

Khảo sát độc tính cấp và tác dụng ức chế ho của cao chiết hoa cây đu đủ đực

Toxicity assessment and anti-inflammatory effects of male papaya flower extract

Nguyễn Hồng Sơn¹, Đoàn Xuân Tuyền², Trần Huyền Trân¹

¹Trường Đại học Bình Dương

²Trung tâm Kiểm nghiệm tỉnh Bình Dương

Tác giả liên hệ: Trần Huyền Trân

E-mail: thtran@bdu.edu.vn

Tóm tắt: Hoa cây Đu đủ đực (*Carica papaya* L.) là một dược liệu được sử dụng rộng rãi trong dân gian để điều trị các triệu chứng về ho. Hoa cây Đu đủ đực được chiết bằng phương pháp ngâm kiệt (dung môi ethanol 96%). Các thử nghiệm về tính an toàn của cao chiết ethanol 96% hoa cây Đu đủ đực (CPE) được tiến hành trên chuột đực với liều cao nhất rút qua kim, theo dõi tỷ lệ chuột chết và biểu hiện độc tính trong 72 giờ. Tác dụng ức chế ho của CPE được khảo sát trên mô hình gây ho cấp tính bằng amoniac 25% trong bình kín 1 lít. Chuột đực cho uống CPE liều 3,6 g/kg; 1,8 g/kg trong 3 ngày; Neo-codion® 1 viên/kg được sử dụng làm chứng dương. Ngày thứ 3 sau khi cho uống 1 giờ, tiến hành gây ho và đánh giá số cơn thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho, khả năng ức chế ho, số cơn ho. Kết quả cho thấy CPE được sử dụng an toàn cho chuột với liều Dmax là 18 g/kg. Trên mô hình ho cấp tính, liều 3,6 g/kg và 1,8 g/kg đều làm giảm số cơn ho có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh.

Từ khóa: Độc tính cấp; Đu đủ đực; Giảm ho; Hoa cây Đu đủ đực; Ức chế ho.

Abstract: Male papaya flower is a medicinal herb used in traditional medicine to treat cough symptoms. Male papaya flower was extracted using the maceration method (96% ethanol solvent). The safety of male Papaya flower extract was tested on male mice who received the highest dose drawn through a needle, with mortality and toxicity monitored for 72 hours. The extract's cough-reducing effect was tested on an acute cough model in a 1 liter closed bottle containing 25% amoniac. Mice were given male papaya flower extract at doses of 3.6 g/kg and 1.8 g/kg for three days, with Neo-codion® 1 tablet/kg serving as a positive control. On the third day, one hour after administration, induce cough and assess the number of latent cough periods, cough counts, and cough inhibition ability. The result show that male papaya flower extract was safely administered to mice at a Dmax dose of 18 g/kg. In the acute cough model, doses of 3.6 g/kg and 1.8 g/kg both reduced the number of coughs by a statistically significant amount compared to the control group.

Keywords: Acute toxicity; Male papaya; Male papaya flowers; Reduce coughing; Suppress coughing.

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, các nước thế giới đang phải đối mặt với nhiều vấn đề liên quan đến bệnh hô hấp. Các bệnh về đường hô hấp chiếm tỷ lệ lớn trong cơ cấu bệnh lý, trong đó ho là một trong những triệu chứng thường gặp nhất [1], cần được

quan tâm nhiều hơn khi thay đổi khí hậu và ô nhiễm môi trường, khiến bệnh hô hấp trở nên phức tạp và phổ biến hơn [2].

Hiện nay nhiều nhóm thuốc được sử dụng trong điều trị ho như codein, dextromethorphan, ... Việc sử dụng lâu dài những thuốc này có thể gây ra một

số tác dụng phụ nghiêm trọng như sung phù mắt, khó thở, mê đay, đau đầu, rối loạn thị giác, suy tuần hoàn và lệ thuộc thuốc...[3-4]. Do đó, việc tìm kiếm và sử dụng những dược liệu từ thiên nhiên để phòng, điều trị các triệu chứng ho với ưu điểm an toàn và ít tác dụng phụ là cần thiết. Theo các bài thuốc dân gian, hoa cây Đu đủ đực thường được sử dụng để trị các chứng ho [5-6], tuy nhiên những nghiên cứu về tính an toàn và tác dụng ức chế ho của hoa cây Đu đủ ở Việt Nam vẫn còn hạn chế. Nhóm chúng tôi thực hiện nhằm đánh giá tính an toàn và tác dụng ức chế ho của CPE.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Hoa cây Đu đủ đực được thu hái tại Cư Jút - Đắk Nông vào tháng 10/2023, được lưu giữ tại phòng Dược liệu (NB-231001), Viện Đào tạo và Nghiên cứu Dược học, trường Đại học Bình Dương. Mẫu hoa tươi được thu hái tự nhiên, loại bỏ các hoa dập nát, rửa sạch, sấy khô ở nhiệt độ 55°C và xay thành bột (đạt kích thước qua rây số 2). Dịch chiết hoa cây Đu đủ đực được chiết bằng phương pháp ngâm kiệt (dung môi là ethanol 96%) và được cô dưới áp suất giảm để đạt độ ẩm theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V với hiệu suất chiết là 16,4%.

2.2. Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng Swiss albino, trưởng thành, khỏe mạnh từ 5 – 6 tuần tuổi có trọng lượng 18-24 g do Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh cung cấp. Chuột được nuôi ổn định một tuần trước khi thí nghiệm. Chuột được nuôi ở điều kiện duy trì nhiệt độ $27 \pm 2^\circ\text{C}$ với độ ẩm $65 \pm 5\%$ và chu kỳ 12 giờ sáng – tối. Chuột được cho ăn thực phẩm dạng viên (được cung cấp bởi Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh), nước uống đầy đủ. Thể tích

cho uống cao chiết với thể tích là 10 ml/kg thể trọng chuột, thời gian cho uống ở các thử nghiệm khoảng 8 – 9 giờ sáng.

2.3. Hóa chất và thuốc đối chiếu

Amoniac 25% được cung cấp bởi công ty Xilong Scientific Co (Trung Quốc). Thuốc đối chiếu là Neo-codion® (viên nén, hạn dùng 06/2025, số lô 1889, Bouchara, Pháp).

2.4. Thử độc tính cấp

Giai đoạn thử nghiệm sơ bộ sử dụng 6 chuột đực với liều CPE tối đa phân tán có thể uống qua kim, thể tích uống là 0,5 ml/10 g chuột. Trong 72 giờ đầu, nếu tất cả chuột chết (100%), giảm ½ liều cho đến khi xác định được liều tối thiểu gây chết 100% (LD100) và liều tối đa không gây chết chuột (LD0). Nếu chuột không chết, xác định liều tối đa không gây chết (Dmax). Theo dõi biểu hiện và ghi nhận tình trạng chuột (số lượng chuột chết, ăn uống, tiêu tiểu, hành vi, lông) trong 72 giờ đầu và tiếp tục theo dõi trong 14 ngày để ghi nhận bất thường. Giải phẫu và ghi chú bất thường về cơ quan khi mổ chuột. Giai đoạn xác định, thử nghiệm sử dụng 18 chuột, chia thành 3 lô: Một lô dùng liều LD0, một lô dùng liều LD100, và một lô dùng liều giữa LD0 và LD100. Theo dõi các biểu hiện và tình trạng chuột như giai đoạn sơ bộ. Liều gây chết 50% chuột thử nghiệm (LD50) được tính bằng công thức Behrens-Karber [7]. Kết quả đánh giá bao gồm những thay đổi về hành vi và vận động của chuột trong 72 giờ đầu và 14 ngày sau khi dùng thuốc, quan sát đại thể và so sánh với nhóm sinh lý.

2.5. Khảo sát tác dụng ức chế ho

Khảo sát tác dụng ức chế ho được thực hiện trên mô hình gây ho chuột bởi amoniac 25%, sau đó đánh giá các biểu hiện của chuột. Thuốc Neo-codion®

được chọn làm chứng dương trong thử nghiệm này.

Chia ngẫu nhiên thành 5 lô (n=6);

+ Lô 1 (sinh lý) và lô 2 (chứng bệnh): Chuột được uống nước cất với liều 10 mL/kg thể trọng;

+ Lô 3 (chứng dương): Chuột được uống Neo-codion® liều 1 viên/kg (500 mg/kg), được ngoại suy từ liều sử dụng trên người 3 - 4 viên/ngày [8], [9], [10];

+ Lô 4: Chuột được cho uống CPE liều 1,8 g/kg thể trọng;

+ Lô 5: Chuột được cho uống CPE liều 3,6 g/kg thể trọng.

Chuột được cho uống liên tục vào các buổi sáng trong 3 ngày. Ngày thứ 3, sau khi uống thuốc 1 giờ, tất cả lô chuột được tiến hành gây ho cho trong 45 giây (ngoại trừ lô 1) bằng amoniac 25% với liều 0,5 mL/bình thủy tinh 1 lít. Quan sát số cơn ho, thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho. Cơn ho ở chuột được xác định bằng việc quan sát chuột há miệng và kèm theo tiếng ho, co thắt cơ ngực và bụng. Liều cao chiết sử dụng được căn

cứ dựa theo kết quả khảo sát độc tính cấp đường uống [9], [11-12].

Các chỉ tiêu đánh giá gồm:

Thời gian tiềm tàng xuất hiện cơn ho (giây) là thời gian tính từ khi cho chuột vào bình đến khi chuột xuất hiện cơn ho đầu tiên;

Số cơn ho của các lô thử nghiệm trong 6 phút; Tính phần trăm ức chế số cơn ho theo công thức: % ức chế ho = $((H1 - H2)/H1) \times 100\%$ [11], [12].

Trong đó: H1 là số cơn ho ở lô đối chứng; H2 là số cơn ho ở lô dùng thuốc/cao chiết.

2.6. Phân tích thống kê dữ liệu

Dữ liệu trong nghiên cứu được phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS version 16 và được thể hiện dưới dạng số trung bình \pm SEM. Sử dụng phép kiểm ANOVA để so sánh sự khác biệt giữa các lô. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với giá trị $p \leq 0,05$ [13].

3. Kết quả

Bảng 1. Bảng cân nặng của chuột trong thử nghiệm độc tính cấp

Chuột		1	2	3	4	5	6
Lô sinh lý	Trọng lượng trước thí nghiệm (g)	19,23	19,35	20,18	18,82	20,94	19,95
	Trọng lượng sau 7 ngày	20,10	20,41	21,23	19,89	22,07	21,01
	Trọng lượng sau 14 ngày	21,14	21,29	22,24	21,74	23,00	22,05
Lô thử nghiệm	Trọng lượng trước thí nghiệm (g)	19,35	19,05	18,95	19,14	20,25	19,65
	Trọng lượng sau 7 ngày	20,20	20,06	19,89	20,10	21,20	20,60
	Trọng lượng sau 14 ngày	21,25	20,96	21,03	21,12	22,19	21,68

3.1. Chiết xuất dược liệu với dung môi ethanol

Sau khi cô quay dịch chiết, từ 500 g bột dược liệu hoa Đu đủ đực thu được 82 g cao toàn phần. Cao thu được có màu nâu đen, đặc sệt, vị đắng và mùi thơm nhẹ. Hiệu suất chiết là 16,4%; hàm ẩm cao là 10,83% (đạt quy định theo Dược Điển VN V) [14].

3.2. Độc tính cấp

3.2.1. Tình trạng chung của chuột trước và sau uống thuốc.

Chuột ăn uống bình thường trước và sau khi uống CPE, cử động bình thường, không có biểu hiện rụng lông hay kích động, chậm chạp,... Cân nặng chuột vẫn bình thường trong suốt quá trình nghiên cứu.

3.2.2. Tỷ lệ tử vong chuột

Liều tối đa có thể cho uống CPE là 18 g/kg thể trọng chuột, tất cả chuột không có biểu hiện bất thường hoặc chết sau 72 giờ; 14 ngày nên trong nghiên cứu này không xác định được LD50 và xác định LDmax là 18 g/kg (Bảng 2).

Bảng 2. Tỷ lệ tử vong của chuột trong thử nghiệm độc tính cấp

Lô	Liều cho uống	Tổng số chuột	Số chuột chết	Tỷ lệ chết (%)
1	10 ml/kg	6	0	0
2	18 g/kg	6	0	0

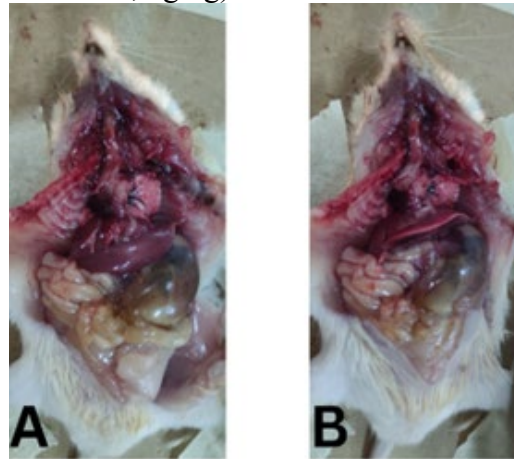
3.2.3. Kết quả quan sát đại thể

Tiến hành giải phẫu chuột sau thí nghiệm để quan sát các cơ quan trong cơ thể. Kết quả cho thấy không có thay đổi nào về đại thể tim, phổi, gan, thận, hệ tiêu hóa, màu sắc, kích thước giữa đại diện lô sinh lý và lô CPE ở liều 18 g/kg thể trọng chuột (Hình 1).

3.3. Ức chế ho

Với 5 lô thử nghiệm (n=6), lô 1 (chứng sinh lý), lô 2 (chứng bệnh); lô 3 (uống

Neo-codion® liều 1 viên/kg); lô 4 (uống CPE với liều 3,6 g/kg); lô 5 (uống CPE với liều 1,8 g/kg).



Hình 1. Đại thể chuột A (sinh lý); B (uống cao)

Bảng 3. Kết quả ức chế ho của CPE

Lô	Tiềm thời xuất hiện cơn ho (giây)	Số cơn ho trong 6 phút	% giảm ho
2	1,45 ^c ± 0,48	59,33 ^a ± 1,73	
3	3,95 ^a ± 0,86	24,83 ^b ± 1,49	58,15*
4	2,58 ^b ± 0,56	35,67 ^c ± 1,63	39,89*#
5	1,76 ^{bc} ± 0,47	44,83 ^d ± 1,64	24,44*#

Ghi chú:

+ Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau (a,b,c,d) thì khác biệt có ý nghĩa ở mức p=0,05

+ * p < 0,05: có sự khác biệt so với lô chứng bệnh

+ # p < 0,05 : có sự khác biệt so với lô chứng dương

Kết quả Bảng 3 cho thấy so với lô không điều trị, chuột được cho uống thuốc đối chiếu Neo-codion® hay CPE với liều 3,6 g/kg có tiềm thời xuất hiện cơn ho tăng có ý nghĩa thống kê. Ở chuột uống CPE liều 1,8 g/kg có tiềm thời xuất hiện cơn ho tăng và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Tương tự, các lô chuột được cho uống CPE liều 3,6 g/kg 1,8 g/kg và

thuốc đối chiếu Neo-codion® có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh.

4. Bàn luận

Từ kết quả của thử nghiệm độc tính cấp, cao chiết hoa cây Đu đủ được với ethanol 96% không gây độc ở liều tối đa có thể rút qua kim. Liều có thể sử dụng trong thử nghiệm được lý D_s < 1/5 liều D_{max}. Đề tài chọn liều khoảng 1/5 và 1/10 liều D_{max} tương đương với 3,6 g/kg và 1,8 g/kg để đánh giá tác dụng ức chế ho của CPE.

Hiện nay, các nghiên cứu về cây Đu đủ chủ yếu tập trung khảo sát thành phần hóa học, khảo sát tác dụng chống ung thư, chống oxy, kháng khuẩn và kháng nấm. Với mong muốn làm rõ hơn về tác dụng dược lý của hoa cây Đu đủ, bước đầu đề tài tiến hành khảo sát tác dụng ức chế ho của CPE trên mô hình chuột nhắt gây ho bằng amoniac 25% với liều 0,5 ml/bình thủy tinh 1 lít đã được sử dụng trên nhiều nghiên cứu khác nhau [13], [15-17] và chứng dương là Neo-codion® liều 1 viên/kg [9].

Dựa trên kết quả cho thấy liều 500 mg/kg Neo-codion® có tác dụng giảm ho đạt hiệu quả hơn so với chuột ở lô chứng bệnh. Neo-codion® có thành phần hoạt chất chính là codein camphosulphonat 25 mg (tương đương codein base 14,93 mg) codein là một dẫn chất của phenanthren, có tác dụng giảm ho do ức chế trực tiếp lên trung tâm gây ho ở hành não [18]. Điều này phù hợp các nghiên cứu về tác dụng ức chế ho trong và ngoài nước [15-17]. Tác dụng ức chế ho thể hiện rõ hơn đối với chuột được uống cao liều 3,6 g/kg so với liều 1,8 g/kg.

Từ đây cho thấy hoa cây Đu đủ được là dược liệu có thể cân nhắc trong việc

hỗ trợ điều trị và phòng ngừa các triệu chứng ho.

5. Kết luận

Cao chiết ethanol hoa cây Đu đủ được sử dụng tương đối an toàn, liều tối đa qua kim có thể cho chuột uống (D_{max}) mà không làm chết chuột, không gây sự bất thường. Độc tính cấp ở đường uống của CPE trên chuột nhắt là 18 g/kg. Tiến hành giải phẫu sau 14 ngày quan sát không thấy dấu hiệu bất thường, không có sự khác biệt về cân nặng của chuột trong suốt quá trình nghiên cứu. Liều thử nghiệm tác dụng ức chế ho của CPE (1/5 hoặc 1/10 LD₀; LD₀ = 18 g/kg) là 1,8 g/kg và 3,6 g/kg. Hai mức liều của CPE đều thể hiện tác dụng giảm ho so với lô chứng bệnh (cho uống nước cất) trên mô hình chuột nhắt bị gây ho bằng amoniac 25%. Tuy nhiên, CPE liều 3,6 g/kg thể hiện tác dụng giảm số cơn ho và tiềm thời xuất hiện cơn ho tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với liều 1,8 g/kg.

Đề tài là tiền đề cho các nghiên cứu và phát triển các sản phẩm từ hoa cây Đu đủ ứng dụng trong phòng ngừa các bệnh về đường hô hấp.

Tài liệu tham khảo

- [1] H.V.Sỹ và Q.T.Đức, *Tiếp cận các vấn đề Nội khoa thường gặp*, Nhà Xuất Bản Y Học, 78-85, 2020.
- [2] WHO, “Air pollution: The invisible health threat”, accessed 9/12/2023. Available: <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/air-pollution--the-invisible-health-threat>.
- [3] M.D.K. Durbin, “Dextromethorphan”, accessed 10/12/2023. Available: <https://www.drugs.com/dextromethorphan.html>
- [4] Drug Bank, “Neo-Codion”, accessed 06/12/2023. Available:

- https://drugbank.vn/thuoc/Neo-Codion&VN-18966-15.
- [5] Đ. H. Bích và Đ. Q. Chung, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở VN*. Nhà Xuất Bản Khoa Học Kỹ Thuật Hà Nội, 824-827, 2006.
- [6] Đ.T.Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà Xuất Bản Y Học, 360-362, 2004.
- [7] Đ.T.Đàm, *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*. Nhà xuất bản Y học, 11-190, 2014.
- [8] B.Y.Tế, Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015 về "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu", 2015.
- [9] N.T.T.Hương và N.M.T.Tiên, "Nghiên cứu thực nghiệm tác dụng kháng khuẩn, trị ho và long đàm của cao chiết cỏ từ lá tía tô", *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 22(5), 2018.
- [10] J. F. A. Aïkpe et al., "Antitussive properties of aqueous extracts of *Sterculia setigera* Delile (Sterculiaceae) and mixture of *Aframomum melegueta* K. Schum (Zingiberaceae)-*Citrus aurantifolia* (Christm. and panzer) Swingle (Rutaceae)", *Journal of Pharmacognosy Phytochemistry*, 9 (2), 1624-1627, 2020.
- [11] J. R. Hu et al., "Anti-inflammatory, expectorant, and antitussive properties of Kyeongok-go in ICR mice", *Pharmaceutical Biology*, 59 (1), 319-332, 2021.
- [12] J. L. Zhang et al., "Structural analysis and antitussive evaluation of five novel esters of verticinone and bile acids", *Steroids*, 74 (4-5), 424-34, 2009.
- [13] Đ.N.Q. Trang và các cộng sự, "Nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng giảm ho và long đàm của cao chiết Bách bộ trên mô hình chuột", *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ* (61), 260-265, 2023.
- [14] B.Y.Tế, *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, 2018.
- [15] P.Q.Bình và Đ.M.Mẫn, "Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm ho và long đàm của cao lỏng Khái thấu-BT trên thực nghiệm", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 59 (12), 17-20, 2017.
- [16] T.D.Nguyen and T.X.T. Vo, "Investigation of toxicity, antimicrobial activity and cough treatment of products produced from pouzolzia zeylanica plants growing in Viet Nam", *Malaysian Applied Biology*, 49 (3), 43-51, 2020.
- [17] V.V. Tiến và các cộng sự, "Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng giảm ho, long đàm của cao lỏng ho P/H trên thực nghiệm", *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 165 (4), 188-196, 2023.
- [18] B.Y.Tế, *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, 2017.

Ngày nhận bài: 13/6/2024

Ngày hoàn thành sửa bài: 25/6/2024

Ngày chấp nhận đăng: 26/6/2024