

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM CỦA CAO LÔNG TRÁM HỒNG TRÊN THỰC NGHIỆM

HOÀNG THỊ LÊ, Viện Dược liệu Trung ương
NGUYỄN TRỌNG THÔNG, PHẠM THỊ VÂN ANH, HOÀNG ANH DŨNG
Trường Đại học Y Hà Nội

ĐẶT VẤN ĐỀ.

Theo kinh nghiệm của đồng bào dân tộc Tày huyện Lục Yên tỉnh Yên Bái thì vỏ thân cây trám hồng được dùng đun lấy nước uống hàng ngày để thanh nhiệt, giải độc, bảo vệ gan, chống đau nhức xương khớp và là vị thuốc không thể thiếu được trong bài thuốc "Đại thiên Nương" dùng để hỗ trợ điều trị u bướu [2]. Trám hồng có tên khoa học là *Canarium bengalense* Roxb thuộc họ Trám Burseraceae. Cây thân gỗ, cao khoảng 25 m, mọc tự nhiên trong rừng đang phục hồi ở Cao Bằng, Yên Bái, Ninh Bình và Thanh Hóa [3][4]. Do nhu cầu sử dụng nhiều, nguồn khai thác chính là từ thiên nhiên nên ngày càng trở nên khan hiếm, nhằm bảo tồn cây thuốc quý cũng như chứng minh về tác dụng chữa bệnh của dược liệu này chúng tôi tiến hành nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và mạn của chế phẩm là cao nước toàn phần từ vỏ thân cây trám hồng trên thực nghiệm.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

1. Nguyên liệu:

* Mẫu nghiên cứu là vỏ thân cây Trám hồng được thu hái vào tháng 8 năm 2009 tại bản Mường, xã Vĩnh Lạc huyện Lục Yên, tỉnh Yên Bái (mẫu nghiên cứu có đủ hoa, quả đã được thẩm định tên khoa học và lưu giữ tại khoa tài nguyên Viện Dược liệu) [1].

* Chế phẩm thử là cao lỏng chiết nước toàn phần từ vỏ cây trám hồng. Quy trình chiết xuất được thực hiện tại khoa hóa thực vật, Viện Dược liệu - Bộ Y tế [5].

* Các hóa chất:

Aspégic (DL-lysine Acetylsalicylate) gói bột 500mg của hãng Sanofi aventis, Pháp, prednisolon viên 5mg, Đức.

* Dụng cụ nghiên cứu:

- Máy đo viêm Plethysmometer No 7250 của hãng Ugo - Basile (Italy).
- Máy xét nghiệm sinh hóa Screen - Master của hãng Hospitex Diagnostic, Italy.
- Kit định lượng protein của hãng Hospitex Diagnostics (Italy)
- Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của

hãng ABX - Diagnostics, định lượng trên máy Vet abc™ Animal Blood Counter.

2. Động vật thí nghiệm

- Chuột nhắt trắng, chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng $20 \pm 2g$, của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

- Chuột cống trắng, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng $120 \pm 20g$.

Các súc vật được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Phương pháp gây viêm cấp

Gây phù chân chuột bằng carrageenin

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (đối chứng): uống nước cất, 1 ml/100 g.
- Lô 2: (uống aspirin) liều 150 mg/kg.
- Lô 3: uống chế phẩm liều 5 g/kg.
- Lô 4: uống chế phẩm liều 10 g/kg.

Chuột được uống chế phẩm 4 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 4, sau khi uống chế phẩm thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý) 0,1 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột. Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng dụng cụ chuyên biệt vào các thời điểm: trước khi gây viêm (V_0); sau khi gây viêm 2 giờ (V_2), 4 giờ (V_4), 6 giờ (V_6) và 24 giờ (V_{24}).

Kết quả được tính theo công thức của Fontaine.

+ Độ tăng thể tích chân của từng chuột được tính theo công thức:

$$\Delta V\% = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

Trong đó: V_0 là thể tích chân chuột trước khi gây viêm

V_t là thể tích chân chuột sau khi gây viêm

+ Tác dụng chống viêm của chế phẩm được đánh giá bằng khả năng ức chế phản ứng phù (I%)

$$\% = \frac{\Delta \bar{V}_c \% - \Delta \bar{V}_i \%}{\Delta \bar{V}_0 \%} \times 100$$

Trong đó: $\Delta \bar{V}_c \%$: trung bình độ tăng thể tích chân chuột ở lô đối chứng

$\Delta \bar{V}_i \%$: trung bình độ tăng thể tích chân chuột ở lô uống chế phẩm

Gây viêm màng bụng

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (đối chứng): uống nước cất, thể tích 1ml/100g.
- Lô 2: uống aspirin liều 150 mg/kg.
- Lô 3: uống chế phẩm liều 5 g/kg.
- Lô 4: uống chế phẩm liều 10 g/kg.

Các lô chuột được uống chế phẩm thử hoặc nước muối sinh lý với thời gian như thí nghiệm trên. Gây viêm màng bụng bằng dung dịch carrageenin 0,05 g + formaldehyd 1,4 ml pha trong 100 ml nước muối sinh lý vừa đủ, với thể tích 2 ml vào khoang màng bụng cho mỗi chuột.

Sau 24 giờ gây viêm, mổ ổ bụng chuột hút dịch rỉ viêm. Đo thể tích và đếm số lượng bạch cầu/ml dịch rỉ viêm, định lượng protein trong dịch rỉ viêm.

3.2. Phương pháp gây viêm mạn

Gây viêm mạn (gây u hạt)

Chuột nhắt trắng, được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (đối chứng): uống nước cất, thể tích 0,2ml/10g.
- Lô 2: uống prednisolon liều 5 mg/kg.
- Lô 3: uống chế phẩm liều 7,5 g/kg.
- Lô 4: uống chế phẩm liều 15 g/kg.

Gây viêm mạn tính bằng cách cấy sợi amian trọng lượng 6 mg tiệt trùng (sấy 120°C trong 1 giờ) đã được tẩm carrageenin 1%, ở da gáy của mỗi chuột.

Sau khi cấy u hạt, các chuột được uống nước cất hoặc chế phẩm thử liên tục trong 5 ngày. Ngày thứ 6 tiến hành giết chuột bằng clorofoc, bóc tách khối u hạt còn tươi, sau đó khối u được sấy khô ở nhiệt độ 56°C trong 18 giờ. Cân trọng lượng u hạt sau khi đã được sấy khô.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tác dụng chống viêm cấp

* Trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin

Bảng 1. Tác dụng chống viêm của trám hồng trên mô hình gây phù chân chuột

Lô	Sau 2 giờ (V ₁)		Sau 4 giờ (V ₂)		Sau 6 giờ (V ₃)		Sau 24 giờ (V ₄)	
	Độ phù (%)	% GP SC	Độ phù (%)	% GP SC	Độ phù (%)	% GP SC	Độ phù (%)	% GPS C
Lô 1 Đối chứng	24,56± 14,77		33,71± 9,92		33,96± 12,40		17,55± 8,90	
Lô 2 Aspirin 150 mg/kg	11,69± 4,42 p<0,05	52%	20,45± 5,26 p<0,01	39%	19,14± 5,54 p<0,01	44%	3,87± 1,91 p<0,01	78%
Lô 3 CP liều 5g/kg	24,73± 6,05 p>0,05	-1%	27,38± 14,03 p>0,05	19%	20,42± 9,02 p<0,05	40%	4,76± 3,07 p<0,01	73%
Lô 4 CP liều 10g/kg	22,85± 6,17 p>0,05	7%	24,25± 7,72 p<0,05	28%	19,05± 8,82 p<0,05	44%	5,91± 3,09 p<0,01	66%

Ghi chú: GPSC: giảm phù so với chứng

CP: chế phẩm (cao lỏng vỏ thân cây chế phẩm)

Kết quả ở bảng 1 cho thấy:

Chế phẩm liều 5g/kg, uống liên tục trong 4 ngày, có tác dụng giảm viêm cấp trên mô hình viêm cấp thực nghiệm bằng carrageenin tại thời điểm 6 giờ và 24 giờ sau khi gây viêm (p<0,05).

Chế phẩm liều 10g/kg, uống liên tục trong 4 ngày, có tác dụng giảm viêm cấp trên mô hình gây viêm cấp bằng carrageenin tại thời điểm 4 giờ, 6 giờ và 24 giờ sau khi gây viêm so với lô chứng (p<0,05).

Aspirin liều 150 mg/kg có tác dụng chống viêm ở mọi thời điểm nghiên cứu và tác dụng chống viêm cấp tương đương với trám hồng liều 10g/kg tại thời điểm 6 giờ, 24 giờ sau khi gây viêm.

* Trên mô hình gây tràn dịch màng bụng

Bảng 2. Tác dụng của chế phẩm lên thể tích dịch rỉ viêm

Lô	Dịch rỉ viêm (ml)	p so lô 1	p so lô 2
Lô 1: Nước cất 0,2 ml/10 g	3,78± 0,33		
Lô 2: Aspirin 150 mg/kg	2,86± 0,13	<0,01	
Lô 3: chế phẩm liều 5g/kg	3,10± 0,46	>0,05	<0,05
Lô 4: chế phẩm liều 10g/kg	2,89± 0,34	<0,05	>0,05

Kết quả ở bảng 2 cho thấy: chế phẩm ở liều 5g/kg không làm giảm số lượng dịch rỉ viêm so với lô chứng (p > 0,05). chế phẩm ở liều cao 10g/kg làm giảm rõ rệt số lượng dịch rỉ viêm so với lô chứng (p<0,05).

Bảng 3. Tác dụng của chế phẩm lên hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm

Lô	Hàm lượng protein (mg/dl)	p so lô 1	p so lô 2
Lô 1: Nước cất 0,2 ml/10 g	50,63± 5,18		
Lô 2: Aspirin 150 mg/kg	45,88± 18,08	<0,05	
Lô 3: chế phẩm liều 5g/kg	50,80± 4,24	>0,05	<0,05
Lô 4: chế phẩm liều 10g/kg	50,50± 2,46	>0,05	<0,05

Kết quả ở bảng 3 cho thấy: Trám hồng ở cả 2 liều không làm giảm hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm so với lô chứng (p > 0,05).

Bảng 4. Tác dụng của trám hồng lên số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm

Lô	Số.l bạch cầu (G/L)	p so lô 1	p so lô 2
Lô 1: Nước cất 0,2 ml/10 g	20,31± 6,36		
Lô 2: Aspirin 150 mg/kg	15,26± 1,75	<0,05	
Lô 3: chế phẩm liều 5g/kg	8,66± 1,54	<0,001	<0,05
Lô 4: chế phẩm liều 10g/kg	8,42± 0,92	<0,001	<0,05

Kết quả ở bảng 4 cho thấy: chế phẩm ở cả 2 liều đều làm giảm số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm rõ rệt so với lô chứng (p < 0,001). Tác dụng của chế phẩm ở cả 2 liều đều mạnh hơn aspirin liều 150mg/kg (p<0,05).

2. Tác dụng chống viêm mạn

Bảng 5. Tác dụng của chế phẩm lên trọng lượng u hạt

Lô	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)	p so lô 1 (tươi)	p so lô 1 (khô)
Lô 1: Nước cất 0,2 ml/10 g	90,00 ± 10,00	20,50 ± 3,97		
Lô 2: Prednisolon 5 mg/kg	59,08 ± 12,68	14,50 ± 2,28	< 0,001	< 0,001
Lô 3: chế phẩm liều 7,5g/kg	62,92 ± 21,85	18,42 ± 4,21	< 0,001	> 0,05
Lô 4: chế phẩm liều 15g/kg	64,67 ± 22,11	16,33 ± 5,02	< 0,001	< 0,05

Kết quả bảng 5 cho thấy: chế phẩm cả 2 liều đều có tác dụng chống viêm mạn thể hiện qua tác dụng làm giảm trọng lượng khối u rõ rệt so với lô chứng. Tác dụng này tương đương với prednisolon liều 5mg/kg.

BÀN LUẬN

1. Bàn luận về tác dụng chống viêm cấp

Trên mô hình gây phù chân chuột cống, kháng nguyên sử dụng là carrageenin, có bản chất là polysacarid gần giống với cấu trúc vỏ vi khuẩn, vì vậy đáp ứng miễn dịch của cơ thể chủ yếu là đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu với sự giam gia của chủ yếu là đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính [8][10]. Biểu hiện của quá trình viêm này là giãn mạch, bạch cầu xuyên mạch, tăng tiết các chất trung gian hoá học như prostaglandin, histamin, leucotrien ..., biểu hiện quan sát thấy chủ yếu là triệu chứng phù. Trám hồng ở cả 2 liều có tác dụng ức chế phản ứng phù ở các thời điểm sau 4 giờ, 6 giờ và 24 giờ với mức ức chế cao nhất đạt đến 73% so với chứng. Để đánh giá sâu hơn về cơ chế tác dụng của cao lỏng trám hồng trên mô hình viêm cấp, chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên mô hình tràn dịch màng bụng. Quá trình viêm cấp là quá trình diễn ra trong những giờ đầu khi kháng nguyên xâm nhập vào cơ thể đó là một phần trong đáp ứng miễn dịch tự nhiên. Quá trình này có vai trò to lớn của các bạch cầu đa nhân trung tính, các chất trung gian hoá học như prostaglandin, histamin, leucotrien... [7]. Cao lỏng trám hồng liều 5g/kg và 10g/kg trên chuột cống trắng có một phần tác dụng thông qua làm giảm số lượng dịch rỉ viêm và số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm.

2. Bàn luận về tác dụng chống viêm mạn

Quá trình viêm mạn tính chủ yếu thông qua đáp ứng của các lympho bào T [7]. Trên mô hình gây viêm mạn tính, trọng lượng khối u hạt khi sấy ở nhiệt độ 56⁰ C chủ yếu chứa các tế bào lympho T khi tập trung vào kháng nguyên là các amiant (kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức) [9]. Vì vậy trên mô hình gây viêm mạn prednisolon được dùng làm thuốc đối chứng dương, thuốc có tác dụng chủ yếu trên đáp ứng miễn dịch của các lympho bào T [6]. Cao lỏng trám hồng ở cả 2 liều 7,5g/kg và 15 g/kg có tác dụng chống viêm mạn tính thể hiện thông qua chế phẩm làm giảm trọng lượng khối u hạt rõ rệt. Như vậy, ngoài tác dụng chống viêm cấp, cao lỏng trám hồng còn có tác dụng chống viêm mạn tính. Điều này lý giải việc sử dụng trám hồng trong các bệnh lý viêm cấp và mạn tính trên lâm sàng như viêm khớp, đau dây thần kinh, di chứng xuất huyết...

KẾT LUẬN

- Về tác dụng chống viêm cấp:

Chế phẩm liều 5g/kg/ngày và 10g/kg/ngày uống trong 4 ngày có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm chân chuột bằng carrageenin.

- Về tác dụng chống viêm cấp mạn:

Chế phẩm liều 7,5g/kg/ngày và 15g/kg/ngày uống trong 7 ngày có tác dụng chống viêm mạn.

SUMMARY

STUDIES ON EXPERIMENTAL THE ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF TRAMHONG

Objective: to evaluate acute and chronic anti-inflammatory effects of The liquid extract tramhong. **Method:** Tramhong in doses 5g and 10 g per kg bodyweight of rats, tramhong in doses 7.5g and 15g per kg bodyweight of mice (correspond to the clinical dose and 2 times) were used to study acute and chronic anti-inflammatory effects.

Results: The extract tramhong both in doses have provoked an acute anti-inflammatory effect through inhibiting carrageenin induced edema in hind paw, acute anti-inflammatory effect through decreasing volume and leukocyte count of exsudation as compared with the control group. The liquid extract of tramhong in doses of 7.5 g and 15 g per kg had a chronic anti-inflammatory effect. Anti-inflammatory effect is equivalent to that of prednisolon in dose 5 mg/kg and aspirin in dose 150 mg/kg.

Conclusion: Tramhong had anti-inflammatory effect on experimental animal.

Keywords: anti-inflammatory effects, tramhong

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tạp chí Dược liệu số 5 - 2010- Tập 15
2. *Xác định tên khoa học các cây thuốc trong bài thuốc chữa khô u của đồng bào dân tộc Tày, huyện Lục Yên, tỉnh Yên Bái.*
3. *Tạp chí Y học thực hành, 2010, số 9 (732), 38- 41.* Nghiên cứu tác dụng kháng u bằng từ bài thuốc của đồng bào dân tộc Tày, huyện Lục Yên, tỉnh Yên Bái.
4. Phạm Hoàng Hộ (2000), *Cây cỏ Việt Nam*, Quyển II, Nxb Trẻ - Tp Hồ Chí Minh (361 tr.)
5. Nhiều tác giả (2005), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập II, Nxb Khoa học và Kỹ thuật - Hà Nội (996 tr.)
6. Viện Dược liệu – Bộ Y tế, Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược, nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, 140 – 149, 2006.
7. Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội (2005), *Dược lý học lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học
8. Bộ môn Miễn dịch- Sinh lý bệnh (2007), *Sinh lý bệnh và miễn dịch*, Trường Đại học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y học.
9. Phan Thị Phi Phi (2007), Một số vấn đề y sinh học cập nhật cho bác sĩ, Nhà xuất bản Y học.
10. Gehard Volgel H. (2002), *Drug discovery and evaluation*, Pharmacological assays, Springer
11. Winter C.A., Risley E.A and Nuss G.W (1962), "Carrageenin induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti inflammatory drug", *Proc. exp. Biol. NJ*, 111: 544-574.