

chiết xuất và điều chế cao khô có sử dụng nhiệt độ tuy nhiên không làm ảnh hưởng đến hàm lượng acid ferulic trong cao. Phương pháp phun sấy tầng sôi thể hiện sự ưu việt hơn so với phương pháp điều chế cao khô bằng tủ sấy tĩnh như quy trình sử dụng nhiệt độ không quá cao, sự lan tỏa nhiệt đồng đều giúp cao khô tạo thành trong thời gian ngắn với độ ẩm thấp, hiệu suất cao; cao khô thu được có độ trơn chảy và khả năng chịu nén tốt, phân bố kích thước hạt phù hợp để dập viên hoặc đóng nang.

5. Kết luận

Avicel PH102 được chọn để điều chế cao khô ĐHTV với tỷ lệ cao-tá được 2:1,5; phương pháp

sấy tầng sôi cho thấy ưu điểm rõ rệt hơn phương pháp sấy tĩnh. Quy trình định lượng acid ferulic trong cao khô ĐHTV bằng HPLC được thẩm định và đạt tính tương thích hệ thống, tính tuyến tính, độ đặc hiệu, độ đúng, độ lặp lại, độ chính xác trung gian theo tiêu chuẩn ICH. Cao khô ĐHTV được đánh giá các chỉ tiêu chất lượng như tính chất, độ ẩm, định tính, định lượng, phân bố kích thước hạt, tỷ số Hausner, chỉ số Carr; kết quả phù hợp sử dụng cho bào chế dạng cốm, viên nang hoặc viên nén.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi trường Đại học Lạc Hồng thông qua đề tài cơ sở mã số LHU-RF-MP-22-07-05.

Tài liệu tham khảo

1. Ji H. R., Park K. S., Woo H. L., Lee M. J., Yoon J. G., Lee H. J., Hwang D. S., Lee C. H., Jang J. B., & Lee, J. M. (2020), Herbal medicine (Taohong Siwu Tang) for the treatment of primary dysmenorrhea: a systematic review and meta-analysis, *Explore*, 16 (5), 297-303.
2. Wu C. J., Chen J. T., Yen T. L., Jayakumar T., Chou D. S., Hsiao G., Sheu J. R. (2010), Neuroprotection by the traditional Chinese medicine, Tao-Hong-Si-Wu-Tang, against middle cerebral artery occlusion-induced cerebral ischemia in rats, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
3. Li S. S., Chen Z. C., & PE C. Z. (2013), Effect of tao-hong-si-wu-tang, a traditional Chinese herbal medicine formula, on physical fatigue in mice, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10 (1), 60-65.
4. Bộ Y tế (2017), Dược điển Việt Nam V tập 2, NXB Y học Hà Nội. 1379.
5. Xi S., Shi M., Jiang X., Minuk G. Y., Cheng Y., Peng Y., Gong Y., Xu Y., Wang X., Yang J., Yue L., Wang Y. (2016). The effects of Tao-Hong-Si-Wu on hepatic necroinflammatory activity and fibrosis in a murine model of chronic liver disease, *Journal of ethnopharmacology*, 180, 28-36.
6. ICH (2005), *Validation of analytical procedures: Text and methodology. Q2R1*.
7. The United States Pharmacopeial Convention, Inc, Rockville, MD (2021), *USP44-NF39, United State, Pharmacopoeia 44 - National Formulary 39*.

Tạp chí Dược liệu, tập 29, số 1/2024 (Trang 41 - 47)

TÁC DỤNG KHÁNG VIÊM CỦA CAO CHIẾT CỎN TỪ THÂN RỄ LOÀI THIÊN NIÊN KIẾN

Nguyễn Thị Thu Hương*, Nguyễn Thị Ngọc Yến, Trần Thị Được

Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

*Email: huongsam@hotmail.com

(Nhận bài ngày 18 tháng 8 năm 2023)

Tóm tắt

Homalomena cochinchinensis Engl. (thiên niên kiện Nam Bộ) là loài thiên niên kiện hiếm ở Việt Nam và chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như tác dụng dược lý. Mục tiêu của nghiên cứu này là chứng minh tác dụng kháng viêm của cao chiết ethanol 45% từ thân rễ *H. cochinchinensis* trên thực nghiệm *in vitro* sử dụng dòng đại thực bào RAW 264.7 và trên thực nghiệm gây phù chân chuột bởi carrageenan. Kết quả cho thấy cao chiết *H. cochinchinensis* ở đây nồng độ từ 12,5 µg/mL đến 100 µg/mL thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxid trên tế bào được cảm ứng bởi lipopolysaccharid theo cách phụ thuộc vào nồng độ với IC₅₀ là 55,34 µg/mL. Cao chiết *H. cochinchinensis* liều uống 680 mg/kg (tương đương 2,5 g dược liệu/kg) có tác dụng giảm viêm chân chuột trên thực nghiệm gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan tương tự thuốc đối chiếu celecoxib (25 mg/kg). Kết quả về tác dụng kháng viêm trên thực nghiệm của thân rễ *H. cochinchinensis* sẽ là tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng tiếp theo.

Từ khóa: *Homalomena cochinchinensis* Engl. (thiên niên kiện Nam Bộ), Tác dụng kháng viêm, Dòng đại thực bào RAW 264.7, Thực nghiệm carrageenan.

Summary

Anti-Inflammatory Effects of Ethanol Extract from *Homalomena cochinchinensis* Rhizome

Homalomena cochinchinensis Engl. is a rare *Homalomena* species in Vietnam and up to now, there are very few studies on its phytochemistry as well as bioactivities of this plant. In the present study, the anti-inflammatory effect of 45% ethanol extract from *H. cochinchinensis* rhizome was investigated by using lipopolysaccharide (LPS)-induced nitric oxide (NO) production in macrophage cell line RAW 264.7 and a carrageenan-induced paw edema test in mice. The results revealed that *H. cochinchinensis* extract at concentrations of 12.5 µg/mL up to 100 µg/mL suppressed LPS-induced nitric oxide production in RAW 264.7 cells in a concentration-dependent manner with IC₅₀ value of 55.34 µg/mL. Furthermore, the extract at an oral dose of 680 mg/kg (equivalent to 2.5 g/kg of raw materials) attenuated mouse paw inflammation after carrageenan injection as the same as a reference drug, celecoxib (25 mg/kg). The results of the anti-inflammatory effect of *H. cochinchinensis* rhizome could be the premise basic for further applied research.

Keywords: *Homalomena cochinchinensis* Engl., Anti-inflammatory effect, Macrophage cell line RAW 264.7, Carrageenan-induced paw edema test.

1. Đặt vấn đề

Mục tiêu điều trị bệnh xương khớp chủ yếu là giảm sưng viêm và kiểm soát cơn đau. Các thuốc kháng viêm như nhóm NSAID (non-steroid anti-inflammatory drugs) và corticosteroid thường gây nhiều tác dụng phụ (loét dạ dày, suy thận) khi dùng dài ngày. Bởi vậy, xu hướng dùng các dược liệu trong hỗ trợ điều trị đang được quan tâm nhờ ưu điểm an toàn, ít tác dụng không mong muốn và hiệu quả đã được minh chứng qua kinh nghiệm dân gian hoặc tri thức y học bản địa.

Thân rễ của một số loài thiên niên kiện [loài phổ biến *Homalomena occulta* (Lour.) Schott.] đã được sử dụng rộng rãi trong các bài thuốc để làm mạnh gân-xương, chống viêm, giảm đau trong điều trị viêm khớp, thoái hóa xương khớp ở người cao tuổi [1]. *Homalomena cochinchinensis* Engl. & K. Krause (thiên niên kiện Nam Bộ, tên gọi khác: *Homalomena tonkinensis* Engl.) là loài thiên niên kiện hiếm ở Việt Nam, chỉ được phát hiện ở Nam bộ (Vườn Quốc gia Bù Gia Mập, tỉnh Bình Phước; Khu bảo tồn thiên nhiên Vĩnh Cửu, tỉnh Đồng Nai; tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu) [2],[3]. Cho đến nay, tại Việt Nam vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về tác dụng dược lý của loài cây này. Phân tích thành phần hóa học tinh dầu từ thân rễ *H. cochinchinensis* đã xác định sự hiện diện của các sesquiterpen có hoạt tính kháng khuẩn [4]. Các sesquiterpen từ thân rễ *H. occulta* được chứng minh có tác động kháng viêm theo cơ chế ức chế biểu hiện cyclooxygenase (COX)-2 (tương tự các NSAID) và ức chế sự sản sinh nitric oxid (NO), prostaglandin (PG)-E2 gây bởi lipopolysaccharid (LPS) trên dòng đại thực bào RAW 264.7 [5]. Gần đây, Linh Thụy Khanh Nguyen và cs. (2023) đã xác định tác dụng kháng viêm *in vitro* (ức chế sản sinh NO) của tinh dầu [6] và cao chiết *n*-hexan [7] từ thân rễ *H. cochinchinensis* trên tế bào RAW 264.7 bị kích thích bởi LPS. Tuy nhiên chưa có các nghiên cứu đánh giá tác dụng kháng viêm trên động vật. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá tác dụng kháng viêm của cao chiết ethanol 45% từ thân rễ *H. cochinchinensis* trên thực nghiệm *in vitro* sử dụng dòng đại thực bào RAW 264.7 và trên thực nghiệm gây phù chân chuột gây bởi carrageenan nhằm cung cấp minh chứng khoa học cho các nghiên cứu ứng dụng tiếp theo.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Thân rễ *H. cochinchinensis* được thu mẫu tại Bà Rịa - Vũng Tàu vào tháng 02/2023, và được Phòng Tài nguyên và Phát triển Dược liệu -

Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh (Viện Dược liệu) định danh và lưu mẫu (Code: ĐD 05/2023). Thân rễ sau thu hái được rửa sạch, xắt lát, phơi khô ở điều kiện thường, đạt độ ẩm dược liệu $\leq 13,0\%$ (9,73%) và được xay thành bột qua rây số 250. Bột dược liệu được chiết ngấm kiệt với ethanol 45% theo tỷ lệ 1:15 (dược liệu: dung môi). Dịch chiết được tiếp tục cô thu hồi dung môi và cô cách thủy để thu được cao đặc với hiệu suất chiết 27,6% và có độ ẩm 11,5% (gọi tắt là cao chiết *H. cochinchinensis*).

Tham khảo từ liều sử dụng thiên niên kiện loài *Homalomena occulta* trên người (không quá 10 g/ngày) và hệ số ngoại suy liều tương đương của chuột nhắt trắng và người (Phụ lục của “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu” theo Quyết định 141/QĐ-K2ĐT, 27/10/2015) để chọn liều sử dụng cho thử nghiệm dược lý *in vivo* là 340 mg/kg và 680 mg/kg (tương đương 1,25 g và 2,5 g dược liệu khô/kg).

2.2. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng đực chủng *Swiss albino*, 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 22 ± 2 g. Chuột và thực phẩm nuôi được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế - thành phố Nha Trang. Chuột được nuôi ổn định 1 tuần trước khi tiến hành thử nghiệm. Các thí nghiệm trên động vật nghiên cứu được thực hiện theo “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu” của Bộ Y tế (ban hành kèm theo quyết định số 141/QĐ - K2ĐT ngày 27/10/2015).

2.3. Dòng tế bào và Hóa chất

Tế bào đại thực bào RAW 264.7 được cung cấp từ American Type Culture Collection (ATCC, TIB-71, BSL 2). Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco) và thuốc thử Griess (Invitrogen) được cung cấp bởi Thermo Fisher Scientific (USA). Trypsin 10X (HyClone™ Trypsin Protease) được mua từ Cytiva. Lipopolysaccharid (LPS) từ *Escherichia coli* 0111: B4; fetal bovin serum (FBS); penicillin-streptomycin (10000 units); 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (MTT); dexamethason và carrageenan được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (USA). Celebrex® (celecoxib 200 mg, Pfizer) được sử dụng làm thuốc đối chiếu trong thực nghiệm *in vivo*.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1 Khảo sát hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cao chiết *H. cochinchinensis* trên dòng tế bào RAW 264.7:

Đánh giá mức độ gây độc tế bào của cao chiết *H. cochinchinensis* trên dòng tế bào RAW 264.7 bằng phương pháp MTT

Nuôi cấy tế bào: Tế bào đại thực bào RAW 264.7 được nuôi cấy ở 37°C, 5% CO₂ trong môi trường DMEM có bổ sung FBS 10% (v/v), L-glutamin 2 mM, penicillin-streptomycin 1% (v/v). Các tế bào được loại bỏ khỏi lớp đơn lớp bằng trypsin 0,25%, được tạo huyền phù lại trong môi trường mới [8]. Tế bào sử dụng trong nghiên cứu ở thể hệ cấy chuyên thứ 4.

Thử nghiệm MTT: Tế bào RAW 264.7 với mật độ 5.10⁴ tế bào/giếng được nuôi cấy ở 37°C, 5% CO₂ trong 24 giờ. Thêm 100 µL môi trường

có chứa cao chiết ở nồng độ khảo sát và tiếp tục ủ thêm 24 giờ ở 37°C, 5% CO₂. Môi trường nuôi cũ được loại bỏ, thêm 100 µL môi trường mới có chứa thuốc thử MTT 0,5 mg/mL. Tế bào tiếp tục được ủ thêm khoảng 2 - 4 giờ cho đến khi xuất hiện màu tím (tinh thể formazan). Loại bỏ môi trường ủ có chứa MTT, thêm 100 µL DMSO và ủ thêm 15 phút. Đo độ hấp thụ của hỗn hợp ở bước sóng 570 nm bằng máy Microplate reader và giải trừ hấp thụ ở bước sóng 630 nm [8]. Thực hiện song song mẫu chứng (không chứa cao thử) với quy trình tương tự như trên. Mẫu chứng trắng không có tế bào. Phần trăm tế bào sống (%) của mẫu thử được tính theo công thức:

$$\% \text{ tế bào sống} = \left(\frac{A_{\text{tế bào được xử lý với mẫu thử}} - A_{\text{chứng trắng}}}{A_{\text{tế bào không được xử lý với mẫu thử}} - A_{\text{chứng trắng}}} \right) \times 100 (\%)$$

Tỷ lệ tế bào sống trong mẫu chứng không được xử lý mẫu thử được xem 100%. Các phép đo được lặp lại 3 lần.

Khảo sát khả năng ức chế sản sinh nitric oxid (NO) trên dòng tế bào RAW 264.7 của cao chiết *H. cochinchinensis*

Tế bào RAW 264.7 với mật độ 5.10⁴ tế bào/giếng được nuôi trong 24 giờ ở 37°C, 5% CO₂. Sau đó, thêm vào 50 µL môi trường có chứa cao chiết ở nồng độ khảo sát (hoặc dexamethason 50 µg/mL, tương đương 127,4 µM) và 50 µL LPS (4 µg/mL), tiếp tục ủ trong 24 giờ ở 37°C, 5% CO₂. Nồng độ

NO trong dịch nuôi tế bào được định lượng bằng thuốc thử Griess. Hút 75 µL dịch nổi trong mỗi giếng sang đĩa 96 giếng khác, thêm 10 µL thuốc thử Griess và 65 µL nước cất, ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 548 nm bằng máy Microplate reader. Nồng độ NO (µM) trong dịch nuôi được tính dựa trên đường chuẩn NO (y = 267,65x - 11,986, R² = 0,9962), trong đó y là nồng độ NO (µM), x là độ hấp thụ ở bước sóng 548 nm [8]. Phép đo được lặp lại 3 lần. Phần trăm ức chế sản sinh NO (%) của mẫu thử được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = \left(\frac{NO_{\text{Tế bào không được xử lý với mẫu thử}} - NO_{\text{Tế bào được xử lý với mẫu thử}}}{NO_{\text{Tế bào không được xử lý với mẫu thử}}} \right) \times 100 (\%)$$

2.4.2. Đánh giá tác dụng của cao chiết *H. cochinchinensis* trên thực nghiệm gây phù chân chuột bởi carrageenan:

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 8 con như sau: Lô chứng uống nước cất, lô đối chiếu được cho uống celecoxib (25 mg/kg), các lô thử uống cao chiết *H. cochinchinensis* liều 340 mg/kg và liều 680 mg/kg. Ghi nhận thể tích chân phải chuột trước khi gây viêm (V_{tt}) bằng thiết bị đo thể tích chân chuột (Plethysmometer, UgoBasil, Ý). Tiến hành tiêm 50 µL carrageenan 1% vào vùng da gan bàn chân phải. Tiến hành cho chuột các lô uống nước cất, cao chiết hoặc celecoxib theo mốc thời gian sau tiêm carrageenan 1 giờ, 5 giờ (ngày 1) và 1 giờ trước khi đo mức độ viêm ở ngày 2. Thể tích cho uống

là 0,1 mL/10 g trọng lượng chuột. Để đánh giá mức độ viêm, thể tích chân chuột được xác định tại các thời điểm là 3 giờ và 24 giờ sau tiêm carrageenan (V_{st}) [9].

Thể tích chân được đo 2 lần và lấy trị số trung bình. Độ sưng phù chân chuột biểu thị mức độ viêm được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{(V_{st} - V_{tt})}{V_{tt}} \times 100$$

Trong đó: X: Độ sưng phù bàn chân chuột (Mức độ viêm), V_{st}: Thể tích chân phải sau khi tiêm carrageenan, V_{tt}: Thể tích chân phải trước khi tiêm carrageenan.

Mức độ giảm viêm chân chuột ở các lô thử, lô đối chiếu so với lô chứng được tính theo công thức:

$$\text{Mức độ giảm viêm (\%)} = \frac{X_{\text{chứng}} - X_{\text{thử/đối chiếu}}}{X_{\text{chứng}}} \times 100$$

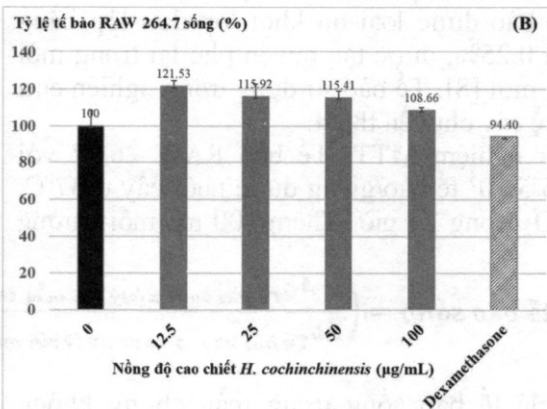
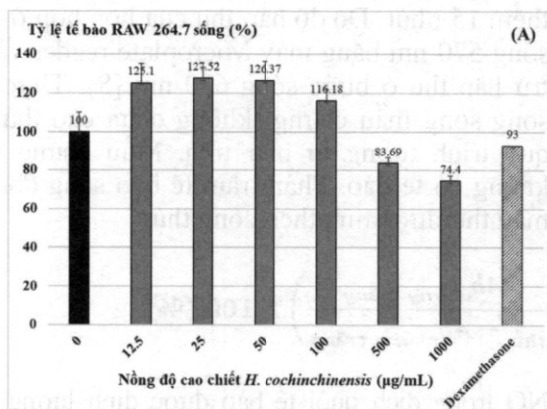
2.5. Đánh giá kết quả

Số liệu thực nghiệm thể hiện bằng số trung bình $M \pm$ sai số chuẩn của giá trị trung bình (SEM). Xử lý số liệu bằng phần mềm MS Excel 2016, xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One -Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student - Newman - Keuls test

(phần mềm SigmaStat 3.5). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$ so với lô chứng hoặc lô đối chiếu.

3. Kết quả

Khả năng gây độc tế bào của cao chiết *H. cochinchinensis* trên dòng tế bào RAW 264.7

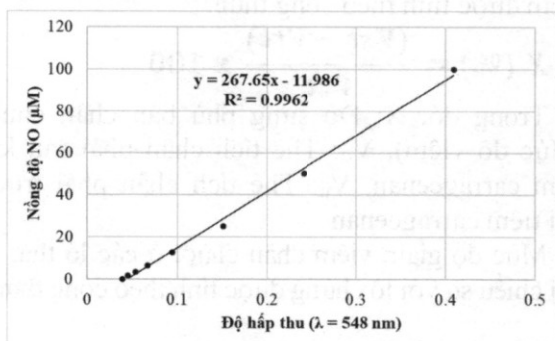


Hình 1. Khả năng gây độc tế bào của cao chiết *H. cochinchinensis* trên dòng tế bào RAW 264.7

Hình 1A: Tế bào RAW 264.7 không được xử lý với LPS. Hình 1B: Tế bào RAW 264.7 được xử lý với LPS. Dexamethason 50 µg/mL (tương đương 127,4 µM) được chọn là chứng dương. Phép đo được lặp lại 3 lần.

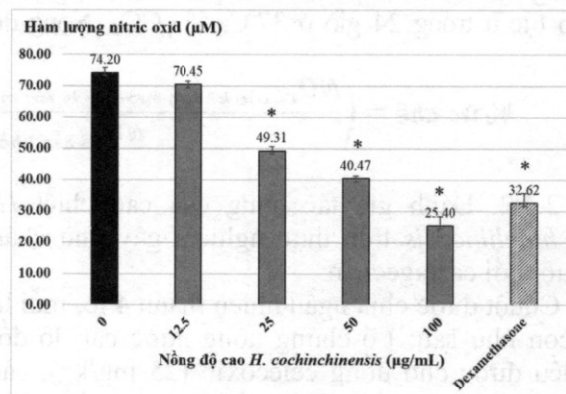
Dòng tế bào RAW 264.7 được xử lý với những nồng độ khác nhau của cao chiết *H. cochinchinensis* nhằm xác định mức độ không gây độc tế bào cho những thí nghiệm tiếp theo. Kết quả khảo sát thể hiện ở Hình 1A cho thấy cao chiết *H. cochinchinensis* ở nồng độ khảo sát 500-1000 µg/mL làm giảm khả năng sống của tế bào RAW 264.7 nhưng không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với chứng. Cao chiết ở các nồng độ khảo sát từ 12,5 µg/mL đến 100 µg/mL không ảnh hưởng lên khả năng sống của tế bào RAW 264.7 bình thường (Hình 1A) và được xử lý với LPS (Hình 1B). Do đó, dãy nồng độ này được chọn để đánh giá tác dụng của cao chiết *H. cochinchinensis* trên sự sản sinh NO của dòng tế bào RAW 264.7.

Khả năng ức chế sản sinh nitric oxid (NO) trên dòng tế bào RAW 264.7 của cao chiết *H. cochinchinensis*



Hình 2. Đường chuẩn tương quan giữa nồng độ NO và độ hấp thu

Tiến hành dựng đường chuẩn tương quan giữa nồng độ NO và độ hấp thu có phương trình $y = 267,65x - 11,986$ với $R^2 = 0,996$ (Hình 2). Dựa vào đường chuẩn này có thể suy ra nồng độ ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW 264.7 của cao chiết *H. cochinchinensis*.



Hình 3. Tác dụng của cao chiết *H. cochinchinensis* trên sự sản sinh nitric oxid của dòng tế bào RAW 264.7 được xử lý với lipopolysaccharid.

Dexamethason 50 µg/mL (tương đương 127,4 µM) được chọn là chứng dương. Phép đo được lặp lại 3 lần.
* $p < 0,05$ so với lô chứng.

Kết quả ở Hình 3 cho thấy cao chiết *H. cochinchinensis* ở dãy nồng độ khảo sát từ 25 µg/mL đến 100 µg/mL thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7 được cảm ứng bởi LPS theo cách phụ thuộc vào nồng độ.

Bảng 1. Tỷ lệ % ức chế sản sinh NO của cao chiết *H. cochinchinensis* trên dòng tế bào RAW 264.7 được xử lý với lipopolysaccharid.

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)		% ức chế sản sinh NO
Cao chiết <i>H. cochinchinensis</i>	12,5	5,05
	25	33,55
	50	45,45
	100	65,77
Dexamethason	50	56,03

Khi so sánh ở cùng nồng độ khảo sát 50 $\mu\text{g/mL}$, cao chiết *H. cochinchinensis* thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO (45,45%) yếu hơn chứng dương dexamethason (56,03%) (Bảng 1). Nồng độ ức chế 50% (IC_{50}) của cao chiết *H. cochinchinensis* được

tính từ phương trình hồi quy $y = 27.999\ln(x) - 62.373$ (với $R^2 = 0.9751$) là 55,34 $\mu\text{g/mL}$.

Tác dụng kháng viêm của cao chiết *H. cochinchinensis* trên thực nghiệm gây viêm cấp bằng carrageenan

Bảng 2. Mức độ phù chân chuột (%) của các lô thử nghiệm trong thực nghiệm gây viêm cấp bằng carrageenan

Lô (n= 8)	Liều thử (mg/kg)	Mức độ phù chân chuột (%)	
		Sau 3 giờ	Sau 24 giờ
Chứng	-	102,57 $\pm$ 6,66	86,01 $\pm$ 5,29
Cao chiết	340	76,67 $\pm$ 5,78**	64,19 $\pm$ 4,94**
<i>H. cochinchinensis</i>	680	68,07 $\pm$ 5,56***	60,22 $\pm$ 5,83**
Celecoxib	25	64,62 $\pm$ 5,0***	59,03 $\pm$ 5,79**

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng (phép kiểm One-way ANOVA hậu kiểm bằng phương pháp Student-Newman-Keuls).

Kết quả từ Bảng 2 cho thấy, độ phù chân chuột ở lô đối chiếu celecoxib ở các thời điểm đo sau tiêm carrageenan có khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng tương ứng. Độ phù chân chuột đo sau 3 giờ tiêm carrageenan của lô cao chiết *H. cochinchinensis* đạt 76,67% (liều 340 mg/kg) và 68,07% (liều 680 mg/kg) với $p=0,004$ và $p < 0,001$ (tương ứng). Tương tự,

các lô uống cao chiết có độ phù chân chuột đạt 64,19% (liều 340 mg/kg) và 60,22% (liều 680 mg/kg) sau 24 giờ tiêm carrageenan ($p=0,009$; $p=0,007$ so với chứng; tương ứng). Nghiên cứu không ghi nhận tác dụng phụ thuộc liều cũng như không có sự khác biệt về mức độ phù chân chuột giữa các lô uống cao chiết với lô uống celecoxib.

Bảng 3. Mức độ giảm viêm chân chuột (%) của các lô thử nghiệm trong thực nghiệm gây viêm cấp bằng carrageenan

Lô (n= 8)	Liều thử (mg/kg)	Mức độ giảm viêm (%)	
		Sau 3 giờ	Sau 24 giờ
Cao chiết	340	25,24	25,37
<i>H. cochinchinensis</i>	680	33,64	29,99
Celecoxib	25	36,99	31,37

Mức độ giảm viêm của cao chiết *H. cochinchinensis* liều 680 mg/kg đạt 33,64% sau 3 giờ tiêm carrageenan và 29,99% sau 24 giờ tiêm carrageenan, gần tương đương với thuốc đối chiếu celecoxib (Bảng 3).

4. Bàn luận

Trong nghiên cứu này, cao chiết *H. cochinchinensis* làm giảm sản sinh NO trong các tế bào RAW 264.7 được kích thích bằng LPS theo cách phụ thuộc vào nồng độ, với $\text{IC}_{50} = 55,34 \mu\text{g/mL}$.

NO được sản sinh với lượng lớn khi xuất hiện các đáp ứng viêm ở nhiều loại tế bào khác nhau, như đại thực bào bị hoạt hóa bởi các cytokin, nguyên bào sợi hay tế bào gan và có liên quan đến sinh bệnh học của các bệnh lý viêm khớp, bệnh gút và viêm phổi. Do đó NO thường được sử dụng như là phân tử chỉ thị của quá trình viêm

và các chất ức chế NO có vai trò quan trọng trong điều trị các bệnh lý viêm [10]. Dòng tế bào RAW 264.7 thường được sử dụng là mô hình để nghiên cứu đáp ứng tế bào của đại thực bào khi có tác nhân kích thích như LPS, dẫn đến việc sản xuất quá mức các chất trung gian gây viêm như NO, gốc tự do oxy hoạt động (reactive oxygen species: ROS), các cytokin như tumor necrosis factor- α (TNF- α) và interleukin (IL-6, IL-1 β) [7]. LPS làm tăng biểu hiện iNOS (inducible nitric oxid synthase) và tăng sản sinh NO trên dòng tế bào RAW 264.7, dẫn đến phản ứng viêm. Dexamethason, chứng dương được sử dụng trong

thử nghiệm này, là một chất ức chế biểu hiện cytokin trong đại thực bào bị hoạt hóa và đồng thời ức chế enzym phospholipase A2 dẫn đến ức chế tổng hợp PGE2 [11].

Cao chiết *H. cochinchinensis* thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO yếu hơn dexamethason khi so sánh ở cùng nồng độ khảo sát 50 $\mu\text{g/mL}$, tuy nhiên ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ lại có hoạt tính mạnh hơn. Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trong các tế bào RAW 264.7 của cao chiết còn từ thân rễ *H. cochinchinensis* yếu hơn so với công bố trên cao chiết phân đoạn *n*-hexan của thân rễ ($\text{IC}_{50} = 21,08 \mu\text{g/mL}$) [7]. Tuy nhiên khi được so sánh với kết quả ức chế sự sản sinh NO của tinh dầu từ thân rễ *H. cochinchinensis* ($\text{IC}_{50} = 170,81 \mu\text{g/mL}$) [6], hoạt tính của cao chiết còn trong nghiên cứu này mạnh hơn. Điều này gợi ý những hợp chất khác có thể góp phần trong hoạt tính kháng viêm *in vitro*. Những phân tích hóa học (ngoài thành phần tinh dầu) cần được tiến hành để xác định các nhóm hợp chất có tác dụng kháng viêm trong cao chiết còn từ thân rễ *H. cochinchinensis*.

Tỷ lệ tinh dầu trong thân rễ *H. cochinchinensis* dao động phụ thuộc vào vùng địa lý, thời điểm thu hoạch và kỹ thuật phân tích [6]. Phân tích thành phần hóa học tinh dầu từ thân rễ *H. cochinchinensis* đã xác định sự hiện diện của các sesquiterpen (linalool, terpinen-4-ol) và monoterpen (geraniol, trans-linalool oxid, cis-linalool oxid, α -sabinen) là những hợp chất chính [4],[6]. Các sesquiterpen và monoterpen đã được chứng minh là các chất ức chế viêm mạnh và điều hòa đáp ứng viêm theo cơ chế ức chế tín hiệu NF-kB hoặc ức chế sự tổng hợp NO phụ thuộc vào iNOS [12]. iNOS là enzym biểu hiện trong đáp ứng viêm, gia tăng biểu hiện iNOS sẽ làm tăng sản phẩm NO trong tế bào và phóng thích ra ngoài tế bào gây nên đáp ứng viêm. Các sesquiterpen từ thân rễ *H. occulta* đã được chứng minh có tác động chống viêm theo cơ chế ức chế biểu hiện COX-2 và ức chế sự sản sinh NO, PGE2 gây bởi LPS trên dòng tế bào RAW 264.7 [5]. Do đó những nghiên cứu tiếp về cơ chế kháng viêm trên dòng tế bào RAW 264.7 cần tập trung vào đánh giá tác dụng của các sesquiterpen được phân lập từ thân rễ *H. cochinchinensis* trên biểu hiện gen của iNOS, COX-2, PGE2 hay NF-kB.

Kết quả nghiên cứu *in vivo* ghi nhận cao chiết *H. cochinchinensis* ở các liều thử 340 mg/kg và 680 mg/kg có tác dụng giảm viêm chân chuột

trong thực nghiệm carrageenan. Quá trình gây phù do carrageenan được biểu hiện qua hai giai đoạn. Giai đoạn đầu (0-6 giờ sau tiêm carrageenan) liên quan đến giải phóng histamin, serotonin và bradykinin. Giai đoạn hai (từ 24 giờ sau tiêm carrageenan) liên quan sản xuất quá mức PGE2 do enzym COX-2 được giải phóng tại vị trí tổn thương 1 giờ sau tiêm carrageenan. PGE2 tăng sau 2 - 3 giờ và duy trì cho đến 96 giờ tiêm carrageenan trên chủng chuột CD1 [13]. Do đó nghiên cứu đã thiết kế đo mức độ phù chân chuột sau khi tiêm carrageenan 3 giờ và 24 giờ. Thực nghiệm gây phù chân chuột bằng carrageenan cho đáp ứng tốt với các corticoid và chất ức chế COX. Nghiên cứu đã ghi nhận mức độ giảm viêm của cao chiết *H. cochinchinensis* liều 680 mg/kg tương tự như tác dụng của celecoxib, một NSAID ức chế có chọn lọc COX-2. Mức độ viêm gây bởi carrageenan sau khi tiêm 1-6 giờ được chứng minh có liên quan đến việc tăng mức độ nitrit/nitrat trong dịch viêm do tăng phóng thích NO ngoại bào và các chất ức chế iNOS làm giảm phù chân chuột sau 5 giờ tiêm carrageenan [14],[15]. Kết hợp với kết quả nghiên cứu *in vitro*, có thể đề nghị việc ức chế sản sinh NO là một trong những cơ chế liên quan đến tác dụng kháng viêm của *H. cochinchinensis* trong thực nghiệm carrageenan. Tuy nhiên, những nghiên cứu tiếp theo ở mức độ phân tử cần được thực hiện để xác định những cơ chế liên quan đến tác dụng kháng viêm của cao chiết *H. cochinchinensis* như phân tích biểu hiện các enzym và cytokin chi phối quá trình viêm.

5. Kết luận

Cao chiết ethanol 45% từ thân rễ *H. cochinchinensis* ở các nồng độ khảo sát từ 12,5 $\mu\text{g/mL}$ đến 100 $\mu\text{g/mL}$ làm giảm sản sinh nitric oxid trong các tế bào RAW 264.7 được kích thích bằng LPS theo cách phụ thuộc vào nồng độ, với IC_{50} là 55,34 $\mu\text{g/mL}$. Cao chiết *H. cochinchinensis* ở các liều thử 340 mg/kg và 680 mg/kg có tác dụng giảm viêm chân chuột trong thực nghiệm carrageenan, đạt tương đương với thuốc đối chiếu ở liều 680 mg/kg.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng đã hỗ trợ kinh phí thực hiện với mã số đề tài GVTC16.06. Các tác giả cũng xin cảm ơn sự hỗ trợ từ các nghiên cứu viên của Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh trong việc lấy mẫu, định danh dược liệu và cùng thực hiện các thử nghiệm trên tế bào RAW 264.7.

1. Võ Văn Chi (2012), Từ điển Cây thuốc Việt Nam, NXB Y học tp.HCM.
2. Van H. T. (2022), Potential uses of some Araceae species in Vietnam, *Israel Journal of Plant Sciences*, 13(1), 1-17.
3. Van Hong Thien, Nguyen Phi Nga, Luu Hong Truong (2015), *Homalomena cochinchinensis* (họ Araceae): Thử nghiệm Marker phân tử để định loại loài và phân tích một số thành phần hóa học, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 13(4A), 1329-1334.
4. Van H. T., Le N. T., Huynh N. T. A., Vo H. S., Le T. T., Van Chu H., Truong H. A. V., Nguyen Q. H. (2022), Chemical composition and antibacterial activities of essential oils from rhizomes and aerial parts of *Homalomena cochinchinensis* (Araceae), *Natural Product Research*, 36(12), 3129-3132.
5. Yang J. L., Dao T. T., Hien T. T., Zhao Y. M., Shi, Y. P. (2019), Further sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena occulta* and their anti-inflammatory activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29(10), 1162-1167.
6. Nguyen L. T. K., Tuan Quoc Doan, Nguyen P. Q. D., Nguyen C. B. H., Tran L. T. T., Tran T. V. A., Nguyen H. T., Ho D. V. (2023), Phytochemical Composition and Bioactivities of Essential Oils from Rhizomes of *Homalomena pendula* and *Homalomena cochinchinensis*, *Natural Product Communications*, 18(5).
7. Khanh N. L. T., Dinh N. P. Q., Doan N. A. T., Nguyen C. B. H., Doan T. Q., Tran L. T. T., Nguyen H. T., Ho D. V. (2023), Volatile Components and Biological Activities of n-Hexane Extract From Rhizomes of *Homalomena cochinchinensis*, *Natural Product Communications*, 18(4).
8. Nguyen T. Q. C., Tran D. B., Pham T. L. A., Nguyen Y. D. H., Dai T. X. T., Nguyen T. T., Kanaori K., Kame K. (2020), Anti-Inflammatory Effects of *Lasia spinosa* Leaf Extract in Lipopolysaccharide-Induced RAW 264.7 Macrophages, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 3439.
9. Chương Thị Ngọc Hiếu, Hà Quang Thanh, Chung Thị Mỹ Duyên, Nguyễn Hoàng Minh, Nguyễn Thị Thu Hương (2022), Tác dụng hạ acid uric máu, giảm đau và kháng viêm của dây đau xương [*Tinospora sinensis* (LOUR.) MERR.] trong hỗ trợ điều trị bệnh gút, *Tạp chí Dược liệu*, 27(5), 291-297.
10. Sharma J. N., Al-Omran A., Parvathy S. S. (2007), Role of nitric oxide in inflammatory diseases, *Inflammopharmacology*, 15(6), 252-259.
11. Rhen T., Cidlowski J. A. (2005), Anti-inflammatory action of glucocorticoids-new mechanisms for old drugs, *The New England Journal of Medicine*, 353, 1711-1723.
12. Arizmendi N., Alam S. B., Azyat K., Makeiff D., Befus A. D., Kulka M. (2022), The Complexity of Sesquiterpene Chemistry Dictates Its Pleiotropic Biologic Effects on Inflammation, *Molecules*, 27(8), 2450.
13. Posadas L., Bucci M., Parente L., Sautebin L., Cirino G. (2004), Carrageenan-induced mouse paw edema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression, *British Journal of Pharmacology*, 142, 331 - 338.
14. Huang G. J., Deng J. S., Chiu C. S., Liao J. C. (2011), Analgesic Effects and the Mechanisms of Anti-Inflammation of Hispolon in Mice, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1-8.
15. Omote K., Hazama K., Kawamata T., Kawamata M., Nakayaka Y., Toriyabe M., Namiki A. (2001), Peripheral nitric oxide in carrageenan-induced inflammation, *Brain Research*, 912(2), 171-175.

Tạp chí Dược liệu, tập 29, số 1/2024 (Trang 47 - 52)

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA CÁC CAO CHIẾT TỪ LÁ XA KÊ TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT BỊ TĂNG HUYẾT ÁP

**Hà Quang Thanh¹, Chung Thị Mỹ Duyên², Đinh Trường Sơn³, Trịnh Minh Thiên³,
Lê Trần Nguyễn Vũ³, Nguyễn Mai Trúc Tiên³, Nguyễn Hoàng Minh^{3,*}**

¹Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh;

²Khoa Y học cổ truyền, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh;

³Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu

*Email: hoangminhtkd90@gmail.com

(Nhận bài ngày 28 tháng 7 năm 2023)

Tóm tắt

Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác dụng hạ huyết áp của các cao chiết từ lá xa kê (*Artocarpus altilis*) trên mô hình chuột bị tăng huyết áp kết hợp bởi cortison và NaCl. Chuột được tiêm hydrocortison liều 2,5 mg/kg và uống NaCl 1% thay nước uống trong 28 ngày. Việc cho uống tiếp tục trong 7 ngày kết hợp với điều trị bằng các cao chiết lá xa kê hoặc captopril. Kết quả cho thấy việc điều trị với cao khô chiết bằng ethanol (0,343 g/kg và 0,686 g/kg) làm giảm huyết áp tâm thu, huyết áp tâm trương, huyết áp trung bình và khối lượng tim, thận của chuột bị tăng huyết áp, kết quả tương tự như captopril liều 18,75 mg/kg. Bên cạnh đó, việc điều trị với các cao khô chiết bằng nước (0,420 g/kg và 0,840 g/kg) cũng thể hiện tác dụng ở các chỉ tiêu trên nhưng không làm giảm giá trị huyết áp tâm trương trên chuột.

Từ khóa: Tăng huyết áp, Hydrocortison, Lá xa kê.

Summary

Effects of Leaf Extracts of *Artocarpus altilis* in Hypertensive Mouse Model

This study aimed to evaluate the antihypertensive effect of leaf extracts of *Artocarpus altilis* on cortisone-salt induced hypertensive mice. Male mice received hydrocortisone (2.5 mg/kg) every 28 days and 1% NaCl in drinking water, continuous administration for 7 days and treatment with *Artocarpus altilis* leave extracts or captopril. The results showed that treatment with alcoholic extracts (0.343 g/kg; 0.686 g/kg) of *Artocarpus altilis* leaves significantly reduced blood pressure (systolic, diastolic, and mean blood pressure), heart weight, and kidney weight in hypertensive mice, such effects were similar to captopril (18.75 mg/kg). Besides, treatment with water extracts (0.420 g/kg; 0.840 g/kg) showed similar effects on the above parameters but did not decrease diastolic blood pressure.

Keywords: Hypertension, Hydrocortisone, *Artocarpus altilis* leave.

1. Đặt vấn đề

Tăng huyết áp được đặc trưng bởi huyết áp tăng cao liên tục ở động mạch. Tăng huyết áp là

một bệnh phổ biến và phức tạp đồng thời làm tăng nguy cơ mắc các bệnh tim mạch, thận và các vấn đề y tế khác. Trên toàn cầu, khoảng 26% dân