

## 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<sup>1,3,#</sup>, Phạm Anh Minh<sup>2,#</sup>, Lý Hải Triều<sup>1</sup>, Nguyễn Minh Khởi<sup>2</sup>,  
Trần Thanh Hà<sup>2</sup>, Trần Thị Hiền<sup>4,5</sup>, Đỗ Thị Hà<sup>2</sup>, Lê Văn Minh<sup>1,2,\*</sup>**

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

<sup>5</sup>Trường 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 $\beta$  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  $\mu$ 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

evaluated on RAW264.7 macrophages through quantification of Interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-10. The *in vivo* immunoenhancing effects of CjP and AbP were evaluated in a carbon clearance experiment in cyclophosphamide-induced immunosuppressive mice (150 mg/kg, *i.p.*). The results showed that CjP and AbP at the concentration of 20  $\mu$ g/mL did not show immunostimulating effect on RAW264.7 macrophage cells. Meanwhile, CjP and AbP showed immunoenhancing ability through significantly increasing the phagocytosis index in the carbon clearance test. Hence, polysaccharide-rich extracts from the *C. javanica* Blume and *A. bidentata* Blume have the ability to enhance immunity. Further investigations on the effects of these herbs in terms of immune enhancement should be carried out for more specific evaluations.

**Keywords:** Polysaccharides, *Codonopsis javanica* Blume, *Achyranthes bidentata* Blume, Immunostimulation, Phagocytic index.

## 1. Đặt vấn đề

Việt Nam là một quốc gia có nguồn thảo dược và kinh nghiệm sử dụng cây thuốc trong dân gian vô cùng phong phú. Đảng sâm là vị thuốc được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền. Ở Việt Nam thường sử dụng loài đảng sâm nam (*C. javanica*) trong khi y học cổ truyền Trung Hoa thường sử dụng loài đảng sâm bắc (*C. pilosula*). Các nghiên cứu hiện nay về loài đảng sâm nam còn hạn chế trong khi thành phần polysaccharid của đảng sâm bắc được chứng minh thể hiện khả năng tăng cường miễn dịch [1], chống lại tế bào ung thư biểu mô dạ dày ở người và tế bào ung thư biểu mô tế bào gan với cơ chế chủ yếu của polysaccharid là gây độc trực tiếp đến tế bào [2], tăng cường miễn dịch và tác dụng hiệp đồng với một số thuốc điều trị ung thư thông thường [3] và tác dụng chống oxy hóa trên động vật thí nghiệm theo cơ chế tăng hoạt động của superoxid dismutase (SOD) [4]. Polysaccharid trong rễ ngưu tất (*A. bidentata* Blume) có tác dụng kháng oxy hóa, chống lão hóa [5], hạ đường huyết [6] và đặc biệt là tác dụng giảm mệt mỏi, tăng cường khả năng miễn dịch thông qua cơ chế tăng glycogen gan, giảm nồng độ acid lactic và urea máu, ức chế quá trình tự chết của tế bào gan hay điều hòa cytokin nhằm tăng cường sức đề kháng đối với bệnh sốt rét [7], [8]. Zhu và cs. (2012) đã nghiên cứu cho thấy tiềm năng của việc sử dụng polysaccharid ngưu tất như một chất điều hòa miễn dịch để tăng cường sức đề kháng đối với bệnh sốt rét [9]. Với mong muốn tìm hiểu tác dụng tăng cường miễn dịch của polysaccharid từ các dược liệu đảng sâm nam và ngưu tất, tác dụng tăng cường miễn dịch của cao chiết giàu polysaccharid từ dược liệu đảng sâm nam và ngưu tất thu hái tại Việt Nam trên mô hình tế bào đại thực bào RAW264.7 và mô hình chuột gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid đã được đánh giá trong nghiên cứu này.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên liệu và chiết xuất

Đảng Sâm nam tươi được thu hái vào tháng 03/2020 tại Hòa Bình; ngưu tất thu hái vào tháng 10/2019 tại Hưng Yên. Tiến hành chiết xuất đảng sâm nam hoặc ngưu tất theo quy trình sau: 1 kg dược liệu tươi được cắt nhỏ dạng lát 0,5-1 cm;

chiết xuất bằng nước RO với tỷ lệ 1: 8 (w/v), ở nhiệt độ 80°C trong 2 giờ, tiến hành 3 lần. Dịch chiết nước 3 lần được gộp lại, lọc và cô dưới áp suất giảm còn khoảng 2 lít dịch. Thêm 8 lít ethanol 96%, khuấy đều và để lắng trong 12 giờ. Sau đó, lọc hút chân không để thu phần tủa, tủa được rửa bằng 0,5 lít ethanol 96%, tủa được sấy khô ở 60°C trong tủ sấy tĩnh để thu cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm (PDS) và ngưu tất (PNT). Hiệu suất thu PDS và PNT lần lượt là 8% và 10%. Các mẫu nghiên cứu được bảo quản trong túi kín ở nhiệt độ phòng.

### 2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng đực (chủng *Swiss albino*), 6 tuần tuổi, có trọng lượng 28 g  $\pm$  2. Chuột và thực phẩm nuôi được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế - TP. Nha Trang. Chuột được để ổn định 1 tuần trước khi tiến hành các thử nghiệm. Thể tích cho uống (*p.o.*) hoặc tiêm màng bụng (*i.p.*) là 10 ml/kg trọng lượng chuột.

### 2.3. Hóa chất - thuốc thử

Lipopolysaccharid (LPS), Interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-10, cyclophosphamid và zymosan được mua từ Sigma-Aldrich, Mỹ. Môi trường Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) và trypsin (Gibco BRL, Grand Island, NY, Mỹ), huyết thanh thai bò (FBS) và Penicillin/streptomycin (Biochrom). Bộ kit định lượng ELISA mouse IL-1 $\beta$ /IL-1F2 DuoSet ELISA (#DY401) và kit mouse IL-10 DuoSet ELISA (#DY417) được mua từ công ty R&D Systems, Mỹ. Ethanol 96% (Công ty Cổ phần Dược phẩm OPC, Việt Nam) và các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn nghiên cứu.

### 2.4. Nuôi cấy tế bào

Tế bào đại thực bào RAW264.7 được đặt mua từ trung tâm lưu trữ tế bào ở Mỹ (ATCC, Rockville, MD). Tế bào được nuôi cấy trong môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) có bổ sung 10% FBS (*v/v*), penicillin/streptomycin ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

### 2.5. Thử nghiệm MTT

Tế bào RAW264.7 được gieo vào đĩa 96 giếng với mật độ 10<sup>4</sup> tế bào/giếng và được nuôi cấy trong môi trường DMEM có bổ sung 10% FBS qua đêm (12 giờ) trong tủ ủ ấm ở điều kiện 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Tế bào sau đó được thay môi

trường DMEM không có chứa FBS. Tế bào được ủ với các mẫu nghiên cứu (PDS và PNT) ở nồng độ 20 µg/ml trong 24 giờ. Môi trường tế bào sau đó được thay bằng dung dịch MTT (0,5 mg/ml), phản ứng được ủ trong 2-4 giờ ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Sau đó, môi trường được hút bỏ, tinh thể formazan được hòa tan trong DMSO. Mật độ quang (OD) được đo ở bước sóng 570 nm bằng máy đọc đĩa ELISA (Varioskan, Thermo Electron Co.). Thí nghiệm được lặp lại 5 lần. Khả năng sống sót của tế bào được tính toán theo công thức: % tế bào sống =  $[(OD_{\text{tế bào được xử lý với mẫu}} - OD_{\text{chứng trắng}}) / (OD_{\text{tế bào không được xử lý với mẫu}} - OD_{\text{chứng trắng}})] \times 100$  (%) [10].

## 2.6. Đánh giá tác dụng kích thích miễn dịch in vitro

Tác dụng kích thích miễn dịch của PDS và PNT được đánh giá thông qua hàm lượng IL-1β và IL-10 trên mô hình tế bào đại thực bào RAW264.7. Tế bào được gieo vào đĩa 96 giếng với mật độ 10<sup>4</sup> tế bào/giếng và được nuôi cấy trong môi trường DMEM có bổ sung 10% FBS qua đêm (12 giờ) trong tủ ủ ẩm ở điều kiện 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Sau đó, tế bào được ủ với PDS và PNT ở nồng độ 20 µg/ml trong 24 giờ. Dịch tế bào nuôi cấy sẽ được thu thập và định lượng nồng độ các cytokin bằng phép đo ELISA sử dụng các bộ Kit định lượng IL-1β, IL-10, sử dụng kỹ thuật hóa miễn dịch ELISA và protocol được thực hiện theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất. Lipopolysaccharid (LPS) được sử dụng là chất đối chứng. Thí nghiệm được lặp lại 5 lần [10].

## 2.7. Đánh giá tác dụng tăng cường miễn dịch in vivo

Chuột được phân ngẫu nhiên thành các lô ( $n = 8$ ) như sau:

- Lô sinh lý (SL): Tiêm phúc mạc nước muối sinh lý (CY(-)), uống nước cất;
- Lô bệnh lý (BL): Tiêm phúc mạc liều duy nhất cyclophosphamid 150 mg/kg (CY(+)), uống nước cất;
- Các lô thử: Tiêm phúc mạc liều duy nhất cyclophosphamid 150 mg/kg (CY(+)), uống các mẫu thử ở liều tương đương 5, 10 và 20 g được liệu/kg bao gồm PDS5, PDS10, PDS20 (0,4; 0,8; 1,6 g/kg); PNT5, PNT10, PNT20 (0,175; 0,35; 0,7 g/kg).
- Lô đối chiếu: Tiêm phúc mạc liều duy nhất cyclophosphamid 150 mg/kg (CY(+)), tiêm phúc mạc zymosan liều 10 mg/kg.

Chuột được tiêm cyclophosphamid một lần duy nhất với liều 150 mg/kg thể trọng chuột, rồi cho uống PDS hoặc PNT ở các liều khác nhau hoặc tiêm phúc mạc zymosan liều 10 mg/kg. Một

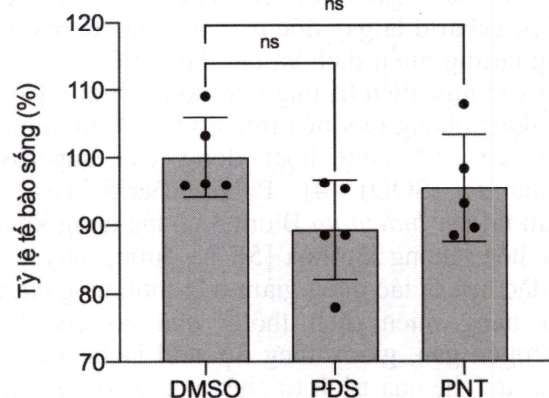
giờ sau lần uống ngày thứ 5, tiêm tĩnh mạch đuôi chuột dung dịch mực có độ đậm tương đương với hàm lượng carbon là 751 mg/kg. Máu ở đám rối tĩnh mạch hốc mắt chuột được thu ở các thời điểm 0 phút và 5 phút. Mẫu máu được pha trong dung dịch natri carbonat 0,1% và mật độ quang được đo ở bước sóng 640 nm. Chỉ số thực bào được tính bằng công thức:  $K = (\ln OD_1 - \ln OD_2) / (T_2 - T_1)$ ; trong đó, K là hằng số biểu hiện sự thanh thải carbon, OD<sub>1</sub> và OD<sub>2</sub> lần lượt là mật độ quang đo ở các thời điểm T<sub>1</sub> (0 phút) và T<sub>2</sub> (5 phút) [11].

## 2.8. Phân tích thống kê

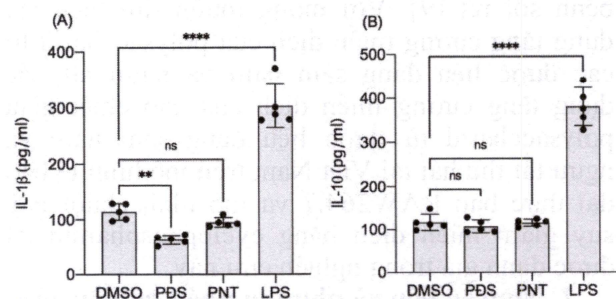
Các kết quả được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (Standard deviation) và được xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One - Way ANOVA và hậu kiểm bằng Dunnett test (GraphPad 9, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi  $p < 0,05$ .

## 3. Kết quả

### 3.1. Tác dụng kích thích miễn dịch in vitro



**Hình 1.** Tác động của cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm nam (PDS) và ngư tử (PNT) ở nồng độ 20 µg/ml lên khả năng sống của tế bào đại thực bào RAW264.7.  $n = 5$ , Mean ± SD,  $^{ns}p > 0,05$  không khác biệt có ý nghĩa thống kê bằng phép kiểm Dunnett. DMSO: Dimethyl sulfoxid.



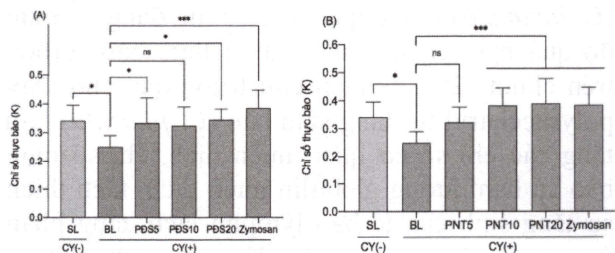
**Hình 2.** Tác động của cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm nam (PDS) và ngư tử (PNT) ở nồng độ 20 µg/ml lên khả năng sản sinh IL-1β và IL-10 của tế bào đại thực bào RAW264.7.  $n = 5$ , Mean ± SD,  $^{ns}p > 0,05$  không khác biệt có ý nghĩa thống kê bằng phép kiểm Dunnett,  $^{****}p < 0,0001$  khác biệt có ý nghĩa thống kê bằng phép kiểm Dunnett. DMSO: Dimethyl sulfoxid, LPS: Lipopolysaccharid.

Kết quả từ Hình 1 cho thấy PDS và PNT ở nồng độ 20  $\mu\text{g/ml}$  không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sống của tế bào đại thực bào RAW264.7. Tế bào được xử lý với PDS và PNT có tỷ lệ tế bào sống trung bình tương ứng là 89,32% và 95,45% so với nhóm tế bào không được xử lý (DMSO) là 100%. Do đó, nghiên cứu tiếp tục sử dụng nồng độ này để đánh giá tác động của PDS và PNT lên khả năng sản xuất IL-1 $\beta$  và IL-10 của đại thực bào.

Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm tế bào được xử lý với PDS ở nồng độ 20  $\mu\text{g/ml}$  có hàm lượng IL-1 $\beta$  thấp hơn so với nhóm tế bào đối chứng (DMSO) có ý nghĩa thống kê nhưng không có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê về hàm lượng IL-1 $\beta$  giữa 2 nhóm này. Đối với PNT, nhóm tế bào được xử lý với PNT ở nồng độ 20  $\mu\text{g/ml}$  có hàm lượng IL-1 $\beta$  và IL-10 không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với nhóm tế bào đối chứng (DMSO) (Hình 2). Như vậy, PDS và PNT ở nồng độ 20  $\mu\text{g/ml}$  chưa thể hiện tác dụng kích thích miễn dịch trên tế bào đại thực bào RAW264.7 thông qua nồng độ IL-1 $\beta$  và IL-10. Trong khi đó, lipopolysaccharid (LPS) thể hiện rõ tác động kích thích tế bào đại thực bào RAW264.7 tăng sản sinh IL-1 $\beta$  và IL-10.

### 3.2. Tác dụng tăng cường miễn dịch *in vivo*

Trong nghiên cứu này, liệu thử nghiệm tác dụng *in vivo* được quy đổi tương đương với 5, 10 và 20 g được liệu khô/kg. Do đó, liều của PDS được khảo sát là 0,4; 0,8 và 1,6 g/kg, liều của PNT được khảo sát là 0,175; 0,35 và 0,7 g/kg.



**Hình 3.** Chỉ số thực bào ở các lô chuột trong thực nghiệm thanh thải carbon. (A) Kết quả đánh giá tác dụng của PDS. Chuột bị gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid (CY(+)) và được uống cao chiết giàu polysaccharid đẳng sâm nam ở liều 0,4 g/kg (PDS5), 0,8 g/kg (PDS10) và 1,6 g/kg (PDS20). (B) Kết quả đánh giá tác dụng của PNT. Chuột bị gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid (CY(+)) và được uống cao chiết giàu polysaccharid ngư tât ở liều 0,175 g/kg (PNT5), 0,35 g/kg (PNT10) và 0,7 g/kg (PNT20). SL: Sinh lý, BL: Bệnh lý,  $n = 8$ , Mean  $\pm$  SD,  $^{ns}p > 0,05$  không khác biệt có ý nghĩa thống kê bằng phép kiểm Dunnett,  $^{*}p < 0,05$ ,  $^{***}p < 0,001$  khác biệt có ý nghĩa thống kê bằng phép kiểm Dunnett.

Kết quả nghiên cứu (hình 3) cho thấy lô chuột bệnh lý có chỉ số thực bào trung bình sau 5 phút

giảm 26,9% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột sinh lý, chứng tỏ cyclophosphamid liều 150 mg/kg duy nhất đã gây suy giảm miễn dịch thông qua làm giảm đáng kể chỉ số thực bào trong thực nghiệm thanh thải carbon. Lô chuột bệnh lý được tiêm zymosan liều 10 mg/kg có chỉ số thực bào sau 5 phút tăng 54% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột bệnh lý. Các lô chuột bệnh lý được cho uống PDS5 (0,4 g/kg), PDS20 (1,6 g/kg), PNT10 (0,35 g/kg) và PNT20 (0,7 g/kg) có chỉ số thực bào sau 5 phút tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột bệnh lý. Giá trị chỉ số thực bào trung bình ở các lô chuột được uống PDS và PNT ở các liều thử nghiệm khác nhau thì không có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, theo tỷ lệ phần trăm tăng chỉ số thực bào của các lô thử so với chuột bệnh lý thì PNT20 (0,7 g/kg) thể hiện khả năng làm tăng thanh thải carbon cao nhất (56%); kế đến là PNT10 (0,35 g/kg) (53,2%); PDS20 (1,6 g/kg) (38%); PDS5 (0,4 g/kg) (33,2%), PDS10 (0,8 g/kg) (29,6%) và PNT5 (0,175 g/kg) (29,2%). Các lô chuột được uống PDS và PNT ở các liều thử nghiệm có chỉ số thực bào không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chuột sinh lý. PDS và PNT cũng thể hiện tác dụng thanh thải carbon tương đương với zymosan liều 10 mg/kg; điều này cho thấy khả năng giúp tăng cường miễn dịch của cao chiết giàu polysaccharid từ đẳng sâm nam và ngư tât.

### 3. Bàn luận

Hệ miễn dịch là một thành phần quan trọng và phức tạp của cơ chế bảo vệ cơ thể bao gồm miễn dịch bẩm sinh và thích ứng. Chức năng miễn dịch đề cập đến việc cải thiện các dấu ấn sinh học liên quan đến việc tăng cường chức năng miễn dịch và giảm bớt phản ứng miễn dịch kích thích. Trong điều trị ung thư, hóa trị liệu ức chế sự phát triển của tế bào ung thư nhưng chúng có thể làm hỏng các tế bào bình thường hoặc gây ra tác dụng phụ, chẳng hạn như ức chế miễn dịch [12]. Hơn nữa, sự gia tăng chất bụi dạng hạt và các dạng ô nhiễm môi trường khác dẫn đến các bệnh lý cụ thể. Vì vậy, cơ chế điều hòa đáp ứng miễn dịch đóng vai trò quan trọng trong phòng và điều trị bệnh.

Đại thực bào bao gồm một thành phần không thể thiếu của tuyến phòng thủ đầu tiên trong việc bảo vệ vật chủ khỏi bị nhiễm trùng bằng cách tạo ra các phản ứng miễn dịch. Đại thực bào là các tế bào rất quan trọng trong đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và thích nghi, phân bố dưới nhiều dạng khác nhau trong tất cả các mô, ở điều kiện bình thường, chúng có vai trò bảo vệ cơ thể trước sự tấn công của mầm bệnh ngoại lai và các chất độc hại [13]. Cytokin là các protein được tiết từ các tế bào

miễn dịch và tế bào kể tham gia vào quá trình giao tiếp giữa các tế bào và trao đổi các phân tử sinh học. Chức năng của cytokin được phân loại dựa trên tác dụng gây viêm hoặc chống viêm của chúng và sự truyền tín hiệu liên quan có liên quan đến việc điều chỉnh phản ứng miễn dịch [14]. IL-10 là một cytokin chống viêm, trong khi IL-1 $\beta$  là một cytokin tiền viêm mạnh, rất quan trọng đối với các phản ứng bảo vệ vật chủ đối với nhiễm trùng và chấn thương. Kết quả nghiên cứu này cho thấy cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm nam làm giảm đáng kể IL-1 $\beta$ , trong khi cao chiết giàu polysaccharid từ ngưu tất chưa thể hiện tác động này. Trong khi đó, cả cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm và ngưu tất ở nồng độ 20  $\mu\text{g/ml}$  đều chưa thể hiện tác động làm thay đổi đáng kể nồng độ IL-10 trên mô hình tế bào RAW264.7. Nghiên cứu trước đây cho thấy polysaccharid từ ngưu tất (*A. bidentata*) nồng độ từ 50-1000  $\mu\text{g/ml}$  có hoạt tính kích thích miễn dịch trên dòng tế bào đại thực bào chuột J774 A.1 thông qua tăng tiết ra các cytokin như IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , NO và kích thích con đường NF- $\kappa\text{B}$  thông qua tín hiệu TLR4/MyD88 [15]. Polysaccharid từ đảng sâm bắc (*C. pilosula*) 25-100  $\mu\text{g/ml}$  cũng có tác dụng kích thích miễn dịch thông qua tăng hoạt động thực bào, tăng NO, TNF- $\alpha$  và IL-6 ở tế bào RAW264.7 [16]. Tuy nhiên, cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm và ngưu tất ở nồng độ khảo sát trong nghiên cứu này chưa thể hiện tác động kích thích miễn dịch rõ ràng trên tế bào đại thực bào RAW264.7. Do đó, việc khảo sát ở các nồng độ khác của mẫu thử cũng như các cytokin khác có thể được thực hiện thêm để có thể đánh giá cụ thể hơn tác động của cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm và ngưu tất.

Cyclophosphamid là hoạt chất được chỉ định điều trị một số loại ung thư nhưng có thể gây các tác động suy giảm miễn dịch, cả miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào. Do đó, cyclophosphamid đã được sử dụng làm tác nhân gây suy giảm miễn dịch trên mô hình động vật thực nghiệm để đánh giá tác dụng tăng cường miễn dịch của thuốc mới. Cyclophosphamid gây ức chế chung cho tất cả các tế bào đang tăng sinh, đặc biệt là các tế bào lympho đang hoạt động, làm suy thoái tủy xương, làm giảm sự sản sinh các loại bạch cầu, tiểu cầu và gây nhiều tác dụng không mong muốn trên nhiều mô và cơ quan [17]. Các đơn nhân thực bào là những tế bào rất đặc trưng trong hoạt động thực bào. Quân thể các bạch cầu đơn nhân lớn và bạch cầu đa nhân trung tính thường tạo thành một phức hợp vồng nội mô và tạo nên hàng rào

chuyên vây bắt các cấu trúc lạ. Trong nghiên cứu này, zymosan được sử dụng làm thuốc đối chiếu vì zymosan có đáp ứng miễn dịch bẩm sinh với vi khuẩn gồm kích hoạt cơ chế thực bào và kích thích các cytokin gây viêm. Zymosan cũng đã được sử dụng làm thuốc đối chiếu trong thực nghiệm thanh thải carbon ở mô hình chuột gây suy giảm miễn dịch bởi cyclophosphamid [18]. Những chất kích thích hoạt động thực bào hoặc hoạt động của hệ vồng nội mô như zymosan sẽ có sự thanh thải nhanh được biểu hiện bằng sự gia tăng chỉ số thực bào. Kết quả của nghiên cứu này cũng tương đồng với các công bố trước đây [18],[19], cho thấy cyclophosphamid tiêm liều duy nhất 150 mg/kg đã làm suy giảm hệ miễn dịch của chuột thông qua sự suy giảm chỉ số thực bào so với lô chứng sinh lý. Cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm nam hoặc ngưu tất thể hiện tác dụng tăng cường miễn dịch trong thực nghiệm thanh thải carbon trên chuột bị suy giảm miễn dịch bởi cyclophosphamid. Kết quả nghiên cứu tại Việt Nam cho thấy cao chiết còn đảng sâm nam (*C. javanica*) liều uống 1,5 g/kg, cao chiết nước liều uống 1,3 g/kg, viên nang từ cao chiết nước liều uống 3 viên và 6 viên/kg đều có tác dụng làm tăng chỉ số thực bào và tăng đáp ứng miễn dịch tế bào trên mô hình chuột gây suy giảm miễn dịch bởi cyclophosphamid [18]. Kết quả gần đây (2021) cũng cho thấy tác dụng tăng cường miễn dịch polysaccharid từ đảng sâm nam (*C. javanica*) thông qua tăng cường đáng kể mức độ quá mẫn chậm, tăng chỉ số thực bào carbon trên chuột [20]. Nghiên cứu trước đây cho thấy polysaccharid từ đảng sâm bắc (*C. pilosula*) làm tăng các chỉ số cơ quan miễn dịch, chỉ số thực bào và hàm lượng globulin miễn dịch, kích thích sự tăng sinh của tế bào lympho lách, tăng phản ứng quá mẫn chậm, thúc đẩy sản xuất NO và cytokin (IL-2 và IFN- $\gamma$ ), tăng biểu hiện protein p38, ERK1/2, JNK được phosphoryl hóa, cho thấy tác dụng điều hòa miễn dịch thông qua con đường truyền tín hiệu MAPK [21]. Polysaccharid từ ngưu tất (*A. bidentata*) có tác dụng tăng cường miễn dịch trên lợn [22],[23].

#### 4. Kết luận

Cao chiết giàu polysaccharid từ đảng sâm nam và ngưu tất thể hiện tác dụng kích thích miễn dịch trong thực nghiệm thanh thải carbon trên chuột gây suy giảm miễn dịch bằng cyclophosphamid. Tuy nhiên, cả hai mẫu cao chiết đều chưa thể hiện khả năng kích thích miễn dịch trên mô hình tế bào đại thực bào ở nồng độ khảo sát.

1. Zou Y. F., Zhang Y. Y., Fu Y. P., Inngjerdigen K. T., Paulsen B. S., Feng B., Zhu Z. K., Li L. X., Jia R. Y., Huang C., Song X., Lv C., Ye G., Liang X. X., He C. L., Yin L. Z., Yin Z. Q. (2019), A polysaccharide isolated from *Codonopsis pilosula* with immunomodulation effects both *in vitro* and *in vivo*, *Molecules*, 24(20), 3632.
2. Jian-ping G. J. L. M., Research M. M. (2011), Separation and structural characterization and anti-tumor effect *in vitro* of Polysaccharides from *Radix Codonopsis*, *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 12, 21.
3. Yang C., Gou Y., Chen J., An J., Chen W., Hu F. (2013), Structural characterization and antitumor activity of a pectic polysaccharide from *Codonopsis pilosula*, *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 886-95.
4. He K., Li X., Chen X., Ye X., Huang J., Jin Y., Li P., Deng Y., Jin Q., Shi Q., Shu H. (2011), Evaluation of antidiabetic potential of selected traditional Chinese medicines in STZ-induced diabetic mice, *Journal of Ethnopharmacology*, 137(3), 1135-42.
5. Tao W., Pei-xin H., Sheng-xue F., Dong-zhi W. (2011), Study on the ultrasonic-assisted extraction technology of polysaccharides from *Achyranthes bidentata* Blume and its anti-oxidant activities, *Food and Fermentation Industries*, 37(2), 191-194.
6. Xue S., Chen X., Lu J., Jin L. (2009), Protective effect of sulfated *Achyranthes bidentata* polysaccharides on streptozotocin-induced oxidative stress in rats, *Carbohydrate Polymers*, 75(3), 415-419.
7. Lin J., Zhang Z., Shan Y. (2010), Effect of *Achyranthes bidentata* polysaccharides on the expression of BCL-2 and bax in hepatic tissues after exhaustive exercise in rats, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 7(4), 307-14.
8. Zhang Z., Lin J. (2012), Effects of *Achyranthes bidentata* Polysaccharides on Physical Fatigue, *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(8), 726-732.
9. Zhu X., Pan Y., Zheng L., Cui L., Cao Y. (2012), Polysaccharides from the Chinese medicinal herb *Achyranthes bidentata* enhance anti-malarial immunity during *Plasmodium yoelii* 17XL infection in mice, *Malaria Journal*, 11, 49.
10. Jeon H., Oh S., Kum E., Seo S., Park Y., Kim G. (2022), Immunomodulatory effects of an aqueous extract of Black Radish on mouse macrophages via the TLR2/4-mediated signaling pathway, *Pharmaceuticals (Basel)*, 15(11), 1376.
11. Trần Thị Minh Tâm, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Minh Đức (2015), Nghiên cứu tác dụng tăng cường miễn dịch của cao xương Cá Sấu Hoa Cà, *Tạp chí Dược liệu*, 20(2), 121-126.
12. Hong S. H., Ku J. M., Kim H. I., Ahn C. W., Park S. H., Seo H. S., Shin Y. C., Ko S. G. (2017), Erratum to 'The immune-enhancing activity of *Cervus nippon mantchuricus* extract (NGE) in RAW264.7 macrophage cells and immunosuppressed mice' [Food Research International 99 (2017) start 623-629], *Food Research International*, 102, 793-795.
13. Hirayama D., Iida T., Nakase H. (2017), The phagocytic function of macrophage-enforcing innate immunity and tissue homeostasis, *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 92.
14. Shachar I., Karin N. (2013), The dual roles of inflammatory cytokines and chemokines in the regulation of autoimmune diseases and their clinical implications, *Journal of Leukocyte Biology*, 93(1), 51-61.
15. Fan S., Wang Y., Zhang Y., Wu Y., Chen X. (2021), *Achyranthes bidentata* polysaccharide activates Nuclear factor-kappa B and promotes cytokine production in J774A.1 cells through TLR4/MyD88 signaling pathway, *Frontiers in Pharmacology*, 12, 753599.
16. Qin T., Ren Z., Lin D., Song Y., Li J., Ma Y., Hou X., Huang Y. (2016), Effects of selenizing *Codonopsis pilosula* polysaccharide on macrophage modulatory activities, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(8), 1358-66.
17. Olayinka E. T., Ore A., Ola O. S., Adeyemo O. A. (2015), Ameliorative effect of Lactic acid on Cyclophosphamide-induced oxidative injury and hepatic dysfunction in rats, *Medical Sciences (Basel)*, 3(3), 78-92.
18. Nguyễn Thị Thu Hương, Chung Thị Mỹ Duyên, Nguyễn Thị Ngọc Đan, Trần Công Luận (2015), Nghiên cứu thực nghiệm tác dụng tăng cường miễn dịch của cao chiết và viên nang dạng sẫm việt nam (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f.), *Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 19(5), 124-130.
19. Alshahrani S., Ali Thubab H. M., Ali Zaeri A. M., Anwer T., Ahmed R. A., Jali A. M., Qadri M., Nomier Y., Moni S. S., Alam M. F. (2022), The protective effects of Sesamin against Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammatory-cytokines and apoptosis in rats, *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11615.
20. Wu L., Peng M., Jing Y., Yang X., Yang J. (2021), Immunomodulatory effect of polysaccharides from the extraction of *Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. et Thomson (Campanulaceae) roots in female rats, *Natural Product Research*, 35(24), 5883-5887.
21. Bai R. B., Zhang Y. J., Fan J. M., Jia X. S., Li D., Wang Y. P., Zhou J., Yan Q., Hu F. D. (2020), Immune-enhancement effects of oligosaccharides from *Codonopsis pilosula* on cyclophosphamide induced immunosuppression in mice, *Food Function*, 11(4), 3306-3315.
22. Kang P., Xiao H. L., Hou Y. Q., Ding B. Y., Liu Y. L., Zhu H. L., Hu Q. Z., Hu Y., Yin Y. L. (2010), Effects of *Astragalus* Polysaccharides, *Achyranthes bidentata* Polysaccharides, and *Acanthopanax senticosus* Saponin on the performance and immunity in weaned pigs, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(6), 750-756.
23. Chen Q., Liu Z., He J. H. (2009), *Achyranthes bidentata* polysaccharide enhances immune response in weaned piglets, *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 31(2), 253-60.

**Tạp chí Dược liệu, tập 28, số 5/2023 (Trang 313 - 319)**

## ĐIỀU TRA THÀNH PHẦN LOÀI CÂY THUỐC DỰA TRÊN TRI THỨC BẢN ĐỊA CỦA CỘNG ĐỒNG DÂN TỘC MƯỜNG TẠI HUYỆN TÂN LẠC, TỈNH HÒA BÌNH

**Tô Minh Tứ, Nguyễn Xuân Nam, Trần Văn Lộc, Nguyễn Thị Thủy, Trịnh Thị Nga,  
Đặng Việt Cường, Nguyễn Văn Khiêm\***

*Viện Dược liệu*

\*Email: ngvankhiem@yahoo.com

(Nhận bài ngày 14 tháng 02 năm 2023)

### Tóm tắt

Kết quả điều tra tri thức bản địa của dân tộc Mường tại huyện Tân Lạc, tỉnh Hòa Bình đã ghi nhận được 176 loài thuộc 158 chi, 78 họ của 5 ngành thực vật bậc cao có mạch, trong đó, ngành Ngọc lan đa dạng nhất, chiếm 94,32% tổng số loài. Dạng thân gồm 6 nhóm và nhóm thực vật thân thảo chiếm ưu thế với 74 loài, chiếm 42,05%. Môi trường của các loài cây thuốc chủ yếu ở trong rừng và dưới tán với 75 loài, chiếm tỉ lệ 42,61%. Các bộ phận được sử dụng để làm thuốc