

# Nghiên cứu tác dụng cầm máu của cao bẹ móc (*Caryota mitis* Lour., Arecaceae) trên mô hình gây rối loạn quá trình đông máu và rối loạn tiểu cầu

Đào Thị Vui\*, Nguyễn Thuỳ Dương, Nguyễn Thị Thu Hương,  
Nguyễn Thị Thủy, Đoàn Lê Bảo Ngọc, Trần Hồng Linh  
Trường Đại học Dược Hà Nội

## Summary

**Aims:** The purpose of this research was to evaluate the hemostatic effect of *Caryota mitis* collar extracts (ethanol total extract - TE - and ethyl acetate fractional extract - EA) in rodents with blood clotting disorders and platelet disorders.

**Methods:** Hemostatic efficacy of the extracts were investigated in coagulopathy mice induced by heparin/ acenocoumarol, mice with anti-platelet aggregation induced by aspirin and cyclophosphamid-induced thrombocytopenia rats.

**Results:** In acenocoumarol-induced coagulopathy mice, TE 600 mg/ kg and EA 10 mg/ kg significantly shortened the tail bleeding time 54.9 % and 54.3 % respectively. The same doses of the extracts also decreased tail bleeding time of heparin-induced coagulopathy mice with the corresponding reduction of 60.0 % and 54.4 %. In mice with platelet disorder induced by aspirin, TE 600 mg/ kg and EA 10 mg/ kg decreased the tail bleeding time 56.7 % and 54.8 % respectively. In the model of thrombocytopenia induced by cyclophosphamid in rats, TE 600 mg/ kg and EA 10 mg/ kg reduced tail bleeding time by 47.7 % and 51.0 % respectively. The results showed that with investigated doses, the extracts did not modify blood clotting time, aPTT, PT, platelet count of modeled animals.

**Conclusion:** Ethanol total extract - TE - and ethyl acetate fractional extract - EA of collar of *Caryota mitis* Lour. have hemostatic activity on rodents with blood clotting disorders and platelet disorders.

**Keywords:** *Caryota mitis* Lour., bleeding time.

## Đặt vấn đề

Bẹ cây móc là một vị thuốc cầm máu được nhân dân ta sử dụng từ lâu và cho kết quả tốt. Để phát triển dược liệu này thành sản phẩm làm thuốc cầm máu sử dụng rộng rãi trên lâm sàng, chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu bẹ cây móc *Caryota mitis* L. tạo chế phẩm cầm máu. Các công bố trước đã đánh giá tác dụng cầm máu của bẹ cây móc chiết bằng các dung môi khác nhau trên chuột bình thường thu được các kết quả khả quan [2, 3]. Nhằm mở rộng nghiên cứu trên một số đối tượng có rối loạn quá trình cầm máu, chúng tôi tiếp tục đánh giá tác dụng cầm máu trên các mô hình gây rối loạn đông máu

và rối loạn tiểu cầu với 2 loại cao bẹ cây móc có tác dụng tốt nhất là cao toàn phần chiết bằng cồn 80<sup>0</sup> và cao phân đoạn ethylacetat với 2 mục tiêu: (1) - Đánh giá tác dụng của các cao chiết bẹ móc trên các mô hình gây rối loạn quá trình đông máu bằng kháng vitamin K và heparin và (2) - Đánh giá tác dụng của các cao chiết bẹ móc trên mô hình rối loạn tiểu cầu bằng aspirin và cyclophosphamid.

## Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### Đối tượng nghiên cứu

### Nguyên liệu

Bẹ cây móc thu hái tại Huyện Chương Mỹ, Hà Nội vào tháng 11 năm 2018. Mẫu dược liệu được thẩm định tên khoa học là *Caryota mitis* Lour., Arecaceae. Dược liệu sau khi thu hái được rửa sạch, thái nhỏ, sấy khô, xay nhỏ, đóng túi ni lông để bảo quản.

---

Chịu trách nhiệm: Đào Thị Vui  
Email: daothivuidl@yahoo.com  
Ngày nhận: 09/4/2021  
Ngày phản biện: 14/4/2021  
Ngày duyệt bài: 20/5/2021

### **Chế phẩm nghiên cứu**

**Cao toàn phần (TE):** Bột của bẹ cây móc khô được chiết hồi lưu bằng ethanol 80° ở nhiệt độ 80° trong 1,5 giờ, dịch chiết được cất quay chân không thu hồi dung môi và làm khô, thu được cao toàn phần với hiệu suất chiết 12,7%.

**Cao phân đoạn ethyl acetat (EA):** Cao toàn phần bẹ móc được phân tán trong nước nóng rồi chiết với ethyl acetat. Các dịch chiết được cất quay chân không thu hồi dung môi, thu được cao ethyl acetat. Hiệu suất chiết 0,27%.

### **Động vật nghiên cứu**

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, giống đực, khỏe mạnh, cân nặng từ 18 - 20 g, do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột cống trắng *Albino Wistar*, khỏe mạnh, cân nặng từ 140 - 200 g do Học viện Quân y cung cấp. Chuột được nuôi ổn định 5 ngày ở phòng thí nghiệm Bộ môn Dược lực – Trường Đại học Dược Hà Nội bằng thức ăn chuẩn do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp, uống nước tự do.

### **Hóa chất - thuốc thử**

Ethanol 80° đạt tiêu chuẩn phân tích (Việt Nam). *Carbazochrom dihydrat 10 mg (Adrenoxyl - Sanofi Việt Nam)*, số lô SX:17013; Aspirin 100 mg (*Aspegic100mg - Sanofi France*), số lô SX: CM0115; Acenocoumarol 4mg (S.P.M - Việt Nam), số lô SX: 1804005; Heparin natri (*Heparin 5000 IU/ml lọ 5 ml - Rotexmedica - Rotexmedica GmbH Arzneimittelwerk, Đức*). Vitamin K (CPDP DANAPHA - Việt Nam), SDK: VD 18908-13, số lô SX: 020518; Cyclophosphamid (*Endoxan 200 mg – Baxter Oncology GmbH, Đức*), số lô SX: 7D158; Thiopental (*Thiopental Injection BP 1 g - Rotexmedica GmbH Arzneimittelwerk, Đức*), số lô SX: F40912. Bộ hóa chất đông máu URIT của Medizin - techn - Investitionsprojekte GmbH - Đức. Bộ hóa chất huyết học URIT của Medical Electronic Co., Ltd - Trung Quốc. Các hóa chất, dung môi khác đạt tiêu chuẩn phân tích.

### **Trang thiết bị, dụng cụ**

Máy xét nghiệm đông máu bán tự động URIT 610 (Trung Quốc). Máy xét nghiệm huyết học URIT 3000 vet plus (Trung Quốc). Ống nghiệm chống đông bằng natricitrat và một số dụng cụ khác

### **Phương pháp nghiên cứu**

#### **Đánh giá tác dụng cầm máu của bẹ móc**

### **trên mô hình gây rối loạn đông máu<sup>[4, 5]</sup>**

**Trên chuột bị gây rối loạn đông máu bằng kháng vitamin K**

Nguyên tắc: Nhóm thuốc kháng vitamin K (acenocoumarol) ức chế enzym vitamin K epoxid reductase tại gan, cản trở quá trình tái tạo vitamin K dạng khử, ức chế hoạt hoá các tiền yếu tố đông máu II, VII, IX, X do đó có tác dụng chống đông. Thuốc được dùng làm tác nhân gây rối loạn các yếu tố đông máu để đánh giá tác dụng cầm máu của cao bẹ móc. Acenocoumarol tác động lên con đường đông máu ngoại sinh. Vì vậy, trong mô hình này, ngoài thời gian chảy máu và đông máu cần xác định thời gian PT.

Tiến hành: Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô: Lô 1 (lô chứng trắng) và Lô 2 (lô chứng bệnh): Uống nước cất với thể tích 0,1 ml/10 g; Lô 3 (lô chứng dương): Uống vitamin K liều 1 mg/kg; Lô 4 (TE): Uống cao toàn phần bẹ móc liều 600 mg/kg; Lô 5 (EA): Uống cao phân đoạn ethyl acetat liều 10 mg/kg. Trừ lô trắng chỉ được uống nước cất hàng ngày, các lô còn lại được gây rối loạn đông máu bằng acenocoumarol đường uống liều 2 mg/kg trong 8 ngày liên tục. Acenocoumarol được cho uống trước khi uống các mẫu nghiên cứu 2 giờ. Ngày thứ 8 sau khi các lô được uống nước cất, vitamin K hoặc các cao bẹ móc 2 giờ thì tiến hành cắt đuôi chuột để xác định: Thời gian chảy máu, thời gian đông máu và lấy máu để xác định thời gian PT.

**Trên mô hình chuột bị gây rối loạn đông máu bằng heparin**

Nguyên tắc: Heparin tạo phức với antithrombin III, phức này tăng cường tác dụng của antithrombin III, làm mất hiệu lực của thrombin và các yếu tố đông máu (yếu tố II, IX, X, XI, XII) làm kéo dài thời gian đông máu. Dựa vào nguyên tắc này chúng tôi đã sử dụng heparin để gây mô hình rối loạn đông máu dùng cho nghiên cứu tác dụng cầm máu của cao bẹ móc. Heparin tác động lên các yếu tố đông máu II, IX, X, XI, XII là các yếu tố tham gia vào con đường đông máu nội sinh nên để đánh giá tác dụng cầm máu, ngoài hai thông số thời gian chảy máu và thời gian đông máu, cần xác định cả thời gian aPTT.

Tiến hành: Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô: Lô 1 (lô chứng trắng) và Lô 2

(lô chứng bệnh): Uống nước cất với thể tích 0,1 ml/10 g; Lô 3 (TE): Uống cao toàn phần bẹ móc liều 600 mg/kg; Lô 4 (EA): Uống cao phân đoạn ethyl acetat liều 10 mg/kg. Các lô chuột được uống nước cất hoặc mẫu nghiên cứu trong 7 ngày liên tục. Ngày thứ 7, sau khi uống chế phẩm 1 giờ, tiêm dưới da heparin liều 1000 UI/kg, 1 giờ sau cắt đuôi chuột để xác định thời gian chảy máu, thời gian đông máu và lấy máu để xác định aPTT.

#### **Đánh giá tác dụng cầm máu của bẹ móc trên các mô hình gây rối loạn tiểu cầu**

*Trên mô hình gây ức chế kết tập tiểu cầu bằng aspirin*

Nguyên tắc: Aspirin có tác dụng ức chế kết tập tiểu cầu thông qua ngăn cản tổng hợp TXA<sub>2</sub> (tác nhân gây ngưng kết). Do đó thuốc sẽ làm kéo dài thời gian chảy máu, dựa vào đặc điểm này chúng tôi sử dụng aspirin làm tác nhân gây rối loạn cầm máu để đánh giá tác dụng của cao bẹ móc.

Tiến hành: Chuột nhất trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô: Lô 1 (lô chứng trắng) và lô 2 (lô chứng bệnh): Uống nước cất với thể tích 0,1 ml/10 g; Lô 3 (TE): Uống cao toàn phần bẹ móc liều 600 mg/kg; Lô 4 (EA): Uống cao phân đoạn ethyl acetat liều 10 mg/kg.

Trừ lô chứng trắng chỉ được uống nước cất, các lô còn lại được gây ức chế kết tập tiểu cầu bằng uống aspirin liều 26 mg/kg trong 7 ngày liên tục. Khoảng thời gian giữa uống aspirin và uống nước cất/ mẫu thử cách nhau ít nhất là 2 giờ. Ngày thứ 7 sau khi uống nước và cao toàn phần 2 giờ tiến hành cắt đuôi chuột để xác định: Thời gian chảy máu, thời gian đông máu

*Trên mô hình chuột gây giảm tiểu cầu bằng cyclophosphamid*

Nguyên tắc: Giảm tiểu cầu là một trong những nguyên nhân gây xuất huyết trong một số bệnh lý: sốt xuất huyết Dengue, sau truyền hóa chất. Vì vậy, chúng tôi đã sử dụng cyclophosphamid để gây mô hình giảm tiểu cầu dùng cho nghiên cứu tác dụng cầm máu của cao bẹ móc<sup>[1]</sup>.

Tiến hành: Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô: Lô 1 (lô chứng trắng) và Lô 2 (lô chứng bệnh): Uống nước cất với thể tích 0,1 ml/10 g; Lô 3 (TE): Uống cao toàn phần bẹ móc liều 600 mg/kg; Lô 4 (EA): Uống cao phân đoạn ethyl acetat liều 10 mg/kg

Các lô chuột được uống nước cất hoặc mẫu nghiên cứu trong 7 ngày liên tục. Lô chứng bệnh và các lô thử được gây giảm tiểu cầu bằng cách tiêm dưới da dung dịch cyclophosphamid liều 12,5 mg/ kg trong ba ngày đầu. Ngày thứ 7, sau khi cho uống 2 giờ thì tiến hành cắt đuôi chuột để xác định: Thời gian chảy máu và thời gian đông máu và lấy máu để xác định số lượng tiểu cầu.

Cách xác định các thông số nghiên cứu:

+ Xác định thời gian chảy máu: Cắt đuôi chuột, cách chóp đuôi 3 mm, rồi nhúng vào cốc nước 37°C. Xác định thời gian từ khi có dòng máu chảy ra đến khi ngừng chảy

+ Xác định thời gian đông máu: Cắt đuôi chuột, loại bỏ giọt máu đầu tiên, cho máu chảy vào mao quản. Xác định thời gian từ khi máu chảy vào mao quản đến khi hình thành cấu trúc dạng sợi trong mao quản.

Tính phần trăm (%) độ giảm thời gian chảy máu/đông máu của các lô thử so với lô chứng trắng hoặc chứng bệnh theo công thức (1):

$$A \% = \frac{T_0 - T_t}{T_0} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó:

A%: Độ giảm thời gian chảy máu/đông máu của lô thử so với lô chứng trắng/chứng bệnh;

T<sub>0</sub>: Thời gian chảy máu/ đông máu trung bình của lô chứng trắng/chứng bệnh;

T<sub>t</sub>: Thời gian chảy máu/đông máu trung bình của các lô thử;

+ Xác định chỉ số PT, aPTT trên máy xét nghiệm đông máu bán tự động.

#### **Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS 20. Kết quả được biểu diễn dưới dạng M ± SE (M: giá trị trung bình, SE: sai số chuẩn). Với các mẫu liên tục, phân bố chuẩn sử dụng kiểm định ANOVA kèm hậu kiểm LSD hoặc Dunnett's T3 để so sánh sự khác biệt giữa các lô. Với các mẫu liên tục, phân bố không chuẩn, sử dụng kiểm định Kruskal – Wallis để kiểm định sự khác biệt giữa các lô và kiểm định Mann - Whitney để so sánh sự khác biệt giữa lô thử và lô chứng. Sự khác biệt giữa các lô được coi là có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05.

#### **Kết quả nghiên cứu và bàn luận**

**Tác dụng cầm máu của cao bẹ cây móc trên chuột bị gây rối loạn đông máu bằng acenocoumarol**

**Bảng 1. Tác dụng của cao toàn phần bẹ móc trên chuột bị gây rối loạn đông máu bằng acenocoumarol**

Lô	Liều dùng (mg/kg)	Thời gian chảy máu (giây)	Thời gian đông máu (giây)	PT (giây)
Chứng trắng (n = 10)		173,2 ± 22,1	178,4 ± 23,4	7,35 ± 0,3
Chứng bệnh (n = 10)		427,6 ± 79,0*	393,7 ± 45,8*	9,59 ± 0,6*
Vitamin K (n = 10)	1	198,0 ± 8,0 <sup>#</sup>	168,5 ± 20,5 <sup>#</sup>	8,11 ± 0,1 <sup>#</sup>
Cao TE (n = 10)	600	193,0 ± 22,0 <sup>#</sup>	271,2 ± 48,8	8,88 ± 0,3
Cao EA (n = 10)	10	195,6 ± 14,0 <sup>#</sup>	291,2 ± 38,4	9,30 ± 0,4

Ghi chú: \*: p < 0,05 so với lô chứng trắng; #: p < 0,05 so với lô chứng bệnh

Kết quả cho thấy: Lô chứng bệnh uống acenocoumarol liều 2 mg/kg trong 8 ngày liên tục đã gây kéo dài thời gian chảy máu, kéo dài thời gian đông máu và làm tăng PT có ý nghĩa thống kê so với lô chứng trắng. Cao toàn phần bẹ cây móc liều 600 mg/kg và cao phân đoạn ethyl acetat bẹ cây móc liều 10 mg/kg chuột,

làm giảm thời gian chảy máu tương ứng 54,9% và 54,3% và so với lô chứng bệnh (p < 0,05), nhưng không làm thay đổi thời gian đông máu, thời gian PT so với lô chứng bệnh.

**Tác dụng cầm máu của bẹ móc trên chuột gây rối loạn đông máu bằng heparin**

**Bảng 2. Tác dụng của bẹ móc trên chuột bị gây rối loạn đông máu bằng heparin**

Lô	Liều dùng (mg/kg)	Thời gian chảy máu (giây)	Thời gian đông máu (giây)	aPTT (giây)
Chứng trắng (n = 12)		202,7 ± 29,3	181,8 ± 19,0	13,2 ± 1,6
Chứng bệnh (n = 12)		392,4 ± 69,8*	919,4 ± 62,3*	30,4 ± 4,7*
Cao TE (n = 14)	600	157,1 ± 12,3 <sup>#</sup>	1121,6 ± 97,0	36,4 ± 3,4
Cao EA (n = 13)	10	178,8 ± 26,2 <sup>#</sup>	1081,9 ± 70,6	36,4 ± 3,7

Ghi chú: \*: p < 0,05 so với lô chứng trắng; #: p < 0,05 so với lô chứng bệnh

Kết quả cho thấy: Lô chứng bệnh tiêm dưới da heparin liều 1000 IU/kg đã gây kéo dài thời gian chảy máu, thời gian đông máu và làm tăng aPTT có ý nghĩa so với lô chứng trắng. Cao toàn phần bẹ cây móc liều 600 mg/kg và cao phân đoạn ethyl acetat bẹ cây móc liều

10 mg/kg chuột, làm giảm thời gian chảy máu tương ứng 60,0% và 54,4% nhưng không ảnh hưởng đến thời gian đông máu và aPTT so với lô chứng bệnh.

**Tác dụng cầm máu của bẹ móc trên chuột gây ức chế kết tập tiểu cầu bằng aspirin**

**Bảng 3. Tác dụng của cao bẹ móc máu trên chuột gây ức chế kết tập tiểu cầu bằng aspirin**

Lô	Liều dùng (mg/kg)	Thời gian chảy máu (giây)	Thời gian đông máu (giây)
Chứng trắng (n = 10)		282,5 ± 87,4	138,7 ± 11,3
Chứng bệnh (n = 10)		618,7 ± 75,3*	227,5 ± 42,7*
Cao TE (n = 13)	600	267,5 ± 50,6 <sup>#</sup>	223,6 ± 31,7 <sup>#</sup>
Cao EA (n = 13)	10	279,9 ± 55,2 <sup>#</sup>	223,3 ± 59,3 <sup>#</sup>

Ghi chú: \*: p < 0,05 so với lô chứng trắng; #: p < 0,05 so với lô chứng bệnh

Kết quả cho thấy: Lô chứng bệnh uống aspirin liều 26 mg/kg chuột 7 ngày liên tiếp đã gây kéo dài thời gian chảy máu, thời gian đông máu có ý nghĩa so với lô chứng trắng ( $p < 0,05$ ). Cao toàn phần bẹ cây móc liều 600 mg/kg và cao phân đoạn ethyl acetat bẹ cây móc liều

10 mg/kg chuột, làm giảm thời gian chảy máu tương ứng 56,7% và 54,8% so với lô chứng bệnh ( $p < 0,05$ ), nhưng không làm thay đổi thời gian đông máu so với lô chứng bệnh.

**Tác dụng cầm máu của bẹ móc trên chuột gây giảm tiểu cầu bằng cyclophosphamid**

**Bảng 4.** Tác dụng của bẹ móc trên chuột bị giảm tiểu cầu bằng cyclophosphamid

Lô	Liều dùng (mg/kg)	Số lượng tiểu cầu ( $10^9/L$ )	Thời gian chảy máu (giây)	Thời gian đông máu (giây)
Chứng trắng (n = 10)		230,9 ± 14,3	602,5 ± 60,3	581,8 ± 64,6
Chứng bệnh (n = 10)		150,0 ± 9,6*	816,9 ± 37,0*	595,2 ± 28,6
Cao TE (n = 12)	600	158,6 ± 10,6	426,8 ± 49,1 <sup>#</sup>	666,0 ± 59,7
Cao EA (n = 12)	10	153,0 ± 12,0	400,2 ± 83,2 <sup>#</sup>	687,3 ± 46,7

Ghi chú: \*:  $p < 0,05$  so với lô chứng trắng, #:  $p < 0,05$  so với lô chứng bệnh

Kết quả từ bảng 4 cho thấy: Lô chứng bệnh tiêm dưới da cyclophosphamid liều 12,5 mg/kg trong 3 ngày liên tiếp đã gây giảm tiểu cầu và làm kéo dài thời gian chảy máu nhưng không ảnh hưởng đến thời gian đông máu so với lô chứng trắng. Cao toàn phần bẹ cây móc liều 600 mg/kg và cao phân đoạn ethyl acetat bẹ cây móc liều 10 mg/kg chuột, làm giảm thời gian chảy máu tương ứng 47,7% và 51,0% ( $p < 0,05$ ) nhưng không ảnh hưởng đến số lượng tiểu cầu và thời gian đông máu so với lô chứng bệnh ( $p > 0,05$ ).

#### Kết luận

Trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng acenocoumarol liều 2 mg/kg và heparin liều 1000 IU/kg, cao toàn phần bẹ cây móc liều 600 mg/kg và cao phân đoạn ethylacetat bẹ cây móc liều 10 mg/kg có tác dụng rút ngắn thời gian chảy máu nhưng không ảnh hưởng tới thời gian đông máu, PT và aPTT.

Trên mô hình gây rối loạn tiểu cầu bằng aspirin liều 26 mg/kg và cyclophosphamid liều 12,5 mg/kg, cao toàn phần bẹ cây móc liều 600 mg/kg và cao phân đoạn ethylacetat bẹ cây móc liều 10 mg/kg làm giảm thời gian chảy máu nhưng không ảnh hưởng tới thời gian đông máu và số lượng tiểu cầu.

#### Tài liệu tham khảo

1. Phạm Đức Vịnh, Nguyễn Tùng Sơn, Đinh Thị Chi, Nguyễn Quỳnh Chi, Phạm Tuấn Anh, Nguyễn Thủy Dương, Nguyễn Hoàng Anh, Lê Doãn Trí, Nguyễn Duy Tân (2018), "Nghiên cứu tác dụng của cao toàn phần lá đu đủ (*Carica papaya* L.) trên mô hình gây giảm tiểu cầu thực nghiệm bằng cyclophosphamid", *Tạp chí Dược học*, số 8, tr. 42-46.
2. Đào Thị Vui, Nguyễn Thị Hương Giang, Nguyễn Thị Hương (2015), "Nghiên cứu tác dụng cầm máu của cây móc (*Caryota mitis* L., Areaceae) trên thực nghiệm", *Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin thuốc*, số 2/1014, tr. 56-59.
3. Đào Thị Vui, Trần Hồng Linh, Ngô Thanh Hoa, Đỗ Hoàng Anh (2016), "Nghiên cứu tác dụng của các cao chiết bẹ cây móc (*Caryota mitis* L., Areaceae) theo hướng làm thuốc cầm máu", *Tạp chí Nghiên cứu dược và Thông tin thuốc*, số 1/2016, tr. 22-26.
4. Rajasekaran A., Kalaivani M., Ariharasivakumar G. (2010), "Haemostatic effect of fresh juice and methanolic extract of *Eupatorium ayapana* leaves in rat model", *International Journal of Biological & Medical Research*, 1 (3), pp. 85-87.
5. Vogel H. G. (2007), "Drug discovery and evaluation - pharmacological assay", Springer, pp. 438-439.