

Anti-inflammatory and analgesic effect of Osviko capsule in *in vivo* models

Vũ Minh Phương^{1,2}, Phạm Thái Hà Văn², Nguyễn Mạnh Tuyển^{2,*},
Trần Văn Thảo³, Ngô Thị Quỳnh Mai⁴, Phương Thiện Thương⁵

¹ Công ty cổ phần sản xuất Dược liệu TW28

² Khoa Dược liệu - Dược học cổ truyền, Trường Đại học Dược Hà Nội

³ Trường Đại học Đại Nam

⁴ Trường Đại học Y Dược Hải Phòng

⁵ Viện nghiên cứu VKIST

* Tác giả liên hệ: tuyennm@hup.edu.vn

(Ngày gửi đăng: 02/11/2022 – Ngày duyệt đăng: 25/12/2022)

ABSTRACT

Background: OSVIKO capsules are formulated from extracts of PMP28 prescriptions, including herbal medicines: Herba Siegesbeckiae, Caulis Tinosporae sinensis, Herba Loranthe gracifolii, Radix Angelicae pubescentis, Rhizoma Drynariae. The remedy have been applied to treat arthritis. To date, there have not been reported study on their effects, safety and unwanted effects of the product.

Aim: To evaluate the anti-inflammatory and analgesic effect of OSVIKO capsules in rats and mice.

Method: Assess the acute anti-inflammatory effect after induction of paw edema and peritonitis in rats by carrageenin; assess chronic anti-inflammatory effects by granulomatous experiments. Assess analgesic and pain control after treatment with acetic acid, hot plate and tail flick in mice.

Results: OSVIKO capsules have acute anti-inflammatory effects in rats using paw edema and peritonitis at clinically equivalent doses of 0,264 g/kg/day and 0,528 g/kg/day (BW). In the experimental granulomatous model, OSVIKO capsules have anti-inflammatory chronic effects at clinically equivalent doses of 1,056 g/kg/day (BW), which is equivalent to methylprednisolone dose of 10 mg/kg/day ($p > 0.05$). OSVIKO capsules have analgesic effects in mice at dose of 0,528 g/kg/day and 1,056 g/kg/day when studying analgesic effect by hot plate method, method tail flick and acetic acid.

Conclusion: OSVIKO capsules show acute and chronic anti-inflammatory, analgesic effects in research models in rats and mice.

Key word: Osviko, PMP28, chống viêm, giảm đau.



Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau trên thực nghiệm của viên nang Osviko

Vũ Minh Phương^{1,2}, Phạm Thái Hà Văn², Nguyễn Mạnh Tuyển^{2,*},
Trần Văn Thảo³, Ngô Thị Quỳnh Mai⁴, Phương Thiện Thương⁵

¹ Công ty cổ phần sản xuất Dược liệu TW28

² Khoa Dược liệu - Dược học cổ truyền, Trường Đại học Dược Hà Nội

³ Trường Đại học Đại Nam

⁴ Trường Đại học Y Dược Hải Phòng

⁵ Viện nghiên cứu VKIST

* Tác giả liên hệ: tuyennm@hup.edu.vn

(Ngày gửi đăng: 02/11/2022 – Ngày duyệt đăng: 25/12/2022)

TÓM TẮT

Dẫn nhập: Viên nang Osviko được bào chế từ cao chiết của bài PMP28 gồm các vị thuốc Hy thiêm (*Herba Siegesbeckiae*), Dây đau xương (*Caulis Tinosporae sinensis*), Tang ký sinh (*Herba Loranthe gracifolii*), Độc hoạt (*Radix Angelicae pubescentis*), Cốt toái bổ (*Rhizoma Drynariae*)... Bài thuốc được xây dựng theo định hướng hỗ trợ điều trị đau nhức xương khớp. Đến nay chưa có công bố nào liên quan đến tác dụng, độ an toàn, tác dụng không mong muốn của viên nang Osviko.

Mục tiêu nghiên cứu: Đánh giá tác dụng chống viêm, tác dụng giảm đau của viên nang Osviko trên động vật thực nghiệm.

Phương pháp: Viên nang Osviko được đánh giá tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin, mô hình gây viêm màng bụng chuột bằng carrageenin, đánh giá tác dụng chống viêm mạn trên mô hình cấy u hạt; đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình mâm nóng, vẩy đuôi và mô hình gây quặn đau bằng acid acetic.

Kết quả: Kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang Osviko liều 0,264 và 0,528 g cối/kg/ngày thể hiện tác dụng chống viêm cấp trên chuột cống trắng. Viên nang Osviko liều 1,056 g cối/kg/ngày thể hiện tác dụng chống viêm mạn trên chuột nhắt trắng. Ngoài ra, viên nang cứng Osviko thể hiện tác dụng giảm đau trên chuột nhắt trắng ở cả 2 liều 0,528 và 1,056 g cối/kg/ngày ở các mô hình mâm nóng, vẩy đuôi và mô hình gây quặn đau bằng acid acetic.

Kết luận: Viên nang Osviko thể hiện tác dụng chống viêm cấp, viêm mạn, tác dụng giảm đau trên mô hình thực nghiệm ở chuột.

Keywords: Osviko, PMP28, chống viêm, giảm đau.

Đặt vấn đề:

Viên nang Osviko được bào chế từ cao chiết của bài PMP28 gồm các vị thuốc Hy thiêm (*Herba Siegesbeckiae*), Dây đau xương (*Caulis Tinosporae sinensis*), Tang ký sinh (*Herba Loranthe gracifolii*), Độc hoạt (*Radix*

Angelicae pubescentis), Cốt toái bổ (*Rhizoma Drynariae*). Bài thuốc được xây dựng theo định hướng hỗ trợ điều trị bệnh đau nhức xương khớp dựa trên cơ sở lý luận của Y học cổ truyền và các nghiên cứu khoa học đã được công bố [1]. Bệnh thuộc chứng phong



thấp do phong tà và thấp tà kết hợp mà thành, vì vậy trị bệnh theo nguyên tắc khu phong trừ thấp, có bổ có tả. Sử dụng các vị thuốc trừ phong thấp (Hy thiêm, Độc hoạt, Dây đau xương) kết hợp với thuốc bổ can thận, mạnh gân cốt (Cốt toái bổ, Tang ký sinh) [2]. Theo lý luận Y học cổ truyền, bài thuốc có công năng bổ can thận, mạnh gân cốt, trừ phong thấp, chỉ thống; chủ trị trong các trường hợp phong thấp, đau nhức xương khớp do thoái hóa khớp, viêm khớp. Để tạo dạng thuốc phân liều chính xác, tiện sử dụng, dễ vận chuyển và bảo quản, chúng tôi đã nghiên cứu bào chế viên nang Osviko từ cao chiết của bài PMP28 và đánh giá một số tác dụng dược lý. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng giảm đau và chống viêm của viên nang cứng Osviko trên thực nghiệm.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu:

Nguyên liệu nghiên cứu: Viên nang Osviko thành phần cấu tạo: cao hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis*) 200 mg, Univestin (chiết xuất của *Scutellaria baicalensis* và *Acacia catechu*) 50 mg, Collagen 50 mg, cao độc hoạt (*Radix angelicae pubescentis*) 50mg, cao tang ký sinh (*Herba loranhi gracifloli*) 45 mg, cao ngư tất (*Achyranthes bidentata*) 25 mg, cao bạch thược (*Paeonia lactiflora*) 25 mg, cao cốt toái bổ (*Rhizoma drynariae*) 25 mg, cao thiên niên kiện (*Rhizoma Homalomenae occultae*) 20 mg, canxi carbonat, PVPK30, Talc, Magie stearate. Viên nang được bào chế đạt tiêu chuẩn cơ sở. Liều dùng dự kiến trên người là 4 viên/ngày tương đương với 2,2 g cốm/ngày.

Aspirin (Aspirin-100, Traphaco), Methylprednisolon (Medrol® 16, Pfizer), Carrageenin (BDH Chemicals, Anh), Formaldehyd (Xilong Scientific, Trung Quốc), Dung dịch Natriclorid 0,9% (B. Braun, Việt Nam), biệt dược Aspégic (DL-lysine Acetylsalicylate) gói bột 100mg của hãng Sanofi Aventis – Pháp; Codein phosphat do Viện Dược liệu cung cấp; Dung dịch acid acetic 1% (Trung Quốc), Kit định lượng protein của hãng Erbra, định lượng trên máy sinh hóa bán tự động Erba của Ấn Độ, Các dung dịch xét nghiệm máu của hãng Horiba Medical, định lượng trên máy phân tích huyết học ABX Micros 60 ES của hãng Horiba Medical (Pháp), Máy đo viêm Plethysmometer No 7250 của

hãng Ugo - Basile (Italy). Máy Hot plate model DS37 của hãng Ugo-Basile (Italy); Máy Tail flick model 37360 của hãng Ugo-Basile (Italy). Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khoẻ mạnh, trọng lượng $25 \pm 2g$ do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng $220g \pm 20g$, do Học viện Quân Y cung cấp. Động vật thí nghiệm được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu 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.

Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá tác dụng chống viêm cấp:

* Phương pháp gây phù chân chuột bằng carrageenin [4]: Chuột cống trắng thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 08 con. Lô 1 uống nước cất 10 ml/kg/ngày. Lô 2 uống aspirin liều 200 mg/kg/ngày. Lô 3 uống dịch pha của viên Osviko trong nước cất ở mức liều 0,264 g cốm/kg/ngày (liều tương đương với liều dự kiến dùng trên người (sau đây gọi là liều tương đương), tính theo hệ số 6). Lô 4 uống dịch pha của viên Osviko trong nước cất ở mức liều 0,528 g cốm/kg/ngày (gấp 2 liều tương đương). Chuột được cho uống chế phẩm nghiên cứu hàng ngày trong 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Vào ngày thứ 5, sau khi uống dung môi, thuốc đối chiếu và chế phẩm nghiên cứu 1 giờ, tiến hành gây viêm chân chuột bằng cách tiêm dung dịch carrageenin 1 % pha trong nước muối sinh lý vừa đủ 100 ml, với thể tích 0,05 ml/ chuột, tiêm 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 (V₀); sau khi gây viêm 2 giờ (V₂), 4 giờ (V₄), 6 giờ (V₆) và 24 giờ (V₂₄).

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 thuốc được đánh giá bằng khả năng ức chế phản ứng phù (I%)

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

Trong đó:

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

$\Delta \bar{V}_t \%$: trung bình độ tăng thể tích chân chuột ở lô uống thuốc.

* Phương pháp gây viêm màng bụng chuột bằng carrageenin [4]: Chuột cống trắng thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 08 con. Lô 1 uống nước cất 10 ml/kg/ngày. Lô 2 uống aspirin liều 200 mg/kg/ngày. Lô 3 uống dịch pha của viên Osviko trong nước cất ở mức liều 0,264 g cốm/kg/ngày. Lô 4 uống dịch pha của cốm trong viên Osviko trong nước cất ở mức liều 0,528 g cốm/kg/ngày. Chuột được cho uống nước hoặc chế phẩm nghiên cứu hàng ngày trong 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Vào ngày thứ 5, sau khi uống dung môi, thuốc đối chiếu và chế phẩm nghiên cứu 1 giờ, tiến hành gây viêm màng bụng chuột bằng dung dịch carrageenin 0,05 g + formaldehyd 1,4 ml pha trong nước muối sinh lý vừa đủ 100 ml, với thể tích 1 ml tiêm vào khoang màng bụng cho mỗi 100 g chuột. Sau 24 giờ gây viêm, giết chuột, mổ chuột hút dịch rỉ viêm trong ổ bụng. Đo thể tích và đếm số lượng bạch cầu/ml dịch rỉ viêm, định lượng protein trong dịch rỉ viêm.

Đánh giá tác dụng chống viêm mạn:

Chuột nhắt trắng được nuôi ổn định được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con. Lô 1 uống nước cất 20 ml/kg/ngày. Lô 2 uống methylprednisolon liều 10 mg/kg/ngày. Lô 3 uống dịch pha cốm của viên Osviko trong nước cất ở mức liều 0,528 g cốm/kg/ngày (*liều tương đương, tính theo hệ số 12*). Lô 4 uống

dịch pha của viên Osviko trong nước cất ở mức liều 1,056 g cốm/kg/ngày (*gấp 2 lần liều tương đương*). Sau khi cho uống dung môi, thuốc đối chiếu và chế phẩm thử 30 phút, chuột được gây mê bằng diethyl ether. Cạo sạch lông vùng da gáy của chuột, sát trùng bằng betadin 10 %, dùng mũi kéo bấm một lỗ nhỏ ở da, luồn hai mũi kéo qua lỗ thủng, tách kỹ để da không dính vào cơ rồi cấy sợi amiant có trọng lượng chính xác khoảng 6mg đã tiệt trùng (sấy 120 °C trong 1 giờ) đã được tẩm dung dịch carrageenin 1 % vào nơi đã bóc tách da. Sau khi cấy u hạt, chuột tiếp tục được cho uống dung môi, thuốc đối chiếu và chế phẩm thử hàng ngày trong 10 ngày liên tục. Ngày thứ 11, tiến hành giết chuột, bóc tách khối u hạt dưới da gáy chuột và cân tươi. Các khối u hạt được sấy khô ở nhiệt độ 56 °C trong 18 giờ. Cân trọng lượng u hạt sau khi đã được sấy khô [8].

Thông số đánh giá:

+ Khối lượng u hạt tươi/khô của từng chuột (sau khi đã trừ khối lượng trước khi cấy).

+ Tỷ lệ % độ giảm khối lượng u hạt của lô thử so với lô chứng biểu thị theo công thức sau:

$$X\% = [(M_c - M_t)/M_c] \times 100$$

Trong đó:

X% : Tỷ lệ % giảm trọng lượng u hạt của lô thử so với lô chứng.

M_c : Khối lượng u hạt trung bình của lô chứng.

M_t : Khối lượng u hạt trung bình của lô thử.

Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp mâm nóng:

Chuột nhắt trắng thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con. Lô 1 uống nước cất liều 0,2 ml/10 g/ngày trong 5 ngày. Lô 2 uống codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày trong 5 ngày.

Lô 3 uống dịch cốm của viên nang Osviko pha trong nước cất ở mức liều 0,528 g cốm/kg/ngày trong 5 ngày. Lô 4 uống dịch cốm trong viên nang Osviko pha trong nước cất ở mức liều 1,056 g cốm/kg/ngày trong 5 ngày. Chuột ở các lô được cho uống nước cất,



thuốc đối chiếu hoặc chế phẩm nghiên cứu hàng ngày trong 5 ngày liên tục, mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng. Vào ngày thứ 5, sau khi uống dung môi, thuốc đối chiếu và chế phẩm nghiên cứu 1 giờ, tiến hành đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ [4].

Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp vẩy đuôi:

Chuột nhắt trắng thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con. Lô 1 uống nước cất liều 0,2 ml/10g/ngày trong 5 ngày. Lô 2 uống codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày trong 5 ngày. Lô 3 uống dịch của cốm trong viên nang Osviko pha trong nước cất ở mức liều 0,528 g cốm/kg/ngày trong 5 ngày. Lô 4 uống dịch thuốc viên nang Osviko pha trong nước cất ở mức liều 1,056 g cốm/kg/ngày trong 5 ngày. Chuột ở các lô được cho uống nước cất, thuốc đối chiếu hoặc chế phẩm nghiên cứu hàng ngày trong 5 ngày liên tục, mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng. Vào ngày thứ 5, sau khi uống dung môi, thuốc đối chiếu và chế phẩm nghiên cứu 1 giờ, tiến hành đo thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột sau khi uống thuốc lần cuối cùng 1 giờ [4].

Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp gây quặn đau bằng acid acetic:

Chuột nhắt trắng thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con. Lô 1 uống nước cất liều 0,2 ml/10g/ngày trong 5 ngày. Lô 2 uống aspirin liều 150 mg/kg/ngày trong 5 ngày. Lô 3 uống dịch của cốm trong viên nang Osviko pha trong nước cất ở mức liều 0,528 g cốm/kg/ngày trong 5 ngày. Lô 4 uống dịch pha của cốm trong viên nang Osviko pha trong nước cất ở mức liều 1,056 g cốm/kg/ngày trong 5 ngày. Chuột ở các lô được cho uống nước cất, thuốc đối chiếu hoặc chế phẩm nghiên cứu hàng ngày trong 5 ngày liên tục, mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng. Vào ngày thứ 5, sau khi uống dung môi, thuốc đối chiếu và chế phẩm nghiên cứu 1 giờ, tiến hành tiêm vào ổ bụng mỗi chuột 0,2 ml dung dịch acid acetic 1 % (acid acetic được pha trong nước cất) [4].

Đếm số cơn quặn đau của từng chuột trong mỗi 5 phút cho đến hết phút thứ 30 sau khi tiêm acid acetic. So sánh số cơn quặn đau của chuột giữa các lô với nhau.

Xử lý số liệu

Số liệu thực nghiệm được xử lý thống kê theo phương pháp kiểm định giá trị trung

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang Osviko đến mức độ phù chân chuột

Lô nghiên cứu		Thời điểm sau gây viêm			
		2 giờ	4 giờ	6 giờ	24 giờ
Lô 1: Đối chứng	V	29,02 ± 8,54	43,79 ± 14,53	41,11 ± 12,58	14,22 ± 4,00
Lô 2: Aspirin 200 mg/kg/ngày	V	15,19 ± 4,82**	25,97 ± 8,13**	28,20 ± 8,41*	10,42 ± 3,39
	I	47,7	40,7	31,4	26,7
Lô 3: Viên Osviko 0,264g cốm/kg/ngày	V	24,39 ± 6,14	30,19 ± 6,85*	31,13 ± 7,68	12,79 ± 4,22
	I	15,9	31,1	24,3	10,1
Lô 4: Viên Osviko 0,528g cốm /kg/ngày	V	21,33 ± 6,22	29,55 ± 8,85*	31,69 ± 9,61	12,45 ± 4,06
	I	26,5	32,5	22,9	12,4

V: Thể tích chân chuột tại mỗi thời điểm

I: Phần trăm ức chế mức độ phù so với lô đối chứng.

*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001: so với lô đối chứng



bình của 2 nhóm độc lập bằng T-test Student trên phần mềm Microsoft Excel. Số liệu được biểu diễn dưới dạng: $X \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

Kết quả nghiên cứu

Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin: Viên nang Osviko liều 0,264 g cốm/kg/ngày và liều 0,528 g cốm/kg/ngày đều có tác dụng làm giảm độ phù chân chuột so với lô đối chứng tại thời điểm sau 4 giờ gây viêm ($p < 0,05$), kết quả này tương đương với chuột dùng aspirin liều 200 mg/kg/ngày ($p > 0,05$). Tại thời điểm sau 2 giờ, 6 giờ và 24 giờ gây viêm, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về độ phù chân chuột giữa lô đối chứng và lô được uống viên nang Osviko cả 2 mức liều ($p > 0,05$) (Bảng 1).

Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm màng bụng bằng carrageenin: Viên nang Osviko liều 0,264 g cốm/kg/ngày và liều 0,528 g cốm/kg/ngày đều có tác dụng làm giảm thể tích, giảm số lượng bạch cầu, giảm lượng protein dịch rỉ viêm kết quả này tương đương với chuột dùng aspirin liều 200 mg/kg/ngày ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về các tác dụng trên khi so sánh giữa 2 lô uống viên nang Osviko ở 2 mức liều ($p > 0,05$) (Bảng 2).

Tác dụng chống viêm mạn: Viên nang Osviko ở liều 1,056 g cốm/kg/ngày làm giảm trọng lượng khối u hạt trước và sau khi sấy khô so với lô đối chứng ($p < 0,01$), kết quả này tương đương với chuột dùng methylprednisolon liều 10 mg/kg/ngày ($p > 0,05$). (Bảng 3).

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang Osviko đến thể tích, số lượng bạch cầu, lượng protein trong dịch rỉ viêm

Lô nghiên cứu	Thể tích dịch rỉ viêm (ml/100g)	Số lượng bạch cầu (G/l)	Hàm lượng protein (mg/dl)
Lô 1: Đối chứng	2,33 ± 0,46	26,93 ± 7,05	15,55 ± 3,48
Lô 2: Aspirin liều 200 mg/kg/ngày	1,40 ± 0,36***	18,18 ± 5,67*	9,49 ± 2,29**
Lô 3: Viên Osviko liều 0,264g cốm/kg/ngày	1,74 ± 0,45*	20,53 ± 3,83*	11,69 ± 2,47*
Lô 4: Viên Osviko liều 0,528g cốm/kg/ngày	1,90 ± 0,28*	19,72 ± 5,69*	11,96 ± 1,97*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$: so với lô đối chứng

Bảng 3. Ảnh hưởng viên nang Osviko đến trọng lượng khối u hạt ở các lô chuột thử nghiệm

Lô nghiên cứu	U hạt trước khi sấy khô		U hạt sau khi sấy khô	
	Trọng lượng (mg)	Tỷ lệ giảm so với nhóm chứng (%)	Trọng lượng (mg)	Tỷ lệ giảm so với nhóm chứng (%)
Lô 1: Đối chứng	99,36 ± 28,01		24,80 ± 7,39	
Lô 2: Methylprednisolon 10 mg/kg/ngày	56,69 ± 16,29***	42,9	15,36 ± 4,61**	38,1
Lô 3: Viên Osviko liều 0,528g cốm/kg/ngày	76,28 ± 24,88	23,2	17,80 ± 5,83	28,2
Lô 4: Viên Osviko liều 1,056g cốm/kg/ngày	60,18 ± 17,77**	39,4	16,69 ± 5,35*	32,7

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$: so với lô đối chứng



Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nang Osviko lên thời gian phản ứng của chuột nhắt trắng bằng phương pháp hâm nóng

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng (giây)
Lô 1 (đối chứng)	10	12,45 ± 3,97
Lô 2 (Codein phosphat 20mg/kg/ngày)	10	19,05 ± 5,66**
Lô 3 (Viên nang cứng Osviko 0,528g cốm/kg/ngày)	10	17,21 ± 4,11*
Lô 4 (Viên nang cứng Osviko 1,056g cốm/kg/ngày)	10	21,11 ± 4,15*** [§]

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$: so với lô đối chứng; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$: so với lô 2; § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, §§§ $p < 0,001$: so với lô 3.

Bảng 5. Ảnh hưởng viên nang Osviko lên thời gian phản ứng của chuột nhắt trắng bằng phương pháp vẩy đuôi

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng (giây)
Lô 1 (chứng)	10	8,26 ± 3,02
Lô 2 (Codein phosphat 20mg/kg/ngày)	10	11,36 ± 1,30**
Lô 3 (Viên nang cứng Osviko 0,528g cốm/kg/ngày)	10	10,79 ± 1,15*
Lô 4 (Viên nang cứng Osviko 1,056g cốm/kg/ngày)	10	10,99 ± 1,58*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$: so với lô đối chứng; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$: so với lô 2; § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, §§§ $p < 0,001$: so với lô 3.

Bảng 6. Ảnh hưởng của viên nang Osviko lên số cơn quặn đau của chuột nhắt trắng

Lô chuột	n	Số cơn quặn đau (số cơn/ 5 phút)					
		0 - 5 phút	> 5 - 10 phút	> 10 - 15 phút	> 15 - 20 phút	> 20 - 25 phút	> 25 - 30 phút
Lô 1 (chứng)	10	6,90 ± 2,13	21,00 ± 5,83	16,30 ± 4,27	13,90 ± 4,36	11,90 ± 3,73	7,70 ± 2,95
Lô 2 (Aspirin liều 150mg/kg)	10	2,90 ± 2,13**	14,00 ± 5,64*	11,40 ± 4,55*	9,70 ± 2,45*	8,00 ± 1,25**	5,40 ± 1,07*
Lô 3 (Viên nang cứng Osviko 0,528g cốm/kg/ngày)	10	5,80 ± 2,97#	14,60 ± 6,60*	12,60 ± 3,44*	8,90 ± 3,96*	6,80 ± 3,22**	4,40 ± 2,22*
Lô 4 (Viên nang cứng Osviko 1,056g cốm/kg/ngày)	10	5,22 ± 2,54#	15,89 ± 3,48*	12,44 ± 3,57*	9,22 ± 3,73*	7,00 ± 3,32**	4,67 ± 2,24*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$: so với lô đối chứng; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$: so với lô 2; § $p < 0,05$, §§ $p < 0,01$, §§§ $p < 0,001$: so với lô 3.

Tác dụng giảm đau bằng phương pháp hâm nóng: viên nang cứng Osviko ở cả 2 liều 0,528 g cốm/kg/ngày và 1,056 g cốm/kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục làm tăng rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng ($p < 0,05$ hoặc $p < 0,001$), kết quả này tương đương với chuột uống codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày ($p > 0,05$). Ở liều cao gấp 2 lần có tác dụng

tăng thời gian phản ứng của chuột hơn so với lô chuột uống liều 0,528 g cốm/kg/ngày ($p < 0,05$) (Bảng 4).

Tác dụng giảm đau bằng phương pháp vẩy đuôi: viên nang cứng Osviko ở cả 2 liều 0,528 g cốm /kg/ngày và 1,056 g cốm /kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục làm tăng thời gian phản ứng của chuột so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$), kết quả này tương đương



với chuột uống codein phosphat liều 20 mg/kg/ngày ($p > 0,05$) (Bảng 5).

Tác dụng giảm đau bằng phương pháp gây quận đau bằng acid acetic: viên nang cứng Osviko ở cả 2 liều 0,528 g cốm /kg/ngày và 1,056 g cốm /kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục có tác dụng làm giảm số cơn quận đau ở các thời điểm nghiên cứu (trừ thời điểm 0-5 phút) sau khi tiêm acid acetic so với lô chứng ($p < 0,05$ hoặc $p < 0,01$), kết quả này tương đương với chuột uống aspirin liều 150 mg/kg/ngày ($p > 0,05$) (Bảng 6).

Bàn luận

Viêm là phản ứng bảo vệ của cơ thể biểu hiện bởi sự thực bào tại chỗ có tác dụng loại trừ tác nhân gây viêm và sửa chữa tổn thương. Phản ứng viêm xảy ra với các biểu hiện đặc trưng gồm sưng, nóng, đỏ, đau [3]. Để đánh giá tác dụng chống viêm cấp trên thực nghiệm, nhiều mô hình đã được áp dụng. Trong đó mô hình gây phù viêm chân chuột và gây viêm màng bụng bằng carrageenin được sử dụng phổ biến nhất [4]. Trên mô hình gây phù chân chuột cống, kháng nguyên sử dụng là carrageenin. Carrageenin có bản chất là polysaccharid 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 tham gia của đại thực bào và bạch cầu trung tính. 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. Vì vậy, biểu hiện quan sát thấy chủ yếu là triệu chứng phù [6]. Với mô hình viêm cấp, aspirin, một thuốc giảm đau chống viêm không steroid, được sử dụng là thuốc chứng dương. Trong mô hình gây viêm mạn, các kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức (các amiant) sẽ khởi động quá trình đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào là phương thức miễn dịch thứ hai bên cạnh đáp ứng miễn dịch dịch thể nhằm loại trừ kháng nguyên lạ, do các lympho bào T phụ trách. Methylprednisolon, một thuốc chống viêm steroid, có tác dụng chủ yếu

chống viêm mạn tính do ức chế đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào do các lympho bào T đảm nhận nên được dùng làm thuốc chứng dương trên mô hình gây viêm mạn tính [8].

Đau là một cảm giác khó chịu và một kinh nghiệm xúc cảm gây ra bởi tổn thương tế bào thực thể hoặc tiềm tàng. Phương pháp sử dụng mô hình mâm nóng sử dụng tác nhân gây đau bằng nhiệt. Bàn chân của chuột nhắt rất nhạy cảm với nhiệt độ mà ở nhiệt độ đó vẫn chưa gây tổn thương da. Khi chuột đứng trên mâm nóng có nhiệt độ không đổi, qua đánh giá và so sánh thời gian phản ứng của chuột với nhiệt mà ta xác định được tác dụng của thuốc thử. Với phương pháp đánh giá tác dụng giảm đau bằng máy Tail flick, chuột phản ứng với nhiệt độ bằng cách vẫy đuôi. Trong hai thử nghiệm này thuốc thử có giảm đau sẽ làm tăng thời gian phản ứng của chuột với tác nhân gây đau là nhiệt độ [4]. Phương pháp này có thể đánh giá được cơ chế tác dụng giảm đau trung ương của thuốc thử. Do vậy, codein được sử dụng làm chứng dương. Đối với mô hình gây quận đau bằng acid acetic, acid acetic sau khi tiêm vào ổ bụng sẽ tạo một ổ viêm cấp, gây giải phóng các yếu tố viêm và gây đau. Chuột có phản xạ đau quận bụng, số cơn đau phản ánh mức độ đau của chuột [4]. Aspirin ức chế cyclooxygenase do vậy làm giảm tổng hợp PGE₂α và làm giảm cảm giác đau ở các đầu tận cùng thần kinh, dẫn tới làm giảm số cơn quận đau của chuột [8]. Vì vậy, trong mô hình gây quận đau do acid acetic, aspirin được sử dụng là thuốc chứng dương.

Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy viên nang Osviko liều 0,264 và 0,528 g cốm/kg/ngày thể hiện tác dụng chống viêm cấp trên chuột cống trắng. Viên nang Osviko liều 1,056 g cốm/kg/ngày thể hiện tác dụng chống viêm mạn trên chuột nhắt trắng. Ngoài ra, viên nang cứng Osviko thể hiện tác dụng giảm đau trên chuột nhắt trắng ở cả 2 liều 0,528 và 1,056 g cốm/kg/ngày ở các mô hình mâm nóng, vẫy đuôi và mô hình gây quận



đau bằng acid acetic. Tác dụng này của Osviko có được là do tác dụng giảm đau và chống viêm của từng thành phần trong viên nang. Theo Yong-Han Hong và cộng sự, cao chiết cồn của hy thiêm có tác dụng chống viêm in vitro trên tế bào RAW264.7 thông qua việc làm giảm NO, IL-6, TNF- α . Ngoài ra cao hy thiêm còn có tác dụng làm giảm mức độ phù chân chuột trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin. Hơn nữa, cao chiết cồn của hy thiêm giảm nồng độ IL-6 trong huyết thanh, ức chế quá trình kích hoạt NF- κ B trên chuột [10]. Cốt toái bổ cũng đã được G. I. Anuja và cộng sự chứng minh tác dụng giảm đau và chống viêm. Trên chuột gây phù chân chuột bằng carrageenin, cốt toái bổ ức chế đáng kể mức độ phù chân chuột trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin, giảm hình thành u hạt ở chuột cống trên mô hình gây viêm mạn tính bằng u hạt. Hơn nữa, cốt toái bổ làm giảm đáng kể số cơn quặn đau do

acid acetic trên chuột nhắt [5]. Ngoài ra, Univestin (*chiết xuất của Scutellaria baicalensis và Acacia catechu*) và cao độc hoạt cũng là thành phần được nghiên cứu là có tác dụng chống viêm và giảm đau [7], [10]. Các kết quả nghiên cứu trên khẳng định tác dụng giảm đau, chống viêm cấp và mạn tính của viên nang Osviko.

Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang Osviko liều thấp 0,264 và 0,528 g cốm/kg/ngày thể hiện tác dụng chống viêm cấp trên chuột cống trắng. viên nang Osviko liều 1,056 g cốm/kg/ngày thể hiện tác dụng chống viêm mạn trên chuột nhắt trắng. Ngoài ra, viên nang cứng Osviko thể hiện tác dụng giảm đau trên chuột nhắt trắng ở cả 2 liều 0,528 và 1,056 g cốm/kg/ngày ở các mô hình mâm nóng, vẩy đuôi và mô hình gây quặn đau bằng acid acetic.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế (2017), "Dược điển Việt Nam V", tập 2, Nhà xuất bản Y học.
2. Phạm Xuân Sinh (2018), "Dược học cổ truyền", Nhà xuất bản Y học.
3. Trường Đại học Y Hà Nội, Bộ môn Miễn dịch-Sinh lý bệnh (2007), "Sinh lý bệnh học", Nhà xuất bản Y học, 113-125.
4. Gerhard Vogel H. (2008), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer, pp: 669-774.
5. G.I. Anuja và các cộng sự (2010), "Anti-inflammatory and analgesic properties of *Drynaria quercifolia* (L.) J. Smith", *Journal of Ethnopharmacology*, 132, 456-460.
6. Kyoung Soo Kim và các cộng sự (2008), "Anti-inflammatory effects of *Radix Gentianae Macrophyllae* (Qinjiao), *Rhizoma Coptidis* (Huanglian) and *Citri Unshiu Pericarpium* (Wenzhou migan) in animal models", *Chinese Medicine*, 3(10).
7. Mesfin Yimam, Lidia Brownell, Mandee Hodges (2012), "Analgesic Effects of a Standardized Bioflavonoid Composition from *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu*", *Journal of Dietary Supplements*, 9(3):155-165.
8. Mitul Patel và các cộng sự (2012), "In vivo animal models in preclinical evaluation of anti-inflammatory activity – A review", *International journal of pharmaceutical research and allied sciences*, 1(2), 1-5.
9. X Li, J Wang, L Gao (2013), "Anti-inflammatory and analgesic activity of r.a.p. (*Radix Angelicae Pubescentis*) ethanol extracts", *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, 10(3), 422-426.
10. Yong-Han Hong và các cộng sự (2014), "Anti-Inflammatory Effects of *Siegesbeckia orientalis* Ethanol Extract in In Vitro and In Vivo Models", *Biomed Res Int*, 2014:329712.