

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huv Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiền, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tập 2, tr. 545-553.
2. Chinese Pharmacopoeia Commission (2015), *Pharmacopoeia of the people's republic of china*, Vol. 1A.
3. The Government of the Hong Kong Special, Region of the People's Republic of China (2009), *Hong Kong Chinese materia medica standards*, Vol. 5, 6.
4. Ministry of Food and Drug Safety (2016), *The Korean Pharmacopoeia X*.
5. USP (2022), GUID-A6E28F13-D1CC-493A-BB44-BEE036C87498 10101 en-US, GUID-8940E36B-6037-4043-826C-7251B82ACCFB 1 en-US, GUID-2D357928-6650-4556-8400-13676D7B7446 1 en-US; USP 2024.
6. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, 1296.
7. ICH GUIDELINE (2018), Q2 (R1) validation of analytical procedures: text and methodology, 1-13.
8. AOAC (2016), Guidelines for standard method performance requirements, Appendix F.
9. Zhang C., Fan L., Fan S., Wang J., Luo T., Tang Y., Chan Z., Yu L. (2019), *Cinnamomum cassia* Presl: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology, *Molecules* 24(19), 3473.
10. Shi-Lei Geng; Zhao-Xue Cui; Bin Shu; Sheng Zhao; Xin-Hua Yu; (2012), Histochemistry and cell wall specialization of oil cells related to the essential oil accumulation in the bark of *Cinnamomum cassia* Presl. (Lauraceae), *Plant Production Science*, 15(1), pp. 1 - 09.
11. Patel Rakesh Jakhetia Vaibhavi, Khatri Pankaj, et al. (2010), Cinnamon: a pharmacological review, *Journal of Advanced Scientific Research*, 1(02), 19-23.
12. Bùi Thị Lan Phương, Ngô Quang Trung Trịnh Tuấn Nam, Nguyễn Thị Hà Ly, Nguyễn Thị Kiều Anh (2022), Nghiên cứu định lượng coumarin và một số phenylpropanoid trong quế bằng HPLC-PDA và bước đầu phục vụ phân loại quế theo vùng trồng, *Nghiên cứu Dược và Thông tin thuốc*. 13(6), 26-35.
13. EFSA (2008), Coumarin in flavourings and other food ingredients with flavouring properties: Scientific opinion of the panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC), *European Food Safety Authority* 793, 1-15, doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.793>.

Tạp chí Dược liệu, tập 29, số 4/2024 (Trang 228 - 234)

ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA CÁC CAO PHÂN ĐOẠN LOÀI DUỐI Ô RÔ TRÊN DÒNG TẾ BÀO BV2

Đỗ Thị Hằng^{1,3}, Lý Tú Loan², Mã Chí Thành^{3,*}

¹Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột; ²Khoa Dược, Đại học Tôn Đức Thắng;

³Khoa Dược, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

*Email: mcthanh@ump.edu.vn

(Nhận bài ngày 04 tháng 4 năm 2024)

Tóm tắt

Duối ô rô có tên khoa học là *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner, thuộc chi *Streblus*, họ Dâu tằm (Moraceae), được dân gian sử dụng làm thuốc tiêu độc, trị mụn nhọt. Nghiên cứu gần đây cho thấy một số loài thuộc chi này có tác dụng dược lý tiềm năng như kháng viêm, kháng khuẩn và ức chế enzym tyrosinase. Hiện chưa có nhiều tài liệu nghiên cứu về hình thái, giải phẫu và hoạt tính kháng viêm của loài này ở Việt Nam. Khảo sát hình thái và các đặc điểm vi học cung cấp cơ sở dữ liệu góp phần cho việc định danh loài. Ở các nồng độ 10, 20 và 40 µg/mL, các cao ethanol toàn phần, *n*-hexan, ethyl acetat, *n*-butanol cho thấy hoạt tính kháng viêm mạnh qua việc ức chế sự sản sinh nitric oxid (NO) trên dòng tế bào BV2 với IC₅₀ lần lượt là 25,3 ± 1,9; 20,2 ± 0,12; 20,7 ± 0,49 và 32,3 ± 3,6 µg/mL. Nghiên cứu này xác định hoạt tính kháng viêm của loài này thông qua tác dụng ức chế sự biểu hiện của các protein COX-2 và iNOS.

Từ khoá: *Streblus ilicifolius*, Đặc điểm thực vật, Kháng viêm, Sự sản sinh nitric oxid, Enzym iNOS, Enzym COX-2.

Summary

Botanical Characteristics and Anti-Inflammatory Effects of the Extracts from *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner in BV2 Cells

Streblus ilicifolius (S. Vidal) Corner is a species in the Moraceae family, which is used as antidotal and anti-furuncle herb in folk medicine. Some recent studies showed the potential pharmacological activities of this plant, such as anti-inflammation, antimicrobial, and tyrosinase inhibitory effects. The investigation of morphological and taxonomical characteristics provides a database for the identification of *Streblus ilicifolius*. At concentrations of 10, 20, and 40 µg/mL, the ethanol, *n*-hexane, ethyl acetate, and *n*-butanol extracts potentially exhibited anti-inflammatory effects against NO production in BV2 cells with IC₅₀ values of 25.3 ± 1.9, 20.2 ± 0.12, 20.7 ± 0.49, and 32.3 ± 3.6 µg/mL, respectively. This study demonstrates the anti-inflammatory activity of this species is due to the inhibition of COX-2 and iNOS expression in BV2 cells.

Keywords: *Streblus ilicifolius*, Taxonomical, Anti-inflammatory activity, Nitric oxide production, iNOS enzyme, COX-2 enzyme.

1. Mở đầu

Việt Nam nằm trong vùng nhiệt đới gió mùa nên có nguồn tài nguyên cây thuốc phong phú. Do vậy việc định danh và nghiên cứu các cây thuốc theo hướng khoa học hiện đại đang là nhu cầu cần thiết để phát triển ngành dược liệu tiềm năng. Chi *Streblus* có khoảng 25 loài, phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới châu Á [1]. Trong đó, duối ô rô (*Streblus ilicifolius*) là một loài thuộc

họ Moraceae, dạng cây bụi, phân bố ở các nước Đông Nam Á, Trung Quốc, Ấn Độ. Ở nước ta, cây gặp phổ biến ở miền bắc, Tây Nguyên, mọc rất nhiều ở thung lũng đá vôi hoặc các vùng núi có nhiều đá [2]. Theo Y học cổ truyền Việt Nam, duối ô rô được dùng làm thuốc kháng viêm, tiêu độc, mụn nhọt [3]. Tuy nhiên, những công bố về thực vật học và hoạt tính kháng viêm của loài này còn ít, chỉ có một vài nghiên cứu chứng minh tác

dụng sinh học của loài này như hoạt tính ức chế enzym tyrosinase, hoạt tính kháng vi sinh vật [4],[5],[6]. Các khảo sát về đặc điểm hình thái và giải phẫu được thực hiện trong nghiên cứu này nhằm cung cấp thông tin để hỗ trợ cho việc định danh và phân biệt loài này với các loài cùng chi *Streblus*. Cao toàn phần (cao còn 96%) và các cao phân đoạn (cao *n*-hexan, cao ethyl acetat và cao *n*-butanol) được đánh giá hoạt tính kháng viêm qua việc ức chế sự sản sinh NO cũng như sự ức chế biểu hiện của các protein COX-2 và iNOS trên dòng tế bào BV2.

2. Thực nghiệm

2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

Mẫu cây tươi được thu hái tại xã Lơ Ku, huyện Kbang, tỉnh Gia Lai vào tháng 3/2021, được định danh bởi TS. Võ Văn Lẹo (Bộ môn Dược liệu - Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh). Tiêu bản thực vật được lưu tại bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, mã số mẫu (SI032021.GL). Phần trên mặt đất (thân và lá) của dược liệu được sử dụng để định tính thành phần hoá học và chiết xuất cao chiết thử hoạt tính sinh học.

2.2. Phương pháp nghiên cứu thực vật học, định tính sơ bộ thành phần hoá học và chiết xuất cao phân đoạn

2.2.1. Đặc điểm hình thái:

Các đặc điểm như dạng sống, thân, lá, rễ được quan sát bằng mắt thường, kính lúp hoặc kính hiển vi quang học, mô tả và chụp ảnh. Xác định tên khoa học của mẫu bằng phương pháp hình thái so sánh với tài liệu phân loại thực vật [2],[3],[7].

2.2.2. Đặc điểm giải phẫu:

Các mẫu thân, lá, rễ được cắt vuông góc với trục chính thành những lát mỏng bằng dao lam. Đối với thân: cắt ở phần lóng không sát mấu. Đối với phiến lá: Cắt ngang đoạn 1/3 gốc phiến, gồm gân giữa và một ít hai bên phiến lá chính thức. Đối với cuống lá: Cắt ngang đoạn 1/3 phía đáy cuống nhưng không sát đáy. Đối với rễ: Cắt ngang đoạn 1/3 phía gốc rễ. Các mẫu vi phẫu được tẩy trắng bằng nước javel, nhuộm bằng son phen và lục iod. Quan sát vi phẫu bằng kính hiển vi quang học (hiệu Olympus, model CH20) .

2.2.3. Bột dược liệu:

Dược liệu sau khi thu hái được rửa sạch, cắt nhỏ, sấy khô ở 60-70 °C, nghiền thành bột và rây qua rây 32 (đường kính lỗ rây 0,1 mm). Quan sát các cấu tử của bột dưới kính hiển vi quang học (hiệu Olympus, model CH20).

2.2.4. Phân tích sơ bộ thành phần hoá học và chiết xuất cao phân đoạn:

Xác định các nhóm hoạt chất trong từng dịch chiết bằng các phản ứng hóa học đặc trưng theo phương pháp phân tích hóa thực vật của Ciulei

được cải tiến bởi bộ môn Dược liệu, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh [8].

Dược liệu (100 g) được chiết ngấm kiệt với cồn 96% sau đó tiến hành cô thu hồi dung môi được cao toàn phần. Cao ethanol 96% được hoà với một lượng tối thiểu nước và lắc phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexan, ethyl acetat và *n*-butanol thu được các cao tương ứng được dùng cho các thử nghiệm sinh học.

2.3. Thử hoạt tính kháng viêm trên cao còn toàn phần và các cao phân đoạn trên dòng tế bào BV2 [9]

Nuôi cấy tế bào: Dòng tế bào thần kinh đệm BV2 được nuôi trên đĩa petri trong môi trường nuôi cấy DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) với 5% FBS (heat-inactivated-fetal bovine serum), 1% penicillin/streptomycin (P/S) trong tủ ẩm (5% CO₂) ở nhiệt độ 37°C. Tế bào BV2 tiếp tục được nuôi trong đĩa 6 giếng với mật độ 5×10^5 tế bào/mL trong môi trường DMEM với 5% FBS, 1% P/S trong tủ ẩm (5% CO₂) ở nhiệt độ 37 °C trong 24 giờ. Sau đó tế bào được ủ với cao chiết ở các nồng độ 10, 20 và 40 µg/mL trong thời gian 60 phút trước khi gây viêm bằng LPS (Lipopolysaccharid) 100 ng/mL. Tế bào được ủ trong tủ ẩm trong 24 giờ ở 37°C với 5% CO₂.

Xác định nồng độ NO: nồng độ của NO trong môi trường nuôi cấy được đánh giá dựa trên phản ứng của NO với thuốc thử Griess. 100 µL dịch môi trường nuôi cấy được trộn với 100 µL của thuốc thử Griess. Hỗn hợp sau pha trộn được ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng tránh ánh sáng. Tiến hành đo bước sóng hấp thu tại 540 nm bằng máy đọc 96 giếng. Natri nitrit được sử dụng để xây dựng đường cong chuẩn của NO ở các nồng độ khác nhau (0; 12,5; 25,0; 50,0 và 100,0) và tiến hành đo ở cùng bước sóng 540 nm.

Khảo sát khả năng sống của tế bào (cell viability):

Tế bào ($1,0 \times 10^4$ tế bào/mL) được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng trong môi trường DMEM-FBS 5%, 1% P/S ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ. Sau đó tế bào được ủ với cao chiết ở các nồng độ 20, 40 và 80 µg/mL trong 60 phút trước khi xử lý với LPS 100 ng/mL. Sau 24 giờ, tế bào được ủ với 10 µL dung dịch EZ-cytox (Dogenbio, Korea) trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C để đánh giá khả năng sống sót của tế bào. Đo độ hấp thu ở bước sóng 450 nm bằng máy đọc 96 giếng.

Đánh giá mức độ biểu hiện của protein iNOS và COX-2 bằng Western Blot:

Tế bào BV2 từ đĩa nuôi cấy 6 giếng được thu thập và rửa với PBS, ủ và ly giải với dung dịch Pro-PREP (Gyeonggi-do, Korea) và 1X phosphatase inhibitor cocktail III (PIC III, Merck, Darmstadt, Germany) trong đá khoảng 1 giờ. Sau đó ly tâm với tốc độ 13000 rpm/20 phút ở 4°C và

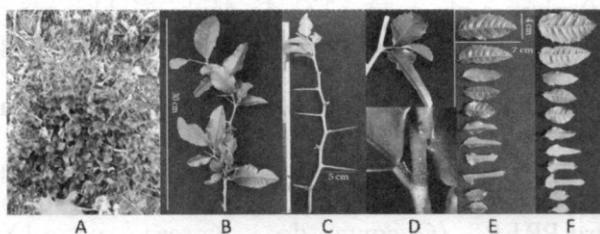
tách dung dịch phía trên vào một effendorff sạch. Hàm lượng protein toàn phần được tính toán bằng bộ kit định lượng Pierce™ BCA Protein Assay Kit. Protein của mẫu được tách bằng điện di gel với 10% natri dodecylsulphat-polyacrylamid (SDS-PAGE). Kết thúc quá trình điện di, chuyển các protein tách được trên gel sang màng polyvinyliden difluorid (PVDF) và bất hoạt với 5% skim milk trong dung dịch Tris buffered saline-Tween (TBST) ở nhiệt độ phòng. Màng được ủ qua đêm với kháng thể anti-iNOS hoặc anti-COX-2 (1:1000) ở 4°C. Sau khi rửa với TBST ở nhiệt độ phòng và màng được ủ tiếp với kháng thể thứ cấp HRP-conjugated IgG (1:2000) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Các protein trên màng được phát hiện bằng các phản ứng hóa quang (chemiluminescence-ECL, Thermo Fisher Scientific Inc., Lafayette, CA, USA). Tương quan mật độ quang được thực hiện trên hệ thống Fusion Solo (Viber Lourmat, Collegien, France).

Phân tích thống kê: So sánh giữa hai hay nhiều nhóm được sử dụng trong thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism 8. Dữ liệu được biểu diễn trị số trung bình $\pm$ SEM. Độ tin cậy mang tính thống kê được đánh giá bằng phân tích ANOVA 1 hoặc 2 yếu tố với Dunnett's t-test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc điểm hình thái

Duối ô rô là cây thân gỗ nhỏ, tiết diện tròn, cao từ 5-10 m hoặc mọc thành bụi rậm từ 1-3 m, có nhựa mủ. Thân non màu xanh, có lông mịn, thân già màu trắng xám. Thân phân nhánh kiểu xim, có nhiều gai nhọn dài 2,5-6 cm ở các mấu, gai già màu xám trắng, gai non màu xanh. Lá đơn, mọc cách. Phiến lá hình trứng, xoan, ngọn giáo hay thuôn, dài 3-8 cm, rộng 1-5 cm, nhọn ở gốc và nhọn nhiều hay ít ở đầu, mép lá có răng cưa dạng gai nhọn, mặt trên lá có màu xanh bóng, đậm hơn so với mặt dưới. Đôi khi lá chỉ có răng cưa ở 1/3 tính từ gốc lá, 2/3 phần trên thon hơn, mép không có răng cưa. Gân lá hình lông chim, 7-8 cặp gân phụ mỗi bên phiến lá, gân chính nổi rõ ở mặt dưới. Cuống lá ngắn, dài 0,5-1 cm, đường kính 0,5-1 mm có lông mịn (Hình 1) [1],[2],[3],[10].

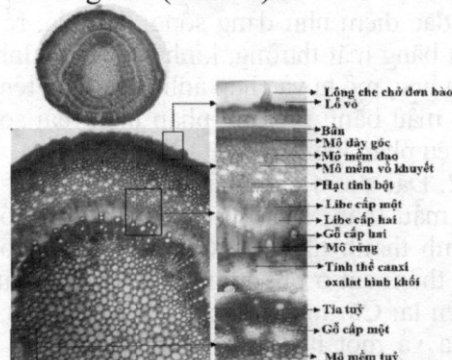


Hình 1. Đặc điểm hình thái cơ quan dinh dưỡng của loài *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner
(A. Dạng sống trong tự nhiên. B. Cảnh mang lá. C. Gai. D. Cảnh và cuống. E và F. Mặt trên và dưới của lá.)

3.2. Đặc điểm giải phẫu

3.2.1. Đặc điểm cấu tạo giải phẫu của thân:

Vi phẫu thân cắt ngang có tiết diện gần tròn, vùng vỏ chiếm 1/4, vùng trung trụ chiếm 3/4 tiết diện vi phẫu. Bần gồm một vài lớp tế bào hình chữ nhật xếp xuyên tâm, đôi khi bị bong tróc. Lớp biểu bì ngoài có lông che chở đơn bào ngắn. Lục bì gồm vài lớp tế bào vách mỏng xếp xuyên tâm. Mô dày góc gồm 3-4 lớp tế bào hình đa giác, kích thước không đều, xếp lộn xộn. Mô mềm vỏ gồm 3-4 lớp tế bào hình đa giác, kích thước không đều, có chứa tinh bột. Libe cấp một gồm 1 cụm 3-4 lớp tế bào hình đa giác bị ép dẹp xếp lộn xộn nằm trên đỉnh chùy libe. Libe cấp hai gồm 4-5 lớp tế bào hình chữ nhật, vách uốn lượn, xếp xuyên tâm. Mạch gỗ cấp hai tế bào hình đa giác hoặc gần tròn, kích thước không đều, xếp lộn xộn, mô mềm gỗ cấp hai tế bào hình đa giác, vách tam giác, kích thước không đều, xếp xuyên tâm. Tia gỗ gồm 1-2 lớp tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ, xếp xuyên tâm. Gỗ cấp một gồm 3-4 tế bào hình đa giác hoặc gần tròn, xếp ly tâm nằm dưới gỗ cấp hai. Mô mềm gỗ cấp một tế bào hình đa giác, vách tam giác hoặc có khi vách còn cellulose. Mô mềm tuỷ là những tế bào đa giác hay gần tròn, kích thước không đều bị hoá mô cứng. Tinh thể calci oxalat hình khối có nhiều trong vùng mô mềm và vùng libe (Hình 2).

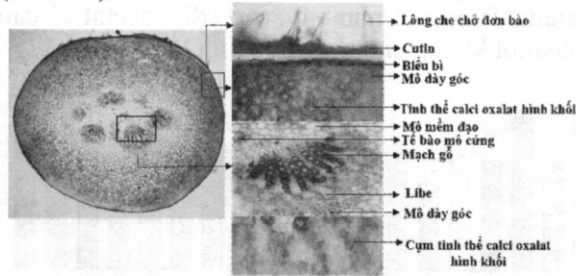


Hình 2. Cấu tạo giải phẫu của thân cây *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner

3.2.2. Đặc điểm cấu tạo giải phẫu của lá:

Cuống lá: Vi phẫu lõi ở mặt dưới, lõm ít ở mặt trên. Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình đa giác, vách cellulose, kích thước không đều, bên ngoài phủ lớp cutin dày, mang lông che chở đơn bào. Mô dày góc 5-6 lớp tế bào, kích thước không đều, vách cellulose xếp lộn xộn, rải rác chứa nhiều tinh thể calci oxalat hình khối. Mô mềm đạo gồm 7-8 lớp tế bào hình đa giác, vách cellulose, kích thước không đều, xếp lộn xộn. Hệ thống dẫn gồm 4-5 bó libe gỗ hình cung, với libe ở phía ngoài, gỗ ở phía trong, kích thước không đều, rời nhau, xếp theo một vòng tròn. Bao bên ngoài mỗi cung libe gỗ là 3-4 lớp tế bào mô dày góc. Mỗi bó dẫn

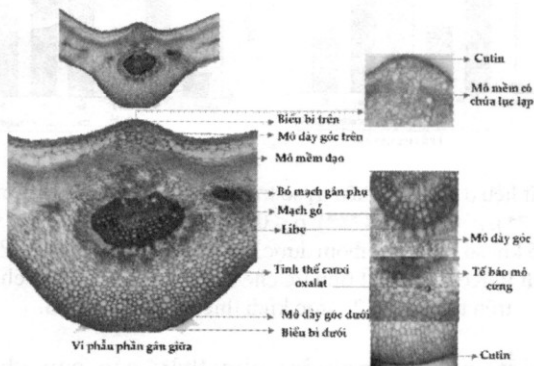
có mạch gỗ hình gần tròn, xếp thành nhiều dãy xuyên tâm gồm 5-10 dãy, xen kẽ là 1-2 dãy tế bào mô mềm gỗ. Hệ thống mô dẫn có các cụm tinh thể calci oxalat hình khối bao xung quanh (Hình 3).



Hình 3. Cấu tạo giải phẫu phần cuống lá *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner

Vi phẫu lá cắt ngang gồm 2 phần: phần gân giữa và phần phiến lá chính thức. Phần gân giữa gấp 1,5 lần phần phiến lá

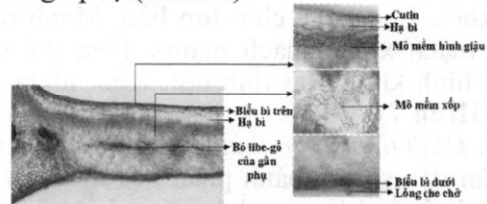
Gân giữa lồi cả 2 mặt, mặt trên lồi ít hơn mặt dưới. Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, kích thước nhỏ xếp khít nhau, tế bào biểu bì dưới kích thước nhỏ hơn hoặc bằng tế bào biểu bì trên. Bên ngoài biểu bì là một lớp cutin mỏng, vách uốn lượn. Dưới biểu bì trên là 2-3 lớp tế bào mô dày góc có hình đa giác và trên biểu bì dưới là 5-6 lớp tế bào mô dày góc tập trung ở chỗ lồi gân giữa. Mô mềm đạo gồm 3-4 lớp tế bào hình đa giác hoặc gần tròn, kích thước không đều, xếp lộn xộn. Bó dẫn xếp hình vòng cung, libe cấp một ở trên, gỗ cấp một ở dưới. Libe gồm vài lớp tế bào kích thước nhỏ, xếp lộn xộn. Mạch gỗ cấp một tế bào hình đa giác, xếp thành 20-22 dãy, mạch gỗ to thường ở giữa của dãy. Mô mềm gỗ tế bào hình đa giác, vách tấm gỗ, xếp thành 1-2 dãy xen kẽ với các dãy mạch gỗ. Mô mềm tuỷ đạo hoá mô cứng. Tinh thể calci oxalat hình khối có nhiều trong mô dày, mô mềm và libe (Hình 4).



Hình 4. Cấu tạo giải phẫu phần gân giữa *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, kích thước đều nhau,

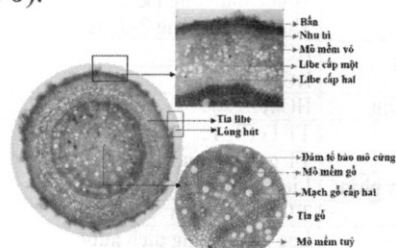
bên ngoài phủ cutin; lỗ khí tập trung ở biểu bì dưới và có một vài lông che chở đơn bào. Dưới biểu bì trên là hạ bì gồm 1 lớp tế bào lớn gấp 3-4 lần so với tế bào của biểu bì. Mô mềm giậu 1 lớp tế bào hình chữ nhật thuôn dài, xếp khít nhau. Vùng mô mềm khuyết gấp 3 lần vùng mô mềm giậu, tế bào hình đa giác hoặc gần tròn, vách cellulose, kích thước không đều. Rải rác có các bó libe gỗ phụ (Hình 5).



Hình 5. Cấu tạo giải phẫu phần phiến lá *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner

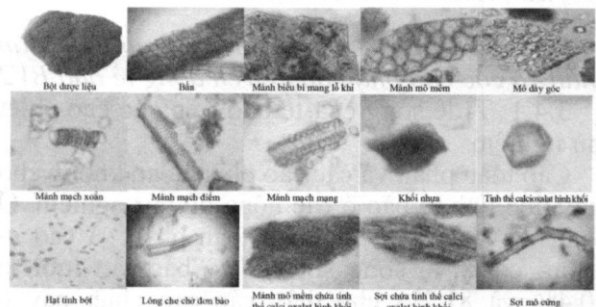
3.2.3. Đặc điểm cấu tạo giải phẫu của rễ:

Vi phẫu rễ cắt ngang có tiết diện gần tròn. Bề ngoài gồm 2-4 lớp tế bào hình chữ nhật dẹt, xếp xuyên tâm. Lục bì gồm vài lớp tế bào hình chữ nhật xếp xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình đa giác kích thước không đều, rất nhiều tế bào chứa tinh bột. Libe cấp một là những lớp tế bào đa giác kích thước rất nhỏ, xếp lộn xộn. Libe cấp hai gồm những tế bào hình chữ nhật vách bằng cellulose, xếp thành dãy xuyên tâm. Gỗ cấp hai chiếm gần hết tâm, mạch gỗ cấp hai nhiều, xếp lộn xộn, tia gỗ hẹp gồm 1-2 dãy tế bào hình chữ nhật. Mô mềm tuỷ có vách tấm chất gỗ (Hình 6).



Hình 6. Cấu tạo giải phẫu rễ cây *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner

3.2.4. Đặc điểm bột dược liệu:



Hình 7. Cấu tử trong bột dược liệu *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner

Bột dược liệu toàn cây có màu vàng nâu, mùi thơm nhẹ. Các thành phần quan sát dưới kính hiển vi gồm: Mảnh biểu bì dưới của lá mang lỗ khí kiểu hỗn bào. Mảnh mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình khối. Mảnh bần ở rễ/thân. Mảnh mô dày góc, mảnh mô mềm tế bào hình đa giác xếp khít nhau. Sợi mô cứng, vách dày, khoang hẹp, đứng riêng lẻ hay tập trung thành đám có chứa tinh thể calci oxalat hình khối. Lông che chở đơn bào. Mảnh mạch điểm, mạch xoắn, mạch mạng. Tinh thể calci oxalat hình khối. Hạt tinh bột. Khối nhựa màu vàng (Hình 7)

3.3. Định tính sơ bộ thành phần hóa thực vật

Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật cho thấy dưới ô rô chứa các nhóm hợp chất gồm: tinh dầu, coumarin, flavonoid, tannin, chất khử và saponin (Bảng 1).

Bảng 1. Sơ bộ thành phần hóa thực vật trong *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner

Nhóm hợp chất	Thuốc thử (TT)	Kết quả
Chất béo	Nhỏ dịch chiết lên giấy có vết trong mờ	-
Carotenoid	TT Carr-Price H ₂ SO ₄	-
Tinh dầu	Bay hơi dung môi, cần có mùi thơm	±
Triterpenoid tự do	Liebermann-Burchard	-
Alcaloid	Thuốc thử chung alcaloid	-
Coumarin	Phát quang trong kiềm	+
	Mỡ và đóng vòng lacton	+
Antraglycosid	KOH 10%	-
Flavonoid	Mg/HCl đậm đặc	+
Glycosid tim	Thuốc thử vòng lacton	-
	Thuốc thử đường 2-deoxy	-
Anthocyanosid	HCl	-
	KOH	-
Proanthocyanidin	HCl/t ^o	-
Tannin	TT FeCl ₃ 1%	++
	TT gelatin muối 1%	+
Triterpenoid thủy phân	Liebermann-Burchard	-
Saponin	TT Liebermann	+
	Lắc mạnh dung dịch nước	+
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	-
Chất khử	TT Fehling	+
Hợp chất polyuronic	Pha loãng với cồn 90%	-

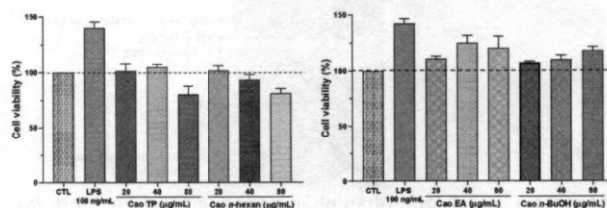
(-): chưa phát hiện; (+/-): nghi ngờ; (+, ++, +++ và ++++): hiện diện với mức độ tăng dần

3.4. Hoạt tính kháng viêm của cao cồn toàn phần và các cao phân đoạn trên dòng tế bào BV2.

3.4.1. Tỷ lệ sống của tế bào trên các cao chiết thử nghiệm:

Cao toàn phần và các cao phân đoạn không cho thấy độc tính tế bào ở các nồng độ thử nghiệm. Ở nồng độ 80 µg/mL của cao toàn phần và cao *n*-hexan có tỷ lệ sống sót của tế bào lần lượt là 80,4% và 81,2% cho thấy các cao chiết này ở nồng độ cao có tác dụng gây ức chế nhẹ sự phát triển của tế bào BV2. Tuy nhiên ở nồng độ thử

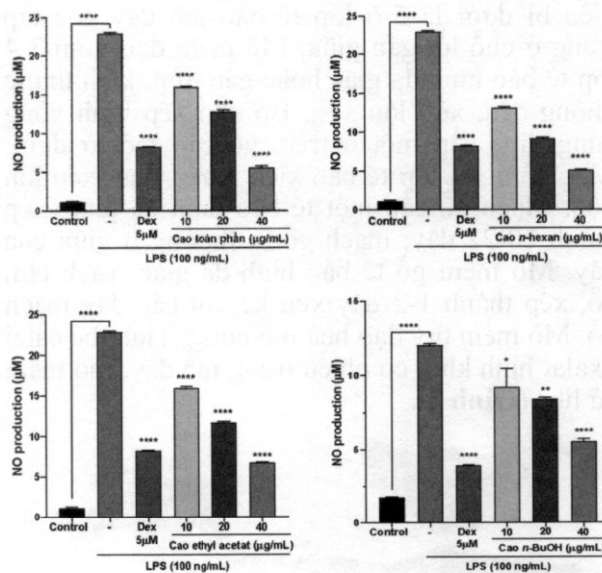
nghiệm 20 và 40 µg/mL của cả 2 cao chiết có tỷ lệ sống sót của tế bào lần lượt là 101,6% và 105,2% ở cao toàn phần, 102,1% và 93,7% ở cao *n*-hexan điều này cho thấy cả 2 cao chiết toàn phần và *n*-hexan không có độc tính tế bào ở nồng độ thử nghiệm. Tương tự như vậy, cao ethyl acetat và cao *n*-butanol không cho thấy độc tính tế bào.



Hình 8. Thử nghiệm đánh giá khả năng sống sót của tế bào BV2 trên các cao chiết sau thời gian 24h.

3.4.2. Khảo sát hoạt tính kháng viêm trên sự ức chế sinh NO trên dòng tế bào BV2:

Các cao toàn phần, cao *n*-hexan, ethyl acetat (E), và cao *n*-butanol (B) ở các nồng độ 10, 20 và 40 µg/mL được tiến hành đánh giá hoạt tính kháng viêm trên dòng tế bào microglial BV2. Dexamethason (Dex) được sử dụng làm chứng dương ở nồng độ 5 µM.



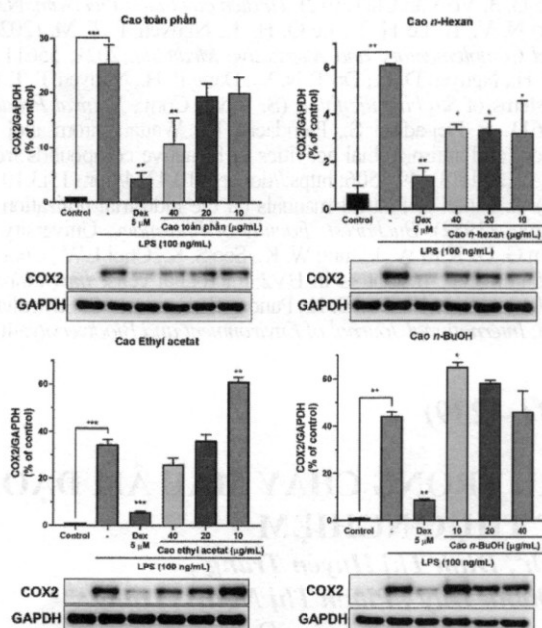
Dữ liệu được biểu diễn trị số trung bình ± SEM (n=3). Với (***): p < 0,0001; (**): p < 0,001; (*): p < 0,01; (*) p < 0,05 khi so sánh với nhóm được kích thích gây viêm bởi LPS.

Hình 9. Kết quả hoạt tính ức chế sinh NO của các cao chiết trên tế bào BV2 được kích thích viêm bởi LPS.

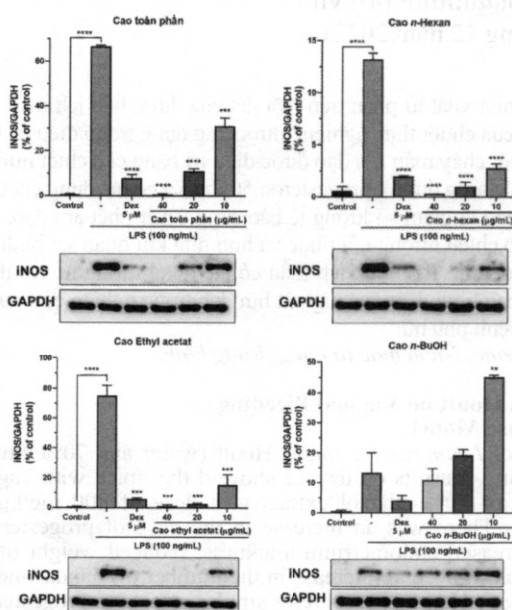
Kết quả thử nghiệm cho thấy các cao chiết đều cho hoạt tính ức chế mạnh sự sản sinh NO từ tế bào BV2 được kích thích viêm bằng LPS. Trong đó, các cao chiết toàn phần, cao *n*-hexan, cao ethyl acetat và cao *n*-butanol ở các nồng độ

40, 20 và 10 $\mu\text{g/mL}$ đều có hoạt tính ức chế NO mạnh với IC_{50} lần lượt là $25,3 \pm 1,9$; $20,2 \pm 0,12$; $20,7 \pm 0,49$; $32,3 \pm 3,6$ $\mu\text{g/mL}$. Cao *n*-butanol cho thấy hoạt tính ức chế NO trên tế bào BV2 được gây viêm bằng LPS thấp hơn so với các cao chiết khác trong cùng điều kiện thử nghiệm.

3.4.3. Khảo sát hoạt tính kháng viêm của các cao chiết thông qua cơ chế ức chế biểu hiện protein COX-2 và iNOS trên dòng tế bào BV2:



Hình 10. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế protein COX-2 của các cao chiết trên tế bào BV2 được kích thích viêm bởi LPS



Hình 11. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế protein iNOS của các cao chiết trên tế bào BV2 được kích thích viêm bởi LPS.

Dữ liệu được biểu diễn trị số trung bình $\pm$ SEM ($n=2$). Với (****): $p < 0,0001$; (***): $p < 0,001$; (**): $p < 0,01$; (*): $p < 0,05$ khi so sánh với nhóm được kích thích gây viêm bởi LPS

Kết quả đánh giá bằng phương pháp Western-blot cho thấy cao toàn phần, cao ethyl acetat ở nồng độ 40 $\mu\text{g/mL}$ ức chế mạnh sự biểu hiện của protein COX-2, không cho thấy hoạt tính ức chế ở các nồng độ 20 và 10 $\mu\text{g/mL}$. Cao *n*-hexan cho thấy hoạt tính ức chế mạnh sự biểu hiện protein COX-2 ở các nồng độ thử nghiệm (40, 20, và 10 $\mu\text{g/mL}$). Các cao chiết toàn phần, cao *n*-hexan và cao ethyl acetat đều thể hiện hoạt tính ức chế mạnh sự biểu hiện của protein iNOS ở các nồng độ thử nghiệm. Riêng cao *n*-butanol không cho thấy hoạt tính ức chế trên sự biểu hiện của cả 2 protein COX-2 và iNOS. Chất đối chứng dương được sử dụng để so sánh là dexamethason ở nồng độ 5 μM .

4. Bàn luận

Kết quả khảo sát về đặc điểm hình thái thực vật của loài dưới ô rô cho thấy tương đồng với tài liệu tham khảo đã công bố [2],[3],[7]. Kết quả khảo sát tỷ lệ sống của tế bào cho thấy cao toàn phần và các cao phân đoạn không cho thấy độc tính tế bào ở các nồng độ thử nghiệm. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng viêm ức chế sinh NO trên dòng tế bào BV2: Các cao chiết đều cho hoạt tính ức chế mạnh sự sản sinh NO từ tế bào BV2 được kích thích viêm bằng LPS. Trong đó, các cao chiết toàn phần, cao *n*-hexan, cao ethyl acetat và cao *n*-butanol ở các nồng độ 40, 20 và 10 $\mu\text{g/mL}$ đều có hoạt tính ức chế NO mạnh với IC_{50} lần lượt là $25,3 \pm 1,9$; $20,2 \pm 0,12$; $20,7 \pm 0,49$; $32,3 \pm 3,6$ $\mu\text{g/mL}$. Cao *n*-butanol cho thấy hoạt tính ức chế NO trên tế bào BV2 được gây viêm bằng LPS thấp hơn so với các cao chiết khác trong cùng điều kiện thử nghiệm. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng viêm của các cao chiết thông qua cơ chế ức chế biểu hiện protein COX-2 và iNOS trên dòng tế bào BV2 cho thấy cao toàn phần, cao *n*-hexan và cao ethyl acetat đều thể hiện hoạt tính ức chế sự biểu hiện của protein COX-2, iNOS ở các nồng độ thử nghiệm. Cao *n*-butanol không cho thấy hoạt tính ức chế trên sự biểu hiện của 2 protein COX-2 và iNOS. Riêng cao *n*-hexan và cao ethyl acetat cho thấy hoạt tính mạnh nhất từ đó định hướng cho việc phân lập các hợp chất tinh khiết trong các phân đoạn này.

5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cung cấp các thông tin về đặc điểm hình thái của loài dưới ô rô tại Gia Lai giống với các đặc điểm được mô tả trong tài liệu. Các đặc điểm cấu tạo giải phẫu của thân, lá, rễ lần đầu được mô tả chi tiết cùng các ảnh vi phẫu, cấu tử trong bột dược liệu. Kết quả sơ bộ thành phần hóa học cho thấy dưới ô rô chứa các nhóm hợp chất gồm: tinh dầu, coumarin, flavonoid, tannin, chất khử và saponin. Các kết quả này góp phần nhận diện, kiểm nghiệm dược liệu và bổ sung vào dữ liệu thực vật học, định hướng cho

các nghiên cứu tiếp theo về cây duối ô rô (*Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner).

Các cao đều có tác dụng kháng viêm mạnh thông qua việc khảo sát hoạt tính kháng viêm trên sự ức chế sinh NO trên dòng tế bào BV2. Thông qua cơ chế ức chế biểu hiện protein

COX-2 và iNOS trên dòng tế bào BV2 cho thấy cao toàn phần, cao *n*-hexan và cao ethyl acetat thể hiện hoạt tính ức chế sự biểu hiện của protein COX-2, iNOS ở các nồng độ thử nghiệm khi so sánh với chất đối đương là dexamethason ở nồng độ 5 μ M.

Tài liệu tham khảo

1. Singh B., Chettri A., Adhikari D., Barik S.K. (2012), Taxonomic history, rediscovery, and assessment of threat status of *Streblus ilicifolius* (Moraceae) from India, *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 6 (2), 611-614; <https://www.jstor.org/stable/41972449>.
2. Phạm Hoàng Hộ (2003), *Cây cỏ Việt Nam*, tập 2, NXB Trẻ, tp. Hồ Chí Minh, 542-543.
3. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội, 821-822.
4. Nguyen T. N., Dang H. P., Nguyen X. H., Do N. V. T., Le H. T., Le Q. H. T., Nguyen T. T. M. (2021), Tyrosinase Inhibitors from the stems of *Streblus ilicifolius*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 5561176; <https://doi.org/10.1155/2021/5561176>.
5. Nguyen N. T., Nguyen H. X., Le T. H., Nguyen D. H., Do T. N. V., Dang P. H., Nguyen T. T. M. (2022), Two new derivatives of 8-prenyl-5,7-dihydroxycoumarin from the stems of *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Com., *Natural Product Research*, 36(19), 4967-4972; <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1914611>.
6. Dej-adisai S., Pamdaeng K., Wattanapiromsakul C. (2016), Determination of phytochemical compounds, and tyrosinase inhibitory and antimicrobial activities of bioactive compounds from *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(3), 497-506; <https://doi.org/10.4314/tjpr.v15i3.10>.
7. Flora of China (2024), *Streblus ilicifolius* (Vidal) Corner (www.efloras.org).
8. Ciulei I., Practical manuals on the industrial utilization of medicinal and aromatic plants I. Methodology for analysis of vegetable drugs (1982), Bucharest: Faculty of Pharmacy, University of Rumania, 1, 1-67.
9. Jeong J. W., Jin C. Y., Kim G. Y., Lee J. D., Park C., Kim G. D., Kim W. J., Jung W. K., Seo S. K., Choi I. W., Choi Y. H. (2010), Anti-inflammatory effects of cordycepin via suppression of inflammatory mediators in BV2 microglial cells, *International Immunopharmacology*, 10(12), 1580-1586; <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.09.011>.
10. Roy D. K., Panday S., Sinha B. K., Sawmliana M. (2013), Taxonomic note on *Streblus* Lour. (Moraceae) in Northeast India, *International Journal of Environment and Biodiversity*, 4(2), 2278-2281.

Tạp chí Dược liệu, tập 29, số 4/2024 (Trang 234 - 239)

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA ÍCH MẪU TRONG CHẢY MÁU ÂM ĐẠO TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT THỰC NGHIỆM

**Đinh Thị Minh¹, Đặng Ngọc Tuấn Anh², Đinh Thị Huyền Trang³,
Vũ Minh Châu², Nguyễn Thị Thu Trang¹, Lê Khánh Duy¹, Phạm Thị Nguyệt Hằng^{1,4,*}**

¹Viện Dược liệu; ²Trường Đại học Dược Hà Nội; ³Trường Đại học Vinh;

⁴Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

*Email: nguyethangpt@nimm.org.vn

(Nhận bài ngày 11 tháng 12 năm 2023)

Tóm tắt

Nghiên cứu đã đánh giá được tác dụng theo hướng progesteron của chiết xuất từ phần trên mặt đất của dược liệu ích mẫu (cao chiết nước và cao chiết cồn 70%) trong mô hình kinh nguyệt như ở người của chuột thực nghiệm, được ứng dụng trong điều trị rong kinh, chảy máu âm đạo. Kết quả nghiên cứu ở ngày 12 cho thấy rằng, chuột chảy máu âm đạo được điều trị bằng cao chiết nước từ ích mẫu liều 1600 mg/kg, cao chiết cồn 70% từ ích mẫu liều 800 mg/kg và chứng dương progesteron 50 mg/kg có tác dụng cải thiện rõ rệt các triệu chứng bệnh lý, đó là làm tăng nồng độ progesteron, kéo theo là giảm số lượng tế bào sừng ở vết phết âm đạo, tăng chiều dày niêm mạc tử cung, giảm trọng lượng tử cung - buồng trứng theo chiều hướng hồi phục và hơn nữa khi quan sát hình thái mô học tử cung cho thấy tăng số lượng tuyến, niêm mạc chỉ còn bong tróc nhẹ. Tóm lại, ích mẫu có tác dụng tương tự với thuốc progesteron trong mô hình chảy máu âm đạo và ứng dụng trong điều trị rong kinh. Kết quả này rất hữu ích trong nghiên cứu cơ chế và ứng dụng của dược liệu ích mẫu theo hướng progesteron trong điều trị bệnh phụ nữ.

Từ khóa: Chảy máu âm đạo, *Leonurus japonicus* Houtt, Progesterone, Niêm mạc tử cung, Rong kinh.

Summary

Studying the Effects of *Leonurus japonicus* Houtt on Vaginal Bleeding in an Experimental Mouse Model

The study evaluated the effects of extracts from the aerial parts of *Leonurus japonicus* Houtt (water and 70% ethanol extracts) in mice for the treatment of menorrhagia and vaginal bleeding. Results on day 12 showed that mice with vaginal bleeding were treated with water extract at a dose of 1600 mg/kg, or 70% ethanol extract at a dose of 800 mg/kg, or progesterone 50 mg/kg significantly reduced pathological symptoms. There was an increase in the dose of progesterone, leading to decreased number of keratinocytes in vaginal smears, increased endometrium thickness, reduced weight of the uterus - ovaries and additionally, histological morphology of the uterus showed an increase in the number of glands, and the endometrium was only slightly peeling. In summary, *Leonurus japonicus* Houtt extracts have similar effects to progesterone in the vaginal bleeding model when applied for the treatment of menorrhagia.

Keywords: Vaginal bleeding, *Leonurus japonicus* Houtt, Progesterone, Uterine lining, Menorrhagia.

1. Đặt vấn đề

Ích mẫu (*Leonurus japonicus* Houtt) được dùng làm thuốc chữa bệnh từ lâu đời, nhất là đối

với phụ nữ sau khi sinh, chữa rong kinh, rong huyết, tử cung co hồi không tốt; rối loạn kinh nguyệt, đau bụng kinh, chảy máu âm đạo [1]. Do