

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.

Summary

Anti-Thrombotic Effects of a Preparation from *Angelica acutiloba* Kit. (Angobin tablet) on Mouse Carotid Artery Injury - Induced Thrombosis Model

This study assessed the anticoagulant effects of Angobin tablet (including *Angelica acutiloba* Kit. extracts and excipients) on a thrombosis model in mice. The mice were orally administered with Angobin (1.8 and 3.6 tablets/kg) for 7 consecutive days before subjecting to a thrombosis model. Heparin (200 UI/kg, i.p) and Clopidogrel (30 mg/kg, p.o) were employed as references drugs. One hour after the last drug administration, the mouse carotid artery injury thrombosis model was performed using FeCl_3 7.5%. Bleeding time, prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT) and thrombin time (TT) were measured. The thrombosis model group significantly exhibited the bleeding time shortened and prolonging aPTT, PT and TT compared to the sham mice. The treatment by Angobin tablets prolonged bleeding time and aPTT but had no significant effect on PT and TT. In conclusion, Angobin tablets showed anticoagulant activity *in vivo* through inhibitory effect on endogenous coagulation system.

Keywords: Angobin, *Angelica acutiloba*, Thrombosis model, Anticoagulant effect.

1. Đặt vấn đề

Đông máu là quá trình máu chuyển từ thể lỏng sang thể đặc do fibrinogen hòa tan trong huyết tương chuyển thành fibrin không hòa tan nhờ xúc tác thrombin. Tình trạng tăng đông xảy ra do tăng hoạt hóa đông máu hoặc do giảm ức chế đông máu, giảm tiêu sợi huyết dẫn đến huyết khối [1, 2]. Những bệnh lý liên quan đến đông máu như nhồi máu cơ tim, thuyên tắc phổi hoặc đột quỵ là nguyên nhân chính gây tử vong đột ngột và có xu hướng ngày càng tăng [3]. Đặc biệt, các bệnh lý liên quan đến huyết khối cũng là một trong các biến cố đáng lo ngại của COVID-19 trong những năm gần đây [4]. Các thuốc của Y học hiện đại đạt hiệu quả tốt trong điều trị, tuy nhiên, chi phí điều trị cao và có nhiều tác dụng không mong muốn, thậm chí là biến chứng chảy máu có thể dẫn đến tử vong. Bởi vậy, xu hướng dùng các chế phẩm từ dược liệu đang được quan tâm nhờ ưu điểm an toàn và ít tác dụng không mong muốn khi dùng lâu dài.

Đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kit.) là loài cây mọc dại ở Nhật Bản và được du nhập vào Việt Nam từ những năm 1990 [5]. Trong y học cổ truyền, đương quy là thuốc đầu vị dùng chữa các bệnh phụ nữ như rối loạn kinh nguyệt, thống kinh, chứng tắc kinh nguyệt, băng huyết; dùng chữa bệnh thiếu máu, suy nhược cơ thể, mất ngủ, hồi hộp. Các nghiên cứu hiện đại cho thấy loài cây này có nhiều tác dụng dược lý quan trọng như chống viêm, tăng cường miễn dịch, giảm đau, an thần, bảo vệ tế bào thần kinh...[6],[7],[8]. Nghiên cứu cũng cho thấy, cao chiết còn 80% của rễ củ đương quy Nhật Bản có tác dụng chống đông máu, chống kết tụ tiểu cầu *in vitro* [9]. Tuy nhiên, tác dụng chống đông máu của đương quy Nhật Bản trên mô hình gây đông

máu thực nghiệm vẫn chưa được sáng tỏ. Do đó, nhằm cung cấp thêm cơ sở khoa học về tác dụng chống đông máu của đương quy Nhật Bản, đặc biệt là thuốc Angobin được bào chế từ đương quy Nhật Bản, nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu là đánh giá tác dụng chống đông máu của viên Angobin trên mô hình gây đông máu bằng FeCl_3 ở chuột nhắt trắng.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Thuốc Angobin (SDK: V55-H12-16 được cấp bởi Cục Quản lý Dược, lô T8/2020) bào chế dưới dạng viên nén bao đường được cung cấp bởi Viện Dược liệu. Thành phần của viên Angobin 500 mg bao gồm: cao đương quy Nhật Bản di thực (0,13 g), bột đương quy di thực (0,14 g), tinh dầu lá đương quy di thực (0,0013 g) và tá dược vừa đủ 1 viên.

2.2. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino*, giống đực, 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng 20 ± 2 g, khỏe mạnh được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Động vật được nuôi 7 ngày trong phòng chăn nuôi trong điều kiện nhiệt độ duy trì $25 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm không khí và ánh sáng thích hợp. Động vật được nuôi bằng thức ăn tiêu chuẩn do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp và được uống nước tự do theo nhu cầu.

2.3. Hóa chất, máy móc, thiết bị nghiên cứu

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: heparin (Sigma Aldrich, St.Louis, USA); clorallhydrat (Sigma Aldrich, St.Louis, USA); clopidogrel (độ tinh khiết > 98%, đạt tiêu chuẩn Dược điển Mỹ, được tổng hợp tại khoa Hóa thực vật - Viện Dược liệu); FeCl_3 (Trung Quốc); bộ hóa chất xét nghiệm đông máu của hãng Siemens, Đức: Thromborel® S, Dade® Actin FSL

Activated PTT Reagent, dung dịch calci clorid nồng độ 0,025 mol/L; dung dịch tiêm truyền NaCl 0,9% (Công ty TNHH B.Braun Việt Nam)

Các máy móc, thiết bị, dụng cụ dùng trong nghiên cứu bao gồm: máy xét nghiệm đông máu bán tự động Sysmex CA-50 Nhật Bản, máy ly tâm Himac CT6e Himac, Nhật Bản, cân phân tích Precisa, Thụy Sĩ, ống nghiệm chống đông máu chứa natri citrat 3,8% (Công ty Cổ phần đầu tư An Phú).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con như sau:

Lô 1 (chứng sinh lý): uống nước cất 10 mL/kg/ngày.

Lô 2 (chứng bệnh lý): gây đông máu bằng FeCl_3 + uống nước cất 10 mL/kg/ngày.

Lô 3: gây đông máu bằng FeCl_3 + tiêm heparin liều duy nhất 200 UI/kg.

Lô 4: gây đông máu bằng FeCl_3 + uống clopidogrel liều 30 mg/kg/ngày.

Lô 5: gây đông máu bằng FeCl_3 + uống viên Angobin liều 1,8 viên/kg/ngày.

Lô 6: gây đông máu bằng FeCl_3 + uống viên Angobin liều 3,6 viên/kg/ngày.

Viên Angobin được nghiền mịn trong cối chày sứ, sau đó được phân tán trong nước. Chuột uống viên Angobin hàng ngày với liều 1,8 và 3,6 viên/kg/ngày (thể tích 10 ml/kg). Clopidogrel được hòa trong nước cất và cho chuột uống liều 30 mg/kg/ngày. Chuột được uống mẫu thử hàng ngày liên tục 1 tuần trước khi gây mô hình huyết khối động mạch. Heparin được pha trong nước muối sinh lý và tiêm phúc mạc 1 liều duy nhất 200 UI/kg 15 phút trước khi gây mô hình.

Chuột từ lô 2 đến lô 6 được gây huyết khối động mạch bằng FeCl_3 . Mô hình gây huyết khối động mạch bằng FeCl_3 được tiến hành theo phương pháp đã được công bố trước đây [10],[11]. Chuột được gây mê bằng cách tiêm màng bụng cloral hydrat liều 350 mg/kg. Tiến hành cố định chuột và bộc lộ động mạch cảnh chung bên trái. Nhỏ 2 - 3 giọt nước muối sinh lý để tránh làm khô động mạch cảnh chung. Đặt một mảnh giấy lọc kích thước 1 mm × 1 mm đã bão hòa dung dịch FeCl_3 7,5% trực tiếp lên động mạch cảnh chung trái trong thời gian 3 phút. Sau 3 phút, bỏ miếng giấy lọc ra khỏi động mạch.

* Thông số đánh giá:

- *Xác định thời gian chảy máu*: sau khi bỏ giấy thấm FeCl_3 ra khỏi động mạch, tiến hành làm ẩm đuôi chuột bằng cách ngâm đuôi chuột vào ống chứa nước muối đã được ủ ở 37°C trong thời gian 2 phút. Tiến hành cắt đuôi chuột ở vị trí 4 mm từ vị trí điểm cuối của đuôi chuột. Nhúng đuôi chuột vào cốc chứa nước muối sinh lý đã ủ ở 37 °C và đo thời gian chảy máu sử dụng đồng hồ bấm giây.

- *Xác định thời gian prothrombin (PT), thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTT) và thời gian thrombin (TT)*: sau 8 phút kể từ khi gây mô hình (thời điểm đặt giấy thấm FeCl_3 vào động mạch cảnh), tiến hành lấy 1 mL máu động mạch cảnh của chuột vào ống chống đông citrat 3,8 %. Xác định PT(s), PT%, PT-INR (International Normalized Ratio - Tỷ lệ chuẩn hóa quốc tế), aPTT(s), aPTT_{b-c} (aPTT bệnh-chứng), TT (s) bằng máy xét nghiệm đông máu bán tự động Sysmex CA-50.

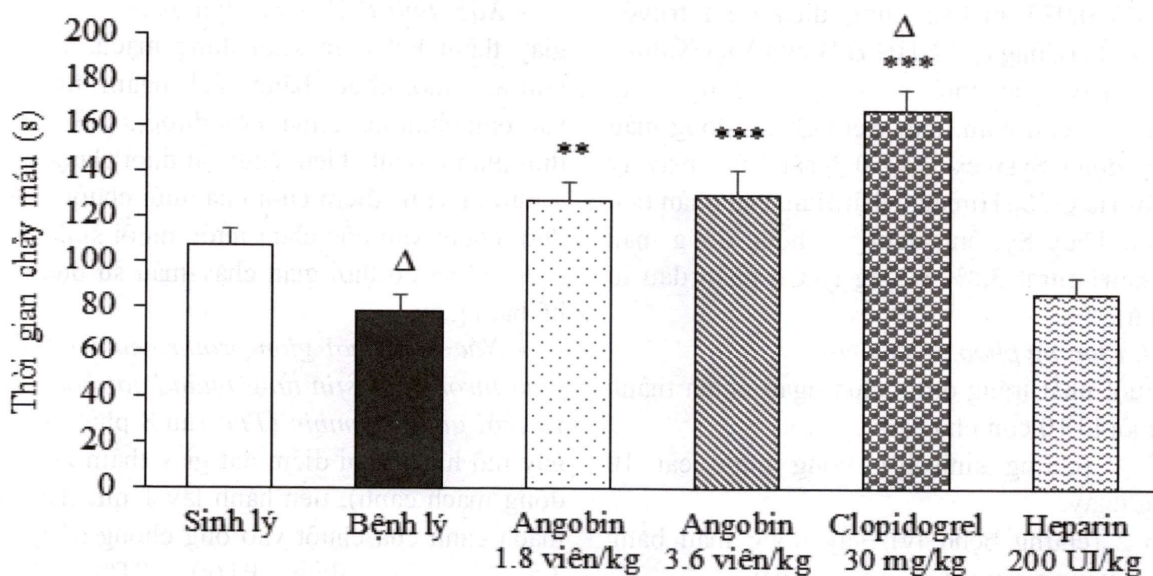
2.5. Xử lý số liệu:

Các số liệu được xử lý thống kê theo thuật toán thống kê ANOVA bằng phần mềm Sigmaplot 12.0. Các số liệu được trình bày ở dạng kết quả trung bình ± sai số chuẩn (Mean ± SE). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Ảnh hưởng của viên Angobin lên thời gian chảy máu của chuột gây huyết khối động mạch

Ảnh hưởng của viên Angobin lên thời gian chảy máu trên chuột nhắt gây huyết khối động mạch bằng FeCl_3 được biểu diễn ở hình 1. Kết quả cho thấy, lô bệnh lý có thời gian chảy máu ngắn hơn so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$). Lô heparin 200 UI/kg có thời gian chảy máu không thay đổi so với lô bệnh lý ($p > 0,05$). Lô clopidogrel 30 mg/kg có thời gian chảy máu dài hơn rõ rệt so với lô bệnh lý ($p < 0,001$). Lô Angobin liều 1,8 viên/kg và 3,6 viên/kg kéo dài thời gian chảy máu so với lô bệnh lý (lần lượt tương ứng với $p < 0,01$ và $p < 0,001$). Lô chuột uống clopidogel kéo dài thời gian chảy máu rõ rệt so với lô sinh lý ($p < 0,001$). Trong khi đó, thời gian chảy máu của chuột gây huyết khối động mạch được tiêm heparin và uống viên Angobin ở cả 2 liều 1,8 và 3,6 viên/kg đều không có sự khác biệt đáng kể so với chuột sinh lý ($p > 0,05$).



Hình 1. Ảnh hưởng của viên Angobin lên thời gian chảy máu
(Ghi chú: Kết quả được biểu diễn dưới dạng Mean $\pm$ SE; Khác biệt so với lô chứng sinh lý: Δ $p < 0,05$; Khác biệt so với lô bệnh lý: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, $n=10$)

3.2. Ảnh hưởng của viên Angobin lên hệ đông máu ngoại sinh của chuột gây huyết khối động mạch

Ảnh hưởng của viên Angobin lên hệ đông máu ngoại sinh thông qua các thông số PT (s), PT%, PT-INR được biểu diễn ở Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên Angobin lên hệ đông máu ngoại sinh

Lô nghiên cứu	n	PT(s)	PT%	PT-INR
Chứng sinh lý	10	7,35 $\pm$ 0,05	271,67 $\pm$ 4,25	0,64 $\pm$ 0,01
Bệnh lý	10	7,88 $\pm$ 0,10 $\Delta\Delta$	234,93 $\pm$ 6,33 $\Delta\Delta$	0,68 $\pm$ 0,01 $\Delta\Delta$
Heparin 200 UI/kg	10	8,36 $\pm$ 0,14* , $\Delta\Delta\Delta$	207,29 $\pm$ 7,54* , $\Delta\Delta\Delta$	0,72 $\pm$ 0,01* , $\Delta\Delta\Delta$
Clopidogrel 30 mg/kg	10	8,02 $\pm$ 0,12 $\Delta\Delta$	226,66 $\pm$ 7,58 $\Delta\Delta$	0,69 $\pm$ 0,01 $\Delta\Delta$
Angobin 1,8 viên/kg	10	7,58 $\pm$ 0,11	256,08 $\pm$ 7,62	0,65 $\pm$ 0,01
Angobin 3,6 viên/kg	10	7,94 $\pm$ 0,15 $\Delta\Delta$	232,68 $\pm$ 9,81 $\Delta\Delta$	0,69 $\pm$ 0,01 $\Delta\Delta$

(Ghi chú: Kết quả được biểu diễn dưới dạng Mean $\pm$ SE; Khác biệt so với lô chứng sinh lý: $\Delta\Delta$ $p < 0,01$, $\Delta\Delta\Delta$ $p < 0,001$; khác biệt so với lô bệnh lý: * $p < 0,05$).

Kết quả cho thấy, lô bệnh lý làm tăng PT (s), PT-INR và giảm PT% so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$). Lô heparin 200 UI/kg làm tăng PT (s), PT-INR và giảm PT% so với lô bệnh lý ($p < 0,05$). Lô clopidogrel 30 mg/kg không làm thay đổi PT(s), PT% và PT- so với lô bệnh lý ($p > 0,05$). Lô Angobin liều 1,8 viên/kg và 3,6 viên/kg không làm thay đổi PT(s), PT% và PT-INR so với lô bệnh lý, $p > 0,05$. Lô Heparin, Clopidogrel và Angobin liều 3,6 viên/kg đều

làm tăng tăng PT (s), PT-INR và giảm PT% so với lô chứng sinh lý, trong khi lô Angobin liều 1,8 viên/kg đều không có sự thay đổi đáng kể so với lô sinh lý.

3.3. Ảnh hưởng của viên Angobin lên hệ đông máu nội sinh của chuột gây huyết khối động mạch

Ảnh hưởng của viên Angobin lên hệ đông máu nội sinh *in vivo* thông qua các thông số aPTT(s), aPTT_{b-c} được biểu diễn ở Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên Angobin lên hệ đông máu nội sinh

Lô nghiên cứu	n	aPTT (s)	aPTT _{b-c}
Chứng sinh lý	10	17,24 $\pm$ 0,56	0,63 $\pm$ 0,02
Bệnh lý	10	20,81 $\pm$ 0,38 $\Delta\Delta\Delta$	0,77 $\pm$ 0,01 $\Delta\Delta\Delta$
Heparin 200 UI/kg	10	25,18 $\pm$ 0,84 $\Delta\Delta\Delta$, ***	0,93 $\pm$ 0,03 $\Delta\Delta\Delta$, ***

Lô nghiên cứu	n	aPTT (s)	aPTT _{b-c}
Clopidogrel 30 mg/kg	10	21,66 ± 0,62, ^{ΔΔΔ}	0,80 ± 0,02 ^{ΔΔΔ}
Angobin 1,8 viên/kg	10	23,23 ± 0,70*, ^{ΔΔΔ}	0,86 ± 0,03*, ^{ΔΔΔ}
Angobin 3,6 viên/kg	10	23,49 ± 0,94*, ^{ΔΔΔ}	0,87 ± 0,04*, ^{ΔΔΔ}

(Ghi chú: Kết quả được biểu diễn dưới dạng Mean ± SE; Khác biệt so với lô chứng sinh lý: ^{ΔΔΔ} p < 0,001; Khác biệt so với lô bệnh lý: * p < 0,05; *** p < 0,001).

Kết quả cho thấy, lô bệnh lý cũng như các lô chứng dương cũng và lô thuốc Angobin đều kéo dài aPTT (s) và tăng aPTT_{b-c} so với lô chứng sinh lý (p < 0,001). Lô heparin 200 UI/kg kéo dài aPTT (s) và tăng aPTT_{b-c} so với lô bệnh lý (p < 0,001). Lô clopidogrel 30 mg/kg không làm thay đổi aPTT (s), aPTT_{b-c} so với lô bệnh lý (p > 0,05). Lô Angobin liều 1,8 viên/kg và 3,6

viên/kg kéo dài aPTT (s) và tăng aPTT_{b-c} so với lô bệnh lý, p < 0,05.

3.4. Ảnh hưởng của viên Angobin lên thời gian thrombin (TT) trên chuột gây huyết khối động mạch

Ảnh hưởng của viên Angobin lên con đường đông máu chung thông qua thông số thời gian thrombin (TT) trên chuột gây đông máu bằng FeCl₃ được biểu diễn ở Bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên Angobin lên thời gian thrombin

Lô nghiên cứu	n	TT (s)
Chứng sinh lý	10	12,67 ± 0,55
Bệnh lý	10	15,66 ± 1,11 ^Δ
Heparin 200 UI/kg	10	19,94 ± 1,09*, ^{ΔΔΔ}
Clopidogrel 30 mg/kg	10	16,37 ± 0,92 ^{ΔΔ}
Angobin 1,8 viên/kg	10	16,76 ± 0,88 ^{ΔΔ}
Angobin 3,6 viên/kg	10	17,58 ± 1,04 ^{ΔΔ}

(Ghi chú: Kết quả được biểu diễn dưới dạng Mean ± SE; Khác biệt so với lô chứng sinh lý: ^Δ p < 0,05, ^{ΔΔ} p < 0,01, ^{ΔΔΔ} p < 0,001; khác biệt so với lô bệnh lý: * p < 0,05).

Kết quả cho thấy, lô bệnh lý và các lô chứng cũng như lô thuốc Angobin đều có TT (s) tăng so với lô chứng sinh lý (p < 0,05). Lô heparin 200 UI/kg có TT (s) tăng so với lô bệnh lý (p < 0,05), trong khi lô clopidogrel 30 mg/kg không làm thay đổi TT (s) so với lô bệnh lý (p > 0,05). Lô Angobin liều 1,8 viên/kg và 3,6 viên/kg không làm thay đổi TT (s) so với lô bệnh lý (p > 0,05).

4. Bàn luận

Trên thế giới, mô hình gây đông máu bằng FeCl₃ đã được thực hiện thành công trong nhiều nghiên cứu [10,11]. FeCl₃ làm tổn thương thành mạch máu, gây ra stress oxy hóa, tạo ra nhiều gốc tự do, dẫn đến quá trình peroxy hóa lipid và phá hủy các tế bào nội mô và dẫn đến hình thành huyết khối ở mạch máu [12]. Mô hình này đã đóng một vai trò quan trọng trong việc nghiên cứu sinh lý bệnh của huyết khối, trong việc phát hiện và xác nhận các loại thuốc có tiềm năng chống huyết khối mới cũng như tìm hiểu cơ chế của các loại thuốc mới này. Theo như hiểu biết của chúng tôi, đây là lần đầu tiên mô hình gây huyết khối động mạch cảnh bằng FeCl₃ được triển khai thành công tại Việt Nam.

Chứng dương clopidogrel là thuốc chống kết tập tiểu cầu, nhờ gắn vào thụ thể P2Y₁₂ (receptor của ADP) có trên bề mặt tiểu cầu, gây bất hoạt thụ thể này và ức chế hoạt hóa tiểu cầu gây ra bởi ADP [1]. Điều này giải thích lý do clopidogrel làm kéo dài thời gian chảy máu của chuột nhắt trắng nhưng không làm thay đổi thời gian đông máu PT, aPTT và TT so với chứng sinh lý. Chứng dương heparin là thuốc chống đông huyết tương, tác dụng chống đông máu nhờ việc tạo phức với antithrombin III, do đó heparin ít ảnh hưởng đến giai đoạn cầm máu ban đầu [1]. Do vậy, heparin làm kéo dài thời gian đông máu nội sinh, ngoại sinh và thời gian thrombin nhưng không làm kéo dài thời gian chảy máu so với chứng sinh lý. Như vậy kết quả của nghiên cứu về tác dụng của heparin và clopidogrel trên mô hình gây đông máu bằng FeCl₃ phù hợp với cơ chế tác dụng đã được chứng minh của heparin và clopidogrel.

Một nghiên cứu đã chỉ ra đương quy Nhật Bản có tác dụng chống đông máu *in vitro* [9]. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu công khai nào trên thế giới về tác dụng chống đông máu của đương quy Nhật Bản trên mô hình động vật

thực nghiệm. Do đó, nghiên cứu sử dụng mô hình gây đông máu bằng FeCl_3 để đánh giá tác dụng chống đông máu *in vivo* của viên Angobin. Thuốc Angobin đã được cấp phép sử dụng cho người với liều sử dụng được chỉ định cao nhất là 15 viên/ngày. Theo ngoại suy liều tương đương giữa các loài, tỉ lệ giữa người và chuột nhất trắng là 1 : 12 [13]. Do vậy chúng tôi chọn mẫu thử liều cao là 3,6 viên/kg/ngày và mẫu thử liều thấp là 1,8 viên/kg/ngày. Kết quả cho thấy sau 7 ngày dùng thuốc: viên Angobin 1,8 viên/kg và 3,6 viên/kg có tác dụng ức chế quá trình đông máu trên chuột nhất trắng thông qua kéo dài thời gian chảy máu, thời gian đông máu nội sinh trong khi không làm thay đổi thời gian đông máu ngoại sinh và thời gian thrombin.

Năm 1998, Lê Tùng Châu và các cs. đã thực hiện nghiên cứu tác dụng ức chế đông máu của cao đương quy Nhật Bản trên lâm sàng. Nghiên cứu thực hiện trên mẫu thử là thuốc hoạt huyết CM_3 (thuốc gồm 4 vị, trong đó đương quy Trung Quốc là vị chính) đã được thay thế đương quy Trung Quốc bằng đương quy Nhật Bản. Về cận lâm sàng: kết quả xét nghiệm huyết tương cho thấy nhóm bệnh nhân dùng thuốc thử có aPTT, PT kéo dài hơn so với nhóm bệnh nhân không dùng thuốc ($p < 0,05$). Về lâm sàng: bệnh nhân ở nhóm sử dụng thuốc thử có biểu hiện giảm tê bì ngón chân, giảm đau ê ẩm người. Kết quả trên cho thấy thuốc hoạt huyết CM_3 khi thay thế đương quy Trung Quốc bằng đương quy Nhật Bản có tác dụng ức chế đông máu trên lâm sàng. Tuy nhiên mẫu thử của nghiên cứu trên là thuốc gồm 4 vị được liệu khác nhau, không phải chỉ có

đương quy Nhật Bản [9]. Bởi vậy, kết quả *in vivo* của đề tài chúng tôi giúp cung cấp thêm cơ sở khoa học về tác dụng chống đông máu của đương quy Nhật Bản.

Một nghiên cứu đã định lượng coumarin toàn phần trong đương quy Nhật Bản di thực là 1,21%. Trong đó bao gồm các coumarin đơn giản: umbelliferon, scopoletin và các dẫn xuất của coumarin: xanthotoxin, isoprimpinelin, bergapten, bergaptol [14],[15],[16]. Các dẫn xuất của coumarin có cấu trúc gần giống vitamin K, do đó có thể ức chế sự chuyển vitamin K dạng oxy hóa thành vitamin K dạng khử. Hậu quả của thiếu hụt vitamin K dạng khử là suy giảm phản ứng carboxyl hóa phần acid glutamic của các tiền yếu tố đông máu II, VII, IX, X để hoạt hóa chúng, từ đó làm ức chế quá trình đông máu [1],[2]. Như vậy, có thể dự đoán rằng tác dụng ức chế đông máu của Viên Angobin là của các dẫn xuất coumarin. Các nghiên cứu tiếp theo là cần thiết để làm sáng tỏ giả thuyết này, từ đó có cơ sở khoa học để nâng cấp tiêu chuẩn cơ sở của viên Angobin theo hướng liên quan đến chỉ tiêu định tính và định lượng nhóm coumarin.

5. Kết luận

Viên Angobin liều 1,8 viên/kg và 3,6 viên/kg thể hiện tác dụng chống đông máu trên chuột nhất trắng gây huyết khối động mạch thông qua tác dụng kéo dài thời gian chảy máu và thời gian thromplastin từng phần hoạt hóa, trong khi không làm thay đổi thời gian prothrombin và thời gian thrombin.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này là kết quả của đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở số 19/2021/HĐ-ĐTCS-DLSH tại Viện Dược liệu.

Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế (2007), *Dược lý học*, NXB Y học, Hà Nội, 113-127.
2. Nguyễn Anh Trí (2008), *Đông máu ứng dụng trong lâm sàng*, NXB Y học, Hà Nội, 7-116.
3. Nguyễn Thị Thanh Tuyền, Đoàn Trí Hạnh Dung, Ngô Thị Ngọc Yên (2018), Khảo sát độc tính cấp và tác động chống đông máu của huyết giác (*Dracaena cambodiana* Pierre ex Gapnep., Dracaenaceae), *Tạp chí Dược học*, 58(506), 50-53.
4. Bradbury C. A., McQuilten Z. (2022), Anticoagulation in COVID-19, *Lancet*, 399(10319), 5-7.
5. Hoàng Ngọc Nhung, Nguyễn Thị Quỳnh, Nguyễn Vũ Ngọc Anh (2012), Nghiên cứu sự phát sinh cơ quan từ lớp mỏng tế bào cây Đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba*) nuôi cấy *in vitro*, *Tạp chí sinh học*, 34 (3SE), 196-204.
6. Lê Thị Kim Loan (2001), Nghiên cứu hóa học, tác dụng sinh học và hướng dẫn sử dụng cây đương quy (*Angelica acutiloba* Kit) di thực từ Nhật Bản, Luận án tiến sĩ.
7. Nguyễn Thị Thanh Loan, Lê Thị Xoan, Phạm Thị Nguyệt Hằng (2021), Tác dụng bảo vệ thần kinh của đương quy Nhật Bản, dành dành và ngư tât trên mô hình thiếu oxy và glucose trên lát cắt hồi hải mã nuôi cấy, *Tạp chí Dược liệu*, 26 (6), 316-322.
8. Nogami-Hara A., Nagao M., Takasaki K. (2018), The Japanese *Angelica acutiloba* root and yokukansan increase hippocampal acetylcholine level, prevent apoptosis and improve memory in a rat model of repeated cerebral ischemia, *Journal of Ethnopharmacology*, 214, 190-196.
9. Lê Tùng Châu, Bùi Thị Bằng, Trần Minh Vịnh (1999), Nghiên cứu thăm dò tác dụng hoạt huyết *in vitro* và trên lâm sàng của đương quy Nhật Bản (*Angelica acutiloba* Kit.), *Tạp chí Dược liệu*, 4(1), 59-61.
10. Bonnard T., Hagemeyer C. E. (2015), Ferric Chloride-induced Thrombosis Mouse Model on Carotid Artery and Mesentery Vessel, *Journal of visualized experiments*, 100, e52838.
11. Shim Yeseul, Kwon Il, Park Youngseon (2021), Characterization of ferric chloride-induced arterial thrombosis model of mice and the role of red blood cells in thrombosis acceleration", *Yonsei Medical Journal*, 62(11), 1032-1041.
12. Eckly A., Hechler B., Freund M. (2011),

Mechanisms underlying FeCl₃-induced arterial thrombosis, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 9(4), 779-89. 13. Bộ môn Dược lực Trường Đại học Dược Hà Nội (2016), Sách thực tập dược lý, Trường Đại học Dược Hà Nội, Hà Nội, 1-2. 14. Phạm Thị Minh Tâm, Lê Thị Thu Cúc (2019), Xây dựng quy trình phân tích đồng thời acid chlorogenic, acid ferulic, scopolein, xanthotoxin và ligustilid trong dược liệu đương quy, *Tạp chí Dược học*, 59, 17-21. 15. Jeong S. Y., Kim H. M., Lee K. H. (2015), Quantitative analysis of marker compounds in *Angelica gigas*, *Angelica sinensis*, and *Angelica acutiloba* by HPLC/DAD, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, 63(7), 504-511. 16. Uto T., Tung N. H., Taniyama R. (2015), Anti-inflammatory activity of constituents isolated from aerial part of *Angelica acutiloba* Kitagawa, *Phytotherapy Research*, 29(12), 1956-1963.

Tạp chí Dược liệu, tập 27, số 5/2022 (Trang 303 - 308)

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG KIỂU ANDROGEN CỦA BỘT CHIẾT ĐÔNG KHÔ SÂM VIỆT NAM CHẾ BIẾN TRÊN CHUỘT BỊ GÂY STRESS CÔ LẬP

**Nguyễn Hoàng Minh^{1,*}, Nguyễn Minh Khoa¹, Chung Thị Mỹ Duyên¹, Hà Quang Thanh¹,
Nguyễn Mai Trúc Tiên¹, Nguyễn Thị Thu Hương²**

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

²Đại học Quốc tế Hồng Bàng

*Email: hoangminhtkd90@gmail.com

(Nhận bài ngày 26 tháng 9 năm 2022)

Tóm tắt

Mục tiêu của nghiên cứu này tiến hành đánh giá tác dụng tăng cường nội tiết tố sinh dục nam của bột chiết đông khô sâm Việt Nam chế biến (PVG) trên mô hình chuột bị stress cô lập. Nghiên cứu này sử dụng bột chiết đông khô hồng sâm (RG) và diazepam làm chứng dương. Thử nghiệm tiến hành cho chuột bị stress cô lập (sau 1 tháng) uống mẫu thử trong 15 ngày liên tục. Kết quả cho thấy rằng PVG ở cả 2 liều 200 mg/kg-400 mg/kg đều thể hiện tác dụng làm tăng testosterone trong huyết tương đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Kết quả này tốt hơn lô cho uống RG liều 400 mg/kg nhưng yếu hơn diazepam. Hơn nữa, PVG ở cả hai liều thử nghiệm thể hiện tác dụng bảo vệ tinh hoàn làm giảm hàm lượng malondialdehyd (MDA) trong tinh hoàn đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. PVG thể hiện tác dụng ức chế peroxy hóa lipid tế bào thận tương tự như RG và diazepam trên mô hình chuột bị stress cô lập. Những kết quả này cho thấy rằng PVG có tác dụng bảo vệ các cơ quan sinh sản chống lại quá trình peroxy hóa lipid do gốc tự do gây ra và có khả năng phục hồi đáng kể hàm lượng testosterone trong huyết tương, đối với những đối tượng bị stress thần kinh.

Từ khóa: Sâm Việt Nam chế biến, Testosterone, Malondialdehyd, Stress cô lập

Summary

Study on Androgenic Effect of Processed *Panax vietnamense* Lyophilized Powder Extract in Isolation Stress Mice

The aim of this study was designed to investigate the androgenic effects of processed *Panax Vietnamensis* lyophilized powder extract (PVG) in isolation stress mice model. This study used Red Ginseng lyophilized power extract (RG) and diazepam as reference drugs. The individually housed mice were treated with PVG at dose of 200 mg/kg and 400 mg/kg for 15 days after one month of isolation stress. The results showed that PVG at the oral doses of 200 mg/kg and 400 mg/kg were effective to increase testosterone in the plasma. PVG at the oral doses of 200 mg/kg and 400 mg/kg was effective to increase significantly testosterone level in the plasma in comparison with pathological control. This effect was better than in RG group (400 mg/kg); but weaker than in diazepam group. Moreover, PVG at the doses of 200 mg/kg and 400 mg/kg decreased significantly malondialdehyde level in the testis in comparison with pathological control. PVG showed the inhibitory activity of lipid peroxidation in the testis, similar to RG and diazepam on isolation stress model in mice. These results suggested that PVG induces protective actions towards male reproductive organs against the lipid peroxidation induced by free radicals and has the ability to recover considerably the amount of testosterone in the plasma of stressed subjects.

Keywords: Processed Vietnamese ginseng, Testosterone, Malondialdehyde, Isolation stress.

1. Đặt vấn đề

Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), stress là mối đe dọa lớn nhất cho sức khỏe cộng đồng trong thế kỉ 21. Các nghiên cứu cho thấy rằng, căng thẳng stress là vấn đề có liên quan mật thiết đến quá trình sản xuất testosterone nội sinh của cơ thể. Căng thẳng stress sẽ làm gia tăng nồng độ cortisol. Cortisol chính là một hormone ngăn chặn và ức chế sản sinh testosterone. Nhiều

nghiên cứu cũng chứng minh chuột bị stress có hàm lượng các enzym chống oxy hóa như CAT và GST ở tinh hoàn giảm đáng kể, đồng thời sinh ra nhiều gốc tự do ROS gây peroxy hóa lipid tế bào dẫn đến hàm lượng malondialdehyd ở tinh hoàn tăng lên [1],[2],[3].

Nhiều nghiên cứu chứng minh sâm Việt Nam chứa protopanaxadiol (PPD) và protopanaxatriol (PPT) như ginsenoside Rb1, Rd, Re, Rg1 và các