

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 Tuyết 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

in vivo, PF-EE2 liều 0,41 g/kg và 0,82 g/kg đều có tác dụng hạ acid máu trở về mức giá trị bình thường, tương tự tác dụng hạ acid uric của allopurinol (10 mg/kg). Nghiên cứu cũng cho thấy PF-EE2 làm giảm độ phù chân chuột sau 3 giờ và 24 giờ tiêm carrageenan. Kết quả đánh giá hiệu quả của cao chiết đỉnh lăng cung cấp cơ sở cho hướng nghiên cứu tiếp theo về bào chế chế phẩm từ đỉnh lăng để hỗ trợ điều trị bệnh lý gút mãn tính.

Từ khóa: Đỉnh lăng, Kháng viêm, Hạ acid uric, Gút.

Summary

Evaluation of Anti-Hyperuricemic and Anti-Inflammatory Effects of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms for Gout Treatment *in vivo*

The study proceeded to investigate DPPH scavenging activity, lipid peroxidation inhibitory activity, and xanthine oxidase inhibitory activity of the viscous extracts, extracted by water, 45% ethanol, and 80% ethanol from the aerial parts of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms (abbreviated: PF-AE, PF-EE1, PF-EE2; respectively). All these aim to screen a potential candidate extract from *P. fruticosa* through the investigation of the hypouricemia effect and anti-inflammatory activity. The results showed that PF-EE2 may be a potential candidate extract since it showed antioxidant effect and xanthine oxidase inhibitory activity better than PF-AE and PF-EE1. PF-EE2 at the oral doses of 0.41 g/kg and 0.82 g/kg (which are equivalent to 2.5 g and 5 g raw materials/kg) decreased the plasma uric acid as well as a reference drug allopurinol (oral dose of 10 mg/kg) to normal. Besides, PF-EE2 showed acute anti-inflammatory effects in carrageenan-induced paw edema in mice at 3 and 24 hours after carrageenan injection administration. The results of evaluating the effectiveness of *P. fruticosa* provide the basis for further research on preparing preparations for Gout to support the treatment of chronic Gout.

Keywords: *P. fruticosa*, Anti-inflammation, Hypouricemia.

1. Đặt vấn đề

Viêm khớp do gút là bệnh viêm khớp phổ biến trên thế giới. Bệnh nhân gút thường phải chịu những cơn đau dữ dội và sưng khớp, ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng cuộc sống, thậm chí có thể dẫn đến tàn phế. Người ta ước tính rằng 1,4 phụ nữ và 4,0 nam giới trên 1.000 người mắc bệnh gút. Tỷ lệ mắc bệnh gút đang gia tăng do dân số già và lối sống thay đổi. Bệnh gút bị kích thích bởi sự tích tụ của các tinh thể monosodium urate (MSU) trong các mô khớp và quanh khớp. Sự lắng đọng của các tinh thể MSU kích hoạt hệ thống miễn dịch bẩm sinh, gây ra các phản ứng viêm mạnh ở các mô quanh khớp và quanh khớp [1]. Trước thực trạng đó, việc tìm ra phương pháp hoặc thuốc điều trị mới theo hướng đảm bảo hiệu quả điều trị lâu dài, có tính an toàn và hạn chế tối thiểu tác dụng phụ là vô cùng cần thiết. Việt Nam là một trong những quốc gia có nguồn gen cây thuốc rất đa dạng và có nền y học cổ truyền rất phong phú, lâu đời. Nhiều loài đã được sử dụng trong dân gian để điều trị các bệnh liên quan đến xương khớp.

Đỉnh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae) từ lâu đã được nghiên cứu và sử dụng ở nhiều nước trên thế giới như: Trung Quốc, Ấn Độ, Việt Nam... Đỉnh lăng được sử dụng như một vị thuốc bồi bổ cơ thể, hạ sốt, giảm đau, kháng viêm, điều trị thấp khớp, gút [2]. Bensita mary Bernard và cs. (1998) đã cho thấy cao phân đoạn n-butanol từ lá đỉnh lăng liều 250 mg/kg - 500 mg/kg có tác dụng giảm viêm (21,95%; 54,14%; tương ứng) trên mô hình gây phù chân chuột bởi lòng trắng trứng; đồng thời cao phân đoạn n-butanol từ lá đỉnh lăng liều 250 mg/kg-500 mg/kg còn có tác dụng giảm đau (55,0%; 71,0%; tương ứng) so với lô chứng sinh lý không uống mẫu thử trên thực nghiệm gây đau quận bụng chuột bởi acid acetic [3]. Lần đầu tiên, Trần Phương Thảo và cs. (2019) đã chứng minh

cao chiết ethanol từ lá đỉnh lăng thể hiện khả năng làm giảm sự hình thành và hoạt động của tế bào hủy xương (osteoclast) bằng cách ngăn sự biểu hiện của RANKL (phosphoryl hóa p38, JNK MAPKs; yếu tố tiêu xương), tăng biểu hiện c-Fos và NFATc1 (yếu tố tạo xương); đồng thời ức chế tế bào hủy xương (LPS-induced osteoclast) gây tiêu xương nhằm giúp chống loãng xương, viêm khớp dạng thấp [4]. Dựa trên các cơ sở khoa học và kinh nghiệm dân gian, nghiên cứu tiến hành đánh giá tác dụng hạ acid uric, kháng viêm của cao chiết tiềm năng từ đỉnh lăng để từ đó tìm ra được liệu có tác dụng theo hướng hỗ trợ điều trị bệnh gút.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đỉnh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) (phần trên mặt đất) thu hái vào tháng 02 - 03/2022 được Bộ môn Tài nguyên Dược liệu - Trung tâm Sâm và Dược liệu tp.HCM định danh và lưu mẫu. Đỉnh lăng lá nhỏ sau thu hái được rửa sạch, phơi khô đạt độ ẩm dược liệu $\leq 14,0\%$ và được xay thành bột có kích thước qua cỡ mắt rây số 250 (0,25 mm), độ ẩm bột dược liệu bột đỉnh lăng lá nhỏ là 5,86% đạt tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V quy định cho bột dược liệu ($< 13\%$) [5]. Bột đỉnh lăng lá nhỏ được chiết sắc hãm với dung môi nước cất và dịch chiết thu được được cô cách thủy cho cao chiết nước (PF-AE) hoặc được chiết ngâm kiệt với dung môi cồn 45%/ cồn 80% và được cô giảm áp cho ra cao chiết cồn 45% (PF-EE1) và cao chiết cồn 80% (PF-EE2) (các cao chiết được chiết xuất với tỷ lệ 1:20). Hiệu suất chiết xuất của PF-AE, PF-EE1, PF-EE2 lần lượt là 19%, 18%, 17%. Độ ẩm (mất khối lượng do làm khô) của PF-AE, PF-EE1, PF-EE2 là 18,43%, 17,73%, 19,35% đạt tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V quy định cho cao đặc ($< 20\%$) [5].

Dựa vào kinh nghiệm dân gian [6], nghiên cứu lựa chọn 2 liều thử của cao chiết từ đỉnh lăng

là 2,5 g được liệu/kg thể trọng chuột và 5 g được liệu/ kg thể trọng chuột để thử nghiệm được lý.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng đực (*Swiss albino*), trưởng thành 5-6 tuần tuổi (22 ± 2 g), được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế - TP. Nha Trang. Chuột được nuôi bằng thực phẩm viên, nước uống đầy đủ và được để ổn định ít nhất một tuần trước khi thử nghiệm. Thể tích cho uống (p.o.) hoặc tiêm màng bụng (i.p.) là 10 ml/kg trọng lượng chuột. 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. Hóa chất - thuốc thử nghiệm

Xanthin oxidase (XO), xanthin, allopurinol, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), trolox and acid 2-thiobarbituric (TBA), carrageenan (Sigma-USA); acid trichloro acetic (TCA), acid ascorbic (Merck-Germany); cồn 96% (OPC-Việt Nam); bộ kit định lượng acid uric (Human, Đức); celebreb (pfizer, Đức). Các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn nghiên cứu.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thử nghiệm dọn gốc tự do DPPH

Các chất nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa theo cơ chế dọn gốc tự do sẽ làm giảm màu của 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Xác định khả năng này bằng cách đo quang ở bước sóng có hấp thụ cực đại tại $\lambda = 515$ nm. Acid ascorbic (Merck, Đức) được sử dụng làm chất đối chiếu.

Cho 0,5 ml mẫu thử ở các nồng độ khảo sát được cho phản ứng với đồng lượng dung dịch DPPH 0,8 mM pha trong methanol. Hỗn hợp sau khi pha được để ở nhiệt độ phòng 30 phút. Đo quang ở bước sóng $\lambda = 517$ nm [7].

Công thức tính % hoạt tính chống oxy hóa (HTCO): $HTCO\% = [(OD_C - OD_T) / OD_C] \times 100$

Trong đó: OD_C : Mật độ quang của chứng;
 OD_T : Mật độ quang của mẫu thử.

2.4.2. Thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào

Xác định khả năng ức chế peroxy hóa lipid của mẫu nghiên cứu qua việc xác định hàm lượng

malondialdehyd (MDA), là sản phẩm của quá trình peroxy hóa lipid tế bào. MDA có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric để tạo thành phức hợp trimethin (màu hồng) có đỉnh hấp thụ cực đại ở $\lambda = 532$ nm. Thử nghiệm sử dụng cơ chất là não chuột. Trolox, đồng phân của vitamin E được sử dụng làm chất đối chiếu.

Cho 0,1 ml mẫu thử ở các nồng độ thử nghiệm được cho phản ứng với 0,5 ml dịch đồng thể não và thêm đệm phosphat vừa đủ 2 ml. U hỗn hợp phản ứng trong 15 phút và dừng phản ứng bằng 1 ml acid tricloacetic. Sau khi ly tâm lấy dịch trong cho phản ứng với 1 ml thuốc thử acid thiobarbituric trong 15 phút. Tiến hành đo quang ở bước sóng $\lambda = 532$ nm [8].

Công thức tính % hoạt tính chống oxy hóa (HTCO): $HTCO\% = [(OD_C - OD_T) / OD_C] \times 100$

Trong đó: OD_C : Mật độ quang của chứng;
 OD_T : Mật độ quang của mẫu thử

2.4.3. Thử nghiệm ức chế xanthin oxidase

Dựa trên phương pháp của Tadatak Noro và cs. (1983) có điều chỉnh để phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Hỗn hợp phản ứng gồm: 100 μ l dung dịch mẫu thử, 300 μ l dung dịch đệm phosphat 50 mM (pH = 7,5), 100 μ l dung dịch XO (0,2 U/mL) trong dung dịch đệm phosphat, 100 μ L nước cất. Hỗn hợp này được ủ ở 37°C trong 15 phút, sau đó thêm 200 μ L xanthin 0,15 mM trong dung dịch đệm rồi ủ tiếp 30 phút. Kết thúc phản ứng bằng cách thêm 200 μ L HCl 0,5 M. Hỗn hợp phản ứng được đem đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 295 nm. Mẫu chứng được tiến hành tương tự nhưng dung dịch thử được thay bằng dung dịch đệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Để có cơ sở đánh giá hoạt tính của những mẫu chất khảo sát đối với XO, nghiên cứu sử dụng allopurinol (Sigma, Mỹ) làm đối chứng dương [9].

Hoạt tính ức chế hoạt động của XO được tính theo công thức: $\%I = [(OD_C - OD_T) / OD_C] \times 100$

Trong đó: OD_C : Mật độ quang của chứng;
 OD_T : Mật độ quang của mẫu thử

2.4.4. Thử nghiệm tác dụng hạ acid uric

Tiến hành phân lô chuột thử nghiệm như Bảng 1.

Bảng 1. Bố trí thử nghiệm

Nhóm	Lô (n = 8 con chuột)
Bình thường	Chứng sinh lý
Bệnh (tiêm kali oxonat)	Chứng bệnh lý
	Cao chiết tiêm năng từ đỉnh lãg liều trong đương 2,5 g được liệu/kg
	Cao chiết tiêm năng từ đỉnh lãg liều trong đương 5 g được liệu/kg
	Đối chiếu

Lô chứng sinh lý, chứng bệnh lý, đối chiếu (allopurinol liều 10 mg/kg), lô mẫu thử uống một lần vào 8-9 giờ sáng, liên tục trong 5 ngày. Ở

ngày thứ 5, nhóm bệnh bị tiêm kali oxonat liều 300 mg/kg (i.p.) trước 1 giờ uống mẫu thử. Sau 2 giờ tiêm kali oxonat, tiến hành lấy máu đuôi

chuột để định lượng hàm lượng acid uric trong huyết tương [10] (Hàm lượng acid uric trong huyết tương bằng bộ kit acid uric liquidcolor của Human Diagnostic Ltd. Co (Đức) bởi máy sinh hóa bán tự động screen master 3000.

2.4.5. Thử nghiệm tác dụng kháng viêm

Chuột được chia ngẫu nhiên (n=8): lô chứng, các lô thử như Bảng 1 và lô đối chiếu (Celebrex® liều 25 mg/kg). Các lô thử được cho uống 4 lần như sau: trước 1 giờ và sau 1 giờ, 5 giờ, 23 giờ

khi tiêm carrageenan 1% vào gan bàn chân phải chuột. Để đánh giá mức độ viêm, chuột ở các lô được đo thể tích chân phải bằng thiết bị đo thể tích chân chuột (Plethysmometer của Ugo Basile, Italy) trước khi thử nghiệm để làm đối chứng và đo thể tích chân chuột vào các thời điểm 3 giờ, 24 giờ sau khi tiêm carrageenan [11],[12].

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

$$\% V = \frac{\text{Số đo thể tích chân phải sau khi tiêm} - \text{số đo thể tích chân phải trước khi tiêm}}{\text{số đo thể tích chân phải trước khi tiêm}} \times 100$$

2.5. Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu hiện bằng giá trị trung bình: $M \pm SEM$ (Standard error of the mean - sai số chuẩn của giá trị trung bình) và được xử lý bởi phần mềm MS excel 2016, thống kê dựa vào phép kiểm One - Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student - Newman - Keuls test (phần mềm SigmaStat 3.5, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa- ức chế xanthin oxidase của các mẫu thử

Kết quả Bảng 2 cho thấy PF-EE2 thể hiện hoạt tính chống oxy hóa và ức chế xanthin oxidase tốt nhất so với các cao chiết còn lại. Trong đó, PF-EE2 thể hiện hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào và xanthin oxidase mạnh hơn cả chứng dương trolox, allopurinol (tương ứng cho từng thử nghiệm).

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa-ức chế xanthin oxidase của các cao chiết từ đinh lăng

Mẫu	Giá trị IC ₅₀ (µg/ml)		
	Hoạt tính dọn gốc tự do DPPH	Hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào	Hoạt tính ức chế xanthin oxidase
PF-AE	201,72	-	4,08
PF-EE1	92,20	13,22	2,67
PF-EE2	14,30	5,52	2,13
Acid ascorbic	4,18	x	x
Trolox	x	32,07	x
Allopurinol	x	x	3,94

(-): Hoạt tính ức chế xanthin oxidase, dọn gốc tự do, ức chế peroxy hóa lipid tế bào thấp,

(x): Không thử nghiệm.

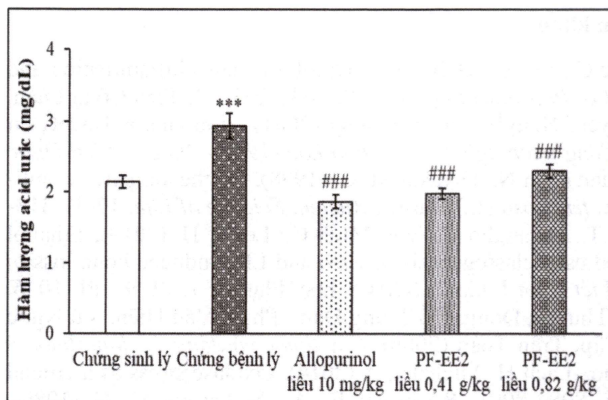
Nghiên cứu đã sàng lọc được PF-EE2 là cao chiết tiềm năng. Dựa vào hiệu suất chiết xuất và kinh nghiệm dân gian, nghiên cứu thử nghiệm PF-EE2 liều 0,41 g/kg và 0,82 g/kg thể trọng chuột (tương đương 2,5 g được liệu/kg và 5 g được liệu/ kg thể trọng chuột) cho các thử nghiệm được lý trên chuột nhắt trắng.

3.2. Tác dụng hạ acid uric của cao chiết PF-EE2

Kết quả hình 1 cho thấy chuột ở lô chứng bệnh lý được tiêm kali oxonat liều 300 mg/kg có hàm lượng acid uric máu tăng (36,91%) đạt ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô sinh lý ($p < 0,001$). Lô đối chiếu cho uống allopurinol liều 10 mg/kg có tác dụng làm giảm hàm lượng acid uric máu (36,51%)

đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$).

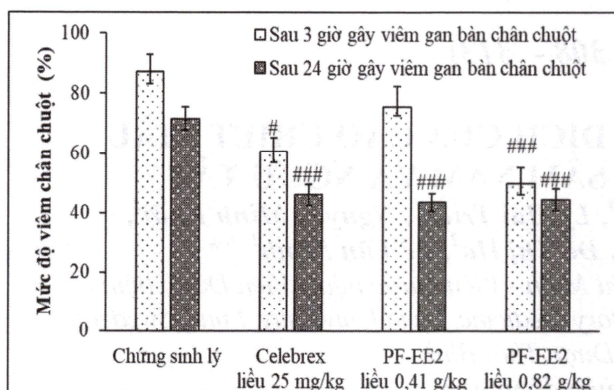
Các lô cho uống PF-EE2 liều 0,41 g/kg và 0,82 g/kg có mức độ giảm acid uric máu đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý lần lượt là 32,48% và 21,78% ($p < 0,001$). PF-EE2 ở cả hai liều thử nghiệm đều thể hiện tác dụng hạ acid uric máu tương tự nhau ($p = 0,142$), không có sự tương quan liều thử nghiệm; thể hiện tác dụng đưa hàm lượng acid uric trong huyết tương về mức bình thường khi so sánh với chứng sinh lý ($p = 0,319$; $p = 357$; tương ứng); thể hiện tác dụng hạ acid uric tương ứng thuốc đối chiếu allopurinol ($p = 0,489$; $p = 0,056$; tương ứng) trên mô hình gây tăng acid uric bởi kali oxonat ở chuột.



Hình 1. Hàm lượng acid uric trong huyết tương của các lô thử nghiệm. Trong đó: (***) $p < 0,001$: so với chứng sinh lý; (###) $p < 0,001$: so với chứng bệnh lý.

3.3. Tác dụng kháng viêm của cao chiết PF-EE2

Kết quả từ hình 2 cho thấy mức độ viêm phù ở lô chứng sau 3 giờ tiêm kali oxonat là 87,19% và giảm sau 24 giờ tiêm kali oxonat (60,67%). Lô đối chiếu uống thuốc đối chiếu celebrex (liều 25 mg/kg) có mức độ viêm phù chân chuột lần lượt là 37,09% và 34,03%, giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại thời điểm cùng thời điểm khảo sát ($p = 0,013$; $p < 0,001$; tương ứng), thể hiện tác dụng kháng viêm.



Hình 2. Tác dụng kháng viêm của các lô thử nghiệm. Trong đó: (#) $p < 0,05$: so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm khảo sát; (###) $p < 0,001$: so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm khảo sát

Thời điểm khảo sát sau 3 giờ tiêm carrageenan thì PF-EE2 liều 0,41 g/kg và 0,82 g/kg có mức độ viêm phù chân chuột lần lượt là 75,57% và 49,87%; trong đó PF-EE2 liều 0,82 g/kg có tác dụng giảm viêm phù chân chuột đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p = 0,001$), có tác dụng kháng viêm tốt hơn PF-EE2 liều 0,41 g/kg ($p = 0,017$) và có tác dụng giảm viêm tương ứng celecoxib liều 25 mg/kg ($p = 0,153$).

Sau 24 giờ tiêm carrageenan thì PF-EE2 liều

0,41 g/kg và 0,82 g/kg có mức độ viêm phù chân chuột lần lượt là 43,51% và 44,45%; đều thể hiện tác dụng giảm viêm phù chân chuột đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$), thể hiện tác dụng kháng viêm tương tự nhau ($p = 0,922$) và có tác dụng giảm viêm tương ứng celecoxib liều 25 mg/kg ($p = 0,903$; $p = 0,788$; tương ứng) trên mô hình gây kháng viêm cấp gan bàn chân chuột bởi carrageenin.

4. Bàn luận

Bệnh gút đặc trưng bởi những đợt viêm khớp cấp tái phát do sự lắng đọng tinh thể monosodium urat tại mô và quanh khớp. Nguyên nhân gây bệnh gút là tăng acid uric máu. Biểu hiện sớm của bệnh gút là viêm khớp cấp tính gây đau nhức, nóng đỏ và sưng tấy tại chỗ viêm. Phương pháp điều trị bệnh gút bao gồm hai hướng: một là sử dụng thuốc nhằm giảm triệu chứng các cơn gút cấp như giảm đau và kháng viêm, hướng thứ hai là điều trị tăng acid uric máu thông qua ức chế quá trình tạo thành hoặc tăng thanh thải acid uric.

Kết quả nghiên cho thấy rằng cao chiết còn 80% từ đỉnh lãg đều có tác dụng làm hạ acid uric, kháng viêm cấp trên các mô hình thực nghiệm. Trong thân lá đỉnh lãg có chứa acid oleanolic đã được chứng minh là có tác dụng kháng viêm bằng cách ức chế phospholipase A2 (PLA2s) ngăn sự chuyển hóa acid arachidonic, oxid nitric (NO), và NF- κ B giải phóng các chất trung gian gây viêm như cytokin, serotonin, histamin, prostaglandin và leukotrien [13],[14],[15]. Acid oleanolic ức chế các phản ứng viêm trong tế bào, chủ yếu thông qua hoạt động của interferon- γ (IFN- γ), tổng hợp oxid nitric cảm ứng (iNOS) và COX-2 thể hiện tác dụng giảm đau và chống viêm [16]. Kết quả nghiên cứu còn chứng minh được cao chiết còn 80% từ đỉnh lãg có tác dụng ức chế xanthin oxidase trên thực nghiệm *in vitro*, điển hình hơn so với các cao chiết khác chiết xuất. Tuy nhiên để làm sáng tỏ điều này cũng như tác dụng kháng viêm cấp, hạ acid uric của cao chiết còn 80% từ đỉnh lãg thì hướng nghiên cứu tiếp theo cần tiến hành xác định marker của từng được liệu quyết định tác dụng sinh học này, làm cơ sở cho việc ứng dụng lựa chọn phương thức bào chế trong việc tạo ra chế phẩm hỗ trợ điều trị bệnh lý xương khớp như bệnh gút.

5. Kết luận

Cao chiết còn 80% từ đỉnh lãg thể hiện hoạt tính chống oxy hóa và ức chế xanthin oxidase tốt hơn cao chiết nước và cao chiết còn 45% từ lá đỉnh lãg. Đồng thời, cao chiết còn 80% từ đỉnh lãg thể hiện tác dụng kháng viêm, hạ acid uric trên mô hình *in vivo* thực nghiệm.

Tài liệu tham khảo

1. Yin C., Liu B., Wang P., Li X., Li Y., Zheng X., Tai Y., Wang C., Liu B. (2020), Eucalyptol alleviates inflammation and pain responses in a mouse model of gout arthritis, *British Journal of Pharmacology*, 177(9), 2042-2057.
2. Trần Công Luận, Hồ Thị Tuyết Linh, Phạm Thị Xuân Thắm, Nguyễn Thành Nguyên, Nguyễn Thượng Dong (2001), Hợp chất polyacetylen trong lá đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms, Araliaceae), *Công trình nghiên cứu khoa học (1987 - 2000) - Viện Dược liệu*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 238-240.
3. Bernard B. M., Pakianathan N., Divakar M. C. (1998), On the antipyretic, anti-inflammatory, analgesic, and molluscicidal properties of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, *Ancient Science of Life*, 17(4), 313-319.
4. Tran P. T., Dang N. H., Kim O., Van Cuong P., Dat N. T., Hwangbo C., Van Minh C., Lee J. H. (2019), Ethanol extract of *Polyscias fruticosa* leaves suppresses RANKL-mediated osteoclastogenesis *in vitro* and LPS-induced bone loss *in vivo*, *Phytomedicine*, 59, 152908.
5. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V tập 2*, NXB Y học, Phụ lục 1, PL 9 - PL 10.
6. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mân, 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, 636-637.
7. Cichoz-Lach H, Michalak A (2014), Oxidase stress as a crucial factor in liver diseases, *World Journal Gastroenterol*, 20(25), 8082-8091.
8. Stroev E. A., Makarova V. G (1989), Determination of lipid peroxidation rate in tissue homogenate laboratory, *Manual in Biochemistry*, Moscow, 243 -256.
9. Noro T., Oda Y., Miyase T., Ueno A., Fukushima S. (1983), Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31(11), 3984-3987.
10. Watabe S., Kimura K., Fukui T. (2006), Effect of Human Placenta Extract on Potassium Oxonate- induced Elevation of Blood Uric Acid Concentration, *Journal of Health Science*, 52(6), 738-742.
11. Le Van Huan, Chung Khanh Linh, Truong Quoc Quyen, Pham Thao Nguyen, Bui Nguyen Bien Thuy, Nguyen Hoang Minh, Vu Thi Thanh Tuyen (2020), Study on acute oral toxicity and anti-hyperuricemia effect of aqueous extract from *Symplocos cochinchinensis* leaves, *Proceedings of 2020 Vietnam National Conference on Biotechnology*, 804-808.
12. Sarkhel S. (2016), Evaluation of the anti-inflammatory activities of *Quillaja saponaria* Mol. saponin extract in mice, *Toxicology Reports*, 3, 1-3.
13. Calixto J. B., Otuki M. F., Santos A. R. (2003), Anti-inflammatory compounds of plant origin, Part I. Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor kappa B (NF-kappaB), *Planta Medica*, 69: 973-983.
14. Dassoler M., Schwanz M., Busseto F., Moreira E. A., Gutierrez L. (2004), Perfil fitoquímico e ensaiofarmacológico de *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae), *Journal Brasileiro de Fitomedicina*, 4-8.
15. Nanda B. L., Nataraju A., Rajesh R., Rangappa K. S., Shekar M. A., Vishwanath B. S (2007), PLA2 mediated arachidonate free radicals: PLA2 inhibition and neutralization of free radicals by anti-oxidants: a new role as anti-inflammatory molecule, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7, 765-77.
16. Dinkova-Kostova A.T., Liby K.T., Stephenson K.K., Holtzclaw W.D., X. Gao, Suh N., Williams C., Risingsong, Honda T., Gribble G. W., Sporn M. B., Talalay P. (2005), Extremely potent triterpenoid R. inducers of the phase 2 response: correlations of protection against oxidant and inflammatory stress, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (12), 4584-4589.

Tạp chí Dược liệu, tập 28, số 5/2023 (Trang 308 - 313)

TÁC DỤNG TĂNG CƯỜNG MIỄN DỊCH CỦA CAO CHIẾT GIÀU POLYSACCHARID TỪ ĐĂNG SÂM NAM VÀ NGƯU TẮT

**Trần Huyền Trân^{1,3,#}, Phạm Anh Minh^{2,#}, Lý Hải Triều¹, Nguyễn Minh Khởi²,
Trần Thanh Hà², Trần Thị Hiền^{4,5}, Đỗ Thị Hà², Lê Văn Minh^{1,2,*}**

¹Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh - Viện Dược liệu; ²Viện Dược liệu;
³Trường Đại học Bình Dương; ⁴Institute of Laboratory Medicine, Lund University, Lund, Sweden;

⁵Trường Đại học Y Dược Thái Bình

#: Các tác giả có cùng đóng góp;

*Email: lvminh05@gmail.com; lvminh_hcm@nimm.org.vn

(Nhận bài ngày 02 tháng 8 năm 2023)

Tóm tắt

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng tăng cường miễn dịch của cao chiết giàu polysaccharid từ đăng sâm nam (PDS) và ngưu tất (PNT). Tác dụng kích thích miễn dịch của PDS và PNT được đánh giá trên tế bào đại thực bào RAW264.7 thông qua định lượng Interleukin (IL)-1 β và IL-10. Tác dụng tăng cường miễn dịch *in vivo* của PDS và PNT được đánh giá trên thực nghiệm thanh thải carbon ở chuột gây suy giảm miễn dịch bằng tiêm phúc mạc cyclophosphamid liều 150 mg/kg. Kết quả nghiên cứu cho thấy PDS và PNT ở nồng độ 20 μ g/ml chưa thể hiện tác dụng kích thích miễn dịch trên tế bào đại thực bào RAW264.7. Trong khi đó, PDS và PNT đều thể hiện khả năng tăng cường miễn dịch thông qua tăng đáng kể chỉ số thực bào trong thực nghiệm thanh thải carbon. Như vậy, cao chiết giàu polysaccharid từ đăng sâm nam và ngưu tất có khả năng tăng cường miễn dịch. Các khảo sát thêm về tác dụng của những dược liệu này theo hướng tăng cường miễn dịch nên thực hiện để có những đánh giá cụ thể hơn.

Từ khóa: Polysaccharid, Đăng sâm nam, Ngưu tất, Tăng cường miễn dịch, Chỉ số thực bào.

Summary

Immunostimulatory Effects of Polysaccharide-Rich Extracts from *Codonopsis javanica* Blume and *Achyranthes bidentata* Blume

This study was conducted to evaluate the immunoenhancing effects of polysaccharide-rich extracts from *Codonopsis javanica* Blume (CjP) and *Achyranthes bidentata* Blume (AbP). The immunostimulatory effect of CjP and AbP was