



KHẢO SÁT TÁC ĐỘNG GIẢM ĐAU VÀ KHÁNG VIÊM CỦA CÂY LÁ ĐẮNG (*VERNONIA AMYGDALINA DEL.*) TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Studies on the Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of *Vernonia Amygdalina Del.* in Swiss Albino Mice

Phạm Thị Ngọc Anh¹, Trần Ngọc Kim Cương², Đoàn Văn Viên^{3*} và Ngô Văn Cường⁴

^{1,2,3} Bộ môn Dược lý – Dược lâm sàng, Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng

⁴ Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng

¹noahpt96@gmail.com, ²tnkcuong@gmail.com, ³vanviendoan@gmail.com và ⁴vancuong283@gmail.com

TÓM TẮT.

Mục tiêu: Khảo sát tác động giảm đau ngoại biên và kháng viêm của cao chiết dược liệu Lá đắng *Vernonia amygdalina Del.* trên chuột nhắt trắng.

Đối tượng - Phương pháp nghiên cứu: Cây Lá đắng được thu hái ở thành phố Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai. Tác động kháng viêm được nghiên cứu trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan 1%. Tác động giảm đau được nghiên cứu trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic 0,7%.

Kết quả: Kết quả nghiên cứu cho thấy cao nước Lá đắng liều 2500 mg/kg và liều 1000 mg/kg có tác động kháng viêm tương đương với ibuprofen liều 7,5 mg/kg trong thí nghiệm kháng viêm. Đồng thời, cao nước Lá đắng liều 2500 mg/kg, liều 1000 mg/kg và liều 500 mg/kg làm giảm số lần đau quận tương đương với paracetamol liều 50 mg/kg trong thí nghiệm giảm đau ngoại biên.

Kết luận: Cao nước Lá đắng liều 2500 mg/kg và liều 1000 mg/kg có tác động giảm đau và kháng viêm. Vì vậy góp phần mở rộng tiềm năng ứng dụng trong điều trị.

TỪ KHÓA: Lá đắng, Giảm đau, Kháng viêm

ABSTRACT.

Objectives: Studies on the Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of *Vernonia amygdalina Del.* in Swiss albino mice.

Methods: The *Vernonia amygdalina Del.* leaves were collected at Bien Hoa city, Dong Nai province. The anti-inflammatory effect was assessed in the carrageenan-induced paw edema model of inflammation. The analgesic effect was assessed in the acetic acid-induced writhing test.

Results: The aqueous leaves extract of *Vernonia amygdalina Del.* at dose of 2500 mg/kg and 1000 mg/kg PO has anti-inflammatory effect as equivalent as ibuprofen 7.5 mg/kg PO in anti-inflammatory test. Simultaneously, this extract at dose of 2500 mg/kg, 1000 mg/kg and 500 mg/kg PO also reduced the number of writhings as equivalent as paracetamol 50 mg/kg PO in peripheral analgesic test.

Conclusion: The results showed that the extract at dose of 2500 mg/kg and 1000 mg/kg had the both analgesic and anti-inflammatory effects. Therefore, it promises to become a potential application in diseases treatment.

KEYWORD: *Vernonia amygdalina Del.*, Analgesic, Anti-inflammatory

1. GIỚI THIỆU

Cây Lá đắng hay còn gọi là cây Mật gấu nam đã được sử dụng từ lâu trong dân gian để chữa nhiều bệnh khác nhau như trị đau nhức, tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, đái tháo đường, ngừa ung thư... và cũng được sử dụng rất nhiều ở các nước Châu Phi như Nigeria, Cameroon, Congo... Nhiều công trình nghiên cứu đã được công bố các tác dụng của dịch chiết *Vernonia amygdalina Del.* như tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, chống nôn của dịch chiết acetone [1], tác dụng chống ung thư vú [2]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về tác dụng dược lý của Lá đắng vẫn chưa được công bố nhiều tại Việt Nam. Gần đây nước ta có nhiều người sử dụng cây Lá đắng để điều trị đau nhức, giảm sưng viêm. Do đó, đề tài tiến hành nghiên cứu khảo sát tác động giảm đau và kháng viêm của cây Lá đắng *Vernonia amygdalina Del.* được thu hái tại Biên Hòa, Đồng Nai.

2. ĐỐI TƯỢNG – PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu

Dược liệu nghiên cứu là Lá của cây Lá đắng – *Vernonia amygdalina Del.* được thu hái tại thành phố Biên Hòa, Đồng Nai vào tháng 2 năm 2018. Dược liệu sau khi thu hái về được rửa sạch và tách lấy lá, phơi âm can. Dược liệu được xay và rây qua rây có đường kính mắt rây 2 mm. 500 gam dược liệu khô (độ ẩm 10,93%) được sắc với 4 lít nước trong 3 giờ, lọc lấy dịch và cô trên bếp cách thủy, thu được cao đặc toàn phần có độ ẩm là 11,83%.

Received: May, 31st, 2019

Accepted: July, 24th, 2019

* Corresponding Author

Email: vanviendoan@gmail.com

Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng khỏe mạnh giống đực chủng *Swiss albino* trọng lượng 20-25 g, được cung cấp bởi Viện kiểm nghiệm thuốc TPHCM. Chuột được nuôi ổn định 2 ngày tại phòng thí nghiệm được lý tưởng Đại học Lạc Hồng trước khi tiến hành thử nghiệm. Thời gian thử nghiệm từ 7 đến 12 giờ.

Thuốc - Hóa chất thử nghiệm

Carrageenan (Sigma Aldrich), acid acetic (Xilong, Trung Quốc), ibuprofen (Idofen 200, Boston), paracetamol (Efferalgan 500 mg, Pháp).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng [3]

Khởi đầu từ liều cao nhất có thể qua được kim cho uống.

Nghiên cứu sơ khởi: Xác định liều LD₀ (liều tối đa không gây chết) và liều LD₁₀₀ (liều tối thiểu gây chết 100%).

Nghiên cứu xác định: Chuột được chia làm 6 lô, mỗi lô ít nhất 6 con, cho sử dụng thuốc ở các liều trong khoảng LD₀ và LD₁₀₀, chia theo cấp số. Ở những liều gần LD₅₀ tăng số lượng chuột để sự đo lường được chính xác hơn. Quan sát chuột trong 24 giờ sau khi dùng thuốc, ghi nhận các phản ứng xảy ra trên chuột và số lượng chuột sống, chết ở mỗi lô. Theo dõi chuột còn sống sau 14 ngày kể từ ngày dùng thuốc để ghi nhận triệu chứng bất thường. LD₅₀ được tính theo phương pháp Miller-Tainter và Karber-Behrens.

Nghiên cứu tác động kháng viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan

Carrageenan được sử dụng làm tác nhân gây viêm. Đo độ phù bàn chân chuột bằng máy Plethysmometer 37140 của hãng Ugo Basile, Italy.

Đo thể tích bàn chân trái (mực nước đến khuỷu chân) của chuột trước khi thử nghiệm. Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô:

Lô chứng dương không điều trị: uống nước cất

Lô điều trị với thuốc đối chứng: uống ibuprofen (Idofen 200) liều 7,5 mg/kg [4]

Lô điều trị với cao nước Lá đắng: chia thành 2 lô có liều lần lượt là 2500 mg/kg và 1000 mg/kg.

Chuột được gây viêm bằng cách tiêm vào gan bàn chân trái sau 0,025 ml dung dịch carrageenan 1% được pha trong dung dịch sinh lý. Đo thể tích bàn chân chuột 3 giờ sau khi gây viêm.

Theo dõi độ giảm sưng phù của bàn chân chuột sau khi cho dùng thuốc 30 phút mỗi ngày vào một giờ nhất định trong 6 ngày liên tiếp [5]. Độ giảm sưng phù thể tích chân chuột được tính theo công thức:

$$\%X = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100\% \quad (1)$$

X: Độ giảm sưng phù chân tính theo %.

V₀: Thể tích chân chuột sau khi gây viêm 3 giờ (ml).

V_t: Thể tích chân chuột mỗi ngày sau khi gây viêm (ml).

Nghiên cứu tác động giảm đau ngoại biên theo mô hình gây đau quận

Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô:

Lô chứng dương không điều trị: uống nước cất.

Lô điều trị với thuốc đối chứng: uống paracetamol (Efferalgan 500 mg) liều 50 mg/kg [6].

Lô điều trị với cao nước Lá đắng: chia thành 3 lô có liều lần lượt là 2500 mg/kg, 1000 mg/kg và 500 mg/kg.

Sau khi cho chuột dùng thuốc nghiên cứu 30 phút thì tiến hành tiêm phúc mô chuột dung dịch acid acetic 0,7% với điều kiện tiêm là 0,1 ml/10 g cân nặng. Mỗi chuột được đặt riêng lẻ vào một bocal nhựa và ghi nhận phản ứng đau quận bụng ở chuột. Chuột được cho là có phản ứng đau quận khi chuột

co thắt bụng và duỗi ít nhất một chân sau. Số lần đau quận của chuột được quan sát và ghi nhận trong vòng 5 phút tại các thời điểm 5 phút, 20 phút và 35 phút sau khi tiêm. So sánh số lần đau quận của chuột giữa các lô tại cùng một thời điểm với nhau [5].

Phân tích thống kê số liệu thực nghiệm

Các số liệu được trình bày dưới dạng Số trung bình (Mean) ± SEM (Standard Error of Mean – Sai số chuẩn của số trung bình). Sự khác biệt giữa các lô được phân tích bằng phương pháp Mann – Whitney với phần mềm Minitab 17.0. P<0,05 được cho là có ý nghĩa thống kê. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 Thử nghiệm độc tính cấp

Theo dõi sau 24 giờ thử nghiệm, với liều tối đa có thể cho uống cao nước Lá đắng trên chuột nhắt trắng là 10000 mg cao/kg thể trọng chuột. Không có chuột chết nên không tìm được LD₅₀.

Dựa vào liều lớn nhất đã thử, xác định được D_{max}=10000 mg cao/kg.

3.2 Tác dụng kháng viêm

Lô chứng dương không điều trị có thể tích chân chuột sinh lý khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thể tích chân sau thử nghiệm (p = 0.0009).

Lô thuốc đối chứng ibuprofen liều 7,5 mg/kg và cao nước các liều 2500 mg/kg, 1000 mg/kg có thể tích chân sinh lý khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với thể tích chân sau điều trị.

Điều này cho thấy các liều cao đã đưa thể tích chân chuột sau khi gây viêm trở về thể tích chân sinh lý. Đối với lô không điều trị thì thể tích chân chuột có giảm nhưng không trở về trạng thái sinh lý ban đầu.

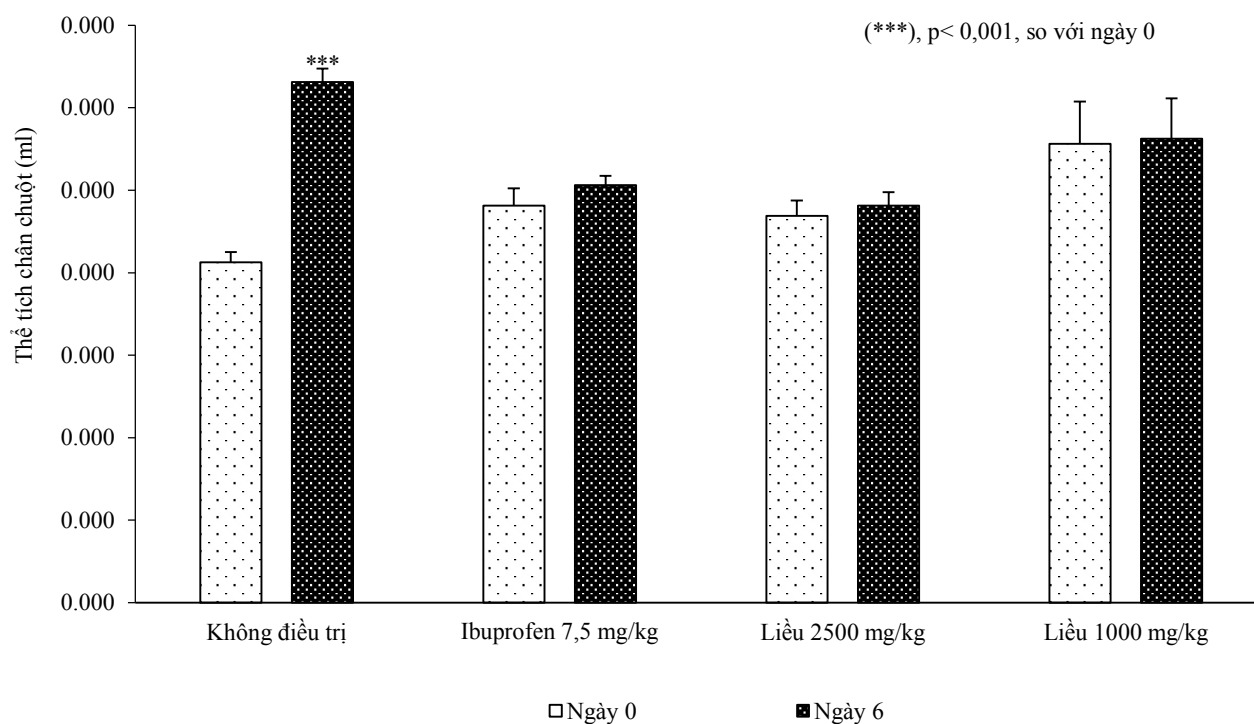
Lô chứng dương không điều trị có trọng lượng chuột sinh lý khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với trọng lượng chuột sau thử nghiệm.

Lô thuốc đối chứng ibuprofen liều 7,5 mg/kg và các liều cao 2500 mg/kg, 1000 mg/kg có trọng lượng chuột sinh lý khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với trọng lượng sau điều trị.

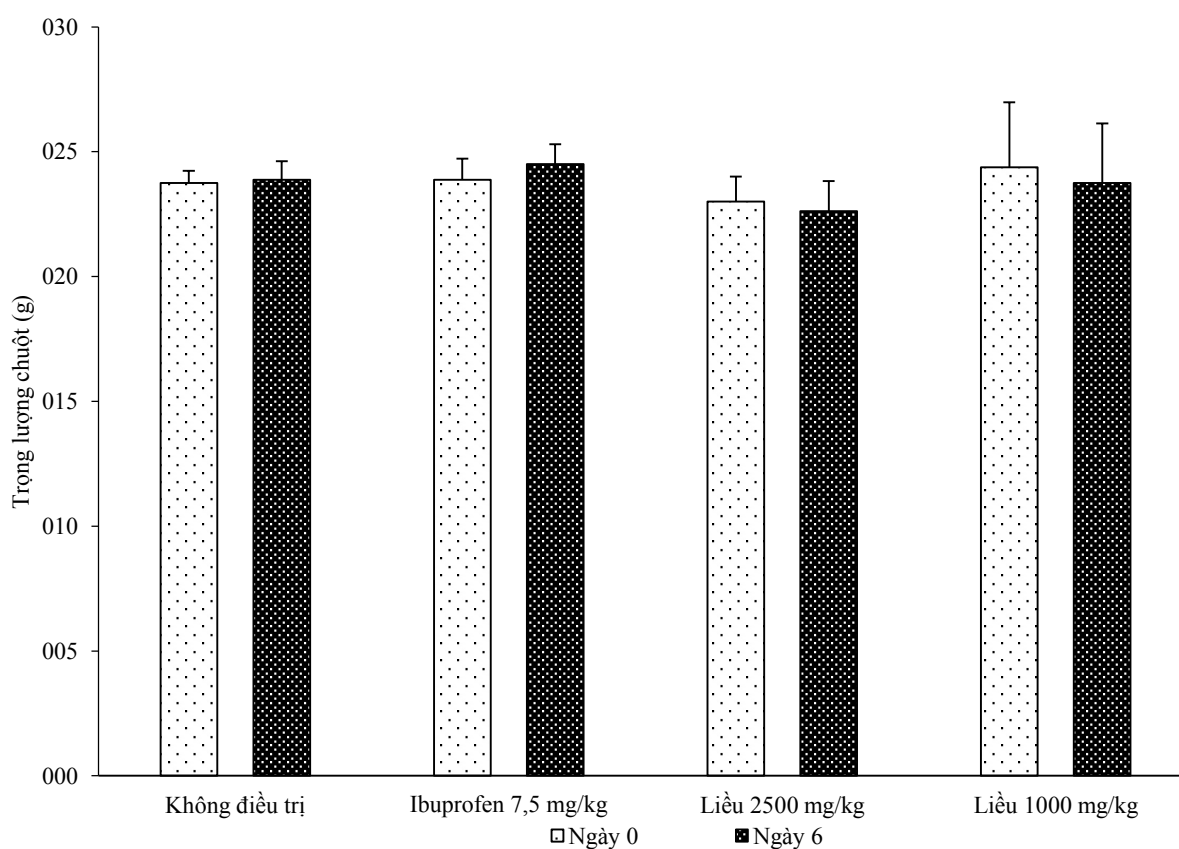
Điều này cho thấy trọng lượng chuột không thay đổi đáng kể và không ảnh hưởng đến thể tích chân chuột trong quá trình thử nghiệm. Thuốc đối chứng ibuprofen liều 7,5 mg/kg làm giảm độ sưng phù chân chuột khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng dương không điều trị từ ngày 1 đến ngày 6 của quá trình thử nghiệm.

Cao nước Lá đắng liều 2500 mg/kg làm giảm độ sưng phù chân chuột so với lô chứng dương không điều trị từ ngày 1 đến ngày 6 và có ý nghĩa thống kê vào ngày 5, ngày 6 của quá trình điều trị. So với lô ibuprofen liều 7,5 mg/kg thì độ sưng phù chân chuột có giảm vào ngày cuối nhưng chưa có ý nghĩa thống kê. Cao nước liều 2500 mg/kg làm giảm độ sưng phù chân chuột so với liều 1000 mg/kg vào ngày 1, 2, 5 và 6 của quá trình thử nghiệm nhưng sự khác biệt có ý nghĩa thống kê chỉ xảy ra vào ngày 6. Cao nước Lá đắng liều 1000 mg/kg làm giảm độ sưng phù chân chuột so với lô chứng dương không điều trị từ ngày 3 đến ngày 6, sự giảm này chỉ có ý nghĩa thống kê vào ngày 5.

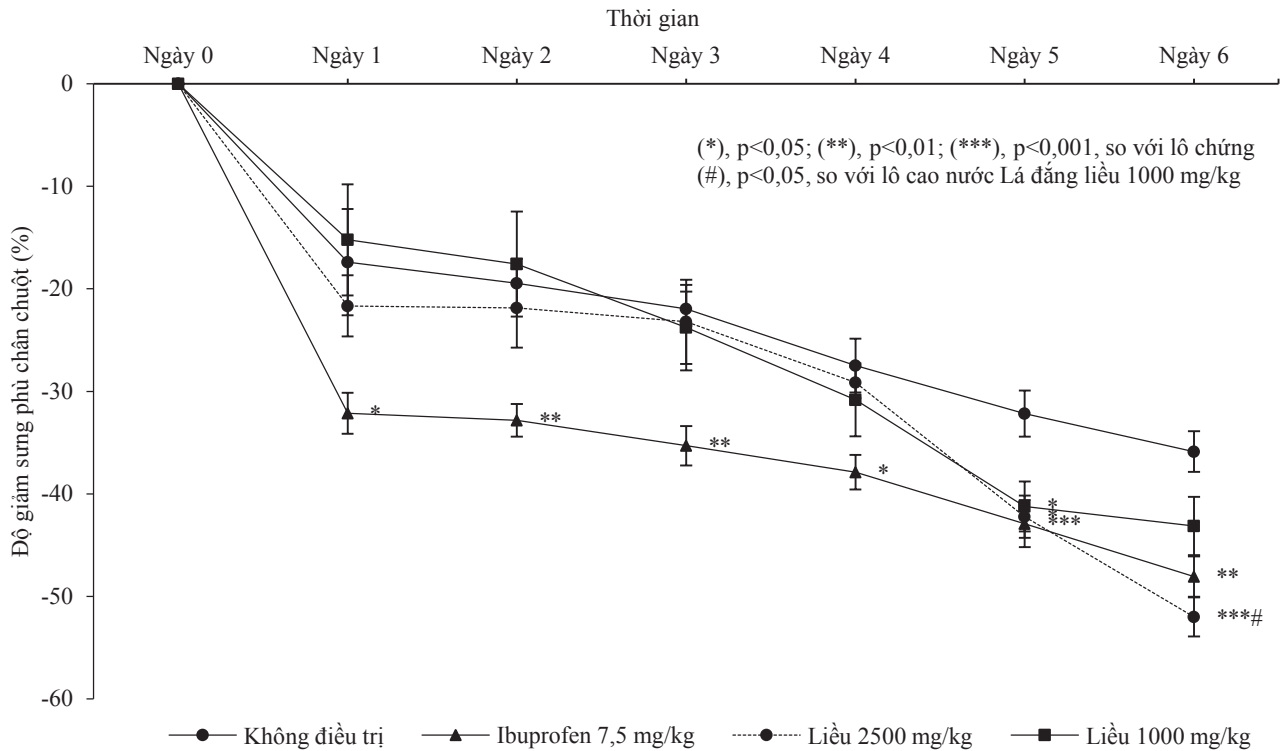
Từ đó cho thấy, cao nước Lá đắng có tác dụng kháng viêm, tương đồng với nghiên cứu của Adeolu A. Adedapo và cộng sự (2014) [7]



Hình 1. Thể tích chân chuột sinh lý (ngày 0) và sau điều trị (ngày 6)



Hình 2. Trọng lượng chuột sinh lý (ngày 0) và sau điều trị (ngày 6)



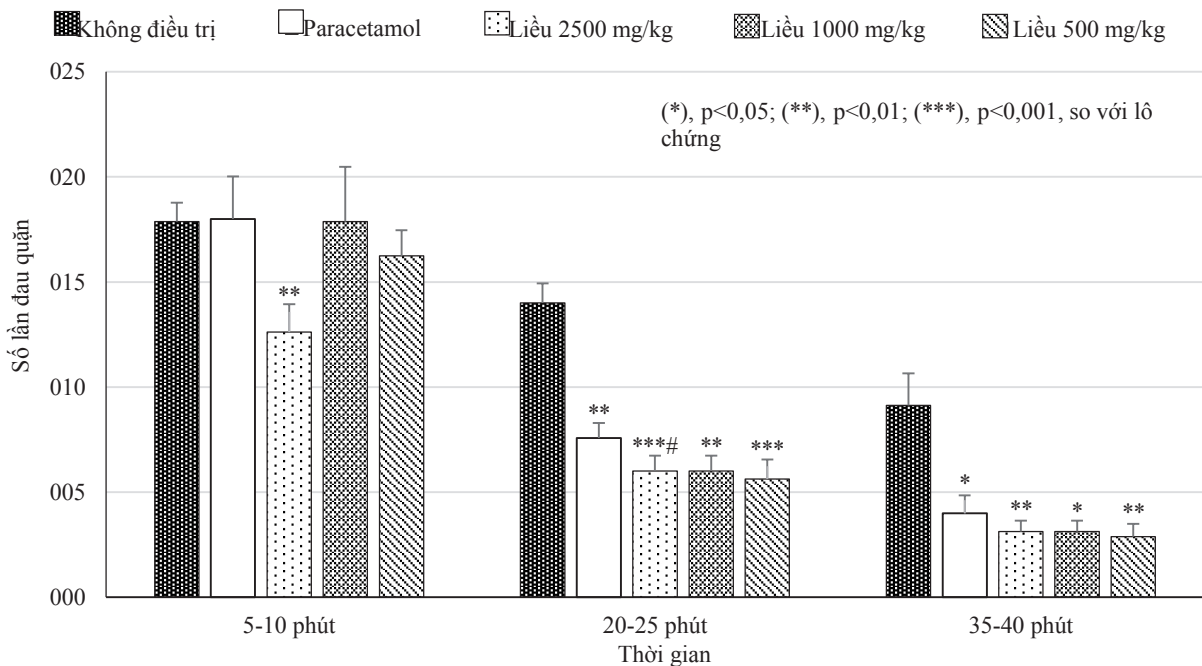
Hình 3. Độ giảm sưng phù chân chuột theo thời gian

3.3 Tác dụng giảm đau

Thuốc đối chứng paracetamol liều 50 mg/kg làm giảm số lần đau quận so với lô chứng dương không điều trị ở cả 3 khoảng thời gian khảo sát, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở 2 khoảng thời gian 20-25 phút và 35-40 phút.

Cao nước Lá đắng liều 2500 mg/kg làm giảm số lần đau quận có ý nghĩa so với lô chứng dương không điều trị ở cả 3 khoảng thời gian khảo sát. Số lần đau quận có giảm so với lô paracetamol liều 50 mg/kg ở cả 3 khoảng thời gian

khảo sát và có ý nghĩa thống kê ở khoảng thời gian 20-25 phút. Cao nước Lá đắng liều 1000 mg/kg và 500 mg/kg làm giảm số lần đau quận có ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại 2 khoảng thời gian 20-25 phút và 35-40 phút. Số lần đau quận có giảm so với lô paracetamol liều 50 mg/kg ở cả 3 khoảng thời gian nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê. Tác động làm giảm số lần đau quận của cao nước Lá đắng khác nhau không có ý nghĩa thống kê giữa 3 liều.



Hình 4. Số lần đau quận trung bình của các lô vào các thời điểm

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao nước Lá đắng có tác động giảm đau, điều này khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Elion Itou RDG và cộng sự (2017) [6].

4. KẾT LUẬN

Cao nước Lá đắng *Vernonia amygdalina* Del. được chia làm 3 liều 2500 mg/kg, 1000 mg/kg và 500 mg/kg có tác động kháng viêm và giảm đau ngoại biên, tương đương với những thuốc đối chiếu phổ biến trên thị trường như ibuprofen 7,5 mg/kg và paracetamol 50 mg/kg. Hiện tại chưa có nhiều công bố về nghiên cứu tác dụng dược lý của cây Lá đắng tại Việt Nam, nên cần mở rộng các hướng nghiên cứu vì cây Lá đắng có tiềm năng ứng dụng tốt trong điều trị.

5. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Adeolu Alex Adedapo; Olujoke Janet and Ademola Adetokunbo Oyagbemi. Anti-Oxidant Anti-Inflammatory and Antinociceptive Properties of the Acetone of *Vernonia amygdalina* in Some Laboratory Animals, *Adv Pharm Bull*, **2014**, 4 (2), 591-598.
- [2] Fang Cheng Wong, Chern Chiu Woo, Annie Hsu and Benny Kwong Huat Tan. The Anti-Cancer Activities of *Vernonia amygdalina* Extract in Human Breast Cancer Cell Lines Are Mediated through Caspase - Dependent and p53 - Independent Pathways. *PLOS One*, **2013**, 8 (10), 1-15.
- [3] Đỗ Trung Đàm. Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, NXB Y học, Hà Nội, **1996**.
- [4] Amit Lahoti, Bhupinder S Kalra, Uma Tekur. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory activity of fixed dose combination: Non-steroidal anti-inflammatory drugs in experimental animals. *Indian J Dent Res*, **2014**, 25 (5), 551-554.
- [5] Võ Phùng Nguyên, Lưu Hoàng Lê Giang, Hoàng Ngọc Anh, Độc tính cấp – bán trường diễn và tác động giảm đau, kháng viêm của nọc bọ cạp đen An Giang *Heterometrus laoticus*. *Y học TP. HCM*, **2009**, 13 (1), 1-6.
- [6] Elion Itou RDG, Etou Ossibi AW, Nsonde Ntandou GF, Morabandza CJ, Mayela Nkouka SHJ, Bokia CB and Abena AA. Evaluation of Antipyretic and Analgesic Effects of Aqueous Extract of Leaves of *Vernonia amygdalina* Del. (Asteraceae). *Bioequiv & Bioavailab Int J*, **2018**, 2 (2), 1-7.
- [7] Adeolu A. Adedapo and Olujoke J. Aremu. Anti - inflammatory, Analgesic and Antioxidant Activities of Aqueous Leaf Extract of *Vernonia amygdalina* in Some Laboratory Animals. *AJS*, **2014**, 3 (3), 253-265.