

Đánh giá độc tính cấp và tác dụng giảm đau của cao chiết thân rễ Thiên niên kiện lá lớn (*Homalomena pendula*)

Nguyễn Khánh Thùy Linh^{1,2*}, Hoàng Thị Như Hạnh³, Nguyễn Thị Hoài¹,
Trần Thị Vân Anh², Hồ Việt Đức¹

(1) Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

(3) Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề và mục tiêu: Thiên niên kiện lá lớn đã được sử dụng để điều trị đau nhức xương khớp, đau đầu gối, tê bại chân tay, đau dạ dày. Các nghiên cứu về tác dụng dược lý của loài này còn rất hạn chế. Nghiên cứu này tiến hành với mục tiêu đánh giá độc tính cấp và tác dụng giảm đau của cây Thiên niên kiện lá lớn.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Thân rễ Thiên niên kiện lá lớn thu hái tại tỉnh Lâm Đồng vào tháng 01 năm 2021. Chiết xuất bằng cách ngâm ở nhiệt độ phòng, chiết phân bố lỏng - lỏng. Đánh giá độc tính cấp bằng đường uống và đánh giá tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau quặn bụng bằng acid acetic. **Kết quả:** Cao methanol và cao chiết phân đoạn HGH3 liều tối đa 5000 mg/kg chưa phát hiện biểu hiện độc tính cấp đối với chuột nhắt trắng theo đường uống. Cao methanol ở mức liều 300, 100 mg/kg thể trọng thể hiện rõ tác dụng giảm đau tại các thời điểm nghiên cứu. Cao HGH3 ở mức liều 300 mg/kg thể trọng cho thấy tác dụng giảm đau ở 15 phút nghiên cứu đầu tiên. **Kết luận:** Chưa phát hiện biểu hiện độc tính cấp của cao chiết khi đã thử nghiệm đến mức liều 5000 mg/kg và cao chiết có tác dụng giảm đau ở liều thử nghiệm.

Từ khóa: Thiên niên kiện lá lớn, độc tính cấp, giảm đau.

Evaluation of the acute toxicity and analgesic effects of the rhizome extract of *Homalomena pendula* in vivo

Nguyen Khanh Thuy Linh^{1,2*}, Hoang Thi Nhu Hanh³, Nguyen Thi Hoai¹,
Tran Thi Van Anh², Ho Viet Duc¹

(1) University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

(3) University of Agriculture and Forestry, Hue University

Abstract

Background and objectives: *H. pendula* has been used to treat bone and joint pain, knee pain, osteoarthritis, and stomach pain. Research on the biological activities of this species is very limited. This study aims to assess acute toxicity and evaluate the analgesic effects of *H. pendula*. **Materials and methods:** The rhizomes of *H. pendula* were harvested in Lam Dong province in January 2021. Extractions were carried out using methods such as maceration at room temperature, liquid-liquid partitioning. Acute toxicity assessment was performed by using the extracts via oral route, and the analgesic effect of extracts was evaluated by intraperitoneal injection with acetic acid on mice model. **Results:** Methanol extract and HGH3 fraction at a maximum doses of 5000 mg/kg have not shown signs of acute toxicity in white mice when administered orally. Methanol extract at doses of 300 mg/kg and 100 mg/kg have consistently demonstrated analgesic activity at all study time points. HGH3 fraction at a dose of 300 mg/kg showed analgesic activity within the first 15 minutes of the study. **Conclusion:** The extracts did not show any acute toxicity at the highest tested dose of 5000 mg/kg and exhibit the analgesic effects at the tested dose in mice model.

Keywords: *Homalomena pendula*, acute toxicity, analgesic effects.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xu hướng sử dụng các thuốc có nguồn gốc từ thảo dược để điều trị bệnh ngày càng tăng trên thế giới. Thuốc từ thảo dược có nhiều ưu điểm nổi bật như hiệu quả đáng tin cậy, dễ dung nạp và có ít tác

động bất lợi hơn các thuốc tổng hợp hóa dược. Vì vậy, việc tìm kiếm và phát triển các thuốc có nguồn gốc thảo dược đang rất được quan tâm. Việt Nam sở hữu một kho tàng các cây thuốc, tuy nhiên phần lớn các cây thuốc được sử dụng theo kinh nghiệm dân

Tác giả liên hệ: Nguyễn Khánh Thùy Linh, email: nktlinh@huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài: 29/02/2024; Ngày đồng ý đăng: 15/05/2024; Ngày xuất bản: 10/6/2024

gian mà chưa được nghiên cứu một cách khoa học và toàn diện.

Thiên nhiên kiện lá lớn đã được sử dụng để điều trị đau nhức xương khớp, đau đầu gối, tê bại chân tay, thoái hoá khớp, đau dạ dày [1-3]. Cho đến nay, các nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài này vẫn còn hạn chế. Gần đây, chúng tôi đã phân lập và chứng minh được tác dụng kháng viêm của một số sesquiterpenoid từ thân rễ của loài Thiên nhiên kiện lá lớn [4]. Để làm sáng tỏ kinh nghiệm dân gian trong việc sử dụng cây thuốc này, đề tài tiếp tục tiến hành đánh giá tác dụng giảm đau *in vivo* của cao chiết dược liệu.

Trong quy trình nghiên cứu và phát triển thuốc từ dược liệu, việc đánh giá độc tính cấp là rất cần thiết để cung cấp bằng chứng về độ an toàn của dược liệu đó. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu đánh giá độc tính cấp và tác dụng giảm đau của cây Thiên nhiên kiện lá lớn, góp phần cung cấp các bằng chứng khoa học cho những nghiên cứu định hướng ứng dụng dược liệu này vào công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cây Thiên nhiên kiện lá lớn được thu hái tại tỉnh Lâm Đồng vào tháng 01 năm 2021. Mẫu được Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định tên khoa học. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế.

Chuột Swiss khỏe mạnh, không mắc bệnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, không phân biệt giống, có khối lượng 30 ± 2 g, được nuôi tại khu nuôi động vật của Viện Công nghệ sinh học. Chuột được cho ăn thức ăn tiêu chuẩn và nước uống tự do.

Công thức tính giá trị LD_{50}

Xác định LD_{50} như sau: $LD_{50} = LD_{100} - \Sigma a \times b / N$; Trong đó:

LD_{50} :	Liều chết 50% động vật thí nghiệm
LD_{100} :	Liều thấp nhất gây chết 100% động vật thí nghiệm
N:	Số động vật trong một lô
a:	Hiệu số của hai liều kế tiếp
b:	Trung bình số chuột chết giữa hai liều kế tiếp

Lịch theo dõi: Theo dõi biểu hiện của chuột sau khi uống, trong vòng 2 giờ đầu và theo dõi hoạt động của ĐVTN trong thời gian 7-14 ngày sau khi uống mẫu thử.

2.2.3. Phương pháp đánh giá tác dụng giảm đau *in vivo*

Phương pháp xác định hoạt tính giảm đau được tiến hành theo phương pháp của Shah có điều chỉnh cho phù hợp với điều kiện của phòng thí nghiệm [9-

Chuột nhắt trắng BALB/c, cân nặng 18-22 gram, 30 con không phân biệt giống, có nguồn gốc từ Phòng thử nghiệm sinh học, Viện công nghệ sinh học, được nuôi trong điều kiện chuồng thoáng mát, đảm bảo vệ sinh, chế độ ăn uống theo nhu cầu của chuột.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết xuất cao toàn phần và cao phân đoạn

Quá trình chiết xuất tạo cao chiết toàn phần sử dụng phương pháp ngâm bột nguyên liệu với methanol (MeOH) ở nhiệt độ phòng. Cao MeOH toàn phần được phân tán trong nước và tiến hành chiết phân bố với *n*-hexan. Cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết phân đoạn *n*-hexan..

2.2.2. Phương pháp đánh giá độc tính cấp của cao chiết toàn phần của dược liệu

Phương pháp thử độc cấp được tiến hành theo Thường qui OECD 420 và “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu” của Bộ y tế ban hành theo quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27 tháng 10 năm 2015 và các tài liệu [5-7].

Chuẩn bị mẫu thử: mẫu được cân một lượng chính xác rồi nghiền với một lượng chính xác dung dịch carboxymethyl cellulose (CMC) 1% để đạt được nồng độ thích hợp cho chuột uống [8].

30 chuột nhắt trắng dòng BALB/c khỏe mạnh, khối lượng khoảng 18 - 22 gram, không phân biệt giống, được nuôi tại khu nuôi động vật của Viện Công nghệ sinh học trong điều kiện tiêu chuẩn về nhiệt độ, ánh sáng. Chuột được chia làm 3 lô (10 chuột/lô) bao gồm lô: chứng trắng được uống dung môi pha mẫu, lô 2 và lô 3 lần lượt cho uống cao chiết với liều 5000 mg/kg thể trọng. Chuột bị bỏ đói hoàn toàn 16 giờ trước khi được uống mẫu nghiên cứu.

12]. Cụ thể như sau: Động vật (chuột Swiss) được chia làm các lô (6 con/lô). Động vật sau khi phân lô được uống mẫu thí nghiệm hoặc uống dung môi pha mẫu. Lô chứng: uống 0,2 mL dung dịch pha mẫu/con. Lô đối chứng tham khảo: uống aspirin 100 mg/kg thể trọng. Các lô thử: uống cao dược liệu pha trong dung môi với các liều khác nhau (300, 100, 33 mg/kg thể trọng). Sau 30 phút tiến hành tiêm dung dịch acetic acid (10 mL/kg, 0,6%, tiêm vào khoang bụng) cho tất

cả chuột thí nghiệm. Đếm cơn đau quận sau 5 phút tiêm acetic acid và đếm sau mỗi 5 phút trong thời gian 30 phút. Phần trăm ức chế được xác định bằng cách so sánh kết quả của nhóm uống dịch chiết với nhóm đối chứng, theo công thức: $I(\%) = [(Dc - Dt)/Dc] \times 100\%$

Trong đó:

Dc: Số cơn đau trung bình ở lô chứng

Dt: Số cơn đau trung bình ở lô thử

I%: Tỷ lệ ức chế các cơn đau

2.2.4. Xử lý kết quả

Số liệu được nhập và xử lý bằng phương pháp và thuật toán thống kê y sinh học trên phần mềm Excel. Số liệu được biểu diễn dưới dạng trung bình (TB) $\pm$ sai số SD. Kiểm định các giá trị bằng T-test student. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ

3.1. Chiết xuất cao toàn phần và cao phân đoạn

Thân rễ Thiên niên kiện lá lớn được rửa sạch, phơi sấy khô, xay thành bột thô (2,0 kg) và được ngâm chiết bằng MeOH (10 lít $\times$ 3 lần, 7 ngày/lần), cất loại dung

môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết toàn phần (kí hiệu HGM, 151 g). Cao chiết này được hoà tan vào 2 lít nước cất, sau đó chiết phân bố với n-hexan (2 lít $\times$ 3 lần). Cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết n-hexan (kí hiệu HGH, 38,9 g).

Cao chiết n-hexan (HGH) được tách thô thành 4 phân đoạn, HGH1 (7,3 g), HGH2 (3,3 g), HGH3 (17,9 g) và HGH4 (6,5 g) bằng cột silica gel pha thường, rửa giải gradient nồng độ n-hexan/acetone (100:0 – 0:100, v/v). Trong 4 phân đoạn này, phân đoạn HGH3 là phân đoạn có khối lượng lớn nhất, khi kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng, các vết chất cũng tập trung chủ yếu ở phân đoạn này. Do đó, phân đoạn HGH3 được nhóm nghiên cứu lựa chọn để nghiên cứu thành phần hóa học cũng như đánh giá tác dụng sinh học.

3.2. Đánh giá độc tính cấp của cao chiết

Xác định số chuột chết và quan sát biểu hiện bên ngoài

Sau khi cho chuột uống cao chiết HGM và HGH3 với liều 5000 mg/kg thể trọng, quan sát biểu hiện bên ngoài của chuột trong vòng 72 giờ và đếm số chuột chết, kết quả thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Số lượng chuột chết, biểu hiện bên ngoài khi uống mẫu

Lô TNo	Uống (mg/kg)	Số chuột chết trong 72 giờ	Biểu hiện bên ngoài trong vòng 0 - 72 giờ
1	ĐC	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
2	HGM liều 5000 mg/kg thể trọng	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
3	HGH3 liều 5000 mg/kg thể trọng	0	Sau khi uống mẫu, chuột di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt

Kết quả trên cho thấy cao chiết HGM, HGH3 liều 5000 mg/kg thể trọng đều không gây ngộ độc và không có chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi dùng thuốc.

Xác định sự thay đổi khối lượng của chuột

Kết quả theo dõi khối lượng trung bình của cơ thể chuột ở nhóm chứng và nhóm uống mẫu thử, trong quá trình thử nghiệm 7 ngày, được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả theo dõi khối lượng của chuột ở các lô

Lô TNo	Khối lượng trung bình của chuột thí nghiệm (g/con)			
	Trước khi uống	ngày 1	ngày 4	ngày 7
Đối chứng	20,56 $\pm$ 0,92	20,88 $\pm$ 0,60	21,72 $\pm$ 0,59	22,88 $\pm$ 0,82
HGM liều 5000 mg/kg	20,52 $\pm$ 0,87	20,66 $\pm$ 0,89	21,82 $\pm$ 0,77	22,59 $\pm$ 1,02
HGH3 liều 5000 mg/kg	20,55 $\pm$ 0,68	20,71 $\pm$ 0,65	21,79 $\pm$ 0,84	22,69 $\pm$ 0,91
P (so với đối chứng)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Khối lượng trung bình của chuột ở cả hai nhóm thử trước khi đưa vào thử nghiệm không có sự khác biệt so với nhóm chứng ($P > 0,05$). Sau khi uống mẫu thử 1 ngày, 4 ngày và 7 ngày, chuột thí nghiệm ở nhóm đối chứng và cả 2 nhóm thử không có sự khác

biệt ($P > 0,05$). Kết quả thu được chứng tỏ mẫu thử ở mức liều này không ảnh hưởng đến mức độ gia tăng trọng lượng của chuột thí nghiệm trong khoảng thời gian nghiên cứu.

Lượng thức ăn và nước uống của chuột tiêu thụ

- Nhóm đối chứng: chuột hoạt động và ăn uống bình thường.

- Nhóm uống mẫu HGM liều 5000 mg/kg cho thấy chuột tiêu thụ nước uống, thức ăn bình thường.

- Nhóm uống mẫu HGH3 liều 5000 mg/kg cho thấy chuột tiêu thụ nước uống, thức ăn bình thường

Quan sát dấu hiệu ngộ độc

- Sau khi uống mẫu HGM liều 5000 mg/kg không thấy có chuột chết. Lông của chuột mượt; tiêu thụ thức ăn, nước uống bình thường; phản xạ ánh sáng

và âm thanh tốt.

- Sau khi uống mẫu HGH3 liều 5000 mg/kg không thấy có chuột chết. Lông của chuột mượt; tiêu thụ thức ăn, nước uống bình thường; phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt.

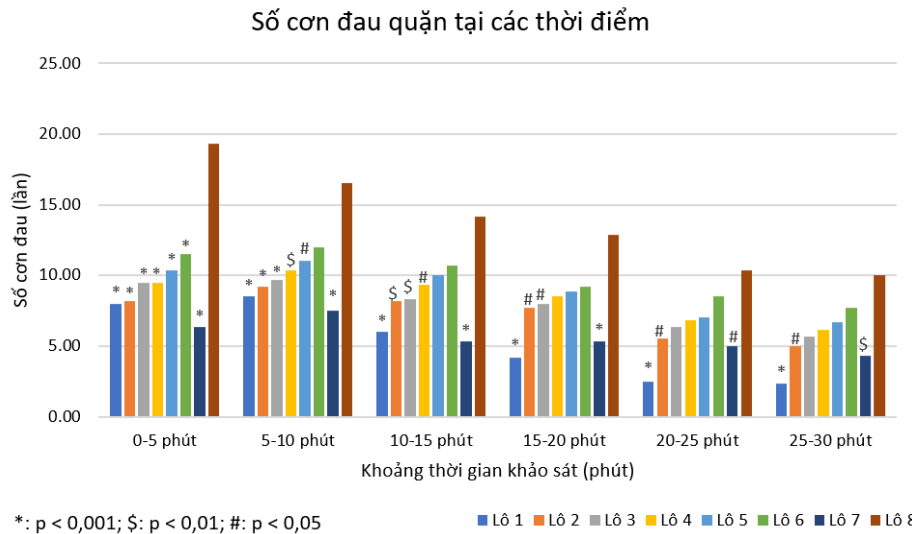
Như vậy, mẫu HGM và HGH3 ở liều tối đa 5000 mg/kg thể trọng chưa quan sát thấy các biểu hiện ngộ độc hay gây chết chuột. Do đó, có thể sử dụng mức liều này làm căn cứ tính mức liều cho các nghiên cứu khả năng gây độc bán trường diễn hoặc được lý tiếp theo.

3.3. Đánh giá tác dụng giảm đau của cao chiết

Kết quả số lần đau quận của các lô chuột thử nghiệm trên mô hình gây đau quận bằng acid acetic trong mỗi 5 phút được thể hiện ở Bảng 3 và Hình 1.

Bảng 3. Số cơn đau quận tại các thời điểm

Lô TN ₀ 0 - 5 phút		Số cơn đau quận trung bình tại các thời điểm					
		5 - 10 phút	10 - 15 phút	15 - 20 phút	20 - 25 phút	25 - 30 phút	
Lô 1 (HGM -300 mg/kg)	TB	8,00	8,50	6,00	4,17	2,50	2,33
	SE	2,16	2,51	1,59	1,25	0,56	1,20
	P	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Lô 2 (HGM -100 mg/kg)	TB	8,17	9,17	8,17	7,67	5,50	5,00
	SE	0,91	0,54	0,48	0,95	0,67	0,93
	P	< 0,001	< 0,001	< 0,01	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Lô 3 (HGM -33 mg/kg)	TB	9,50	9,67	8,33	8,00	6,33	5,67
	SE	1,09	0,61	0,95	1,13	0,67	0,95
	P	< 0,001	< 0,001	< 0,01	< 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 4 (HGH3 -300 mg/kg)	TB	9,50	10,33	9,33	8,50	6,83	6,17
	SE	1,61	1,54	1,26	1,31	0,75	1,17
	P	< 0,001	< 0,01	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 5 (HGH3 -100 mg/kg)	TB	10,33	11,00	10,00	8,83	7,00	6,67
	SE	0,42	0,77	0,89	0,65	1,41	1,48
	P	< 0,001	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 6 (HGH3 -33 mg/kg)	TB	11,50	12,00	10,67	9,17	8,50	7,67
	SE	0,50	1,18	1,09	0,60	0,67	0,56
	P	< 0,001	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 7 (Aspirin -100 mg/kg)	TB	6,33	7,50	5,33	5,33	5,00	4,33
	SE	1,17	1,45	1,43	1,43	1,29	1,20
	P	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,05	< 0,01
Lô 8 - ĐC	TB	19,33	16,50	14,17	12,83	10,33	10,00
	SE	2,17	1,50	1,25	1,90	0,92	0,68
	P						



Hình 1. Số cơn đau quận của chuột khi cho uống cao chiết ở các nồng độ khác nhau

Bên cạnh số cơn đau, thí nghiệm còn đánh giá tỷ lệ làm giảm thời gian đau quận của các lô thí nghiệm so lô chứng, kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Tác dụng giảm đau của mẫu nghiên cứu

Lô TNO	Phần trăm làm giảm cơn đau quận so với đối chứng tại các thời điểm (%)					
	0 - 5 phút	5 - 10 phút	10 - 15 phút	15 - 20 phút	20 - 25 phút	25 - 30 phút
Lô 1 (HMG-300 mg/kg)	58,62***	48,48***	57,65***	67,53***	75,81***	76,67***
Lô 2 (HMG-100 mg/kg)	57,76***	44,44***	42,35**	40,26*	46,77*	50,00*
Lô 3 (HMG-33mg/kg)	50,86***	41,41***	41,18**	37,66*	38,71	43,33
Lô 4 (HGH3-300 mg/kg)	50,86***	37,37**	34,12*	33,77	33,87	38,33
Lô 5 (HGH3-100 mg/kg)	46,55***	33,33**	29,41	31,17	32,26	33,33
Lô 6 (HGH3-33 mg/kg)	40,52***	27,27	24,71	28,57	17,74	23,33
Lô 7 (Aspirin-100 mg/kg)	67,24***	54,55***	62,35***	58,44***	51,61*	56,67**
Lô 8 - ĐC	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: * Sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

Tiêm phúc mô acid acetic đã gây nên cơn đau quận ở chuột. Các cơn đau bắt đầu xuất hiện trong vòng 5 phút sau khi tiêm và kéo dài trong suốt 30 phút thử nghiệm. Trong tất cả các khoảng thời gian khảo sát, số lần đau quận của lô chứng dương đều giảm so với lô chứng bệnh.

Mẫu cao chiết methanol (HGM) ở mức liều 300 mg/kg và 100 mg/kg thể trọng đã thể hiện rõ tác dụng giảm đau tại các thời nghiên cứu ($P < 0,05$ và $P < 0,001$), với % làm giảm cơn đau quận so với đối chứng lần lượt là 76,67; 50,00% sau 25 - 30 phút. Nhìn chung, khả năng giảm đau của HGM có thể so sánh được với đối chứng dương aspirin. Ở mức liều 300 mg/kg, HGM thậm chí còn cho thấy tác dụng tốt hơn khi thời gian thử nghiệm kéo dài. Nồng độ 33 mg/kg thể trọng không còn giữ được tác dụng tại thời điểm 20 - 25 phút và 25 - 30 phút.

Trong khi đó, mẫu cao phân đoạn HGH3 ở mức liều 300 mg/kg thể trọng cho thấy tác dụng giảm đau tại ba thời điểm nghiên cứu đầu tiên ($P < 0,05$ và $P < 0,001$) và không thể hiện tác dụng ở các thời điểm nghiên cứu sau. Mẫu HGH3 cho thấy tác dụng giảm đau phụ thuộc nồng độ, các nồng độ thấp hơn chỉ thể hiện tác dụng ở những thời điểm sớm ở mức có ý nghĩa và không giữ được tác dụng ở các thời điểm sau.

4. BÀN LUẬN

Đánh giá độc tính cấp của dược liệu hay hoạt chất là một bước hết sức quan trọng. Đây được xem là bước đánh giá ban đầu về khả năng ứng dụng của dược liệu hay hoạt chất trên lâm sàng, cũng như là cơ sở quan trọng để xác định liều hiệu quả sử dụng trên lâm sàng [7]. Một dược liệu hay dược chất được khuyến cáo sử dụng trên người khi vừa có hiệu

quả điều trị tốt, vừa có tính an toàn cao. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp cho thấy, cao methanol và cao HGH3 không gây ra độc tính cấp cho chuột thí nghiệm ở liều 5000 mg/kg trọng lượng chuột. Liều cho tác dụng dược lý thường trong khoảng 1/20 tới 1/5 của LD₅₀ [7]. Do đó, nghiên cứu sử dụng liều 300 mg/kg để tiến hành thử nghiệm khảo sát tác dụng giảm đau của dịch chiết là hợp lý.

Mô hình gây đau bằng acid acetic để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên, dùng acid acetic kích thích gây viêm và đau tại chỗ. Mặc dù mô hình này thiếu tính đặc hiệu nhưng nó vẫn được sử dụng một cách phổ biến do tính đơn giản, dễ sàng lọc, đánh giá tác dụng giảm đau của thuốc. Nhược điểm của phương pháp là chỉ có một tiêu chí đánh giá (số cơn quặn đau) nhưng lại được khắc phục bằng cách so sánh số cơn đau trong mỗi khoảng thời gian 5 phút tính từ lúc bắt đầu tiêm acid acetic cho đến hết phút thứ 30. Acid acetic là nguyên nhân gián tiếp gây giải phóng bradykinin, serotonin, histamin và các prostaglandin, chính những chất này gây ra đáp ứng đau quặn. Tác dụng đau quặn có thể do ức chế sự tổng hợp của một số chất trung gian gây viêm như TNF- α , IL-1 β , IL-6 và PGE2 [13,14]. Aspirin được chọn làm chứng dương để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên của thuốc. Aspirin ức chế sinh tổng hợp prostaglandin do ức chế có hồi phục enzyme cyclooxygenase (COX), làm giảm PGF-2 α , làm giảm tính cảm thụ của các neuron dây thần kinh cảm giác với các chất gây đau của phản ứng viêm [15]. Nghiên cứu đã chứng minh tác dụng giảm đau của cao chiết methanol (HGM) thể hiện rõ ở

nồng độ 300 mg/kg thể trọng và 100 mg/kg thể trọng trong suốt 30 phút thí nghiệm, ở nồng độ 33 mg/kg thể trọng chỉ thể hiện tác dụng giảm đau trong vòng 20 phút sau khi tác động tác nhân gây đau. Cao HGH3 liều 300 mg/kg thể trọng và 100 mg/kg thể trọng thể hiện tác dụng giảm đau rõ ràng trong vòng 10 phút đầu, ở liều 33 mg/kg thể trọng chỉ có khả năng giảm đau trong 5 phút đầu. Với tác dụng giảm đau khá tốt, khá an toàn về mặt độc tính cấp, Thiên nhiên kiện lá lớn là một dược liệu có triển vọng cho các nghiên cứu tiếp theo trong định hướng phát triển thành thuốc hoặc các sản phẩm phục vụ công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

5. KẾT LUẬN

Kết quả thử nghiệm độc tính cấp cho thấy không xác định được giá trị LD50 khi chuột uống cao chiết HGM và HGH3 liều 5000 mg/kg thể trọng. Ngoài ra, cao chiết HGM ở mức liều 300 và 100 mg/kg thể trọng thể hiện rõ tác dụng giảm đau tại các thời điểm nghiên cứu ($P < 0,05$ và $P < 0,001$). Phân đoạn HGH3 ở mức liều 300 mg/kg thể trọng cho thấy tác dụng giảm đau ở 15 phút đầu tiên ($P < 0,05$ và $P < 0,001$).

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (Nguyễn Khánh Thuỳ Linh được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số **VINIF.2023.TS.059**) và Đại học Huế (Mã số NCM.DHH.2023.02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích. Cây thuốc và động vật làm thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và kỹ thuật; 2007.
2. Viện dược liệu. Danh lục cây thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội; 2016.
3. Võ Văn Chi. Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học; 2012.
4. Nguyen L, Hoang H, Do T, Van Anh T, Nguyen H, Ho D. Sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena pendula* and their anti-inflammatory activities. *Natural Product Research*. 2022; 37:1–9.
5. Bộ Y tế. Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT về việc ban hành tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc Đông y, thuốc từ dược liệu.” 2015. 9–13, 18–27.
6. Akhila J, Manikkoth S, Shyam D, Alwar M. Acute toxicity studies and determination of median lethal dose. *Current Science*. 2007; 93:917–20.
7. Đỗ Trung Đàm. Phương pháp xác định độc tính của thuốc. NXB Y học, Hà Nội; 2017. 15–189.
8. Iswar Hazarika, K. M. Geetha, P. Sivakami Sundari, Divya Madhu. Acute oral toxicity evaluation of extracts of *Hydrocotyle sibthorpioides* in wister albino rats as per OECD 425 TG. *Toxicol Reports*. 2019; 6:321–328
9. Tasleem F, Azhar I, Ali SN, Perveen S, Mahmood ZA. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2014; 7S1:S461–468.
10. Choi EM, Hwang JK. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. *Fitoterapia*. 2004; 75(6):557–65.
11. Okokon JE, Nwafor PA. Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of ethanolic root extract of *Croton zambesicus*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010; 23(4):385–92.
12. Shah SMM, Shah SMH. Phytochemicals, antioxidant, antinociceptive and anti-inflammatory potential of the aqueous extract of *Teucrium stocksianum* bioss. *BMC Complementary and Alternative Med*. 2015; 15:351.
13. Đỗ Trung Đàm. Thuốc giảm đau chống viêm và các

phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý. NXB Y học, Hà Nội; 2017. 335–526.

14. Vogel H. Analgesic, Anti-inflammatory, and Anti-pyretic Activity. In: Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. 2007; 983–1116.

15. Moore RA, Wiffen PJ, Derry S, Maguire T, Roy YM, Tyrrell L. Non-prescription (OTC) oral analgesics for acute pain - an overview of Cochrane reviews. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2015; (11):CD010794.