

Khả năng chống oxy hóa và kháng viêm của chiết xuất cồn và nước từ thân cành củ dền (*Croton oblongifolius* Roxb.)

Antioxidant and anti-inflammatory effects of ethanol and aqueous stem extract of *Croton oblongifolius* Roxb.

Từ Khởi Thành¹, Ngô Hoàng Long¹, Phạm Thị Hải Hà¹, Châu Thị Nhã Trúc^{2*}

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ, Email: chauthinhtruc@ump.edu.vn

THÔNG TIN

TÓM TẮT

DOI:10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.18.2.2619.2023

Ngày nhận: 09/01/2023

Ngày nhận lại: 16/02/2023

Duyệt đăng: 30/03/2023

Giới thiệu: Củ dền (*Croton oblongifolius* Roxb.) thuộc họ Euphorbiaceae, là cây dược liệu phân bố ở nhiều nước trong vùng Đông Nam Á trong đó có Việt Nam. Củ dền được tìm thấy nhiều trong các bài thuốc dân tộc để hỗ trợ, chữa trị các bệnh viêm nhiễm khác nhau.

Vật liệu và phương pháp: Thân cành Củ dền được chiết xuất bằng các phương pháp hồi lưu với các dung môi khác nhau. Khả năng bắt gốc tự do DPPH được thực hiện để khảo sát hoạt tính chống oxy hóa. Ngoài ra, các thí nghiệm khảo sát khả năng kháng viêm được thực hiện qua mô hình động vật *in vivo* bằng phương pháp độc tính cấp tính đường uống và cảm ứng carrageenan.

Kết quả: Dịch chiết cồn Củ dền thể hiện hoạt tính chống oxy hóa khả quan với IC₅₀ đạt được là 189.25 µg/ml. Kết quả độc tính cấp tính cho thấy D_{max} của chiết xuất ACO và ECO lần lượt là 21 và 23.93 g/kg trọng lượng chuột và không có triệu chứng bất thường nào xảy ra ở động vật. Ngoài ra, dịch chiết cồn (0.24 g/kg) thể hiện khả năng kháng viêm mạnh khi so sánh cùng thuốc đối chiếu Celecoxib (25 mg/kg).

Từ khóa:

Croton oblongifolius; chống oxy hóa; độc tính cấp đường uống; kháng viêm

Kết luận: Những kết quả thu được đóng góp cho nền tảng nghiên cứu trong tương lai về các đặc tính kháng viêm, cũng như việc xác định cơ chế điều trị bệnh.

ABSTRACT

Introduction: *Croton oblongifolius* Roxb. is a member of the Euphorbiaceae family that grows naturally or in cultivation in a variety of locations, including Vietnam. This plant is still used in traditional medicine to treat diarrhea, edema, and other inflammatory diseases.

Keywords:

Croton oblongifolius; antioxidant activity; acute toxicity; anti-inflammatory activity

Materials and methods: The stem is extracted by boiling it in a water bath with distinct solvents under reflux. The DPPH assay is performed to evaluate antioxidant activity. Moreover, an acute toxicity test is performed on 10 male *Swiss albino* strain mice, divided into two groups, and given different extracts of *C.*

oblongifolious. The *in vivo* anti-inflammatory experiment is applied to the paws of mice utilizing the carrageenan induction method.

Results: The results demonstrate that the absolute ethanol extract exhibits significant *in vitro* antioxidant activity with an IC₅₀ of 189.25 µg/ml in the DPPH assay. The acute toxicity results show that the D_{max} of ACO and ECO extracts is 21 g/kg and 23.93 g/kg of mouse weight, respectively, with no abnormalities in any of the animals. Furthermore, the ethanol extract (0.24 g/kg) exhibits potent inhibition of inflammation compared to celecoxib (25 mg/kg).

Conclusions: The findings of this study establish the groundwork for future research into the mechanism of anti-inflammatory properties, as well as the identification of specific pharmacological routes.

1. Giới thiệu

Các loại thuốc được bào chế từ nguồn gốc thực vật hiện nay đang góp phần quan trọng trong việc giúp phòng ngừa hoặc điều trị đối với nhiều loại bệnh cùng hiệu quả tương tự các loại thuốc tổng hợp hóa học thông thường (Balunas & Kinghorn, 2005). Dược liệu được sử dụng trong y học cổ truyền ở nhiều dân tộc trên thế giới, với những mục đích khác nhau trong việc phòng ngừa và tăng cường sức khỏe. Ngoài ra, những hợp chất tự nhiên (flavonoids, polyphenols, saponins, alkaloids, ...) được báo cáo có nhiều đặc tính sinh học có lợi cho sức khỏe như khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng viêm, kháng ung thư. Trong những năm gần đây, các nhà khoa học đã bắt đầu quan tâm đến việc khám phá và sàng lọc các hoạt tính sinh học có lợi có trong thực vật, mang đến nhiều cơ hội trong việc ứng dụng trong nhiều lĩnh vực với mục tiêu cải thiện đời sống và chăm sóc sức khỏe người tiêu dùng (Mathew, Tiwari, & Jatawa, 2011).

Phản ứng viêm là một đáp ứng miễn dịch tự nhiên với mục đích bảo vệ cơ thể khỏi các tác nhân ngoại sinh (vi sinh vật, tác nhân cơ, lý, hóa) và nội sinh (bệnh tự miễn, thiếu máu cục bộ, ...), ngoài ra phản ứng cũng là một phần của quá trình chữa lành trong các mô bị thương. Quá trình viêm xảy ra dẫn đến hiện tượng thấm mạch, tăng sinh tế bào tại ổ viêm đi cùng với các triệu chứng như sưng, phù nề, nóng, đỏ đau (Nathan, 2002). Đại thực bào - tế bào được biệt hóa bởi các bạch cầu đơn nhân - đóng vai trò quan trọng trong quá trình thanh lọc và kiểm soát sự hình thành mạch cùng tái cấu trúc chất nền ECM (extracellular matrix), kích hoạt con đường tín hiệu viêm qua quá trình chuyển hóa một số yếu tố phiên mã (Gilmore, 1999). Song song đó, các đại thực bào đáp ứng quá trình viêm bằng việc sản xuất quá mức các chất trung gian gây viêm như nitric oxide (NO), các dạng oxy phản ứng (ROS), cytokine gây viêm (interleukin 1β, 6) và yếu tố hoại tử khối u (TNFα) (Merson, Binder, & Kilpatrick, 2010; Sharma, Al-Omran, & Parvathy, 2007). Các loại thuốc được sử dụng hỗ trợ việc kháng viêm được chia thành các nhóm phổ biến như thuốc thuộc dòng nactotics, thuốc không thuộc dòng nactotics và corticosteroids. Tuy nhiên, những loại thuốc tổng hợp hóa học đều mang theo các tác dụng phụ không mong muốn, do đó các thuốc có nguồn gốc từ thực vật được đề xuất và phổ biến rộng rãi bởi chứa nhiều các đặc tính an toàn.

Croton oblongifolius Roxb., còn được gọi là cây Cù đèn, thuộc họ Euphorbiaceae, là loại thảo mộc truyền thống được tìm thấy ở nhiều vùng của Thái Lan và các nước Châu Á khác. Lá Cù đèn được sử dụng làm thuốc bổ máu, hỗ trợ tình trạng kém ăn và suy nhược toàn thân. Ngoài ra lá cây còn có hoạt tính kháng khuẩn và sát trùng. Rễ cây vị hơi ngọt, được sử dụng trong các bài thuốc chữa kiết lị. Vỏ cây được dùng điều trị chứng khó tiêu, gan to mãn tính (Ngamrojnavanich, Sirimongkon, Roengsumran, Petsom, & Kamimura, 2003; Poofery, Sripanidkulchai, &

Banjerdpongchai, 2020). Quả được dùng để làm giảm các cơn đau bụng kinh và hạt có tác dụng tẩy giun (Sommit, Petsom, Ishikawa, & Roengsumran, 2003; Vo, 1991). Trong các bài thuốc y học cổ truyền ở Thái Lan, Cù đèn kết hợp với nhiều loại dược liệu khác điều trị các triệu chứng viêm loét và ung thư dạ dày (kết hợp với *Croton sublyratus*), cải thiện lưu thông máu, thanh lọc, và làm thuốc giải độc - khi kết hợp cùng *Croton stellatopillosus* Ohba (Poofery & ctg., 2020). Một số nghiên cứu công bố về lợi ích sinh học của Cù đèn như chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, và kháng ung thư. Các báo cáo về thành phần hóa học của cây Cù đèn cho thấy, cây chứa nhiều các hợp chất sinh học như tinh dầu (chứa nhiều hợp như sesquiterpenes và diterpenes), polyphenols, saponins, alkaloids, glycosides và flavonoids (Kumar, Shukla, Lavania, Sharma, & Singh, 1997). Bên cạnh đó, một số hợp chất đã được phân lập từ *C. oblongifolius*, bao gồm megastigmane glycosides, halimanes, labdane diterpenoids, cembranes, clerodanes, acantoic acid và (-)-ent-kaur-16-en-19-oic acid (Poofery & ctg., 2020).

Tại Việt Nam, các nghiên cứu chứng minh hoạt tính sinh học của cây Cù đèn vẫn chưa nhiều. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này tập trung đánh giá tác dụng sinh học của các cao chiết với các dung môi khác nhau của thân cành Cù đèn qua hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* và đặc tính kháng viêm *in vivo*; qua đó cung cấp dữ liệu về nguồn dược liệu tiềm năng trong việc ứng dụng phòng điều trị bệnh.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Thiết bị, hóa chất

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Ascorbic acid, Carrageenan và Celecoxib thuộc hãng Sigma, Mỹ. Các dung môi sử dụng đều đạt tiêu chuẩn hóa phân tích, Việt Nam.

Máy đo quang phổ, thiết bị đo thể tích chân chuột (Model 7140) được cung cấp bởi Hãng Ugo Basile (Varese, Italy).

2.2. Điều chế cao cồn và cao nước của thân cành Cù đèn

Thân cành Cù đèn sau khi xử lý sơ bộ được đem nghiền thành bột (300g), chiết xuất bằng phương pháp hồi lưu với hai loại dung môi chiết là cồn tuyệt đối và nước, tiến hành ở nhiệt độ phòng và thực hiện chiết 03 lần với mỗi dung môi. Dịch chiết được gom lại, lọc cặn và cô đuổi dung môi dưới áp suất kém ở 45°C đến khi đạt được dạng cao đặc. Kết quả thu được hai loại cao tổng tương ứng với hai loại dung môi là cao cồn (ECO) và cao nước (ACO), bảo quản ở 5°C để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Hiệu suất chiết thu cao tổng được tính theo công thức dưới đây (1):

$$H\% = \frac{\text{Khối lượng cao chiết}}{\text{Khối lượng bột nguyên liệu}} \times 100 \quad (1)$$

2.3. Khả năng bắt gốc tự do DPPH

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết được đánh giá qua việc bắt gốc tự do DPPH và được thực hiện theo phương pháp của tác giả Nguyễn Thị Hằng, có hiệu chỉnh (Nguyen, Nguyen, & Mai, 2016).

Phương pháp được mô tả cụ thể như sau: hỗn hợp gồm 1ml dung dịch DPPH 0.8mM được bổ sung 1ml các mẫu cao chiết ở nồng độ khác nhau. Cao ACO có nồng độ từ 100 đến 500 µg/ml, cao ECO từ 40 đến 320 µg/ml. Các ống nghiệm được ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp đem đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517nm. Đối chứng dương sử dụng là ascorbic acid với nồng độ khảo sát: 2, 4, 6, 8, 10 µg/ml. Thí nghiệm lặp lại 03 lần.

Khả năng bắt gốc tự do DPPH (I%) được tính toán qua công thức (2):

$$I(\%) = \frac{OD_0 - \Delta OD}{OD_0} \times 100 \quad (2)$$

Trong đó

OD₀: độ hấp thụ của mẫu trắng

ΔOD: độ hấp thụ của mẫu thử

Kết quả đánh giá khả năng chống oxy hóa của cao chiết được thể hiện qua giá trị IC₅₀ (μg/ml) - nồng độ của mẫu thử mà tại đó có khả năng trung hòa 50% gốc tự do DPPH. Trong đó, giá trị IC₅₀ được nội suy dựa trên phương trình hồi quy tuyến tính của từng loại cao chiết.

2.4. Khảo sát độc tính cấp đường uống

Chuột Swiss albino đực (05 - 06 tuần tuổi, khối lượng 20 ± 2g) được cung cấp từ Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang. Chuột sau khi nhận về được nuôi ổn định một tuần ở điều kiện môi trường tiêu chuẩn trước khi thử nghiệm.

Thí nghiệm khảo sát độc tính cấp đường uống được thực hiện theo mô hình của tác giả Đỗ Trung Đàm (Đam, 2014). Chuột được cho nhịn đói 16 giờ trước khi tiến hành thí nghiệm và chia thành các nhóm tương ứng từng cao chiết ACO và ECO, với mỗi nhóm gồm 05 con.

Lô 1 (lô thử lần 1): cao chiết ACO

Lô 2 (lô thử lần 2): cao chiết ACO

Lô 3 (lô thử lần 1): cao chiết ECO

Lô 4 (lô thử lần 2): cao chiết ECO

Những chuột ở cùng một lô sẽ được cho uống cùng một nồng độ cao chiết duy nhất - liều đậm đặc của mẫu khảo sát có thể bơm qua kim tù cho chuột uống. Thể tích tối đa cho uống trong thử nghiệm là 20 ml/kg trọng lượng chuột và không quá 0.5 ml/chuột/lần. Chuột ở mỗi lô được quan sát riêng lẻ sau khi cho uống 30 phút. Đánh giá, ghi nhận số chuột sống chết và tình trạng lâm sàng chung về độc tính của chuột (hoạt động sinh lý, biểu hiện hành vi, tình trạng da lông, quá trình bài tiết, ...) trong vòng 72 giờ theo dõi. Thí nghiệm được tiếp tục quan sát trong 14 ngày nếu chuột không có dấu hiệu, triệu chứng bất thường hoặc chết sau 72 giờ. Các cơ quan của chuột (gan, tim, thận, lách) được mổ ngay lập tức để đánh giá đại thể và sự thay đổi bệnh lý (nếu có chuột chết) trong giai đoạn theo dõi. Qua đó, giá trị LD₅₀ (g/kg) được xác định dựa theo công thức Karber - Behren (Đam, 2014). Liều tối đa bơm qua kim không làm chết chuột (D_{max}), liều chết tuyệt đối 100% (LD₁₀₀), và liều trung gian (LD₅₀) cũng được xác định. Trong các thử nghiệm dược lý, liều tương đối an toàn (D_s) được tính toán.

2.5. Khảo sát tác dụng kháng viêm cấp

Thí nghiệm được thực hiện trên mô hình gây viêm phù chân chuột bằng carrageenan để đánh giá tác dụng kháng viêm cấp tính của Cù đèn (Winter, Risley, & Nuss, 1962). Trước khi tiến hành thí nghiệm, thể tích chân chuột bình thường được đo để làm đối chứng. Chuột được tiêm carrageenan 1% dưới da ở gan bàn chân phải để gây phù chân. Mức độ gây viêm tối đa trong khoảng 03 - 05 giờ. Những mẫu cao chiết có tác dụng kháng viêm có biểu hiện làm giảm thể tích phù chân ở chuột.

Những con chuột được tiêm carrageenan có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê về tình trạng phù chân khi so với thể tích chân đối chứng, được đem đi thử nghiệm và chia thành 06 lô, với mỗi liều khảo sát tiến hành trên 08 con chuột.

Lô 1 (lô chứng âm): nước cất

Lô 2 (lô chứng dương): celecoxib liều 0.025 g/kg

Lô 3 (lô thử): cao chiết ACO liều 0.21 g/kg

Lô 4 (lô thử): cao chiết ACO liều 0.42 g/kg

Lô 5 (lô thử): cao chiết ECO liều 0.12 g/kg

Lô 6 (lô thử): cao chiết ECO liều 0.24 g/kg

Để đánh giá mức độ gây viêm, thể tích chân chuột được đo tại các thời điểm 3, 24, 48, 72 giờ sau khi tiêm carrageenan. Thể tích chân được đo lặp lại 02 lần và tính giá trị trung bình. Các lô thí nghiệm vẫn tiếp tục cho uống nước cất, celecoxib và mẫu thử hằng ngày, với thể tích 10 ml/kg trọng lượng chuột.

Mức độ viêm chân chuột (X%) thể hiện qua công thức sau (3):

$$X (\%) = \frac{V_s - V_0}{V_0} \times 100 \quad (3)$$

Trong đó

V_s : thể tích chân chuột đo sau khi tiêm carrageenan.

V_0 : thể tích chân chuột đo trước khi tiêm carrageenan.

2.6. Xử lý số liệu

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình: $M \pm SEM$ (Standard Error of the Mean). Dữ liệu được xử lý thống kê bằng phương pháp ANOVA qua phần mềm SigmaStat - 3.5. Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

3. Kết quả và biện luận

3.1. Khả năng bắt gốc tự do DPPH

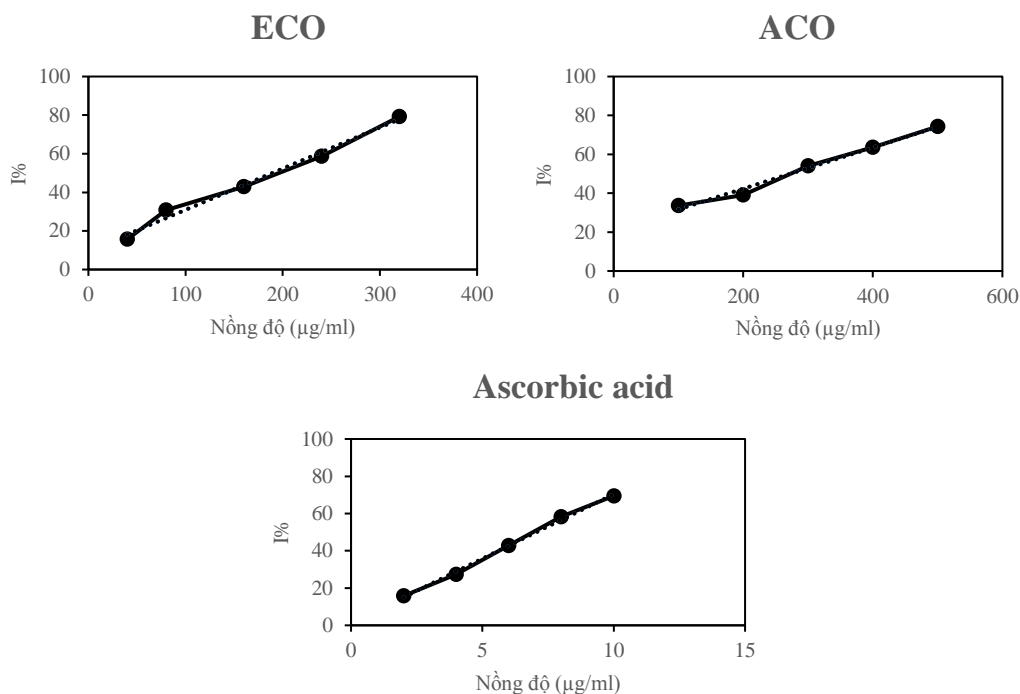
Phương pháp bắt gốc tự do DPPH là phương pháp được sử dụng phổ biến nhằm sàng lọc các hợp chất được phân lập từ thực vật thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, thông qua việc đánh giá khả năng bắt gốc tự do của mẫu thử. Những điện tử đơn độc có trong gốc tự do DPPH cho sự hấp thụ mạnh nhất ở bước sóng 517nm và cho hỗn hợp màu tím. Khi các electron đơn lẻ kết hợp với hydrogen của chất chống oxy hóa để chuyển hóa thành dạng DPPH-H, cường độ màu tím sẽ giảm dần thành vàng/không màu. Qua đó, khả năng bắt gốc tự do càng cao thì độ hấp thụ quang phổ càng thấp khi đo ở bước sóng 517nm và ngược lại (Kedare & Singh, 2011).

Khả năng chống oxy hóa của mẫu cao chiết Cù đèn và đối chứng dương ascorbic acid được thể hiện qua **Bảng 1** và **Hình 1**.

Bảng 1

Giá trị IC_{50} của ascorbic acid và các cao chiết Cù đèn

Mẫu	Phương trình hồi quy	R^2	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
ECO	$y = 0.2135x + 9.5935$	0.9872	189.25
ACO	$y = 0.106x + 21.129$	0.9863	272.36
Ascorbic acid	$y = 6.912x + 1.237$	0.996	7.05



Hình 1. Khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của mẫu và ascorbic acid

Giá trị IC_{50} càng nhỏ thể hiện khả năng chống oxy hóa càng mạnh của các mẫu thử. Ngoài ra, kết quả ở Hình 1 cho thấy khả năng bắt gốc tự do của các mẫu cao chiết tỷ lệ thuận với nồng độ. Ascorbic acid là chất chống oxy hóa mạnh được sử dụng làm đối chứng dương với $IC_{50} = 7.05 \mu\text{g/ml}$, thấp hơn ECO ($IC_{50} = 189.25 \mu\text{g/ml}$) và ACO ($IC_{50} = 272.36 \mu\text{g/ml}$) lần lượt là 26.4 và 38.6 lần. Cao ECO cho khả năng chống oxy hóa mạnh hơn so với cao ACO, kết quả tương tự với báo cáo trước đó của Aye và Khine (2020). Kết quả của Aye và Khine (2020) cho thấy hàm lượng polyphenols và flavonoids tổng số có trong cao chiết cồn của Cù đèn cao hơn gấp 4.7 và 1.6 lần so với cao nước. Ngoài ra, đặc tính loại bỏ các gốc DPPH của cao chiết được giải thích là do cơ chế cho nguyên tử hydrogen và khả năng này thay đổi theo nồng độ của thành phần polyphenols và flavonoids có trong dịch chiết (Kumar & ctg., 1997). Từ những kết quả trên chứng minh được hoạt tính chống oxy hóa của Cù đèn do có nhiều những hợp chất có hoạt tính sinh học mạnh như polyphenols, flavonoids, saponins, ... và những chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên này được xem là những chất tiềm năng ngăn ngừa và phòng chống các bệnh ung thư, đái tháo đường, viêm nhiễm, và lão hóa (Dixon, Xie, & Sharma, 2005).

3.2. Khảo sát độc tính cấp đường uống

Kết quả **Bảng 2** cho thấy tỷ lệ tử vong của chuột là 0% sau 72 giờ cho uống liều đề xuất tối đa của ACO và ECO, với liều trung bình là 20 g/kg trọng lượng chuột, từ đó không xác định được LD_{50} . Chuột được liên tục theo dõi trong 14 ngày và kết quả quan sát hành vi cùng thể trạng tổng quát của chuột thử nghiệm cho thấy không có triệu chứng và dấu hiệu bất thường. Do đó, liều tối đa qua kim không làm chết chuột (D_{max}) được xác định lần lượt là 21.00 g/kg và 23.99 g/kg trọng lượng chuột của chiết xuất ACO và ECO. Thử nghiệm này không chỉ cung cấp phạm vi liều lượng và nồng độ mà còn cho phép theo dõi được các triệu chứng lâm sàng tiềm ẩn trong khi sử dụng các mẫu chiết xuất Cù đèn.

Bảng 2

Kết quả khảo sát độc tính cấp đường uống của mẫu thử

Mẫu thử	ACO		ECO	
	I	II	I	II
Số lần thử nghiệm				
Liều uống (g/kg)	21.00	21.00	23.97	24.01
Số chuột thử nghiệm (con)	5	5	5	5
Số chuột tử vong sau 72 giờ	0	0	0	0
Số chuột tử vong sau 14 ngày	0	0	0	0
D_{max} (g/kg)	21.00		23.99	

Theo Dam (2014), liều tương đối an toàn thử nghiệm tác động dược lý của dược liệu có thể bằng 1/5 D_{max} hoặc lớn hơn 1/5 D_{max}. Nghiên cứu lựa chọn liều thử nghiệm dược lý nhằm đánh giá khả năng kháng viêm cấp của ACO và ECO được thể hiện qua **Bảng 3**.

Bảng 3

Liều thử nghiệm dược lý của các cao chiết

Mẫu	Hiệu suất chiết (%)	Liều thử nghiệm tính theo g dược liệu/kg	Liều thử nghiệm tính theo g dược liệu/kg
ACO	3.41	5	0.21
		10	0.42
ECO	1.99	5	0.12
		10	0.24

3.3. Kết quả thử nghiệm kháng viêm cấp

Nhiều mô hình đã được sử dụng để khảo sát hoạt tính kháng viêm *in vivo* như gây ban đỏ bằng tia tử ngoại, gây phù chân bằng carrageenan, gây u hạt bằng hạt amian vô khuẩn, gây viêm bằng các tác nhân khác như kaolin, albumin (Eze, Uzor, Ikechukwu, Obi, & Osadebe, 2019; Vu & Nguyen, 2015). Tuy nhiên, thực nghiệm gây sưng phù chân chuột bằng tác nhân carrageenan là mô hình đơn giản thường được áp dụng phổ biến trên động vật để gây phù tại vị trí viêm mà không gây thêm bất kỳ các tổn thương hay sự hủy hoại nào đến cơ thể động vật, qua đó xác định hoạt tính kháng viêm của các hợp chất khác nhau (Sümen, Cimsit, & Eroglu, 2001). Những triệu chứng của quá trình viêm gây bằng carrageenan có thể quan sát được là sưng phù, tăng cảm giác đau (hyperalgesia), phù nề và nổi đỏ xuất hiện ngay sau khi tiêm dưới da gan bàn chân chuột. Đây là kết quả do sự ảnh hưởng và hoạt động của các chất trung gian gây viêm như bradykinin, histamin, tachykinin, các dạng ROS và RNS (Radhakrishnan, Moore, & Sluka, 2003). Quá trình hình thành viêm bằng carrageenan trải qua hai pha. Pha sớm không bị ảnh hưởng bởi nhóm thuốc không steroids (NSAIDs), và diễn ra trong khoảng 1 - 2.5 giờ sau tiêm. Song song đó, quá trình có sự gia tăng các chất trung gian gây viêm (histamin, serotonin, bradykinin, ...). Sau 04 - 05 giờ sau tiêm, pha muộn được hình thành và có sự gia tăng đáng kể của leukotrien, prostaglandin (nguyên nhân chính gây viêm cấp tính), và đi cùng với việc tăng nhẹ thể tích chân chuột. Pha muộn nhạy cảm với các nhóm thuốc điều trị kháng viêm có hiệu quả trên thị trường như các thuốc kháng viêm

steroid và NSAIDs (Morris, 2003). Qua đó, mô hình gây phù bằng tác nhân carrageenan thích hợp để đánh giá khả năng ức chế riêng lẻ hoặc đồng thời các tác nhân trung gian hóa học gây viêm của các hợp chất thu nhận từ dược liệu.

Chân chuột được đo thể tích và ghi nhận mức độ viêm, mức độ giảm viêm tại từng thời điểm 3, 24, 48, và 72 giờ tiêm carrageenan và so với lô đối chứng trong **Bảng 4**. Lô đối chứng dương uống celecoxib (25 mg/kg) cho thấy hiệu quả kháng viêm cấp ở tất cả các thời điểm nghiên cứu, khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng, rõ rệt nhất tại thời điểm 03 giờ sau gây viêm ($p < 0.05$).

Cao ACO liều cao (0.42 g/kg) và cao cồn ở cả hai liều (0.12 và 0.24 g/kg) có xu hướng giảm rõ rệt tình trạng viêm chân ở chuột 03 giờ sau khi tiêm carrageenan, có sự khác biệt khi so với lô chứng ($p < 0.05$). Ngoài ra, các cao chiết cũng thể hiện tác dụng kháng viêm tương tự thuốc đối chiếu celecoxib ở liều 25 mg/kg.

Sau 24 giờ và 48 giờ gây viêm, kết quả chỉ có ECO liều thấp (0.24 g/kg) giảm phù chân chuột ($p < 0.05$), song song đó ECO cũng thể hiện kháng viêm tốt hơn celecoxib liều 25 mg/kg. Ngoài ra, sau 72 giờ tiêm carrageenan ở lô ACO (0.42 g/kg) và ECO (0.24 g/kg) làm giảm tình trạng viêm so với lô chứng âm ($p < 0.01$) và cho thấy hiệu quả kháng viêm tốt hơn lô chứng dương. Mô hình gây viêm phù chân chuột bằng tác nhân carrageenan qua 24 giờ được thể hiện qua **Hình 2**.

Một nghiên cứu của Jairo đã báo cáo rằng cao nước *Croton malambo* - thuộc cùng họ Euphorbiaceae - liều 6.15 mg/kg thể hiện hoạt tính kháng viêm hiệu quả khi so sánh với acetylsalicylic acid và sodium diclofenac, thông qua mô hình gây phù chân sau bằng albumin (Suárez & ctg., 2003). Tương tự đối với đối tượng *Croton cajucara* đã cho thấy tinh dầu từ cây cho khả năng kháng viêm hiệu quả khi sử dụng liều thấp (1,000 mg/kg) trên mô hình gây viêm cấp bằng carrageenan, ngoài ra tinh dầu cũng ức chế quá trình viêm mãn tính 38% khi so với lô đối chiếu diclofenac là 36% (Bighetti, Hiruma-Lima, Gracioso, & Brito, 1999).

Nghiên cứu đã thực hiện các thí nghiệm với liều thấp của dịch chiết từ thân cành Cù đèn nhưng vẫn đạt được hiệu quả hoạt tính kháng viêm cấp. Từ đó, kết quả đạt được phần nào minh chứng các giá trị thực nghiệm về đặc tính kháng viêm của cây Cù đèn so với kinh nghiệm dân gian truyền thống. Các nghiên cứu chuyên sâu về các thành phần hóa học và cơ chế của hoạt tính kháng viêm ở loài cây này vẫn đang tiếp tục tiến hành.

Bảng 4

Ảnh hưởng của mẫu thử đến mức độ viêm chân chuột ở các thời điểm 3, 24, 48, và 72 giờ

Lô (n = 8)	Mức độ viêm chân chuột (%)			
	Sau 3 giờ	Sau 24 giờ	Sau 48 giờ	Sau 72 giờ
Chứng âm	66.48 ± 5.72	53.38 ± 7.17	30.44 ± 4.64	36.56 ± 4.93
Celecoxib 25 mg/kg	43.41 ± 5.88*	45.24 ± 5.65	24.77 ± 3.90	28.09 ± 2.49
ACO 0.21 g/kg	57.34 ± 7.03	61.84 ± 3.99	46.58 ± 4.00	28.56 ± 3.56
ACO 0.42 g/kg	43.57 ± 4.38*	58.50 ± 6.61	23.11 ± 4.21	19.18 ± 3.75**
ECO 0.12 g/kg	31.72 ± 3.30***	38.44 ± 4.99	19.11 ± 2.49	24.34 ± 2.44
ECO 0.24 g/kg	45.68 ± 4.92*	26.42 ± 3.96**	14.22 ± 1.47*	15.27 ± 3.56**

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ và *** $p < 0.001$ so với lô đối chứng âm



Hình 2. Ảnh hưởng của các mẫu trên mô hình gây phù bằng carrageenan qua 24 giờ
a: Chứng âm; b: Celecoxib 25 mg/kg; c: ACO 0.21 g/kg; d: ACO 0.42 g/kg;
e: ECO 0.12 g/kg; f: ECO 0.42 g/kg

4. Kết luận và kiến nghị

Trong cùng điều kiện tách chiết, cao ECO thể hiện khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH mạnh hơn so cùng nghiệm thức ở cao ACO (IC_{50} lần lượt là 189.25 $\mu\text{g/ml}$ và 272.36 $\mu\text{g/ml}$). Trong các thực nghiệm *in vivo* cho thấy ACO và ECO đều không thể hiện độc tính cấp với giá trị D_{max} tương ứng là 21 g/kg và 23.93 g/kg trọng lượng chuột. Đáng chú ý, trong các nồng độ của các cao chiết, ECO liều 0.24 g/kg thể hiện tác dụng kháng viêm cấp điển hình. Hơn thế nữa, nghiên cứu một phần cho thấy tiềm năng của Củ đèn trong khả năng phát triển các loại thuốc để hỗ trợ, điều trị các bệnh viêm cấp. Kết quả khảo sát là tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn của cây Củ đèn trong việc phân tách và đánh giá khả năng của các hợp chất tự nhiên từ cây nhằm ứng dụng vào đời sống thực tiễn.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Quỹ nghiên cứu đề tài Khoa học và Công nghệ cấp cơ sở trường đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh tài trợ cho nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

Aye, M. M., & Khine, K. K. (2020). Preliminary phytochemical investigation and screening of antimicrobial and antioxidant activities from the stem bark of *Croton oblongifolius* Roxb.(thak-ring-kri). *Journal of The Myanmar Academy of Arts Science*, 18(1C), 171-181.

- Balunas, M. J., & Kinghorn, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, 78(5), 431-441.
- Bighetti, E. J., Hiruma-Lima, C. A., Gracioso, J. S., & Brito, A. R. S. (1999). Anti-inflammatory and Antinociceptive effects in rodents of the essential oil of *Croton cajucara* Benth. *Journal of Pharmacy Pharmacology*, 51(12), 1447-1453.
- Dixon, R. A., Xie, D. Y., & Sharma, S. B. (2005). Proanthocyanidins-A final frontier in flavonoid research? *New Phytologist*, 165(1), 9-28.
- Do, D. T. (2014). *Phương pháp xác định độc tính của thuốc [Toxicology: Mechanisms and analytical methods]*. Hà Nội, Việt Nam: NXB Y Học.
- Eze, F. I., Uzor, P. F., Ikechukwu, P., Obi, B. C., & Osadebe, P. O. (2019). In vitro and in vivo models for anti-inflammation: An evaluative review. *INNOSC Theranostics Pharmacological Sciences*, 2(2), 3-15.
- Gilmore, T. D. J. O. (1999). The Rel/NF- κ B signal transduction pathway: Introduction. *Oncogene*, 18(49), 6842-6844.
- Kedare, S. B., & Singh, R. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science Technology*, 48(4), 412-422.
- Kumar, S., Shukla, Y., Lavania, U., Sharma, A., & Singh, A. (1997). Medicinal and aromatic plants: prospects for India. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 19(2), 361-365.
- Mathew, B. B., Tiwari, A., & Jatawa, S. K. (2011). Free radicals and antioxidants: A review. *Journal of Pharmacy Research*, 4(12), 4340-4343.
- Merson, T. D., Binder, M. D., & Kilpatrick, T. J. (2010). Role of cytokines as mediators and regulators of microglial activity in inflammatory demyelination of the CNS. *Neuromolecular Medicine*, 12(2), 99-132.
- Morris, C. J. (2003). Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Inflammation Protocols*, 225, 115-121.
- Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846-852.
- Ngamrojnavanich, N., Sirimongkon, S., Roengsumran, S., Petsom, A., & Kamimura, H. (2003). Inhibition of Na⁺, K⁺-ATPase activity by (-)-ent-Kaur-16-en-19-oic acid and its derivatives. *Planta Medica*, 69(6), 555-556.
- Nguyen, H. T., Nguyen, T. T. T., & Mai, P. H. (2016). DPPH free radical scavenging and reducing power properties of *Boerhavia diffusa* in Can Gio, Ho Chi Minh City. *Tạp chí Khoa học*, 12(90), 112-122.
- Poofery, J., Sripanidkulchai, B., & Banjerdpongchai, R. (2020). Extracts of *Bridelia ovata* and *Croton oblongifolius* induce apoptosis in human MDA-MB-231 breast cancer cells via oxidative stress and mitochondrial pathways. *International Journal of Oncology*, 56(4), 969-985.
- Radhakrishnan, R., Moore, S. A., & Sluka, K. A. (2003). Unilateral carrageenan injection into muscle or joint induces chronic bilateral hyperalgesia in rats. *Pain*, 104(3), 567-577.
- Sharma, J., Al-Omran, A., & Parvathy, S. (2007). Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*, 15(6), 252-259.

- Sommit, D., Petsom, A., Ishikawa, T., & Roengsumran, S. (2003). Cytotoxic activity of natural labdanes and their semi-synthetic modified derivatives from *Croton oblongifolius*. *Planta Medica*, 69(2), 167-170.
- Suárez, A. r. I., Compagnone, R. S., Salazar-Bookaman, M. M., Tillett, S., Monache, F. D., Di Giulio, C., & Bruges, G. (2003). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* bark aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1), 11-14.
- Sümen, G., Çimşit, M., & Eroğlu, L. (2001). Hyperbaric oxygen treatment reduces carrageenan-induced acute inflammation in rats. *European Journal of Pharmacology*, 431(2), 265-268.
- Vo, C. V. (1991). *Cây thuốc An Giang [An Giang medicinal plants]*. An Giang, Việt Nam: Ủy Ban Khoa Học - Kỹ Thuật An Giang.
- Vu, D. B., & Nguyen, N. H. (2015). Anti-inflammatory and analgesic activities of Kien Khop Tieu Thong liquid extract in animal model. *Tạp chí Y - Dược Học Quân Sự*, 4, 42-49.
- Winter, C. A., Risley, E. A., & Nuss, G. W. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine*, 111(3), 544-547.

