Tinospora sinensis* in rats, *Acta Biomedica Scientia*, 1(2), 58-60.

Tạp chí Dược liệu, tập 27, số 5/2022 (Trang 297 - 303)

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG HUYẾT KHỐI CỦA CHẾ PHẨM TỪ ĐƯƠNG QUY NHẬT BẢN (VIÊN ANGOBIN) TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT GÂY HUYẾT KHỐI ĐỘNG MẠCH

Lê Thị Xoan^{1,*}, Nguyễn Thị Thanh Loan^{1,2}, Võ Thị Bích Ngọc¹, Đoàn Quyết Chiến³,

Trần Trung Nghĩa³, Phạm Thị Nguyệt Hằng^{1,4}

¹Viện Dược liệu; ²Bộ môn Dược lý, Đại học Y Hà Nội;

³Bộ môn Sinh lý học - Đại Học Y Hà Nội; ⁴Đại học Y Dược - Đại học Quốc gia Hà Nội

*Email: xoanle@nimm.org.vn

(Nhận bài ngày 14 tháng 9 năm 2022)

Tóm tắt

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng chống huyết khối của viên Angobin từ đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kit.) trên mô hình gây huyết khối động mạch thực nghiệm. Chuột nhắt trắng được uống viên Angobin liều 1,8 và 3,6 viên/kg trong 7 ngày liên tiếp trước khi gây mô hình đông máu. Heparin (200 UI/kg, i.p) và Clopidogrel (30 mg/kg, p.o) được sử dụng làm chứng dương. Một giờ sau khi uống thuốc thử lần cuối cùng, tiến hành gây mô hình đông máu bằng cách gây tổn thương động mạch cảnh bằng dung dịch FeCl₃ 7,5%. Thời gian chảy máu, thời gian prothrombin (PT), thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTT) và thời gian thrombin (TT) được xác định. Chuột bệnh lý có thời gian chảy máu giảm và kéo dài PT, aPTT và TT so với chuột sinh lý. Chuột được uống viên Angobin kéo dài thời gian chảy máu và aPTT, trong khi không ảnh hưởng đến PT và TT. Kết quả cho thấy viên Angobin có tác dụng chống đông máu trên mô hình chuột gây đông máu bằng FeCl₃ thông qua tác động lên hệ đông máu nội sinh.

Từ khóa: Angobin, Đương quy Nhật Bản, Mô hình đông máu, Chống đông máu.