

# KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM VÀ ẢNH HƯỞNG LÊN HOẠT ĐỘ ENZYM CATHEPSIN TRONG HUYẾT TƯƠNG MÁU NGƯỜI CỦA KCOSCARE H

TRẦN THỊ HIẾU, ĐỖ THỊ GẦM

Trung tâm Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

KCOSCARE H là thực phẩm chức năng (số đăng ký: 19788/2014/ATTP-XNCB) có thành phần gồm: cao khô linh chi (150 mg), cao khô chè xanh (25 mg), dầu dừa điều (250 mg), tá dược (75 mg), có tác dụng bổ sung dinh dưỡng và các chất chống oxy hóa tự nhiên, giúp tăng cường sức khỏe và làm chậm quá trình lão hóa của cơ thể. Với mong muốn góp phần tìm hiểu sâu hơn về tác dụng sinh học của KCOSCARE H, các tác giả đã tiến hành thăm dò hoạt tính kháng viêm trên động vật thực nghiệm và ảnh hưởng lên hoạt độ enzym cathepsin trong huyết tương máu người của dịch chiết KCOSCARE H.

## Nội dung nghiên cứu

### Nguyên liệu và hóa chất

- Nguyên liệu KCOSCARE H dạng viên nang mềm 500 mg.
- Huyết tương máu người khỏe mạnh (nhóm máu AB) do Khoa Huyết học và truyền máu, Bệnh viện Việt
- Đức cung cấp.
- Động vật thí nghiệm: chuột nhắt trắng trọng lượng  $22 \pm 0,3$  g.
- Hóa chất: hemoglobin 6% trong đệm acetat, axit tricloacetic 8% (TCA 8%), đệm acetat pH = 5, tyrosin chuẩn... của Hãng Merk (Đức).

**Phương pháp:** điều chế dịch chiết: 1.000 g nguyên liệu (tương đương 2.000 viên nang mềm đã loại bỏ vỏ nang) được chiết siêu âm trong 12 h với EtOH; dịch chiết được làm khan bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  rồi cất loại dung môi thu được cặn chiết KCOSCARE H. Xác định hoạt độ cathepsin theo phương pháp Anson [1]. Khảo sát hoạt tính kháng viêm bằng mô hình gây viêm thực nghiệm trên chuột bằng dextran 5% của Courvoisier và cộng sự [5].

## Kết quả nghiên cứu

### Ảnh hưởng của cặn chiết KCOSCARE H lên hoạt độ cathepsin huyết tương máu người

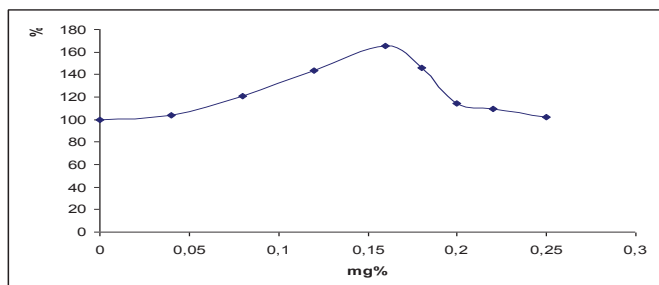
Với vai trò là một lysosomal proteinase, cathepsin

tham gia vào nhiều chức năng sinh lý quan trọng của cơ thể, sự giảm sút hoạt động của enzym này có liên quan tới nhiều quá trình bệnh lý [2-4]. Trong huyết tương, cathepsin là một enzym proteolytic hoạt động ở môi trường axit yếu, có tác dụng phân giải hemoglobin đã biến tính để giải phóng các axit amin [1]. Một trong những sản phẩm thủy phân là tyrosin. Hoạt tính enzym được xác định theo nguyên tắc định lượng tyrosin tạo ra trong quá trình thủy phân hemoglobin và được xác định theo phương pháp Anson. Cơ chất sử dụng trong phản ứng thủy phân là hemoglobin đã biến tính. Hoạt độ cathepsin tính theo micromol ( $\mu\text{M}$ ) tyrosin được giải phóng sau phản ứng dưới tác dụng enzym của 1 ml huyết tương trong thời gian 1 phút ( $\mu\text{M}$  tyrosin/ml huyết tương/phút). Thí nghiệm được tiến hành với các nồng độ KCOSCARE H từ 0,00 đến 0,25 mg% (bảng 1 và hình 1). Hoạt độ enzym tăng dần và đạt giá trị cực đại ở nồng độ 0,16 mg% (đạt 165,8%). Khi vượt quá ngưỡng, khả năng hoạt hoá enzym giảm dần.

Bảng 1: ảnh hưởng của KCOSCARE H lên hoạt độ cathepsin huyết tương người

| Nồng độ KCOSCARE H (mg%)                                                         | 0   | 0,04               | 0,08               | 0,12               | 0,16               | 0,18               | 0,20               | 0,22               | 0,25               |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Hoạt độ cathepsin (% $\mu\text{M}$ tyrosin/ml huyết tương/phút so với đối chứng) | 100 | 104,1<br>$\pm$ 0,4 | 120,5<br>$\pm$ 0,3 | 143,7<br>$\pm$ 0,7 | 165,8<br>$\pm$ 0,4 | 146,1<br>$\pm$ 0,7 | 114,5<br>$\pm$ 0,2 | 109,4<br>$\pm$ 0,3 | 102,3<br>$\pm$ 0,2 |

Ghi chú: n=9; p<0,05. Hoạt độ đối chứng = 100% ứng với 0,11  $\mu\text{M}$  tyrosin



Hình 1: ảnh hưởng của KCOSCARE H lên hoạt độ cathepsin huyết tương người

So sánh theo tỷ lệ % hoạt tính enzyme, ta thấy rõ KCOSCARE H có tác dụng hoạt hoá cathepsin. Kết quả cho thấy, nồng độ KCOSCARE H tối ưu cho hoạt động của cathepsin nằm trong khoảng 12-18( $\times 10^{-2}$ ) mg%.

### Khảo sát tác dụng chống viêm trên thực nghiệm

Gây viêm thực nghiệm trên chuột bằng dextran 5% theo mô hình của Courvoisier và cộng sự. Bảng 2 biểu thị sự thay đổi thể tích chân chuột theo thời gian gây viêm. Sau 150 phút, thể tích chân chuột đạt tới cực đại với lô đối chứng. Vì vậy, chúng tôi chọn thời điểm đo thể tích chân chuột là 150 phút sau khi gây viêm.

Bảng 2: theo dõi sự thay đổi thể tích chân chuột gây viêm không điều trị

| Chỉ tiêu thí nghiệm               | Số liệu thực nghiệm |                  |                  |                  |                  |                  |                  |                  |
|-----------------------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Thời gian sau khi gây viêm (phút) | 30                  | 60               | 90               | 120              | 150              | 180              | 210              | 240              |
| Tăng thể tích (%)                 | 21,0<br>±<br>5,2    | 27,1<br>±<br>6,1 | 43,7<br>±<br>3,8 | 48,5<br>±<br>4,3 | 61,5<br>±<br>4,8 | 60,3<br>±<br>3,1 | 60,5<br>±<br>2,8 | 61,1<br>±<br>3,6 |

Ghi chú: n=9; p<0,05

Sử dụng cặn chiết KCOSCARE H cho chuột theo 3 đường: uống, tiêm dưới da và bôi trên da. Các tác động được thực hiện sau khi gây viêm 5 phút. Kết quả được trình bày trên bảng 3.

Bảng 3: khả năng ức chế viêm của cặn chiết KCOSCARE H

| Xử lý theo   | Mức độ tăng thể tích chân chuột (%) |             | % ức chế |
|--------------|-------------------------------------|-------------|----------|
|              | Lô đối chứng                        | Lô điều trị |          |
| Bôi trên da  | 53,5 ± 6,6                          | 32,2 ± 5,2  | 39,8     |
| Tiêm dưới da | 54,1 ± 6,0                          | 18,2 ± 4,2  | 66,4     |
| Uống         | 53,5 ± 5,5                          | 24,0 ± 6,4  | 55,1     |

Ghi chú: n=9; p<0,05. Hoạt độ đối chứng = 100% ứng với 0,11  $\mu$ M tyrosin

Bảng 3 cho thấy, cặn chiết KCOSCARE H thể hiện tác dụng kháng viêm khá rõ trên mô hình gây viêm thực nghiệm. Tác dụng theo đường tiêm dưới da có hiệu lực nhanh và mạnh nhất (giá trị ức chế đạt 66,4%), tiếp đến



là đường uống (giá trị ức chế đạt 55,1%), đường bôi trên da thể hiện tác dụng yếu (giá trị ức chế đạt 39,8%).

### Kết luận

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của KCOSCARE H lên hoạt độ cathepsin huyết tương máu người cho thấy: KCOSCARE H có tác dụng hoạt hoá cathepsin, nồng độ KCOSCARE H tối ưu cho hoạt động của cathepsin nằm trong khoảng 12-18( $\times 10^{-2}$ ) mg%. Hoạt độ enzyme tăng dần và đạt giá trị cực đại ở nồng độ 0,16 mg% (đạt 165,8%). Vượt quá ngưỡng này khả năng hoạt hoá enzyme giảm dần.

Khảo sát tác dụng chống viêm trên động vật thực nghiệm cho thấy: KCOSCARE H thể hiện tác dụng kháng viêm khá rõ, tác dụng theo đường tiêm dưới da có hiệu lực nhanh và mạnh nhất (giá trị ức chế đạt 66,4%), tiếp đến là đường uống (giá trị ức chế đạt 55,1%), đường bôi trên da thể hiện tác dụng yếu (giá trị ức chế đạt 39,8%).

### Tài liệu tham khảo

- [1] Nguyễn Văn Mùi (2002), Xác định hoạt độ enzyme, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- [2] Bohley P., Kirschke H., Langner J., Ansorge S., Wiederanders B. & Hanson H. (1971), Tissue Proteinases (Barett A.J. & Dingle J.T., eds.), pp. 187-219, North-Holland Publishing Co., Amsterdam.
- [3] Bohley P., Kirschke H., Langner J., Miehe M., Riemann S., Salama Z., Schon E., Wiederanders B. & Ansorge S. (1980), Biological Functions of Proteinases (Holzer H. & Tschesche H., eds.), pp. 17-34, Springer Verlag, Berlin.
- [4] Burleigh M.C. (1977), Proteinases in Mammalian Cells and Tissues (Barrett, A.J., Ed.), pp. 285-309, North-Holland, Amsterdam.
- [5] Couvoisier S. and Ducrot R. (1995), Action of chlorpromazine (RP.4560) on the edema-syndrome induced by dextran in rat, Arch Int Pharmacodyn Ther. Jun 1, 102(1-2), pp. 33-54.