

# THĂM ĐÒ TÁC DỤNG CHỐNG TRẦM CẢM CỦA MỘT SỐ CÔNG THỨC PHỐI HỢP TỪ CAM THẢO, NGHỆ VÀ NHÂN SÂM

*Đinh Nữ Hạnh Thục\*, Nguyễn Ngọc Khôi\**

## TÓM TẮT

**Mở đầu:** Nhiều công trình nghiên cứu khoa học đã chứng tỏ hiệu quả chống trầm cảm từ các cây thuốc, vị thuốc từ dược liệu trên các mô hình thử nghiệm dược lý.

**Mục tiêu:** Với mục đích nghiên cứu một loại chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu, đề tài được tiến hành nhằm khảo sát tác dụng chống trầm cảm của phối hợp một số dược liệu sẵn có ở Việt Nam như Cam thảo (rễ) *Glycyrrhiza glabra* L, Nghệ (thân rễ) *Curcuma longa* L., Nhân sâm (rễ) *Panax ginseng* C. A. Mey.

**Phương pháp:** Các phối hợp dược liệu được khảo sát qua hai sàng lọc hoạt tính chống trầm cảm là mô hình bơi cưỡng bức và mô hình treo đuôi chuột. Ngoài ra, khả năng vận động tự nhiên còn được khảo sát bằng mô hình môi trường mở.

**Kết quả:** Khi uống CT3 gồm phối hợp của 3 cao cam thảo, nghệ và nhân sâm trong vòng 14 ngày thể hiện tác dụng chống trầm cảm trên cả hai mô hình đối với chuột nhắt. Tác dụng này tương tự như fluoxetine liều 20 mg/kg (p.o).

**Kết luận:** Việc nghiên cứu các tác dụng chống trầm cảm cũng như liều sử dụng, độc tính cần phải tiến hành để làm sáng tỏ khả năng ứng dụng phối hợp trên trong điều trị trầm cảm.

**Từ khóa:** Cam thảo *Glycyrrhiza glabra* L, Nghệ *Curcuma longa* L., Nhân sâm *Panax ginseng* C. A. Mey, trầm cảm

## ABSTRACT

### ANTIDEPRESSANT-LIKE ACTIVITY OF FORMULAE FROM LIQUORICE, TURMERIC AND GINSENG EXTRACTS IN MOUSE MODELS OF IMMOBILITY TESTS

*Đinh Nữ Hạnh Thục, Nguyễn Ngọc Khôi*

*\* Y Học TP. Hồ Chí Minh \* Vol. 14 - Supplement of No 1 - 2010: 30 – 34*

**Background:** The antidepressant effects of liquorice *Glycyrrhiza glabra* L., turmeric *Curcuma longa*, and ginseng *Panax ginseng* have been investigated with behavioral despair tests. Our preliminary study suggests the combination of above-mentioned plants namely Formula 1 (CT1) 2 (CT2) and 3 (CT3) could be beneficial for the suppression of depression.

**Objectives:** The present study was undertaken to investigate the antidepressant effects of these three formulae by using two behavioral models, the forced swimming test (FST) and tail suspension test (TST) in mice.

**Method:** These formulae were administered orally for 14 days and fluoxetine at 20 mg/kg was used as a positive control.

**Results:** CT3 significantly reduced immobility time in the FST and TST, although no change of motor dysfunction was observed with the same dosage in the open field test.

**Conclusion:** Our results suggest that CT3 exert antidepressant-like effects in these two behavioral models.

**Key words:** *Glycyrrhiza glabra* L, *Curcuma longa* L., *Panax ginseng* C. A. Mey, antidepressant

\* Khoa Dược - Đại học Y Dược Tp.HCM

Địa chỉ liên hệ: Đinh Nữ Hạnh Thục

ĐT: 0905151016 Email: springflower8485@yahoo.com

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiều công trình nghiên cứu khoa học đã chứng tỏ hiệu quả chống trầm cảm từ các cây thuốc, vị thuốc từ dược liệu trên các mô hình thử nghiệm dược lý (**Error! Reference source not found.**). Với mục đích nghiên cứu một loại chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu, đề tài được tiến hành nhằm khảo sát tác dụng chống trầm cảm của phối hợp một số dược liệu sẵn có ở Việt Nam. Các phối hợp này nhằm phối giảm liều của từng dược liệu riêng lẻ mà vẫn duy trì hiệu quả chống trầm cảm. Các bước thăm dò bước đầu ban đầu cho thấy với các phối hợp từ cam thảo, nghệ và nhân sâm có khả năng có tác dụng ức chế trầm cảm. Nghiên cứu này nhằm khảo sát tác dụng của các phối hợp trên với các mô hình dược lý thực nghiệm.

## ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Nguyên liệu

Cam thảo (rễ) *Glycyrrhiza glabra* L, Nghệ (thân rễ) *Curcuma longa* L., Nhân sâm (rễ) *Panax ginseng* C. A. Mey. Các mẫu dược liệu mua tại Công ty cổ phần dược liệu Trung ương 2, số 24 Nguyễn Thị Nghĩa, quận 1, thành phố Hồ Chí Minh và có lưu mẫu tại Phòng Thí nghiệm trung tâm, Khoa Dược, ĐHY Dược TP. Hồ Chí Minh.

### Súc vật nghiên cứu

Chuột nhắt đực trắng (chủng *Swiss abino*, 5–6 tuần tuổi, khối lượng từ 20–25g) được cung cấp bởi Viện Vắc xin & Sinh phẩm Y tế Nha Trang. Chuột được nuôi ổn định một tuần bằng thức ăn thường trước khi tiến hành thử nghiệm.

### Hóa chất

Các chất chuẩn ginsenosid Rb<sub>1</sub> và ginsenosid Rg<sub>1</sub> (Wako, Nhật Bản), curcumin (từ các nghiên cứu trước đây tại Phòng Thí nghiệm trung tâm, Khoa Dược, ĐHY Dược TP. Hồ Chí Minh, độ tinh khiết 98,97%), fluoxetine (Kalxetin®).

## Chiết xuất

Nguyên liệu được sấy ở 50°C trong 4 giờ, đem xay để đạt kích thước 1 – 3 mm. Cam thảo được chiết bằng nước bằng phương pháp đun hồi lưu (2 lần). Nghệ được chiết bằng cồn 96° theo phương pháp ngâm kiệt. Nhân sâm được chiết lần lượt bằng phương pháp đun hồi lưu với cồn 90 độ (3 lần) và cồn 45° (3 lần). Tỷ lệ dung môi: dược liệu 1: 10. Tất cả dịch chiết sau đó được cô giảm áp đến khi được cao lỏng. Kết quả chiết xuất được tính sau khi đã trừ độ ẩm.

## Định lượng

**Cao cam thảo:** Định lượng saponin bằng phương pháp cân(1). Cân chính xác khoảng 1 g cao, hòa 10 ml nước vào trong 1 becher. Acid hóa dịch trong becher bằng cách rót HCl 10%, vừa rót vừa khuấy đều đến pH= 1-2 (thử bằng giấy pH). Acid glycyrrhizic tự do sẽ cho kết tủa màu nâu lắng thành một khối dẻo dưới đáy becher. Gạn bỏ dịch, rửa tủa bằng nước cất nhiều lần đến khi nước rửa trung tính. Cân tủa, tính hiệu suất dựa trên cao đã trừ độ ẩm.

**Cao nghệ:** Định lượng curcumin I trong cao nghệ bằng phương pháp HPLC. Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Waters, cột Sulfire RP-C<sub>18</sub>; 250 x 4 mm; 5 μm, Pha động: dung môi A: acetonitril, dung môi B: acid acetic 0,5%. chương trình rửa giải gradient với dung môi A tăng từ 40 lên đến 60 % từ 0 đến 25 phút. Mẫu thử: cân chính xác khoảng 2 mg cân, hòa tan trong pha động vào bình định mức 10 ml, lọc qua lọc 0,45 μm trước khi bơm vào máy. Detector PDA: bước sóng phát hiện 428 nm, tốc độ dòng: 0,95 ml/phút, thể tích tiêm mẫu: 20 μl

**Cao nhân sâm:** Định lượng G-Rb<sub>1</sub> và G-Rg<sub>1</sub> trong saponin toàn phần từ cao nhân sâm bằng phương pháp HPLC. Máy HPLC LC-10AD (Shimadzu, Nhật), cột Supelcosil LC18 (250 x 4,6 mm), kích thước hạt 5 μm, kèm cột bảo vệ Supelguard (20x4,6 mm), pha động: acetonitril – nước (33: 67), tốc độ dòng: 0,7 ml/ phút. Cân 6,63 mg saponin toàn phần, hòa tan trong pha

động, lọc qua lọc 0,45 µm trước khi bơm vào máy HPLC với thể tích bơm: 10 µl, detector PDA, bước sóng phát hiện: 203 nm.

Các quy trình định lượng trên đã được thẩm định về độ đúng và độ chính xác (được xây dựng để định lượng saponin sâm Triều Tiên và nghệ tại Phòng Thí nghiệm trung tâm, Khoa Dược, ĐH Y Dược TP. Hồ Chí Minh).

### **Các công thức phối hợp dược liệu được khảo sát**

Dựa trên liều đã thử nghiệm có tác dụng của các dược liệu: cam thảo 150 mg/kg(4), nghệ 50 mg/kg(7), nhân sâm 100 mg/kg(5) riêng lẻ kết hợp với các nghiên cứu thăm dò ban đầu, trong nghiên cứu này, 3 công thức được khảo sát có thành phần như sau (Tính trên kg thể trọng chuột):

– Công thức 1:	Cao nghệ	25 mg
	Cao cam thảo	100 mg
– Công thức 2:	Cao nghệ	25 mg
	Cao cam thảo	75 mg
– Công thức 3:	Cao nghệ	25 mg
	Cao cam thảo	100 mg
	Cao nhân sâm	25 mg

### **Bố trí thí nghiệm**

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 nhóm:

- Nhóm 1: nhóm chứng, uống nước cất.
- Nhóm 2: nhóm đối chiếu, uống fluoxetine liều 20 mg/kg.
- Nhóm 3: nhóm thử, uống cao dược liệu công thức 1.
- Nhóm 4: nhóm thử, uống cao dược liệu công thức 2.
- Nhóm 5: nhóm thử, uống cao dược liệu công thức 3.

Các công thức 1, 2, 3 từ cao dược liệu và fluoxetine được pha loãng bằng nước cất. Thể tích cho uống tương ứng với liều 0,1 ml/10 g chuột. Chuột được cho uống các cao thuốc liên

tục trong 14 ngày rồi tiến hành thử nghiệm. Sau mỗi thử nghiệm, mô hình được lau sạch bằng EtOH 20% để tránh mùi hoặc thay nước đối với mô hình bơi cưỡng bức. Các thử nghiệm đều được ghi hình bằng camera được đặt ở vị trí thích hợp, các hành vi của chuột trong các thử nghiệm được phân tích bằng phần mềm Eventlog 1.0 (EMCO software) bởi một người có kinh nghiệm và không biết mã số của chuột.

Mô hình môi trường mở (Open field test): gồm 1 hộp kích thước 40×40×40 cm, với tường trong suốt, đáy hộp được chia ra làm 16 ô vuông có kích thước bằng nhau. Cường độ chiếu sáng ở sàn là 100 lux. Tất cả chuột được đặt cố định vào 1 góc của mô hình, thực hiện thử nghiệm trong 5 phút, ghi nhận số ô vuông chuột di chuyển vào (bằng cả 4 chân), số lần đứng lên.

Mô hình bơi cưỡng bức (Forced swimming test): Bộ dụng cụ là một bình hình trụ được làm bằng Plexiglas (cao 20 cm, đường kính 12 cm), nước (24±1°C) được cho vào bình đến mức 15 cm. Chuột thử nghiệm được cho uống 60 phút trước khi thử nghiệm. Chuột được đặt vào bình và thực hiện thử nghiệm trong 6 phút. Cho chuột bơi tự do trong 2 phút đầu. Từ phút thứ 3, thời gian bất động của chuột (khi chuột ở trạng thái đứng nước) được ghi nhận bằng camera.

Mô hình treo đuôi chuột (Tail suspension test): Bộ dụng cụ gồm một thanh sắt được gắn cố định trên giá, cao hơn mặt đất 50 cm. Chuột thử nghiệm được cho uống 60 phút trước khi thử nghiệm. Dùng băng dính dán đuôi chuột trên thanh sắt (dán khoảng 1 cm, kể từ đỉnh đuôi). Thời gian bất động được theo dõi trong thử nghiệm kéo dài 6 phút.

### **Xử lý số liệu thực nghiệm**

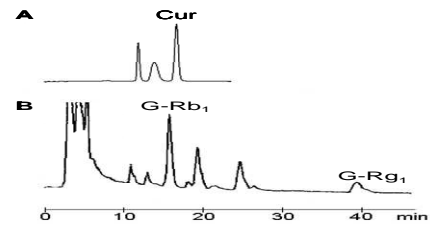
Các dữ liệu được biểu thị dưới dạng Mean±SEM. Qua phân tích các số liệu bằng phép kiểm Kolmogorov-Smirnov cho thấy có sự phân bố không bình thường ở một số dãy số liệu. Do đó việc xử lý thống kê sử dụng

phần mềm SPSS phiên bản 16, với phép kiểm Kruskal-Wallis, tiếp theo dùng phép kiểm Mann-Whitney-U test để so sánh sự khác biệt giữa các lô. Sự khác nhau được xem là có ý nghĩa khi giá trị  $p < 0,05$ .

## KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

**Bảng 1.** Kết quả chiết xuất của các dược liệu

Dược liệu	Khối lượng dược liệu (kg)	Khối lượng cao (g)	Hiệu suất chiết (%)
Cam thảo	3,5	650	18,57
Nghệ	3,0	505	16,83
Nhân sâm	0,4	180	45

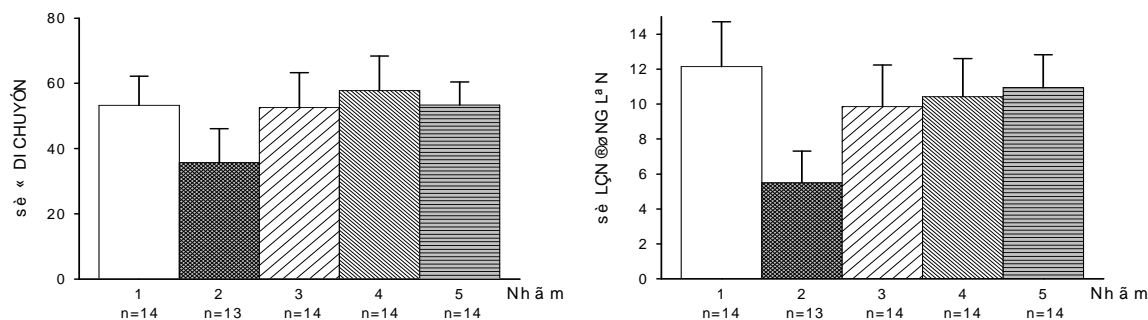


**Hình 1.** Sắc đồ HPLC khi phân tích nghệ (A) và nhân sâm (B). Cur: curcumin, G-Rb1: ginsenosid Rg1, G-Rg1: ginsenosid Rg1

### Kết quả định lượng

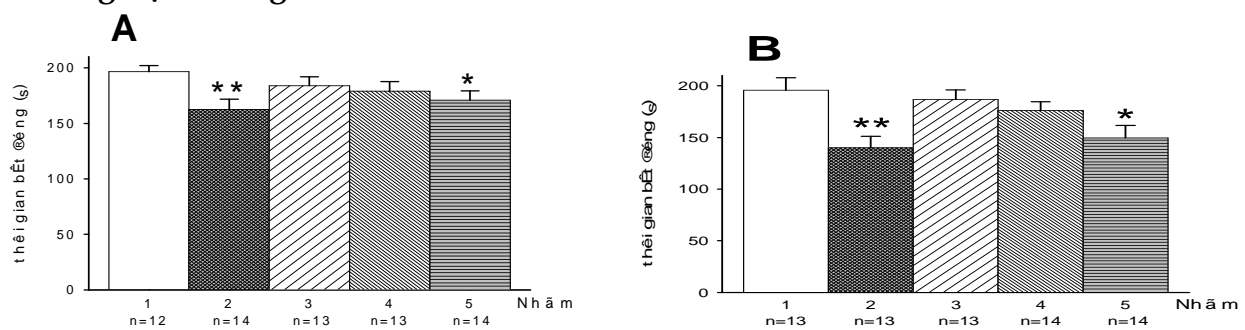
- Cao cam thảo: Hàm lượng acid glycyrrhizic trong cao cam thảo 9,97 %
- Cao nghệ: Hàm lượng curcumin là 21,72 %
- Cao nhân sâm: Hàm lượng G-Rb1 và G-Rg1 lần lượt là 1,73 % và 1,04%.

## Mô hình môi trường mở



**Hình 2.** Ảnh hưởng của của CT 1, CT 2, CT 3 và fluoxetine trên số ô di chuyển và số lần đứng lên trong thử nghiệm mô hình môi trường mở. n thể hiện số chuột trong mỗi nhóm.

## Thử nghiệm chống trầm cảm



**Hình 3.** Ảnh hưởng trên thời gian bất động do CT 1, CT 2 và CT 3 trong thử nghiệm mô hình bơi gắng sức (A) và mô hình treo đuôi chuột (B), n thể hiện số chuột trong mỗi nhóm. \* $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  so với nhóm chứng (nhóm 1)

Mô hình chuột bơi cưỡng bức (Forced swimming test-FST) được Porsolt và các cộng sự thiết lập là thử nghiệm khởi đầu đối với các thuốc chống trầm cảm (1977). Cho đến nay, đây

vẫn là một trong những mô hình thử nghiệm tốt nhất để đánh giá khả năng chống trầm cảm. Dựa vào thời gian bất động của chuột thử nghiệm để đánh giá hành vi của chuột trong một môi

trường bất lợi (bị gây stress). Thời gian bất động càng ngắn càng thể hiện khả năng vượt qua các điều kiện khó khăn, bất lợi, điều này đặc biệt liên quan đến các thuốc chống trầm cảm (**Error! Reference source not found.**).

Mô hình treo đuôi chuột dựa trên sự theo dõi hành vi của chuột trong một cuộc thử nghiệm ngắn. Chuột được gây stress cô lập và không thể thoát khỏi do tình trạng bị treo ngược sẽ gia tăng hành vi bất động ở chuột thử nghiệm (3). Nếu thời gian bất động giảm sẽ đánh giá khả năng vượt qua các tác nhân stress, tình trạng tuyệt vọng, trầm cảm và có mối liên hệ đến các phương pháp điều trị trầm cảm. Chính vì thế mà ngày nay, cả hai mô hình FST và TST đều là những mô hình có giá trị tiên đoán cao đối với các liệu pháp điều trị trầm cảm mới, đặc biệt là những nghiên cứu về thuốc mới.

Từ kết quả thử nghiệm trên mô hình mô trường mở, các công thức thử nghiệm và fluoxetin không làm ảnh hưởng lên khả năng vận động tự nhiên của chuột thử nghiệm. Đặc biệt trên cả 2 mô hình chuột bơi gắng sức và treo đuôi chuột, CT 3 gồm các cao dược liệu ứng với các liều sau: nghệ 25 mg/ kg, cam thảo 100 mg/kg, nhân sâm 25 mg/ kg đều làm giảm thời gian bất động của chuột so với nhóm chứng (nhóm 1). Đây là thông số cho thấy tác dụng chống trầm cảm của CT 3 đã giảm liều ở mỗi dược liệu so với liều công bố. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với những công bố trước đây về tác dụng chống trầm cảm của từng dược liệu có trong công thức này.

Một công bố gần đây về tác dụng chống trầm cảm từ phối hợp của các cao dược liệu gồm nhân sâm, cam thảo và hạt táo đã được đăng ký bản quyền châu Âu càng khẳng định vai trò của các dược liệu và sự phối hợp các

dược liệu trong điều trị bệnh trầm cảm (**Error! Reference source not found.**).

## KẾT LUẬN

Qua hai mô hình dược lý thực nghiệm phổ biến hiện nay là mô hình bơi cưỡng bức và mô hình treo đuôi chuột, khi uống CT3 gồm phối hợp của 3 cao cam thảo, nghệ và nhân sâm trong vòng 14 ngày thể hiện tác dụng chống trầm cảm trên cả hai mô hình đối với chuột nhắt. Tác dụng này tương tự như fluoxetin liều 20 mg/kg (p.o). Việc nghiên cứu các tác dụng chống trầm cảm cũng như liều sử dụng, độc tính cần phải tiến hành để làm sáng tỏ khả năng ứng dụng phối hợp trên trong điều trị trầm cảm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn dược liệu (2007), Phương pháp nghiên cứu dược liệu, Trường ĐHY Dược TP Hồ Chí Minh, tr. 136 – 137.
2. Cryan J. F., Markou A and Lucki I (2002), "Assessing antidepressant activity in models recent developments and future needs", Trends Pharmacol. Sci., 23, 238 – 245.
3. Cryan J.F., Mombereau C, Vassout A (2005), "The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice", Neurosci. And Biobehav. Rev., 29, 573 – 575.
4. Dinesh Dhingra, Amandeep Sharma (2006), "Antidepressant-like activity of Glycyrrhiza glabra L. in mouse models of immobility tests", Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 30, 449 – 454.
5. Do-Hoon Kim, Yoo-Sun Moon, Jun-Sub Jung, Sung-Kil Min, Bong-Ki Son, Hong-Won Suh, Dong-Keun Song (2003), "Effects of ginseng saponin administered intraperitoneally on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in mice", Neuroscience Letters, 343, 62–66.
6. European Patent (2007), "A pharmaceutical composition for treating depression and method for preparation thereof", European Patent, EP 1862158.
7. Xia X., Cheng G., Pan Y., Xia Z.H., Kong L.D. (2007), "Behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects of the ethanolic extract from Curcuma longa L. in the mouse forced swimming test", Journal of Ethnopharmacol., 110, 356 – 363.
8. Zhang-Jin Zhang (2004), "Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders", Life Sciences, 75, 1659 – 1699.

