

trên thế giới, chưa có nghiên cứu về phương pháp UV-VIS kết hợp mô hình toán học để định lượng đồng thời các chất trong trà hoa vàng (*Camellia sp.*), đã có nhiều nghiên cứu áp dụng UV-VIS/ANN để phân tích trên các đối tượng khác [12]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phát triển một phương pháp mới sử dụng kỹ thuật UV-VIS/ANN để phân tích định lượng đồng thời rutin và quercetin 7-*O*-glucosid trong mẫu trà hoa vàng thu tại Việt Nam. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam xác định đồng thời Ru và Qu trong hoa của trà hoa vàng bằng kỹ thuật đo quang phổ hấp thụ phân tử kết hợp với thuật toán ANN. Trong tương lai, mô hình có thể phát triển bằng cách kết hợp với các thuật toán khác và mở rộng tập dữ liệu để tăng độ chính xác của mô hình.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phát triển một phương pháp UV-VIS kết hợp mạng nơ ron nhân tạo (ANN) để phân tích định lượng đồng thời Ru và Qu trong trà hoa vàng. Với mô hình ANN 20 neuron và 2 lớp ẩn, phương pháp UV-VIS/ANN áp dụng để phân tích Ru và Qu trong trà hoa vàng có hiệu suất thu hồi cao, hệ số tương quan là 0,9976; sai số toàn phương trung bình thể hiện khả năng dự đoán nồng độ rutin và quercetin 7-*O*-glucosid trong mẫu hoa của trà hoa vàng lần lượt là 0,0418 và 0,0875. Phương pháp UV-VIS/ANN được áp dụng để phân tích hàm lượng rutin và quercetin 7-*O*-glucosid trong 10 mẫu trà hoa vàng. Kết quả thu được tương đồng với kết quả phân tích hàm lượng rutin và quercetin 7-*O*-glucosid bằng phương pháp đối chiếu HPLC.

Tài liệu tham khảo

1. Lê Nguyệt Hải Ninh (2017), Nghiên cứu phân loại chi *Camellia* L. Thuộc họ Chè - Theaceae ở Việt Nam, Luận án TS Sinh học Thực vật, Trường ĐHKHTN, ĐHQG Hà Nội.
2. Nguyễn Tiến Bản (chủ biên) (2003), *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, T.II; NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
3. Đỗ Văn Tuấn (2015), Một số kết quả bảo tồn hai loài trà hoa vàng tam đảo (*Camellia tamdaoensis* Hakoda et Ninh) và Trà vàng pêtêlô (*Camellia petelotii* (Merr.) Sealy), thuộc chi Chè (*Camellia* L.) tại VQG Tam Đảo, *Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị KH toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật lần thứ 6*, 1791-1797.
4. Hoàng Quỳnh Hoa, Trần Văn Ôn, Nghiêm Đức Trọng, Phạm Thị Linh Giang, Ngô Thị Thảo, Đỗ Thị Thảo (2016), Đặc điểm thực vật và một số tác dụng sinh học *in vitro* của một loài trà hoa vàng thu hái tại huyện Ba Chẽ, tỉnh Quảng Ninh, *Tạp chí Nghiên cứu dược Thông tin thuốc*, Số 4+5.
5. Nguyễn Kim Bích, Nguyễn Tập, Trần Ninh (2007), Bước đầu khảo sát thành phần hóa học của một số loài trà hoa vàng (*Camellia sp.*) ở Việt Nam, *Tuyển tập báo cáo KH. Hội thảo Quốc tế về trà hoa vàng lần thứ hai*; Tam Đảo, Vĩnh Phúc, Việt Nam, 25/1/2007.
6. Lin J. N., Lin H. Y., Yang N. S., Li Y. H., Lee M. R., Chuang C. H., Wav T. D. (2013), Chemical constituents and anticancer activity of yellow camellias against MDA-MB-231 human breast cancer cells, *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(40), 9638-9644.
7. Đặng Quang Bích, Đặng Quang Hưng, Trần Văn Cao, Hoàng Nguyễn Việt Hoa (2021), Hàm lượng một số hợp chất có hoạt tính sinh học trong lá và nụ hoa cây trà hoa vàng (*Camellia chrysanthoides*) thu thập tại Quảng Ninh, *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển Nông thôn*, Kỳ 1+2 - tháng 2/2021, 46-54.
8. Đặng Quang Bích, Nguyễn Thị Phương Thảo, Nguyễn Văn Phú, Ninh Thị Thảo, Hoàng Hải Hà, Vũ Thị Hải Hà, Đoàn Thị Thu Hà, Nguyễn Thị Thùy Linh, Đinh Trường Sơn (2017), Đánh giá đa dạng nguồn gen 25 mẫu trà hoa vàng (*Camellia spp.*) thu thập tại Quảng Ninh bằng chỉ thị RADP và ISSR, *Tạp chí khoa học nông nghiệp Việt Nam*, 15(8), 1077-1092.
9. ICH (1996), Validation of Analytical Procedures: Text and methodology, *ICH Harmonised Tripartite Guideline*.
10. AOAC International (2013), Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals, *AOAC Official*.
11. Trần Thị Huế, Trần Thùy Dung, Tạ Thị Thảo, Nguyễn Văn Ri (2019), Định lượng đồng thời caffein, theobromin, theophyllin trong chè bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử kết hợp với hồi quy đa biến, *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, 24(1), 192 - 196.
12. Khanchi A. R., Mahani M. K., Hajhosseini M., Maragheh M. G., Chaloosi M., and Bani F. (2007), Simultaneous spectrophotometric determination of caffeine and theobromine in Iranian tea by artificial neural networks and its comparison with PLS, *Food Chemistry*, 103(3), 1062-1068.

Tạp chí Dược liệu, tập 28, số 5/2023 (Trang 298 - 303)

TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM CỦA CAO CHIẾT ETHANOL DÂY ĐAU XƯƠNG TRÊN MÔ HÌNH VIÊM MẠN VÀ VIÊM KHỚP DẠNG THẤP THỰC NGHIỆM

**Nguyễn Thị Phương*, Nguyễn Văn Hiệp, Trần Thị Hồng Vân, Phạm Như Thơ,
Phạm Thị Nguyệt Hằng, Lê Thị Xoan**

Khoa Dược lý - Sinh hóa, Viện Dược liệu

*Email: phuongduocly@gmail.com

(Nhận bài ngày 01 tháng 3 năm 2023)

Tóm tắt

Dây đau xương được dùng trong dân gian để chữa các bệnh thấp khớp, tê bại, đau mình mẩy, bong gân, trật khớp. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng của cao chiết ethanol dây đau xương (DEX) trong việc ức chế sản sinh nitric oxid (NO) gây bởi lipopolysaccharide (LPS) trên dòng tế bào RAW 264.7; đánh giá tác dụng chống viêm mạn trên mô hình chuột nhắt trắng gây u hạt thực nghiệm bằng bông tẩm carrageenan 1% và đánh giá tác dụng chống viêm khớp dạng thấp trên

mô hình gây viêm khớp bằng Complete Freund's Adjuvant (CFA) trên chuột cống trắng. Kết quả cho thấy, DĐX đã ức chế sự sinh NO tại các nồng độ 25, 50, 100 và 200 µg/ml với phần trăm ức chế lần lượt là 11,5%; 15,9%; 33,1% và 75,5 %. Nghiên cứu trên mô hình u hạt thực nghiệm cho thấy DĐX ở cả 2 mức liều 500 và 1000 mg/kg đều ức chế đáng kể sự tăng khối lượng u hạt cả tươi và khô. Hơn nữa trên mô hình viêm khớp gây bởi CFA, DĐX liều 700 mg/kg có tác dụng giảm đáng kể sự tăng đường kính khớp và xu hướng giảm thể tích phù chân chuột. Những kết quả trong nghiên cứu này đã gợi ý rằng DĐX có lợi trong điều trị chống viêm mạn tính, viêm khớp dạng thấp trên mô hình động vật thực nghiệm.

Từ khóa: Đau đầu xương, Nitric oxid, Viêm mạn, CFA.

Summary

Anti-Inflammatory Effects of a *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr. Ethanolic Extract on Granulomatous Inflammation and Arthritis Animal Models

Tinospora sinensis is used in folk medicine to treat rheumatic diseases, paralysis, body aches, and sprains... The aim of this study was to evaluate the effects of *T. sinensis* dried (TSE) extracted by ethanol in inhibiting Lipopolysaccharide (LPS)-induced nitric oxide (NO) production on RAW 264.7 cell line; the chronic anti-inflammatory effects on an experimental mouse model of formation of granulation tissues by cotton pellet impregnated with 1% carrageenan and the anti-rheumatic effect on the model of arthritis by Complete Freund's Adjuvant (CFA). The results showed that TSE inhibited NO production at concentrations of 25, 50, 100, and 200 µg/ml without affecting cell survival. At doses of 500 and 1000 mg/kg, TSE inhibited the increase in the weight of both wet and dried granuloma. Moreover, TSE at a dose of 700 mg/kg tended to reduce the volume of rat paw edema, reducing the increase in joint diameter caused by CFA. These findings suggested that TSE may be useful for treatment of chronic inflammation including rheumatoid arthritis.

Keywords: *Tinospora sinensis*, Nitric oxide, Chronic inflammation, CFA.

1. Đặt vấn đề

Đau đầu xương có tên khoa học là *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr. họ Tiết dê (Menispermaceae). Ở Việt Nam, dây đau xương là một vị thuốc được dùng nhiều trong dân gian để chữa các bệnh thấp khớp, tê bại, đau mình mẩy, bong gân, trật khớp. Trong y học cổ truyền Trung Quốc, dây đau xương được dùng cho bệnh thấp khớp, căng cơ thắt lưng và đau thần kinh tọa [1]. Trên thế giới, có khá nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của dây đau xương; về đánh giá tác dụng chống viêm khớp trên chuột cống gây bởi collagen cũng cho thấy cao chiết phân đoạn ethyl acetat có tác dụng có thể theo cơ chế ức chế sản sinh các cytokin tiền viêm [2].

Ở trong nước đã có một số nghiên cứu về dây đau xương như nghiên cứu thành phần hóa học, phân lập chất, đánh giá tác dụng sinh học như: Đánh giá tác dụng hạ đường huyết gây bởi streptozotocin [3]; Tác dụng giảm đau và chống viêm [4]; Tác dụng chống viêm, chống oxy hóa [5]. Gần đây nhất, *Chương Thị Ngọc Hiếu và cs.* cho thấy DĐX có tác dụng hạ acid uric máu, giảm đau và kháng viêm trong hỗ trợ điều trị gút [6].

Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào về tác dụng ức chế sản sinh NO hay viêm mạn cũng như trên viêm khớp của DĐX. Nghiên cứu này sẽ đánh giá ảnh hưởng của DĐX trên các tác dụng đó.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phân trên mặt đất dây đau xương được thu hái vào tháng 3 năm 2021 tại huyện Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên. Dược liệu được phơi khô, cắt nhỏ được 1 kg, chiết nóng 3 lần với ethanol 70%. Sau khi lọc, gộp dịch chiết 3 lần, cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 124 g cao khô.

2.1.1. Động vật thí nghiệm:

Chuột cống trắng, cả đực và cái, chủng Wistar trưởng thành có trọng lượng 180-200 g được cung cấp bởi cơ sở chăn nuôi và cung cấp con giống thí nghiệm tại Đan Phượng dùng để đánh giá tác dụng chống viêm khớp.

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss* khỏe mạnh, nặng 25-27 g, được cung cấp bởi Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương dùng để đánh giá tác dụng chống viêm mạn.

Chuột sau khi mua về được nuôi ổn định trong vòng 1 tuần tại phòng chăn nuôi khoa Dược lý - Sinh hóa, Viện Dược liệu với nhiệt độ duy trì $25 \pm 2^\circ\text{C}$, chu kỳ sáng/tối là 12 giờ.

2.1.2. Trang thiết bị và hóa chất nghiên cứu:

Trang thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Tủ nuôi cấy tế bào (Sanyo, Nhật Bản), máy đọc microplate reader (Human, Mỹ), máy đo thể tích Ugo Basile Plethysmometer (Italy), máy li tâm, tủ sấy và các trang thiết bị thông thường khác.

Các hóa chất sử dụng: Complete Freund's Adjuvant (CFA, Sigma), λ-carrageenan (Sigma), DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium; Gibco™-Mỹ), huyết thanh thai bò (Fetal bovin serum-FBS; Gibco™, Hoa Kỳ), MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Invitrogen™, Hoa Kỳ); DMSO (Dimethyl sulfoxid; Fisher - Mỹ). N-Nitro-L-arginin methyl ester hydroclorid (L- NAME, Sigma), Lipopolysaccharid (LPS, Sigma), cồn công nghiệp và các hóa chất thông thường khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá khả năng gây độc tế bào:

Tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng với mật độ 4×10^4 tế bào/ giếng ở 37°C , 5% CO_2 và độ ẩm 95% trong 24 h. Sau đó, thêm vào mỗi giếng các nồng độ khác nhau DĐX (0; 12,5; 25; 50; 100 và 200 µg/ml). Mỗi nồng độ được cho

vào 3 giếng và thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần. 24 h sau khi ủ mẫu, tiến hành đánh giá khả năng gây độc tế bào bằng thử nghiệm MTT: thêm 10 μ l dung dịch MTT 5 mg/ml vào mỗi giếng, ủ trong 3h ở 37°C, 5% CO₂/95% độ ẩm, loại bỏ môi trường nuôi cấy và thêm vào 200 μ l DMSO/giếng để hòa tan formazan tạo thành. Đo mật độ quang ở bước sóng 540 nm. Mật độ quang sẽ phản ánh số lượng tế bào sống sót.

$$\% \text{ tế bào sống} = \frac{\text{OD}_{540} \text{ của tế bào được xử lý}}{\text{OD}_{540} \text{ của tế bào không được xử lý thuốc}}$$

2.2.2. Đánh giá khả năng ức chế NO:

Tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy với mật độ 4×10^4 tế bào/ giếng vào đĩa 96 giếng, nuôi cấy ở 37°C, 5% CO₂/ 95% độ ẩm trong 24 h. Sau 24 h, tế bào được xử lý với các nồng độ khác nhau DDX (0; 12,5; 25; 50; 100 và 200 μ g/ml) hoặc L-NAME 250 μ M và ủ trong 1 h trước khi được kích thích bằng LPS (1 μ g/ml) trong 20 h tiếp theo. Lượng NO sinh ra được định lượng bằng thuốc thử Griess bằng cách thêm 50 μ l sulphanilamid 1% (Sigma, Mỹ) và 50 μ l N-(1-Naphthyl)ethylenediamin dihydroclorid 0,1% (Sigma, Mỹ) trong acid photphoric 5% (Fisher, Mỹ) vào 100 μ l dịch nuôi cấy trong mỗi giếng và ủ ở nhiệt độ phòng 15 phút trong bóng tối. Đo mật độ quang ở bước sóng 540 nm. Hàm lượng NO được tính toán dựa trên phương trình đường chuẩn theo nồng độ của NaNO₂. Mỗi nồng độ được tiến hành thử nghiệm trên 3 giếng và thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần.

2.2.3. Đánh giá tác dụng chống viêm mạn của DDX trên mô hình gây u hạt thực nghiệm:

Tác dụng chống viêm mạn được dựa theo mô hình gây u hạt thực nghiệm trên chuột nhắt trắng có thay đổi cho phù hợp điều kiện [7],[8]. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 8 con, gồm có: Lô chứng bệnh lý (lô 1): uống nước; Lô uống DDX liều 500 mg/kg (lô 2); Lô uống DDX liều 1000 mg/kg (lô 3); Lô chứng dương uống prednisolon liều 7 mg/kg (lô 4). Cây u cho chuột như sau: gây mê chuột bằng cloral hydrat, cạo lông phía trên đùi phải sau, sát trùng bằng ethanol 70%, rạch da và đưa một viên bông 10 mg có tẩm carrageenan 1% đã được sấy khô tiệt trùng vào phần dưới da lưng, khâu vết mổ, sát trùng lại. Chuột được uống nước hoặc mẫu nghiên cứu hàng ngày trong 10 ngày liên tục. Sau 10 ngày, bóc tách u hạt và cân được khối lượng u ướt, sấy 60°C cho đến khi khối lượng u không đổi được khối lượng u khô. Kết quả được tính theo khối lượng ướt và khô của u hạt, so sánh giá trị khối lượng trung bình của lô dùng mẫu so với lô chứng bệnh lý và % ức chế u hạt của lô mẫu thử so với lô chứng bệnh lý theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = 100 \times (m_c - m_t) / m_c (\%)$$

Trong đó: m_c : khối lượng u hạt ướt/ khô của lô chứng bệnh lý

m_t : khối lượng u hạt ướt/ khô của lô uống mẫu thử

2.2.4. Đánh giá tác dụng chống viêm khớp của DDX trên mô hình gây bởi Chất bổ trợ Freund đầy đủ (Complete Freund's adjuvant - CFA):

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp của Pearson [9] có thay đổi cho phù hợp. Tóm tắt phương pháp như sau: Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 5 lô thí nghiệm, mỗi lô 10 con: lô 1 (chứng sinh lý) uống nước cất, lô 2 (chứng bệnh lý) tiêm CFA và uống nước cất, lô 3 tiêm CFA và uống DDX liều 350 mg/kg (DDX 350), lô 4 tiêm CFA và uống DDX liều 700 mg/kg (DDX 700), lô 5 tiêm CFA và uống prednisolon liều 10 mg/kg (Prednisolon). Ngày 1, sau khi uống mẫu thử 1 giờ, chuột được tiêm 0,06 ml CFA vào dưới da gan bàn chân phải. Chuột được cho uống mẫu thử hàng ngày trong 28 ngày liên tục. Đo thể tích bàn chân phải và đo đường kính khớp gối chân phải chuột vào ngày 0 (ngay trước ngày thí nghiệm) và các ngày 4, 7, 14, 21 và 28.

Đánh giá kết quả: Kết quả được hiển thị dưới dạng % tăng của các chỉ số so với ngày 0 được tính theo công thức:

$$\% \text{ tăng} = 100 \times (\text{Chỉ số ngày } n - \text{Chỉ số ngày } 0) / \text{Chỉ số ngày } 0 (\%)$$

Trong đó: - Chỉ số ngày n: thể tích bàn chân (đường kính khớp) chuột ở ngày n.

- Chỉ số ngày 0 là thể tích bàn chân (đường kính khớp) chuột ở ngày 0.

% ức chế I của cao chiết so với lô chứng bệnh lý được tính theo công thức:

$$I = 100 \times (C_b - C_t) / C_b (\%)$$

Trong đó: - C_b : chỉ số (% tăng thể hoặc đường kính khớp) của lô bệnh lý

- C_t : chỉ số (% tăng thể hoặc đường kính khớp) của lô uống mẫu

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu:

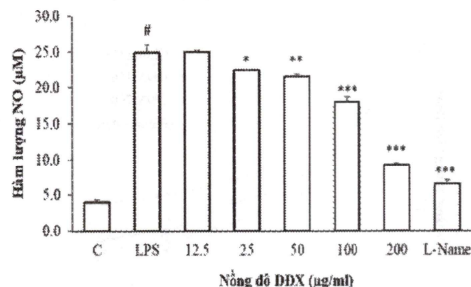
Các số liệu thực nghiệm thể hiện dưới dạng giá trị trung bình $M \pm SE$ (sai số chuẩn), được xử lý thống kê theo thuật toán thống kê ANOVA sử dụng phần mềm phân tích SPSS v25. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thử nghiệm sự sống sót tế bào và khả năng ức chế oxid nitric (NO) của DDX

NO có vai trò quan trọng trong sinh lý và sinh lý bệnh của bệnh tật. Khi sự tổng hợp NO tăng cao thì nó có liên quan đến các bệnh viêm mạn tính, NO tăng quá mức lại thấy ở nhiều loại bệnh ung thư [10]. Do đó, nghiên cứu ban đầu đánh giá sàng lọc tác dụng ức chế sản sinh NO của cao

chiết DDX trên dòng tế bào RAW 264.7 để làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả cho thấy, tế bào được xử lý với LPS đã sản sinh ra một lượng lớn NO so với tế bào không được xử lý với L-NAME (chất ức chế sự tổng hợp NO) ở nồng độ 250 μM đã ức chế đáng kể hàm lượng NO. DDX ở các nồng độ đã thử cho thấy có sự



Hình 1. Tác dụng ức chế sinh NO của DDX.

(Ghi chú: Khác biệt so với nhóm C (tế bào RAW 264.7 không kích thích LPS): # < 0,0001. Khác biệt so với nhóm LPS: * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001)

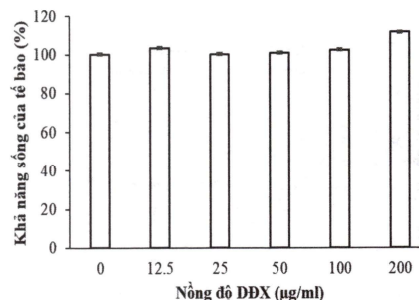
Để đánh giá sự giảm hàm lượng NO ở các mẫu xử lý với cao chiết là do tác dụng ức chế sự tạo NO hay do độc tế bào RAW 264.7, thử nghiệm sống sót tế bào đã được tiến hành với các nồng độ DDX như trên. Kết quả cho thấy ở tất cả các nồng độ đã thử, tỷ lệ sống của tế bào là tương tự như nhóm chứng không xử lý với cao chiết (Hình 2). Như vậy, ở các nồng độ này, DDX không gây độc tế bào và có tác dụng ức chế sự sinh NO. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với những nghiên cứu trên thế giới đã công bố về tác dụng ức chế sinh NO của một số hợp chất được phân lập từ dây đau xương: citrusin B, picraquassiosid C, erythro-guaiacylglycerol- β -O-4'-coniferyl alcohol, erythro-guaiacylglycerol-8-O-4'-(sinapyl alcohol) ether, erythro-syringylglycerol-8-O-4'-(sinapyl alcohol) ether có IC₅₀ từ 38,53 to 99,07 μM [11] tinsinlignans A và B có lần lượt là 18,5 và 28,8 $\mu\text{mol/L}$ [12].

Như vậy, tác dụng ức chế sinh NO trong thử nghiệm này của DDX đã phần nào sáng tỏ việc sử dụng dây đau xương trong điều trị bệnh về viêm, viêm xương khớp... và cũng là cơ sở để tiếp tục tiến hành những thử nghiệm trên mô hình gây viêm mạn, viêm khớp trên chuột.

3.2. Tác dụng chống viêm mạn của DDX trên mô hình gây u hạt thực nghiệm

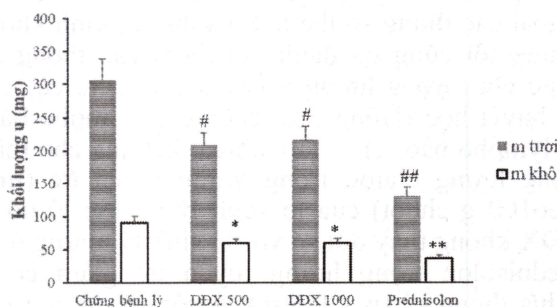
Trong thử nghiệm này, DDX liều 500 mg và 1000 mg/kg đã có tác dụng ức chế sự phát triển của u hạt thể hiện qua sự làm giảm khối lượng u hạt tươi (cân ngay sau khi bóc tách) và khối lượng u khô (cân sau khi sấy đến khối lượng không đổi). Với khối lượng u tươi, liều 500 mg và 1000 mg/kg đã ức chế 31,6 và 29,1% sự tăng khối lượng so với

ức chế tạo NO theo kiểu phụ thuộc nồng độ. Ở nồng độ 12,5 $\mu\text{g/ml}$, DDX chưa ức chế sự sinh NO; nồng độ 25; 50; 100 và 200 $\mu\text{g/ml}$ DDX đã ức chế lần lượt là 11,5; 15,9; 33,1 và 75,5%, trong khi đó L-NAME ở nồng độ 250 μM đã ức chế 88,2 % (Hình 1). Tính toán được IC₅₀ là 136,6 $\mu\text{g/ml}$.



Hình 2. Ảnh hưởng của DDX đến khả năng sống của tế bào RAW 264.7

lô chứng bệnh lý đạt p < 0,01; với khối lượng u khô sự ức chế cũng tương tự, p < 0,01. Lô chứng dương uống prednisolon cho thấy tác dụng ức chế tốt theo cả hai dạng tươi và khô, p < 0,001 (Hình 3). Carragenin là polysaccharid, có khả năng kích thích quá trình viêm, cơ thể chuột sẽ phản ứng viêm bằng cách tập trung nhiều tế bào, tạo ra mô bào lưới, nguyên bào sợi bao quanh vật lạ làm tăng khối lượng khô u hạt cũng như tăng dịch rỉ làm tăng khối lượng tươi u [13], trong quá trình đáp ứng viêm, một lượng lớn NO được sinh ra kéo theo sự tăng anion superoxid và phản ứng kết hợp NO và superoxid sẽ tạo ra gốc tự do peroxynitrit có tác động oxy hóa và gây tổn thương viêm mạnh [14]. Như vậy DDX ở cả 2 mức liều đã ức chế cả quá trình tiết dịch và sự tăng sinh mô trong viêm mạn có thể là do ức chế sản sinh NO làm giảm quá trình viêm và giảm sự tập trung của tế bào tại vị trí u nên giảm khối lượng u.

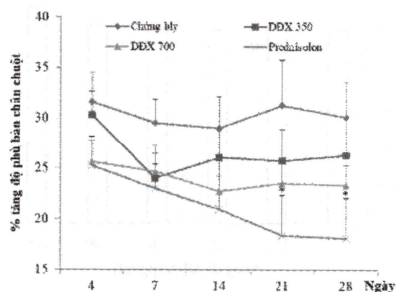


Hình 3. Tác dụng ức chế sự tăng khối lượng u hạt thực nghiệm của DDX (n=8).

(Chú thích: #: p < 0,05 và ##: p < 0,01 so với m tươi chứng bệnh lý. *: p < 0,05 và **: p < 0,01 so với m khô chứng bệnh lý).

3.3. Đánh giá tác dụng của DDX trên viêm khớp dạng thấp ở chuột cống trắng

Mô hình viêm khớp dạng thấp bằng cách tiêm CFA dưới da gan bàn chân chuột cống trắng là mô hình tiên tiến trên thế giới được dùng để đánh giá hiệu quả điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp, với các tiêu chí đánh giá phổ biến là mức độ sưng phù chân và sự thay đổi đường kính khớp. Kết quả



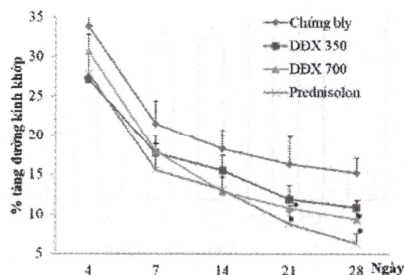
Hình 4. Ảnh hưởng của DDX lên sự tăng độ phù bàn chân chuột (n=10, lô prednisolon n=6)

Kết quả hình 5 cho thấy, đường kính khớp chân tiêm CFA tăng mạnh vào ngày thứ 4 sau tiêm, sau đó giảm dần cả ở lô chứng bệnh lý. Hai lô uống DDX 350 và 700 mg/kg và prednisolon đều có xu hướng ức chế sự tăng này so với lô chứng bệnh lý. Đến ngày thứ 21, % tăng đường kính khớp của lô DDX 700 đã nhỏ hơn lô bệnh lý đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) và tác dụng này kéo dài đến ngày 28 (kết thúc thí nghiệm). Lô prednisolon cũng đã ức chế sự tăng đường kính khớp đạt ý nghĩa thống kê từ ngày thứ 21 ($p < 0,05$).

Bên cạnh các tiêu chí nêu trên, trong mô hình viêm khớp bởi CFA, một số nhóm tác giả cũng đánh giá một số thông số khác tùy theo mục tiêu nghiên cứu, điều kiện của phòng thí nghiệm như: điểm viêm khớp, các protein liên quan đến viêm, các marker chống oxy hóa, trọng lượng các cơ quan liên quan đến miễn dịch (tuyến ức, lá lách), bạch cầu... [15],[16]. Trong nghiên cứu này, chỉ có chân tiêm CFA có sự thay đổi thể tích và đường kính khớp, các chân còn lại bình thường. Ngoài các thông số thể tích và đường kính khớp, chúng tôi cũng đã đánh giá thêm các thông số khác như: trọng lượng tuyến ức, lá lách, các chỉ số huyết học (Hồng cầu, bạch cầu, lympho bào, % lympho bào...)... Tuy nhiên, kết quả cho thấy trọng lượng chuột, trọng lượng tuyến ức (tính theo 100 g chuột) của lô bệnh lý và các lô uống DDX không thay đổi so với lô sinh lý nhưng ở lô prednisolon trọng lượng tuyến ức giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) so với các lô còn lại, trọng lượng chuột giảm, chuột gầy yếu hơn các lô khác; Các lô tiêm CFA có xu hướng tăng số lượng bạch cầu, giảm số lượng lympho bào và giảm có ý nghĩa thống kê % lympho bào so với lô

sinh lý trong khi lô prednisolon làm giảm mạnh số lượng bạch cầu, lympho bào và % lympho bào đạt ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý (số liệu không đưa ra ở đây). Kết quả này phù hợp với ý kiến cho rằng viêm khớp là bệnh mạn tính có liên quan đến hệ thống miễn dịch và prednisolon là thuốc ức chế miễn dịch và cho thấy DDX chưa tác động đến các yếu tố liên quan đến miễn dịch đã được đánh giá.

Trong nghiên cứu này, mặc dù DDX thể hiện tác dụng ức chế NO và chống viêm mạn đáng kể trên mô hình gây viêm mạn trên thực nghiệm nhưng tác dụng trên mô hình viêm khớp dạng thấp thực nghiệm còn khá hạn chế (làm giảm đường kính khớp nhưng chưa làm giảm mức độ phù bàn chân). Tuy nhiên, hiện nay điều trị viêm khớp chủ yếu dựa vào các thuốc giảm đau, chống viêm steroid và không steroid, nhóm các thuốc được kỳ vọng có tác dụng chống thấp khớp (disease modifying anti rheumatic drugs - DMARDs), kháng thể đơn dòng; các thuốc này được dùng để giảm nhẹ các triệu chứng và làm chậm diễn tiến của bệnh tuy nhiên hay gặp phải các tác dụng phụ như: đau dạ dày, độc cho thận, mất protein, ảnh hưởng hệ miễn dịch... [17]. Điều này cho thấy, để tìm ra được thuốc điều trị thấp khớp dạng thấp là khó khăn nên từng bước nghiên cứu, sàng lọc dược liệu có tác dụng hỗ trợ điều trị viêm khớp vẫn rất cần thiết và việc tìm ra dược liệu có tác dụng tốt với tất cả các thông số đánh giá trong viêm khớp là không dễ dàng... Như vậy, kết quả nghiên cứu này đã góp phần làm sáng tỏ kinh nghiệm sử dụng DDX trong điều trị các bệnh lý liên quan đến viêm như bệnh khớp, tê bại, đau mình mảy, bong gân,



Hình 5. Ảnh hưởng của DDX lên sự tăng đường kính khớp gối chuột (n=10, lô prednisolon n=6).

trật khớp và cũng có liên quan với kết quả trong nghiên cứu của Xiong, H và cs. [2] đã chứng tỏ phân đoạn ethyl acetat của cao chiết ethanol dây đau xương có tác dụng ức chế viêm khớp trên mô hình gây bởi collagen với sự ức chế sản sinh các cytokin tiền viêm như TNF- α , IL-1 β and IL-6 và theo con đường tín hiệu điều hòa giảm MAPK. Đây cũng là tiền đề gợi ý cho các nghiên cứu tiếp theo cần đi sâu để làm sáng tỏ thành phần hoạt chất có tác dụng chống viêm trong DDĐX, tập trung vào phân đoạn chiết ethyl

acetat nhằm tăng cường hiệu quả điều trị của loại dược liệu này.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi bước đầu cho thấy DDĐX có tác dụng chống viêm mạn trên chuột nhắt trắng và ức chế tăng đường kính khớp trên mô hình gây viêm khớp dạng thấp trên chuột công trắng.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này là kết quả nghiên cứu của đề tài cấp cơ sở số 20/2021/HĐ-ĐTCS-DLSH của Viện Dược liệu.

Tài liệu tham khảo

1. Wu Z. Y., Chen X. Q. (1996), Flora of China [M]. Beijing: Science Press, 30(1), 20.
2. Xiong H., Ding X., Wang H., Jiang H., Wu X., Tu C., Wu C., Pi Y., Yang G., Zhao Z., Mei Z. (2019), Tibetan medicine Kuan-Jin-Teng exerts anti-arthritis effects on collagen-induced arthritis rats via inhibition the production of pro-inflammatory cytokines and down-regulation of MAPK signaling pathway, *Phytomedicine*, 57, 271-281.
3. Đỗ Ngọc Liên, Lê Thị Xoan, Nguyễn Thị Thanh Ngân, Nguyễn Thị Thuý Quỳnh (2007), Nghiên cứu thành phần hoá học và tác dụng hạ đường huyết của dây đau xương (*Tinospora sinensis* (Lour.) Merr) trên mô hình chuột nhắt gây đái tháo đường bằng streptozocin, *Tạp chí Dược học*, 10, 8-11.
4. Nguyễn Trần Giáng Hương (2003), Sơ bộ đánh giá tác dụng giảm đau và chống viêm của dây đau xương, *Y học thực hành*, 9, 23-25.
5. Nguyễn Thu Hiền, Trần Văn Hiền, Trần Thanh Loan, Phạm Thanh Hà, Đào Diệu Thúy (2005), Tác dụng chống viêm, chống oxy hóa của dây đau xương, *Tạp chí Dược liệu*, 6, 188-192.
6. 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 trong hỗ trợ điều trị bệnh Gút, *Tạp chí Dược liệu*, 27 (5), 291-297.
7. Viện Dược liệu (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 142-143.
8. Nguyễn Văn Thoan, Trần Thị Thu Hiền, Nguyễn Duy Thuần, Phương Thiện Thương (2016), Tác dụng chống viêm cấp và mạn của hợp chất ent-7 β -hydroxy-15-oxokaur-16-en-18-yl acetate từ khổ sâm cho lá, *Khoa học Y Dược*, 32 (2), 26-31.
9. Holmdahl R., Lorentzen J. C., Lu S., Olofsson P., Wester L., Holmberg J., Pettersson U. (2001), Arthritis induced in rats with non-immunogenic adjuvants as models for rheumatoid arthritis, *Immunological Reviews*, 184, 184-202.
10. Rebecca F. L. N., Nurhayati Z. A., Adawiyah S. S., Daud A. I. A. (2015), Inhibition of nitric oxide production by *Solanum melongena* and *Solanum macrocarpon* on RAW 264.7 cells, *Frontiers in Life Science*, 8 (3), 241-248.
11. Bui Thị Mai Anh, Do Thị Trang, Hoàng Thị Tuyền Lan, Phan Văn Kiêm, Bui Huu Tài, Nguyen Viet Dung, Ninh Khách Thanh Nam, Nguyen The Cuong, Nguyen Xuan Nhiem, Nguyen Thi Mai (2022), Constituents of *Tinospora sinensis* and their nitric oxide inhibitory activities, *Journal of Asian Natural Products Research*, 1-7. doi: 10.1080/10286020.2022.2113975.
12. Zhang J. S., Xu D. F., Cao X. X., Wang Z. Z., Zhang H. (2021), Lignans with NO inhibitory activity from *Tinospora sinensis*, *Chinese Journal Natural Medicines*, 19(7), 500-504.
13. Patel M., Murugananthan, Gowda S. K. P. (2012), In vivo animal models in preclinical evaluation of anti-inflammatory activity- a review, *International journal of pharmaceutical research and allied sciences*, 1(2): 01- 05.
14. Guzik T. J., Korbust R., Adamek T. G. (2003), Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 54(4), 469-87.
15. Weng W., Wang F., He S., Zhou K., Wu X., Wu X. (2021), Protective effect of Corynoline on the CFA induced Rheumatoid arthritis via attenuation of oxidative and inflammatory mediators, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476(2), 831-839.
16. Zhu L., Zhang Z., Xia L., Zhang W., Wei Y., Huang J., Ren Z., Meng F., Yang L. (2020), Anti-arthritis activity of ferulic acid in complete Freund's adjuvant (CFA)-induced arthritis in rats: JAK2 inhibition, *Inflammopharmacology*, 28, 463-473.
17. Jayanti P. G., Hitendra S. M., Sanjay S. S. (2019), Quercetin loaded nanoemulsion-based gel for rheumatoid arthritis: In vivo and in vitro studies, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108622.

Tạp chí Dược liệu, tập 28, số 5/2023 (Trang 303 - 308)

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG HẠ ACID URIC VÀ KHÁNG VIÊM CỦA ĐÌNH LĂNG TRONG HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ BỆNH GÚT TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Nguyễn Hoàng Minh^{1*}, Hoàng Thái Bảo¹, Trần Thái Dương¹, Nguyễn Thụy Ngân Hà¹,
Nguyễn Thị Thu Hương²

¹Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh - Viện Dược liệu;

²Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

*Email: hoangminhtkd90@gmail.com

(Nhận bài ngày 24 tháng 4 năm 2023)

Tóm tắt

Nghiên cứu tiến hành đánh giá hoạt tính dọn gốc tự do 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), ức chế peroxy hóa lipid tế bào và ức chế xanthin oxidase của các cao chiết nước, cao chiết ethanol 45%, cao chiết ethanol 80% từ đình lăng (PF-AE, PF-EE1, PF-EE2; tương ứng), nhằm sàng lọc cao chiết tiềm năng từ đình lăng để khảo sát tác dụng hạ acid uric máu, kháng viêm cấp. Kết quả đã cho thấy rằng PF-EE2 là cao chiết tiềm năng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa và ức chế xanthin oxidase tốt hơn PF-AE, PF-EE1, để từ đó tìm ra dược liệu có tác dụng theo hướng hỗ trợ điều trị bệnh gút. Trên thực nghiệm