



NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG KHÁNG VIÊM CỦA CÁC CAO PHÂN ĐOẠN TỪ LÁ CÂY LÁ ĐẮNG *VERNONIA AMYGDALINA DELILE* TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

STUDY ON ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF FRACTIONS FROM LEAVES OF *VERNONIA AMYGDALINA DELILE* IN SWISS ALBINO MICE

Đinh Diệu Quyên^{1a}, Đoàn Văn Viên^{2b}, Ngô Văn Cường^{3c*}

^{1,2} Bộ môn Dược lý - Dược lâm sàng, Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng

³ Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng

^adieuquyen116@gmail.com, ^bvanviendoan@gmail.com, ^cvancuong283@gmail.com

TÓM TẮT: Lá của cây Lá đắng thu hái ở thành phố Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai vào tháng 5/2019. Sử dụng phương pháp chiết ngâm kiệt với ethanol 70% và tách phân đoạn bằng phương pháp chiết phân bố lỏng - lỏng. Khảo sát tác động kháng viêm của các cao phân đoạn trên chuột nhắt trắng trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan 1%. Kết quả: cao phân đoạn ethyl acetat liều 30mg/kg làm giảm phù chân chuột tương đương với ibuprofen 7,5 mg/kg. Qua đó cho thấy cao Lá đắng phân đoạn ethyl acetat liều 30 mg/kg có tác động kháng viêm.

ABSTRACT: Leaves of *Vernonia amygdalina* Delile were collected at Bien Hoa city, Dong Nai province in May of 2019. Herbal materials are percolated with ethanol 70%. The extract was partitioned with solvents into different polarity fractions. Study on the anti-inflammatory effect of fractions in *Swiss albino* mice by the carrageenan-induced paw edema model. The dose of 30 mg/kg ethyl acetate fraction caused significant reduction in edema induced by carrageenan, which showed anti-inflammatory effect equivalent to ibuprofen 7,5 mg/kg PO.

TỪ KHOÁ: Lá đắng, *Vernonia amygdalina*, kháng viêm

KEYWORDS: *Vernonia amygdalina*, anti-inflammatory

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam được thiên nhiên ưu ái ban tặng thảm thực vật phong phú đa dạng với nhiều loại cây thuốc quý, trong đó có Lá đắng *Vernonia amygdalina* Delile, họ Cúc (Asteraceae). Đây là cây thuốc đã được công bố có nhiều tác dụng và công dụng như điều trị đau nhức, tăng huyết áp, đái tháo đường, rối loạn lipid máu... và giảm sưng viêm [1]. Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh tác dụng kháng viêm của dịch chiết toàn phần Lá đắng trên thế giới cũng như tại Việt Nam. Tiếp nối vấn đề trên, đề tài tiến hành nghiên cứu khảo sát tác động kháng viêm trên các cao phân đoạn từ dịch chiết cồn toàn phần Lá đắng *Vernonia amygdalina* Delile thu hái tại Biên Hòa, Đồng Nai.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu

Nguyên liệu nghiên cứu là lá của cây Lá đắng *Vernonia amygdalina* Delile thu hái tại Biên Hòa, Đồng Nai vào tháng 5 năm 2019. Dược liệu được định danh bởi PGS.TS Trương Thị Đẹp và được lưu giữ mẫu tại Bộ môn Dược liệu, Khoa Dược, Đại học Lạc Hồng với mã số LDVA.01.19.

Dược liệu sau khi thu hái về được tách lấy phần lá, rửa sạch, phơi âm can rồi sấy tiếp trong tủ sấy. Dược liệu được xay và rây qua rây có đường kính mắt rây 2 mm. Đây là nguyên liệu dùng cho thử nghiệm chiết xuất cao toàn phần.

Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng khỏe mạnh giống đực chủng *Swiss albino* khối lượng 20-25g, được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang. Chuột được nuôi ổn định trong thời

gian 07 ngày tại phòng thí nghiệm Dược lý, trường Đại học Lạc Hồng. Thời gian thử nghiệm từ 8 đến 12 giờ.

Thuốc - Hóa chất thử nghiệm

- Carrageenan (Sigma Aldrich, Hoa Kỳ).
- Ibuprofen (viên nén bao phim Idofen 200, Boston).
- Cồn 70% (Việt Nam)
- n-hexan, cloroform, ethyl acetat, n-butanol: chuẩn

AR (Xilong Scientific, Trung Quốc)

Trang thiết bị

Máy đo thể tích chân chuột Plethysmometer 37140 (Ugo Basile, Italy).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất cao toàn phần và tách cao phân đoạn

5 kg bột dược liệu (độ ẩm 11,32%, độ tro toàn phần 15,17%) được chiết bằng phương pháp ngâm kiệt với dung môi cồn 70% thu được cao toàn phần.

Cao toàn phần được hòa với một lượng nước cất vừa đủ sau đó được chiết phân bố lần lượt với các dung môi: n-hexan, cloroform, ethyl acetat, n-butanol. Cô thu hồi dung môi để thu được các cao tương ứng.

Công thức tính hiệu suất chiết cao toàn phần và các cao phân đoạn như sau:

Received: February 28th, 2021

Accepted: June 6th, 2021

*Corresponding Author

Email: dieuquyen116@gmail.com

$$H_{tp} = \frac{m_{tp}(1 - w_{tp})}{m_{dl}(1 - w_{dl})} \times 100\%$$

$$H_{pd} = \frac{m_{pd}(1 - w_{pd})}{m_{tp}(1 - w_{tp})} \times 100\%$$

H_{tp} : hiệu suất cao toàn phần
 H_{pd} : hiệu suất cao phân đoạn
 m_{dl} : khối lượng dược liệu
 w_{dl} : độ ẩm dược liệu
 m_{tp} : khối lượng cao toàn phần
 w_{tp} : độ ẩm cao toàn phần
 m_{pd} : khối lượng cao phân đoạn
 w_{pd} : độ ẩm cao phân đoạn

Nghiên cứu tác động kháng viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan 1%

Chọn chuột có khối lượng đồng đều nhau. Trước khi thử nghiệm, tiến hành đo thể tích chân sinh lý ở bàn chân trái sau được xác định đến khuỷu chân của chuột.

Chuột được gây viêm bằng cách tiêm vào gan bàn chân trái sau 0,025 ml dung dịch carrageenan 1% được pha trong dung dịch sinh lý [2].

Đo thể tích bàn chân chuột 3 giờ sau khi gây viêm [2]. Chọn chuột có độ sưng phù chân trên 50% so với thể tích chân sinh lý.

Sau đó chuột được chia ngẫu nhiên thành 7 lô:

- Lô chứng bệnh (không điều trị): chuột được cho uống nước cất trong suốt thời gian thử nghiệm.
- Lô điều trị với thuốc đối chứng: chuột được cho uống thuốc chứa ibuprofen 7,5 mg/kg [3].
- 5 lô điều trị với các cao phân đoạn: *n*-hexan, cloroform, ethyl acetat, *n*-butanol, nước. Chuột được cho uống với liều cao phân đoạn được tính trong bảng 3.1.

Điều kiện cho uống là 0,1 ml/10g chuột.

Theo dõi độ giảm sưng phù của bàn chân chuột sau khi cho dùng thuốc 30 phút mỗi ngày vào một giờ nhất định trong 6 ngày liên tiếp (tính từ ngày 1 đến ngày thứ 6, với ngày 0 là ngày gây viêm) [2]. Độ giảm sưng phù thể tích chân chuột được tính theo công thức:

$$\%X = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100\% \quad (1)$$

X: Độ sưng phù chân tính theo %

V_0 : Thể tích chân chuột sinh lý (ml)

V_t : Thể tích chân chuột sau khi gây viêm 3 giờ hoặc mỗi ngày theo dõi được (ml).

Phân tích thống kê số liệu thực nghiệm

Các số liệu được trình bày dưới dạng số trung bình (Mean) ± SD (Standard Error – Sai số chuẩn). Sự khác biệt giữa các lô được phân tích bằng phép kiểm Mann – Whitney với phần mềm Minitab 19,0 ở độ tin cậy 95% ($p < 0,05$). Đồ thị được vẽ theo giá trị trung bình ± SD bằng phần mềm Microsoft Excel 2013.

Đánh giá kết quả

Mẫu thử được cho là có tác dụng kháng viêm khi thể tích chân chuột sau 6 ngày khác biệt không có ý nghĩa so với thể tích chân chuột sinh lý và độ giảm sưng phù theo dõi trong 6 ngày khác biệt có ý nghĩa so lô chứng âm [2], [3].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Chiết xuất cao toàn phần và tách cao phân đoạn

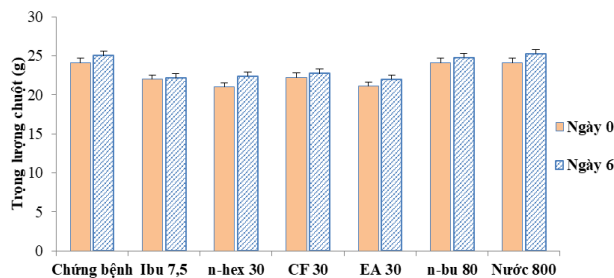
Kết quả chiết xuất cao toàn phần, cao phân đoạn và liệu thử nghiệm hoạt tính kháng viêm các cao phân đoạn được thể hiện trong Bảng 3.1.

Bảng 3.1. *Liều thử nghiệm kháng viêm của các cao phân đoạn được chiết từ cao cồn toàn phần*

	Độ ẩm (%)	Khối lượng (g)	Hiệu suất (%)	Liều PO (mg/kg)
Cao toàn phần	69,42	4200		1000
Cao <i>n</i> -hexan (<i>n</i> -hex 30)	50,43	73,96	3,06	30
Cao chloroform (CF 30)	27,70	48,70	2,89	30
Cao ethyl acetat (EA 30)	18,67	44,11	2,95	30
Cao <i>n</i> -butanol (<i>n</i> -bu 80)	11,05	109,43	7,98	80
Cao nước (nước 800)	3,56	1008,05	79,81	800

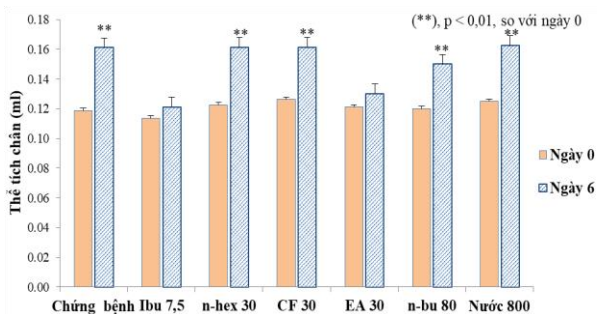
Khảo sát tác dụng kháng viêm trên các cao phân đoạn Lá đắng

Khối lượng chuột ở các lô tại thời điểm trước và sau thử nghiệm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy khối lượng chuột không thay đổi đáng kể và không ảnh hưởng đến thể tích chân chuột trong quá trình thử nghiệm (Hình 3.1.).



Hình 3.1. *Khối lượng chuột sinh lý (ngày 0) và sau điều trị (ngày 6)*

Lô chứng bệnh không điều trị: thể tích chân chuột (ml) sau khi thử nghiệm (ngày 6) tăng có ý nghĩa thống kê so với thể tích chân chuột sinh lý (ngày 0) ($p = 0,001$). Điều đó cho thấy, qua 6 ngày không được điều trị, chân chuột vẫn còn sưng do viêm (Hình 3.2.).

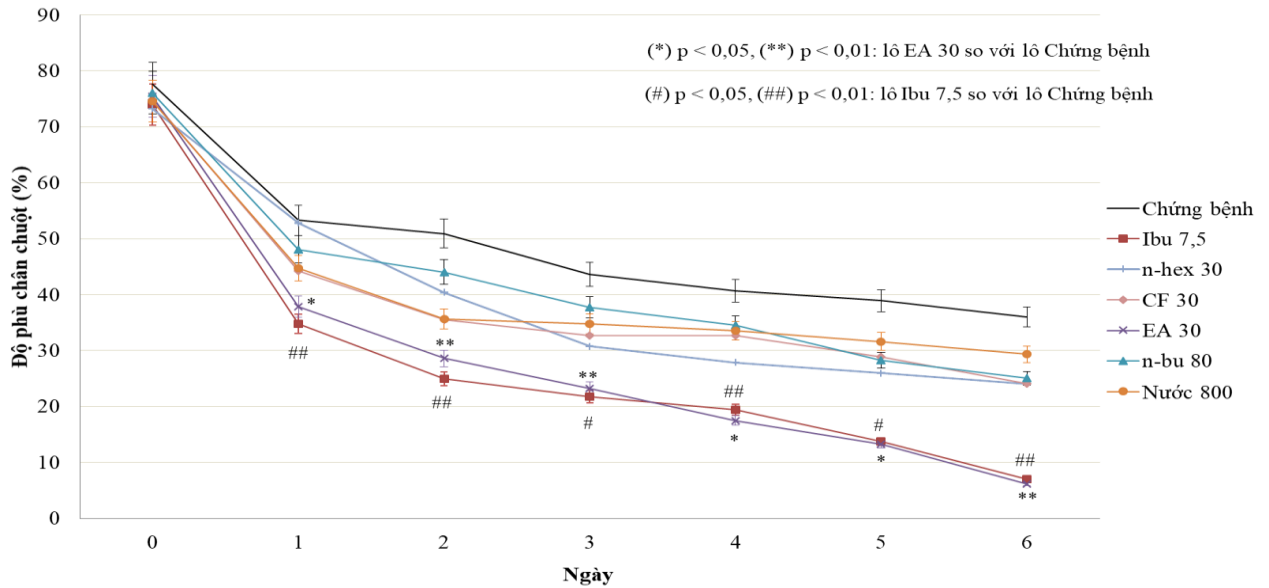


Hình 3.2. *Thể tích chân chuột sinh lý (ngày 0) và sau điều trị (ngày 6)*

Lô điều trị với thuốc đối chứng ibuprofen liều 7,5 mg/kg (Ibu 7,5) và lô cao ethyl acetat 30 mg/kg (EA 30) có thể tích chân chuột sau thử nghiệm khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với thể tích chân sinh lý (Hình 3.2.). Thể tích chân chuột (ml) sau 6 ngày đã trở về trạng thái ban đầu. Độ sưng phù chân chuột (%) ở cả 2 lô đều giảm có ý nghĩa so với lô chứng bệnh từ ngày 1 đến ngày 6. Đồng thời độ giảm sưng phù giữa 2 lô khác nhau không có ý nghĩa thống kê (Hình 3.3), cho

thấy ibuprofen 7,5 mg/kg và cao ethyl acetat liều 30 mg/kg có tác dụng kháng viêm tương đương nhau. Các lô điều trị với các cao phân đoạn *n*-hexan 30 mg/kg (*n*-hex 30), cloroform 30 mg/kg (CF 30), *n*-butanol 80 mg/kg (*n*-bu 80) và cao nước 800 mg/kg (Nước 800) có thể tích chân chuột (ml) sau thử nghiệm khác biệt có ý nghĩa thống

kê so với thể tích chân sinh lý ($p = 0,001$) (Hình 3.2.). Độ sưng phù chân chuột (%) có xu hướng giảm tuy nhiên không có ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng bệnh (Hình 3.3.). Cho thấy ở liều thử nghiệm, các mẫu thử này không có tác dụng kháng viêm trong điều kiện thử nghiệm.



Hình 3.3. Độ phù chân chuột theo thời gian thử nghiệm

Tại Việt Nam và trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu chứng minh tác dụng kháng viêm của Lá đắng trong các dung môi khác nhau [1], [3], [4]. Nano kẽm oxit tổng hợp từ cao toàn phần Lá đắng cũng cho thấy tác dụng kháng viêm tốt trên chuột nhắt trắng (nghiên cứu của Hairui-Lui và cộng sự, năm 2020 [5]). Tác dụng kháng viêm của cây được cho có thể từ các saponin như trong kết quả nghiên cứu của P. C. Adiukwu và cộng sự (2013) [4], đặc biệt saponin vernoniosid B2 đã được chứng minh có tác dụng kháng viêm tốt (2011) [6]. Ngoài ra, các flavonoid phân lập được từ cây Lá đắng cũng được chứng minh có liên quan đến tác động kháng viêm [7], [8]. Cơ chế cho tác động kháng viêm của Lá đắng được đề xuất là do ức chế tổng hợp enzym COX từ đó ức chế quá trình sinh tổng hợp của các prostaglandin E2 và D2 [3]. Để làm rõ hơn tác dụng kháng viêm của cao còn lá Đắng toàn phần ở những nghiên cứu trước [3], nghiên cứu tác dụng kháng viêm của các cao phân đoạn Lá đắng là bước tiến gần hơn đến việc làm rõ tác dụng kháng viêm của Lá đắng.

4. KẾT LUẬN

Cao Lá đắng phân đoạn ethyl acetat liều 30mg/kg có tác động kháng viêm tương đương với thuốc đối chứng phổ biến trên thị trường ibuprofen 7,5 mg/kg. Các công trình nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi sẽ phân lập cao ethyl acetat Lá đắng để tìm ra hoạt chất cho tác dụng dược lý kháng viêm.

5. TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Adeolu Alex Adelapo; Olujoke Janet; Ademola Adetokumbo Oyagbemi. Anti-oxidant, anti-inflammatory and antinociceptive properties of the acetone leaf extract of

Vernonia amygdalina in some laboratory animals, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. **2014**, 4(2), 591

[2] Võ Phùng Nguyên; Lưu Hoàng Lê Giang; Hoàng Ngọc Anh. Độc tính cấp - bán trường diễn và tác động giảm đau, kháng viêm của nọc bọ cạp đen An Giang *Heterometrus laoticus*, *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. **2009**, tập 13, 1-6

[3] Phạm Thị Ngọc Anh; Trần Ngọc Kim Cương; Đoàn Văn Viên; Ngô Văn Cường. Khảo sát tác động giảm đau và kháng viêm của cao chiết Lá đắng (*Vernonia amygdalina* Del.) trên chuột nhắt trắng", *Tạp chí khoa học Lạc Hồng*. **2020**, 9, 24-28.

[4] Asante Du-Bois; Isaac Tabiri Henneh; Desmond Omame Acheampong et al. Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antipyretic activity of young and old leaves of *Vernonia amygdalina*, *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **2019**, 111, 1187-1203.

[5] Liu Hairui, Peipei Kang, Ying Liu, et al, Zinc oxide nanoparticles synthesised from the *Vernonia amygdalina* shows the anti-inflammatory and antinociceptive activities in the mice model, *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. **2020**, 48 (1), pp. 1068-1078.

[6] Da Silva Jucelia Barbosa; Vanessa dos Santos Temponi et al. New approaches to clarify antinociceptive and anti-inflammatory effects of the ethanol extract from *Vernonia condensata* leaves, *International Journal of Molecular Sciences*. **2011**, 12(12), 8993-9008.

[7] Funakoshi-Tago Megumi, Kei Nakamura, Kenji Tago, et al. 2011, "Anti-inflammatory activity of structurally related flavonoids, Apigenin, Luteolin and Fisetin. *International Immunopharmacology*. **2011**, 11(9), 1150-1159.

[8] Đinh Diệu Quyên; Hoàng Thúy Hiền; Đoàn Văn Viên; Ngô Văn Cường. Nghiên cứu hợp chất flavonoid từ cao ethyl acetat chiết từ cây Lá đắng (*Vernonia amygdalina* Delile) mọc ở Đồng Nai. **2020**, *Tạp chí khoa học Lạc Hồng*, số 12.