



ISSN 1859 - 4735

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 4 - TẬP 30
8/2025

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

3B Quang Trung, phường Cửa Nam, thành phố Hà Nội - Việt Nam
TEL: (+84-24) 38247058 FAX: (+84-24) 39348740
Email: tapchiduoclieu@nimm.org.vn; tapchiduoclieu@gmail.com

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU (Bản in và Bản điện tử)

BAN BIÊN TẬP (Nhiệm kỳ 2025-2030)

(Kèm theo Quyết định số 666/QĐ-VDL ngày 24/4/2025 của Viện trưởng Viện Dược liệu)

TỔNG BIÊN TẬP

PGS.TS. Đỗ Thị Hà

I. Tiểu ban Dược liệu - Dược học cổ truyền

- **PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi - Trưởng Ban**

- PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong - Ủy viên
- GS.TS. Nguyễn Minh Đức - Ủy viên
- GS.TS. Trần Công Luận - Ủy viên
- GS.TS. Won Keun Oh - Ủy viên
- PGS.TS. Trần Hùng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu - Ủy viên
- PGS.TS. Phương Thiện Thương - Ủy viên
- PGS.TS. Phan Minh Giang - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Việt Dũng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng - Ủy viên
- TS. Trần Minh Ngọc - Ủy viên
- TS. Nguyễn Văn Tài - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Đình Chi - Ủy viên
- TS. Nguyễn Tuấn Hiệp - Ủy viên.

II. Tiểu ban Dược lý - Dược lâm sàng

- **PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng - Trưởng Ban**

- PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương - Ủy viên
- GS.TS. William R. Folk - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thùy Dương - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Văn Minh - Ủy viên
- TS. Trần Thị Hiền - Ủy viên.

III. Tiểu ban Nông Sinh

- **TS. Nguyễn Văn Khiêm - Trưởng Ban**

- TS. Phan Thúy Hiền - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Văn Tập - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thanh Huyền - Ủy viên
- GS.TS. Trần Thế Bách - Ủy viên.

IV. Tiểu ban Thư ký - Trị sự

- **PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Trưởng Ban**

- TS. Lê Thị Xoan - Thư ký chuyên môn
- CN. Nguyễn Thị Minh Lộc - Thư ký trị sự.

Trang	TỔNG QUAN	Page	REVIEW
227	Cây thuốc có berberin và vấn đề phát triển bền vững nguồn nguyên liệu chiết xuất hợp chất này ở Việt Nam hiện nay - Nguyễn Tập, Nguyễn Thị Vân Anh, Nguyễn Huy Văn, Nguyễn Thị Hà Ly, Nguyễn Ngọc Thanh, Vàng Quốc Tuấn, Phạm Ngọc Khánh, Võ Quang Trung, Đặng Ngọc Phái, Trịnh Thị Quỳnh, Huỳnh Minh Đạo	227	The Medicinal Plants Containing Berberine and the Matter of Sustainable Development of Material Sources for Its Extraction in Vietnam Today - Nguyễn Tập, Nguyễn Thị Vân Anh, Nguyễn Huy Văn, Nguyễn Thị Hà Ly, Nguyễn Ngọc Thanh, Vàng Quốc Tuấn, Phạm Ngọc Khánh, Võ Quang Trung, Đặng Ngọc Phái, Trịnh Thị Quỳnh, Huỳnh Minh Đạo
	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC		SCIENTIFIC RESEARCH
237	Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vị thuốc cát căn sao vàng - Lê Thị Loan, Phan Thị Trang, Nguyễn Thị Phương, Trần Hữu Khanh Tân, Nguyễn Thế Chung, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài	237	Establishment of an In-House Standard for <i>Radix Puerariae thomsonii</i> <i>Præparata</i> (Yellow-Roasted) - Lê Thị Loan, Phan Thị Trang, Nguyễn Thị Phương, Trần Hữu Khanh Tân, Nguyễn Thế Chung, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài
246	Nghiên cứu xây dựng phương pháp định tính và định lượng α -spinasterol 3-O- β -D-glucopyranosid trong dược liệu đẳng sâm Việt Nam - Nguyễn Đình Quân, Nguyễn Thị Phương	246	Development of Qualitative and Quantitative Analysis Methods for α -Spinasterol 3-O- β -D-glucopyranoside in <i>Radix Codonopsis javanicæ</i> - Nguyễn Đình Quân, Nguyễn Thị Phương
254	Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vị thuốc ba kích chích muối - Phan Thị Trang, Lê Thị Loan, Nguyễn Thị Thu Trang, Trần Hữu Khanh Tân, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài	254	Establishment of an In-House Standard for <i>Radix Morindae officinalis</i> <i>Præparata</i> (Salt-Processed) - Phan Thị Trang, Lê Thị Loan, Nguyễn Thị Thu Trang, Trần Hữu Khanh Tân, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Văn Tài
268	Nghiên cứu tác dụng long đờm và giảm ho của cát cánh di thực trên thực nghiệm - Lê Thị Xoa, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Văn Hiệp, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Văn Tài, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Hùng Sơn, Đào Văn Núi	268	Study on the Expectorant and Antitussive Effects of <i>Platycodon grandiflorum</i> Cultivated in Vietnam in Experimental Models - Lê Thị Xoa, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Văn Hiệp, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Văn Tài, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Hùng Sơn, Đào Văn Núi
272	Đánh giá tác dụng hỗ trợ cải thiện thoái hóa khớp trên thực nghiệm của mạn kinh tử - Đỗ Thị Hồng Khanh, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Bùi Thanh Tùng	272	Evaluation of the Effect of <i>Vitex trifolia</i> L. Fruits on Osteoarthritis Improvement in an Experimental Model - Đỗ Thị Hồng Khanh, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Bùi Thanh Tùng
281	Tác dụng hạ acid uric máu của cao chiết phổi hợp hỷ thiêm, ké đầu ngựa và thổ phục linh trên thực nghiệm - Dương Thị Thanh Tâm, Nguyễn Thành Triết	281	Anti-Hyperuricemic Effect of the Extract Containing <i>Siegesbeckia orientalis</i> , <i>Xanthium strumarium</i> , and <i>Smilax glabra</i> - Dương Thị Thanh Tâm, Nguyễn Thành Triết
287	Nghiên cứu bào chế giảm vị đắng cao rau đắng biển bằng hệ phân tán rắn với chất mang eudragit E100 - Nguyễn Thị Lê, Xa Thị Phương Thảo, Lê Thị Kim Vân	287	Masking the Bitter Taste of <i>Bacopa</i> Extract by Solid Dispersion System with Eudragit E100 as Carrier - Nguyễn Thị Lê, Xa Thị Phương Thảo, Lê Thị Kim Vân
296	Ghi nhận bổ sung loài húng đơn cho hệ thực vật Việt Nam có giá trị làm thuốc - Huỳnh Minh Đạo, Nguyễn Hoàng Tuấn, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thanh Tùng, Phạm Thu Hương, Võ Văn Sỹ	296	<i>Coleus monostachyus</i> (P.Beauv.) A.J.Paton - A Record of Medicinal Plant Species for the Flora of Vietnam - Huỳnh Minh Đạo, Nguyễn Hoàng Tuấn, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thanh Tùng, Phạm Thu Hương, Võ Văn Sỹ
301	<i>Curculigo sinensis</i> S. C. Chen, ghi nhận bổ sung một loài cây thuốc cho Việt Nam - Đặng Việt Cường, Nguyễn Văn Hiếu, Tô Minh Tú, Trần Văn Lộc, Đặng Minh Tú, Phạm Ngọc Khánh, Nguyễn Hải Văn, Bùi Văn Thanh, Ngô Đức Phương, Nghiêm Đức Trọng, Hoàng Diệu Linh, Nguyễn Minh Khôi	301	<i>Curculigo sinensis</i> S. C. Chen, a New Record of Medicinal Plant Species for the Flora of Vietnam - Đặng Việt Cường, Nguyễn Văn Hiếu, Tô Minh Tú, Trần Văn Lộc, Đặng Minh Tú, Phạm Ngọc Khánh, Nguyễn Hải Văn, Bùi Văn Thanh, Ngô Đức Phương, Nghiêm Đức Trọng, Hoàng Diệu Linh, Nguyễn Minh Khôi

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG HỖ TRỢ CẢI THIẾN THOÁI HÓA KHỚP TRÊN THỰC NGHIỆM CỦA MẠN KINH TỬ

Đỗ Thị Hồng Khánh¹, Phạm Thị Nguyệt Hằng^{1,2,*}, Bùi Thanh Tùng¹

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội; ²Viện Dược liệu

*Email: nguyethangpt@nimm.org.vn

Nhận bài: 18/7/2025

Chấp nhận đăng: 29/7/2025

Tóm tắt

Mãn kinh là giai đoạn xảy ra nhiều thay đổi về sinh lý và chuyển hóa ở phụ nữ, chủ yếu do suy giảm nồng độ estrogen, kéo theo các vấn đề thường gặp như loãng xương ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống. Mạn kinh tử (*Vitex trifolia* L.) là dược liệu đã được sử dụng lâu đời trong y học cổ truyền để điều trị nhiều bệnh khác nhau và các nghiên cứu gần đây ghi nhận có hoạt tính giống estrogen. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng của cao tiêu chuẩn mạn kinh tử trên mô hình chuột gây thoái hóa khớp gối bằng monosodium iodoacetat (MIA). Chuột cống trắng chủng *Wistar* được uống cao tiêu chuẩn mạn kinh tử với liều 75 và 150 mg/kg liên tục trong 6 tuần. Các chỉ tiêu đánh giá tác dụng điều trị thoái hóa khớp gồm: đường kính khớp gối, thời gian phản ứng với đau, lực gây đau, nồng độ các cytokin gây viêm (IL-1 β , TNF- α) và hình ảnh mô học khớp gối. Kết quả cho thấy cao tiêu chuẩn mạn kinh tử có tác dụng cải thiện các chỉ số viêm và đau khớp, giảm mức độ tổn thương mô học khớp gối trên mô hình chuột bị thoái hóa khớp gối bằng MIA. Những kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng của mạn kinh tử trong hỗ trợ điều trị thoái hóa khớp gối ở phụ nữ sau mãn kinh.

Từ khóa: Mạn kinh tử; *Vitex trifolia* L.; Monosodium iodoacetat; Thoái hóa khớp gối; Chống viêm; Giảm đau.

Summary

Evaluation of the Effects of *Vitex trifolia* L. Fruits on Osteoarthritis Improvement in an Experimental Model

Menopause is marked by significant physiological and metabolic changes in women, primarily due to decreased estrogen levels which lead to problems such as osteoporosis that affect quality of life. *Vitex trifolia* L. (*V. trifolia* L., Mạn kinh tử) have been used in traditional medicine for a variety of health conditions and recent studies on animals, cells, and tissues indicate that it exhibits estrogen-like activity. This study was conducted to evaluate the effects of *V. trifolia* L. in a rat model of knee osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate (MIA) injection. *Wistar* rats were administered *V. trifolia* L. at doses of 75 and 150 mg/kg orally for 6 weeks. Therapeutic effects on osteoarthritis were assessed using the following indicators: knee joint diameter, pain response time, force causing pain, levels of inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α), and histopathological evaluation of the knee joint. The results showed that *V. trifolia* L. improved indicators of inflammation and joint pain and reduced the degree of histological damage to the knee joint. These data suggest the potential application of *V. trifolia* L. in mitigating osteoarthritis in postmenopausal women.

Keywords: *Vitex trifolia* L.; Monosodium iodoacetate; Knee osteoarthritis; Anti-inflammatory; Analgesic.

1. Đặt vấn đề

Thoái hóa khớp (THK) là một bệnh lý mạn tính phổ biến, đặc biệt ở phụ nữ sau mãn kinh, với tỷ lệ khoảng 44%, tăng đáng kể do sự suy giảm nồng độ estrogen [1],[2],[3]. Estrogen đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ sức khỏe khớp bằng cách duy trì sự cân bằng chuyển hóa sụn khớp, giảm viêm và ngăn chặn sự thoái hóa của mô khớp [1],[3]. Khi bước vào giai đoạn mãn kinh, sự thiếu hụt estrogen dẫn đến tăng nguy cơ phát triển THK, đặc biệt ở khớp gối và tay, kèm theo các triệu chứng như đau, viêm, sưng khớp và giảm khả năng vận động, ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng cuộc sống của phụ nữ [1],[2],[3]. Các nghiên cứu cho thấy, liệu pháp thay thế hormone (HRT) có thể giúp giảm triệu chứng và làm chậm tiến triển bệnh, nhưng vẫn tồn tại

những hạn chế về tác dụng phụ và nhu cầu tìm kiếm các lựa chọn thay thế an toàn hơn từ nguồn gốc tự nhiên [2].

Mạn kinh tử (*Vitex trifolia* L.) là một dược liệu được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị các chứng bệnh liên quan đến viêm, đau khớp, cảm lạnh, đau đầu và các vấn đề phụ khoa [4]. Lá và quả của cây này thường được áp dụng trong các bài thuốc dân gian để giảm đau khớp, viêm khớp dạng thấp, chống viêm và hỗ trợ phục hồi vết thương [4],[5]. Các nghiên cứu hóa thực vật gần đây đã ghi nhận mạn kinh tử chứa các hợp chất hoạt tính như flavonoid và terpenoid, có hoạt tính chống viêm, gợi ý tiềm năng trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh lý liên quan đến viêm khớp [5].

Tuy nhiên, các bằng chứng khoa học về tác dụng hỗ trợ cải thiện THK của mạn kinh tử vẫn

còn hạn chế, chủ yếu dựa trên sử dụng truyền thống và các nghiên cứu sơ bộ về hoạt tính chống viêm. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng hỗ trợ cải thiện thoái hóa khớp trên mô hình thực nghiệm của cao tiêu chuẩn mạn kinh tử trên mô hình chuột gây THK bằng monosodium iodoacetat (MIA), với các chỉ số đánh giá bao gồm đường kính khớp, phản ứng đau, nồng độ interleukin 1 β , TNF- α và hình ảnh mô học. Kết quả này sẽ cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng dược liệu này trong hỗ trợ điều trị THK ở phụ nữ sau mãn kinh, góp phần vào các lựa chọn điều trị tự nhiên an toàn và hiệu quả.

2. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Quả già mạn kinh (mạn kinh tử) được thu hái tại Nghệ An (tháng 7 năm 2021), được giám định và lưu mẫu tại Trung tâm Tài nguyên Viện Dược liệu. Dược liệu thu hái được sấy khô ở nhiệt độ dưới 50°C đến khi có độ ẩm dưới 12% và được sử dụng để nghiên cứu chiết xuất cao tiêu chuẩn.

Mẫu cao chiết mạn kinh tử sử dụng trong nghiên cứu là cao tiêu chuẩn được chiết theo quy trình được mô tả trong đề tài "Nghiên cứu bào chế và đánh giá tác dụng cải thiện hội chứng mãn kinh thực nghiệm của cao khô mạn kinh tử (*Fructus viticis trifoliae*)" do Bộ Y tế cấp kinh phí, nhóm nghiên cứu thuộc Khoa Hóa thực vật, Viện Dược liệu điều chế. Quy trình chiết xuất được mô tả tóm tắt như sau: 1 kg dược liệu quả mạn kinh tử (nguyên hạt, không xay) được chiết hồi lưu 2 lần với ethanol 50% theo tỉ lệ dung môi/dược liệu tương ứng lần lượt là 1/8 và 1/6 (kg/L), trong thời gian tương ứng là 3 h và 1,5 h. Dịch chiết được gộp lại và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 60°C, sau đó sấy chân không đến cao khô (độ ẩm < 5%) ở nhiệt độ 60°C, được ký hiệu là VTE. Hiệu suất chiết cao là 14%. Hàm lượng agnusid và casticin trong cao lần lượt không nhỏ hơn 0,7% và 0,2% được định lượng bằng phương pháp HPLC.

2.2. Động vật thí nghiệm

Động vật được sử dụng trong nghiên cứu là chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả 2 giới, khỏe mạnh, trọng lượng trung bình 200 ± 20 g được

cung cấp bởi Học viện Quân Y. Chuột được chăm sóc và nuôi trong phòng thí nghiệm với nhiệt độ duy trì $22 \pm 1^\circ\text{C}$, ăn uống đầy đủ, chu kỳ sáng tối là 12/12 h (chu kỳ sáng từ 7:00 - 19:00). Chuột được nuôi ổn định trong 21 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Để thực hiện nghiên cứu này, chuột bị gây thoái hóa khớp bằng cách tiêm vào khe khớp dung dịch monosodium iodoacetat (MIA, Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) với liều 3 mg/ khớp. Thể tích dung dịch MIA tiêm là 50 μL /khớp. Ngay sau khi gây mô hình viêm khớp bằng tiêm MIA, các lô chuột sẽ được điều trị bằng cao tiêu chuẩn mạn kinh tử hoặc diclofenac hoặc nước cất trong 6 tuần. Sau đó, tiến hành đánh giá tác dụng điều trị thoái hóa khớp thông qua đường kính khớp gối, thời gian phản ứng với đau và lực gây đau, định lượng nồng độ các cytokin và hình ảnh mô bệnh học khớp gối [6],[7]. Thiết kế các lô chuột cụ thể như sau:

- Lô chứng sinh lý: chuột được tiêm nước muối sinh lý và được uống nước cất 1 mL/100 g trong suốt quá trình thí nghiệm.

- Lô chứng bệnh lý: chuột được tiêm MIA 3 mg/khớp và được uống nước cất 1 mL/100 g trong suốt quá trình thí nghiệm.

- Lô chứng dương: chuột được tiêm MIA 3 mg/khớp và uống diclofenac 3 mg/kg (công ty dược phẩm Hậu Giang) trong suốt quá trình thí nghiệm.

- Lô điều trị bằng cao tiêu chuẩn mạn kinh tử (VTE): chuột được tiêm MIA 3 mg/khớp và được điều trị bằng VTE (liều 75 và 150 mg/kg) trong suốt quá trình thí nghiệm. Thiết kế liều thử nghiệm dựa theo liều sử dụng y học cổ truyền [8] và quy đổi từ liều có tác dụng dược lý trong nghiên cứu trước đây của chúng tôi [9],[10].

Đánh giá đường kính khớp gối [11]

Đường kính khớp gối phải được đo bằng thước kẹp Palmer, tính khoảng cách lớn nhất giữa 2 cạnh khớp gối. Đường kính khớp gối được đo bởi 1 nghiên cứu viên ở tất cả các thời điểm để đảm bảo sự thống nhất. Đường kính khớp gối được đo vào các thời điểm: trước nghiên cứu, sau

tiêm MIA và uống thuốc 3 ngày, 5 ngày, 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần. Chỉ số đánh giá là độ tăng đường kính khớp gối ở mỗi thời điểm nghiên cứu so với trước nghiên cứu, đơn vị là milimet (mm).

Đánh giá thời gian phản ứng với đau và lực gây đau bằng máy đo ngưỡng đau [12]

Đo thời gian phản ứng với đau của chuột và lực gây đau đối với chuột (sử dụng máy Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của Ugo Basile, thông qua thời gian và lực gây đau làm chuột nhấc chân khỏi kim Von Frey) tại vị trí gan chân sau, bên phải của chuột trước nghiên cứu, sau tiêm MIA và uống thuốc 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần, so sánh giữa các lô chuột với nhau. Từ đó đánh giá tác dụng giảm đau và khả năng vận động khớp gối phải của chuột.

Đánh giá lực gây đau bằng máy đo ngưỡng đau theo phương pháp Randall Selitto [13]

Đo lực gây đau tại vị trí khớp gối chân sau, bên phải (được tiêm MIA) của chuột ở các lô, sử dụng máy Analgesy meter 7200 của Ugo Basile, theo phương pháp Randall Selitto ở các thời điểm trước nghiên cứu, sau tiêm MIA và uống thuốc 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần và so sánh giữa các lô chuột với nhau.

Định lượng nồng độ các cytokin [14]

Các Interleukin 1β và $TNF-\alpha$ là các cytokin đặc hiệu, tăng cao trong thoái hóa khớp, khi giảm được các chỉ số này nghĩa là làm chậm quá trình

thoái hóa, cải thiện cấu trúc của sụn khớp. Các chỉ số này được định lượng trong huyết thanh của chuột sử dụng kit định lượng IL- 1β và $TNF-\alpha$ (của hãng Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ) ở thời điểm sau 6 tuần tiêm MIA.

Đánh giá mô bệnh học khớp gối

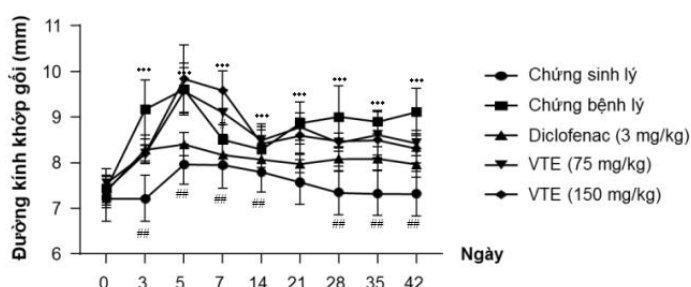
Đánh giá ngẫu nhiên trên 30% số chuột ở các lô sau 6 tuần tiêm MIA và uống thuốc, chuột được gây mê và phẫu thuật tách khớp gối phải ra khỏi cơ thể, bảo quản trong dung dịch formaldehyd 10%, được đánh giá mức độ thoái hóa dựa trên tiêu bản giải phẫu mô bệnh học.

2.4. Phương pháp phân tích số liệu

Dữ liệu nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS 20.0 và Microsoft Excel 2010. Các kết quả được biểu diễn dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. So sánh giữa các nhóm được thực hiện bằng phép kiểm Student's t-test và phép kiểm Avant - Après tùy theo thiết kế thí nghiệm. Sự khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu

Chỉ số đường kính khớp gối nhằm đánh giá mức độ tổn thương và viêm của khớp. Khi khớp bị thoái hóa, đường kính khớp có thể bị tăng lên do phù nề, viêm hoặc tích tụ dịch khớp. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của cao tiêu chuẩn *V. trifolia* L. trên đường kính khớp gối được thể hiện trong Hình 1.

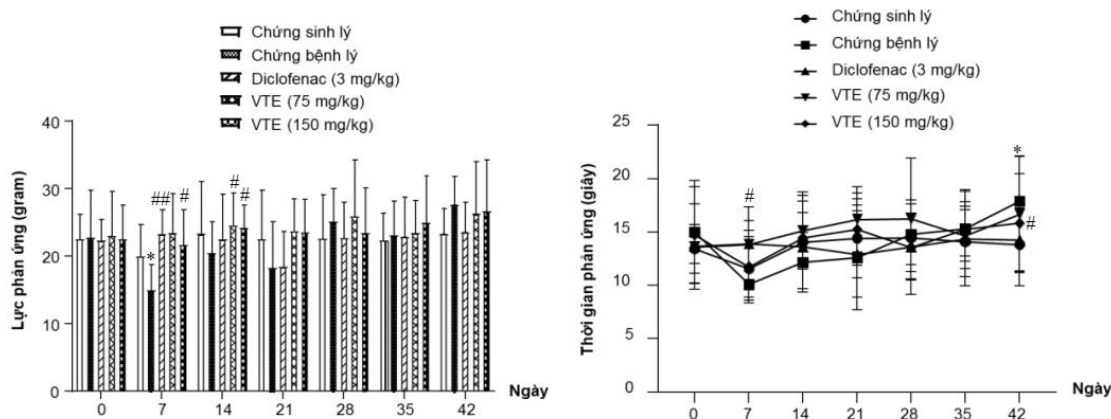


Hình 1. Tác dụng của cao tiêu chuẩn mạn kinh tử (VTE) trên đường kính khớp gối của chuột tiêm MIA

*** $p < 0,001$ so với lô chứng sinh lý; ** $p < 0,05$, # $p < 0,01$, ### $p < 0,001$ so với lô chứng bệnh lý.

Kết quả ở Hình 1 cho thấy, đường kính khớp gối của chuột ở các lô tiêm MIA tăng rõ rệt so với chứng sinh lý ($p < 0,001$). Ở các lô điều trị bằng cao tiêu chuẩn *V. trifolia* L. (75 và 150 mg/kg), mức độ tăng đường kính khớp gối giảm

đáng kể so với chứng bệnh lý, rõ nhất vào ngày thứ 3, tuần thứ 4, 5 và 6 ($p < 0,05$). Lô diclofenac 3 mg/kg giảm mạnh độ tăng đường kính khớp gối so với lô bệnh lý tại tất cả các thời điểm đánh giá ($p < 0,05$ và $p < 0,001$).

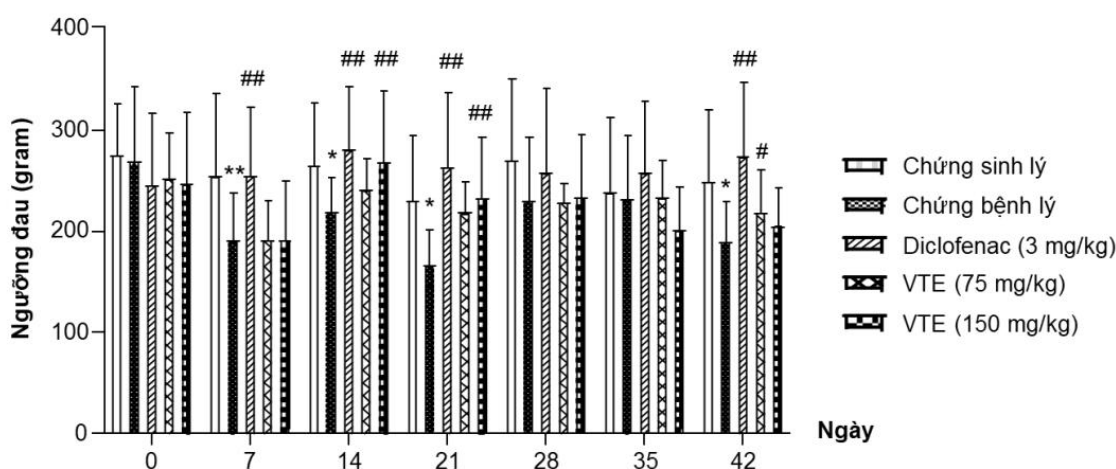


Hình 2. Tác dụng của cao tiêu chuẩn mạn kinh tử trên thời gian và lực gây đau làm chuột nhắt chân khỏi kim Von Frey
* $p < 0,05$ so với lô chứng sinh lý; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ so với lô chứng bệnh lý.

Kết quả ở Hình 2 cho thấy, sau 1 tuần tiêm MIA, ngưỡng chịu đau của lô bệnh lý giảm rõ rệt so với chứng sinh lý ($p < 0,05$). Tuy nhiên, từ tuần thứ 2 đến tuần thứ 5, lực gây đau ở lô này có xu hướng tăng nhẹ ($p > 0,05$), và tăng rõ rệt tại tuần thứ 6. Diclofenac (3 mg/kg) thể hiện hiệu quả giảm đau rõ ngay từ tuần đầu ($p < 0,01$), duy trì đến tuần thứ 6 với sự cải thiện rõ rệt so với bệnh lý. Các lô điều trị cao tiêu chuẩn mạn kinh tử (75 và 150 mg/kg) cũng cải thiện ngưỡng đau rõ rệt sau 1 và 2 tuần ($p < 0,01$). Tuy nhiên, tại thời điểm 6 tuần, hiệu quả giảm đau có xu hướng tăng nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Thời gian phản ứng đau (thời gian rút chân khỏi kim Von Frey) cũng phản ánh rõ hiệu quả giảm đau của mạn kinh

tử với xu hướng tương tự. Thời gian phản ứng đau càng dài càng chứng tỏ hiệu quả giảm đau càng tốt. Kết quả Hình 2 cho thấy, ở lô chứng bệnh lý, thời gian phản ứng đau không thay đổi rõ sau 1-2 tuần tiêm MIA ($p > 0,05$), nhưng tăng có ý nghĩa ở tuần thứ 6 ($p < 0,05$). Lô diclofenac (3 mg/kg) cải thiện rõ thời gian phản ứng đau ngay từ tuần đầu ($p < 0,01$) và duy trì hiệu quả đến tuần thứ 6 ($p < 0,05$). Trong khi đó, mạn kinh tử (75 và 150 mg/kg) cho thấy xu hướng cải thiện nhẹ nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê so với lô bệnh lý ($p > 0,05$).

Kết quả đánh giá tác dụng giảm đau của cao tiêu chuẩn mạn kinh tử trên mô hình sử dụng máy đo ngưỡng đau theo phương pháp của Randall Selitto được thể hiện trong Hình 3.

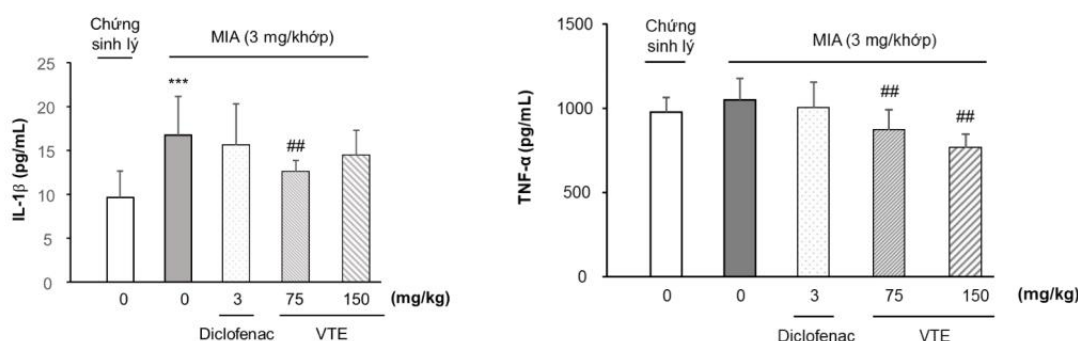


Hình 3. Ảnh hưởng của cao tiêu chuẩn mạn kinh tử trên lực gây đau tại khớp gối
* $p < 0,05$; # $p < 0,01$ so với lô chứng sinh lý; ## $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ so với lô chứng bệnh lý.

Kết quả Hình 3 cho thấy, lực gây đau ở lô chứng sinh lý ổn định qua toàn bộ 6 tuần theo dõi. Tại lô mô hình, lực gây đau tại khớp gối giảm rõ tại tuần 1, 3 và 6 sau tiêm MIA ($p < 0,05$ và $p < 0,01$). Diclofenac (3 mg/kg) duy trì lực gây đau ổn định, cao hơn rõ so với lô chứng bệnh lý ở các tuần 1, 2, 3 và 6 ($p < 0,01$). Lô chuột sử dụng cao tiêu chuẩn mạn kinh tử (75 mg/kg) có xu hướng tăng đều lực gây đau tại các thời điểm và tại 2, 3, 6 tuần sau khi tiến hành nghiên cứu, lực gây đau đã giảm rõ rệt so với lô chứng bệnh lý với $p < 0,01$. Liều 150 mg/kg cũng tăng lực gây đau so

với mô hình tại tuần 3, nhưng hiệu quả vẫn thấp hơn diclofenac.

Trong các nghiên cứu về mô hình chuột gây thoái hóa khớp, việc định lượng các cytokin viêm là một phương pháp quan trọng để đánh giá mức độ viêm tại khớp cũng như hiệu quả của dược liệu. Trong đó IL-1 β và TNF- α là các cytokin có vai trò quan trọng trong thúc đẩy viêm, phá hủy sụn và giải phóng các chất trung gian hóa học. Kết quả định lượng nồng độ các cytokin này sau 6 tuần được thể hiện trong Hình 4 dưới đây.

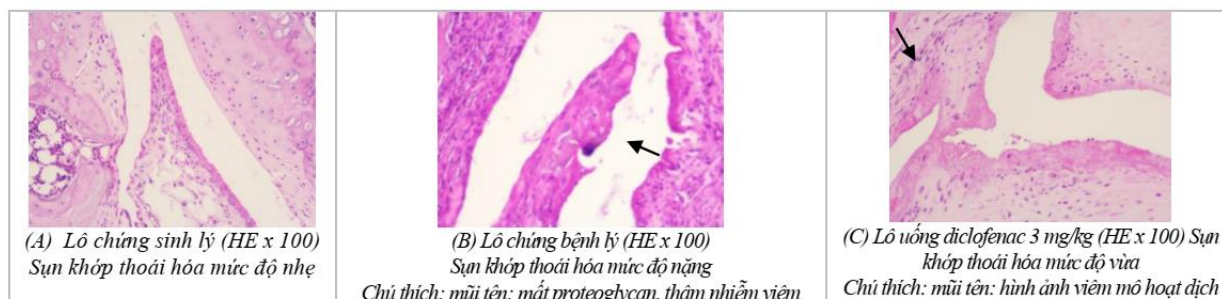


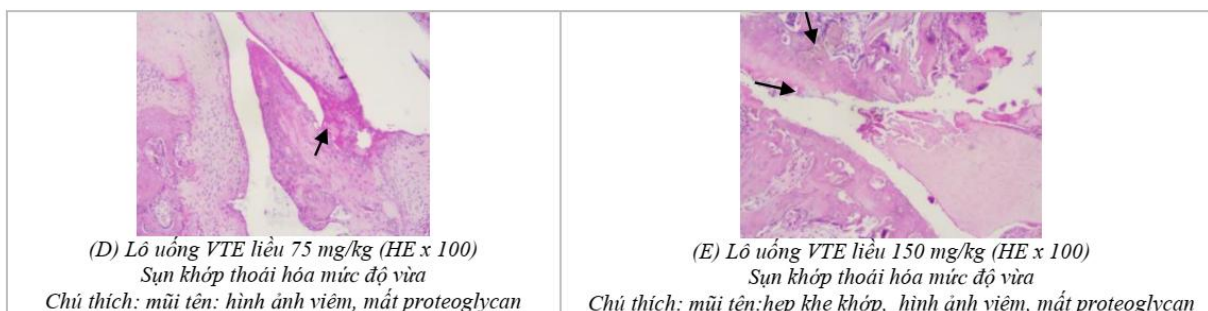
Hình 4. Ảnh hưởng của cao tiêu chuẩn mạn kinh tử trên các chỉ số IL-1 β và TNF- α
 *** $p < 0,001$ so với lô chứng sinh lý; ## $p < 0,01$ so với lô chứng bệnh lý

Sau 6 tuần tiêm MIA, nồng độ IL-1 β ở lô mô hình tăng cao một cách có ý nghĩa so với chứng sinh lý ($p < 0,001$), phản ánh quá trình viêm cấp và mạn tính, trong khi đó giá trị TNF- α có xu hướng tăng so với lô chứng sinh học tuy nhiên không có sự khác biệt. Ở lô uống diclofenac 3mg/kg, nồng độ IL-1 β và TNF- α giảm so với lô chứng bệnh lý nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở lô uống cao tiêu chuẩn mạn kinh tử 75 mg/kg, nồng độ IL-1 β đã giảm so với lô chứng bệnh lý một cách có ý

nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Với giá trị TNF- α , các lô chuột sử dụng diclofenac 3 mg/kg và lô uống cao tiêu chuẩn mạn kinh tử cả hai liều đều làm giảm so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,01$). Không có sự khác biệt khi so sánh hiệu quả giữa hai lô sử dụng cao chiết với nhau và với diclofenac 3 mg/kg ($p > 0,05$).

Đánh giá mô bệnh học khớp gối là một tiêu chí quan trọng trong nghiên cứu mô hình thoái hóa khớp, giúp nhận diện trực tiếp các tổn thương mô học tại sụn và khớp.





Hình 5. Hình ảnh mô bệnh học khớp gối

Kết quả cho thấy, lô chứng sinh lý duy trì cấu trúc khớp bình thường, không mất proteoglycan và hầu như không thâm nhiễm viêm. Lô chứng bệnh lý xuất hiện tổn thương xương dưới sụn và sụn khớp trung bình - nặng, mất proteoglycan, thâm nhiễm viêm rộng, hẹp khe khớp và hình thành gai, chồi xương. Diclofenac cải thiện ở mức trung bình: thoái hóa và mất proteoglycan nhẹ và trung bình, viêm mô hoạt dịch giảm, chỉ còn hẹp khe khớp nhẹ và trung bình. Hai liều cao tiêu chuẩn mãn kinh từ (75 và 150 mg/kg) cũng hạn chế thoái hóa: tổn thương xương dưới sụn và mất proteoglycan ở mức trung bình, viêm và hẹp khe khớp giảm, tuy vẫn còn thoái hóa bề mặt sụn và vài gai xương.

4. Bàn luận

Thoái hóa khớp (THK) là một bệnh lý mạn tính phổ biến, đặc biệt ở phụ nữ trung niên và cao tuổi, nơi lớp sụn bảo vệ đầu xương bị bào mòn dần, dẫn đến cọ xát trực tiếp giữa các xương, gây đau, sưng viêm và hạn chế vận động. Giai đoạn mãn kinh, thường xảy ra từ 45-55 tuổi, đánh dấu sự suy giảm mạnh estrogen, hormon không chỉ quan trọng cho hệ sinh sản mà còn bảo vệ xương và sụn khớp bằng cách duy trì cân bằng tái tạo-thoái hóa, kích thích sản xuất collagen và dịch khớp. Sự thiếu hụt estrogen ở mãn kinh làm tăng tốc độ thoái hóa khớp, giảm mật độ xương, tăng nguy cơ loãng xương và gãy xương ở cột sống, hông, đầu gối. Ngoài ra, mãn kinh còn làm suy giảm khả năng chống viêm, dẫn đến viêm khớp dễ dàng hơn, sưng đau và cứng khớp, đặc biệt buổi sáng hoặc sau nghỉ ngơi. Mất cân bằng hormon còn gây tăng cân, tích tụ mỡ bụng, tăng

áp lực lên khớp chịu lực, làm tình trạng nghiêm trọng hơn. Với tiến bộ y học, mô hình THK trên động vật được cải thiện, cho phép kiểm soát mức độ tổn thương, đánh giá triệu chứng, tiến triển và thử nghiệm điều trị mới [15]. Mô hình gây THK gối trên chuột bằng hoá chất MIA là lựa chọn lý tưởng nhờ chi phí thấp, tiến triển nhanh nhưng không quá đột ngột, mô phỏng giai đoạn trung gian bệnh. THK tự phát ở động vật như chuột lang hoặc hamster diễn ra chậm, khó nghiên cứu, nên mô hình phẫu thuật hoặc hóa chất (MIA, collagenase) được phát triển để bệnh diễn biến nhanh hơn [15]. Phương pháp phẫu thuật đòi kỹ thuật cao, khó đảm bảo vô khuẩn và sinh tồn động vật ở Việt Nam. Do đó, sử dụng tiêm hóa chất MIA tại khớp phù hợp hơn [16]. MIA ức chế glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ở sụn, gián đoạn chuyển hóa năng lượng, gây chết tế bào, tăng sản dịch và xâm nhập viêm lặp lại, dẫn đến mất sụn và tổn thương xương dưới sụn, tương tự THK lâm sàng. Vì vậy việc sử dụng MIA gây mô hình trên thực nghiệm phụ thuộc vào mức độ liều và thời gian; với liều 3 mg/khớp tiêm một lần hiệu quả nhất [17],[18],[19],[20]. Sử dụng chuột *Wistar* ở Việt Nam nhờ sẵn có, giá chấp nhận, dễ thao tác, bệnh khởi phát nhanh và tổn thương kéo dài. Chẩn đoán THK trên động vật khó hơn người do không đánh giá triệu chứng chủ quan. Không có tiêu chuẩn rõ ràng, chủ yếu dựa vào: triệu chứng viêm-đau-hạn chế vận động; cytokin đặc hiệu; hình ảnh (siêu âm, X-quang, hạn chế ở Việt Nam); giải phẫu bệnh (tiêu chuẩn vàng, đánh giá mức độ tổn thương không thực hiện được trên bệnh nhân) [15],[20],[21],[22].

Trong nghiên cứu này, các chỉ số đánh giá đau, viêm, vận động khớp gối, các chỉ số về interleukin và giải phẫu vi thể đầu gối trong 6 tuần được tiến hành theo dõi. Đường kính khớp gối tăng rõ rệt ở lô mô hình so chứng sinh học, đạt đỉnh sau 5 ngày tiêm MIA, kết quả chúng tôi thu được phù hợp với nghiên cứu Calado và cs. (2015), thời gian đạt đỉnh từ 3-7 ngày [23]. Sau khi tiêm MIA phá hủy sụn, giải phóng chất trung gian gây viêm mạnh nhất sau 3-7 ngày, thời gian sau đó có giảm nhưng đường kính khớp gối vẫn cao. Triệu chứng đau trong mô hình gây tổn thương khớp gối bằng MIA được đánh giá bằng phương pháp *Randall-Selitto* [24]; ngưỡng đau trên chuột tại các lô sử dụng diclofenac, cao chiết tiêu chuẩn *Vitex trifolia* L. đã giảm rõ rệt, mạnh nhất tại thời điểm tuần 1-2, do quá trình viêm và sưng, nhạy cảm với các kích thích cơ học, tương tự với nghiên cứu của tác giả Neugebauer và cs. [22]. Với mô hình gây thoái hóa khớp bằng MIA, triệu chứng gây đau và viêm được biểu hiện rõ, dễ dàng đánh giá được tác dụng và hiệu quả của thuốc thử trên các triệu chứng của bệnh. Về hạn chế vận động, sau khi xuất hiện biểu hiện viêm, đau, sẽ dẫn tới tổn thương sụn, trong các nghiên cứu trên thế giới, các nhà khoa học sử dụng máy phân tích dáng đi [25]; tuy nhiên ở Việt Nam, chúng tôi tiến hành sử dụng máy rê kim (Von Frey) và máy Analgesy meter 7200 để đánh giá. Trong mô hình đánh giá ngưỡng đau sử dụng phương pháp *Randall-Selitto*, lực và thời gian gây đau giảm đáng kể sau 1 tuần do tình trạng viêm làm tăng nhạy cảm tại khớp. Các chỉ số này bắt đầu tăng dần từ tuần thứ 3 và đạt mức có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng vào tuần thứ 5-6, phản ánh tổn thương sụn nghiêm trọng dẫn đến hạn chế vận động. Kết quả này khác biệt so với một số nghiên cứu khác trên thế giới, trong đó các chỉ số giảm liên tục trong suốt 10 tuần, có thể do sử dụng liều MIA thấp hơn (1-2 mg so với 3 mg trong nghiên cứu này), dẫn đến mức độ tổn thương nhẹ hơn [14],[15],[16],[17],[19]. Với các chỉ số cytokin, IL-1 β và TNF- α là các yếu tố nổi bật trong quá trình phá hủy sụn khớp, thông qua việc thúc đẩy tổng hợp các proteinase phân hủy

và các cytokin tiền viêm khác như IL-17, IL-18 [26],[27]. Do đó, nghiên cứu đã chọn đánh giá nồng độ IL-1 β và TNF- α , tương tự như nhiều nghiên cứu khác [20],[35]. Ngoài quả, lá *V. trifolia* cũng cho thấy hoạt tính kháng viêm mạnh: cao chiết siêu âm trong dicloromethan và cao chiết ngâm ethanol đều ức chế đáng kể TNF- α và IL-1 β trên đại thực bào U937 được hoạt hóa bằng LPS [34]. Kết quả cho thấy, trong mô hình thực nghiệm, các cytokin này tăng đáng kể so với nhóm chứng (với nồng độ ở nhóm chứng nằm trong giới hạn bình thường [35], chứng tỏ hoá chất MIA đã mô phỏng hiệu quả bệnh cảnh lâm sàng của thoái hóa khớp, từ đó tạo điều kiện thuận lợi để đánh giá cơ chế tác dụng của các thuốc điều trị. Về tổn thương giải phẫu bệnh sụn khớp trên vi thể, thoái hóa khớp dựa trên giải phẫu bệnh đã được mô tả sớm từ năm 1999 bởi O'Connell, với các đặc trưng điển hình bao gồm: mất nhân hoặc hoại tử tế bào sụn, mất ranh giới giữa sụn và xương dưới sụn; lớp sụn mỏng đi kèm nứt vỡ và phân mảnh; hình thành nang dưới sụn chứa dịch; phản ứng viêm không đáng kể, mặc dù có thể có viêm màng hoạt dịch; và tình trạng tương tự viêm dưới sụn cấp tính vô khuẩn [28]. Kết quả nghiên cứu cho thấy sự cải thiện khả năng vận động trên máy rê kim. Cụ thể, tại tuần 1 và 2 sau khi tiêm MIA, diclofenac và mạn kinh từ ở cả hai liều lượng đều làm tăng thời gian và lực gây đau so với lô mô hình, phản ánh tác dụng giảm nhạy cảm quá mức nhờ cơ chế chống viêm và giảm đau. Sang tuần 5 và 6, diclofenac làm giảm rõ rệt các chỉ số này, trong khi mạn kinh từ thể hiện tác dụng rõ nét nhất ở tuần 6, góp phần giảm hạn chế vận động do tổn thương sụn khớp. Các nghiên cứu hóa thực vật gần đây đã xác định rằng quả của mạn kinh từ chứa các hợp chất hoạt tính như terpenoid, flavonoid và polyphenol, với thành phần tương đồng các loài khác trong chi *Vitex*, chẳng hạn *V. agnus-castus* và *V. rotundifolia*, vốn được ghi nhận có hoạt tính estrogen [29]. Cụ thể, dịch chiết từ *V. agnus-castus* đã chứng minh khả năng kích thích phiên mã các gen đáp ứng estrogen trong các nghiên cứu *in vitro* [30],[31], đồng thời làm tăng trọng

lượng tử cung, nồng độ progesteron và estrogen trong các mô hình *in vivo* [32], cũng như mang lại lợi ích lâm sàng cho phụ nữ mãn kinh [33]. Tương tự, *V. rotundifolia* thúc đẩy sự tăng sinh tế bào MCF-7 và điều hòa biểu hiện các gen phụ thuộc estrogen; hơn nữa, agnusid - một iridoid glycosid có trong các loài *Vitex* - cũng thể hiện hoạt tính estrogen thông qua kích thích tăng sinh và tăng biểu hiện mRNA của các yếu tố như PR và pS2 trong dòng tế bào MCF-7 [36]. Bên cạnh các kết quả trên, agnusid đã được chứng minh ức chế trực tiếp viêm NLRP3-caspase-1 và IL-1 β , hạn chế xơ hoá màng hoạt dịch và bảo tồn cấu trúc sụn trong mô hình THK gây ra bởi MIA; trong khi đó, casticin làm giảm stress oxy hoá, ức chế NF- κ B, làm giảm biểu hiện MMP-13 và các cytokin tiền viêm, qua đó ngăn chặn thoái biến chất nền sụn [36]. Định lượng đồng thời cả hai hợp chất - đại diện cho hai nhóm cấu trúc khác nhau - giúp bảo đảm phổ tác dụng đa mục tiêu (kháng viêm, chống oxy hoá, chống phân hủy sụn), đồng thời tạo mối tương quan trực tiếp giữa hàm lượng marker và hiệu lực sinh học của cao. Những bằng chứng này góp phần giải thích tác dụng cải thiện THK của cao tiêu chuẩn của mạn kinh tử trên mô hình thực nghiệm, cơ chế chính có thể liên quan đến việc tăng nồng độ estrogen,

vốn đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ sụn khớp bằng cách ức chế hoạt động của metalloproteinase (MMPs) và thúc đẩy tổng hợp proteoglycan cùng collagen; duy trì mật độ xương thông qua ức chế hoạt động của tế bào hủy xương (osteoclast); đồng thời chống viêm bằng cách điều hòa các yếu tố tiền viêm như IL-1 và TNF- α . Tuy nhiên, cần tiếp tục mở rộng nghiên cứu trên các cytokin gây viêm khác như PGE-2, IL-6, IL-10 để khẳng định thêm tác dụng chống viêm khớp của mạn kinh tử.

5. Kết luận

Từ những kết quả trên có thể kết luận như sau: Cao tiêu chuẩn mạn kinh tử (liều 150 và 300 mg/kg/ngày trong 6 tuần) có tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối trên chuột cống thể hiện qua tác dụng giảm độ sưng khớp gối, giảm các chỉ số IL-1 β và TNF- α là các chỉ số đặc hiệu trong thoái hóa khớp và cải thiện cấu trúc sụn khớp.

Lời cảm ơn: Kết quả thu được trong nghiên cứu này một phần được hỗ trợ bởi đề tài cấp Bộ Y tế (Quyết định số 1600/QĐ-BYT ban hành ngày 04 tháng 4 năm 2020). Nhóm nghiên cứu xin trân trọng cảm ơn TS. Nguyễn Văn Tài cùng các cán bộ Khoa Hóa Thực vật, Viện Dược liệu, đã hỗ trợ chuẩn bị cao chiết phục vụ cho nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo

1. Roman-Blas J. A., Castañeda S., Largo R., Herrero-Beaumont G. (2009), Osteoarthritis associated with estrogen deficiency. *Arthritis Research & Therapy*, 11(5), 241.
2. Yousif M., Wong J., Wong E., Al-Khazraji B. K., Shoemaker J. K. (2022), Roles of hormone replacement therapy and menopause on osteoarthritis and cardiovascular disease outcomes: a narrative review. *Frontiers in Rehabilitation Sciences*, 3, 825147.
3. Li Y., Chen L., Li B., Tian Y., Shen L., Wu K., Yan W., Li N., Xu J., Zhang Y., Sun X., Wang B. (2023), Low back pain and osteoarthritis pain: a perspective of estrogen. *Bone Research*, 11(1), 42.
4. Kamal N., Mio Asni N. S., Rozlan I. N. A., Mohd Azmi M. A. H., Mazlan N. W., Mediani A., Baharum S. N., Latip J., Assaw S., Edrada-Ebel R. A. (2022), Traditional medicinal uses, phytochemistry, biological properties, and health applications of *Vitex* sp. *Plants*, 11(15), 1944.
5. Wee H. N., Neo S. Y., Singh D., Yew H. C., Qiu Z. Y., Tsai X. R. C., How S. Y., Yip K. Y. C., Tan C. H., Koh H. L. (2020), Effects of *Vitex trifolia* L. leaf extracts and phytoconstituents on cytokine production in human U937 macrophages. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 91.
6. Kim J. K., Park S. W., Kang Y. H., Lee Y. H., Ha H., Jung W. K., Seo Y. J., Park S. K., Choi I. H. (2012), Effects of GCSB-5, a herbal formulation, on monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012:730907.
7. Al-Saffar F. J., Ganabadi S., Yaakub H., Fakurazi S. (2009), Collagenase and sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis model in Sprague Dawley rats. *Asian Journal of Scientific Research*, 2(4), 167-179.
8. Bộ Y tế (2012), Hướng dẫn về thử thuốc trên lâm sàng, ban hành kèm theo Thông tư số 03/2012/TT-BYT ngày 16 tháng 02 năm 2012 của Bộ trưởng Bộ Y tế.
9. Do T. H. K., Pham T. N. H., Le T. X., Nguyen T. P., Nguyen V. H., Nguyen V. T., Bui T. T. (2023), Effects of *n*-butanol

- Vitex trifolia* extract on cognitive function deficit in ovariectomized mice. *Tạp chí Dược liệu*, 28(4), 234-240.
10. Do T. H. K., Bui T. T., Pham T. N. H., William R. F. (2024), Acute oral toxicity and anti-inflammatory effect of the standardized extract from *Vitex trifolia* L. fruits, *Journal of Medicinal Materials*, 29(6), 371-377.
 11. Calado G. P., Lopes A. J. O., Costa L. M. J., Lima F. C. A., Silva L. A., Pereira W. S., do Amaral F. M. M., Garcia J. B. S., de Cartágenes M. S. S., Nascimento F. R. F. (2015), *Chenopodium ambrosioside* L. reduces synovial inflammation and pain in experimental osteoarthritis. *Plos One*, 10(11), e0141886.
 12. Neugebauer V., Han J. S., Adwanikar H., Fu Y., Ji G. (2007), Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. *Molecular Pain*, 3, 8.
 13. Vogel H. G. (2008), Analgesic, anti-inflammatory, and anti-pyretic activity. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. 3rd edition, Springer, 983-1116.
 14. Yassin N. Z., El-Shenawy S. M., Abdel-Rahman R. F., Yakoot M., Hassan M., Helmy S. (2015), Effect of a topical copper indomethacin gel on inflammatory parameters in a rat model of osteoarthritis. *Drug Design, Development and Therapy*, 12, 9, 1491-1498.
 15. Teeple E., Jay G. D., Elsaid K. A., Fleming B. C. (2013), Animal models of osteoarthritis: challenges of model selection and analysis. *The AAPS Journal*, 15(2), 438-446.
 16. Al-Saffar F. J., Ganabadi S., Yaakub H., Fakurazi S. (2009), Collagenase- and sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis model in Sprague Dawley rats. *Asian Journal of Scientific Research*, 2(4), 167-179.
 17. Kim W. K., Chung H. J., Pyee Y., Choi T. J., Park H. J., Hong J. Y., Shin J. S., Lee J. H., Ha I. H., Lee S. K. (2016), Effects of intra-articular SHINBARO treatment on monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. *Chinese Medicine*, 11, 17.
 18. Pomonis J. D., Boulet J. M., Gottshall S. L., Phillips S., Sellers R., Bunton T., Walker K. (2005), Development and pharmacological characterization of a rat model of osteoarthritis pain. *Pain*, 114, 339-346.
 19. Kobayashi K., Imaizumi R., Sumichika H., Tanaka H., Goda M., Fukunari A., Komatsu H. (2003), Sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis and associated pain model in rats. *Journal of Veterinary Medical Science*, 65, 1195-1199.
 20. Kraus V. B., Burnett B., Coindreau J., Cottrell S., Eyre D., Gendreau M., Gardiner J., Garner P., Hardin J., Henrotin Y., Heinegård D., Ko A., Lohmander L. S., Matthews G., Menetski J., Moskowitz R., Persiani S., Poole A. R., Rousseau J. C., Todman M.; OARSI FDA Osteoarthritis Biomarkers Working Group (2011), Application of biomarkers in the development of drugs intended for the treatment of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 19(5), 515-542.
 21. Neugebauer V., Han J. S., Adwanikar H., Fu Y., Ji G. (2007), Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. *Molecular Pain*, 3(8). doi: 10.1186/1744-8069-3-8.
 22. Do T. D. (2017), Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý. *Nhà xuất bản Y học*, 335-526.
 23. Boettger M. K., Leuchtweis J., Schaible H. G., Schmidt M. (2011), Video radiographic analysis of the range of motion in unilateral experimental knee joint arthritis in rats. *Arthritis Research & Therapy*, 13(3), R79.
 24. Sakao K., Takahashi K. A., Arai Y., Saito M., Honjo K., Hiraoka N., Asada H., Shin-Ya M., Imanishi J., Mazda O., Kubo T. (2009), Osteoblasts derived from osteophytes produce interleukin-6, interleukin-8, and matrix metalloproteinase-13 in osteoarthritis. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 27, 412-423.
 25. Rannou F. (2018). Pathophysiology of osteoarthritis. *Atlas of osteoarthritis*, 3rd edition. Springer Healthcare Ltd, 34-49.
 26. O'Connell J. X., Nielsen G. P., Rosenberg A. E. (1999), Subchondral acute inflammation in severe arthritis: a sterile osteomyelitis? *The American Journal of Surgical Pathology*, 23(2), 192-197.
 27. Djimabi K., Li B., Chen X. H., Su P. J., Liu X., Wang R. Y., Zhang Z. X. (2021), Chemical constituents from the fruits of *Vitex trifolia* L. (Verbenaceae) and their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 97, 104305.
 28. Liu J., Burdette J. E., Xu H., Gu C., Van B. R. B., Bhat K. P., Bolton J. L. (2001), Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2472-2479.
 29. Liu J., Burdette J. E., Sun Y., Deng S., Schlecht S. M., Zheng W., Farnsworth N. R. (2004), Isolation of linoleic acid as an estrogenic compound from the fruits of *Vitex agnus-castus* L. (chaste-berry). *Phytomedicine*, 11(1), 18-23.
 30. Ibrahim N. A., Shalaby A. S., Farag R. S., Elbaroty G. S., Nofal S. M., Hassan E. M. (2008), Gynecological efficacy and chemical investigation of *Vitex agnus-castus* L. fruits growing in Egypt. *Natural Product Research*, 22(6), 537-546.
 31. Niroumand M. C., Heydarpour F., Farzaei M. H. (2018), Pharmacological and therapeutic effects of *Vitex agnus-castus* L.: A review. *Pharmacognosy Reviews*, 12(23), 103-114.
 32. Hu Y., Hou T. T., Zhang Q. Y., Xin H. L., Zheng H. C., Qin L. P., Rahman K. (2007), Evaluation of the estrogenic activity of the constituents in the fruits of *Vitex rohindifolia* L. for the potential treatment of premenstrual syndrome. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(9), 1307-1312.
 33. Yassin N. Z., El-Shenawy S. M., Abdel-Rahman R. F., Yakoot M., Hassan M., Helmy S. (2015), Effect of a topical copper indomethacin gel on inflammatory parameters in a rat model of osteoarthritis. *Drug Design, Development and Therapy*, 12, 9, 1491-1498.
 34. Pham H. T., Nguyen T. T. N., Phan T. T. H., Nguyen M. D., Ngo P. A., Le T. K. D., Nguyen T. H. H., Tran T. T. H., Do V. D. (2020), *In vitro* anti-inflammatory and anticancer activities of *Vernonia amygdalina* leaf extracts. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 275.
 35. Hu Y., Hou T. T., Zhang Q. Y., Xin H. L., Zheng H. C., Rahman K., Qin L. P. (2007), Estrogen-like activity of volatile components from *Vitex rotundifolia* L., *Indian Journal of Medical Research*, 126(1), 68-72.
 36. Zhang L., Li X., Zhang H., Huang Z., Zhang N., Zhang L., Xing R., Wang P. (2021), Agnuside alleviates synovitis and fibrosis in knee osteoarthritis through the inhibition of HIF-1 α and NLRP3 inflammasome. *Mediators of Inflammation*, 2021, 5534614.