

HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA CAO CHIẾT QUẢ DÀNH DÀNH (*GARDENIA JASMINOIDES ELLIS*)

● PHẠM THỊ NHẬT TRINH - LÊ XUÂN BÌNH - TỔNG THANH DANH
- VÕ ANH TỶ - NGUYỄN THỊ HIỀN TRANG - LÊ TRẦN NGHĨA THƯ
- HOÀNG NGỌC ANH - LÊ TIẾN DỪNG

TÓM TẮT:

Bài báo công bố kết quả đánh giá độc tính cấp và tác dụng kháng viêm mạn của cao chiết cồn 50% quả dành dành. Kết quả cho thấy ở liều giới hạn 24,0 g cao chiết ethanol/kg không thể hiện độc tính sau 14 ngày cho chuột uống. Trên mô hình gây viêm mạn tính bằng carrageenan 2%, cao chiết cồn 50% ở liều 200mg/kg và 400mg/kg có tác dụng kháng viêm trong điều trị viêm khớp ở mô hình gây viêm khớp mạn tính trên chuột, trong đó liều 400mg/kg có tác dụng kháng viêm nhanh và tốt hơn so với liều 200mg/kg.

Từ khóa: quả dành dành, độc tính cấp, kháng viêm mạn.

1. Đặt vấn đề

Dành dành là cây cỏ, cao từ 1 - 2m, thân thẳng, phân nhánh nhiều, lá thường mọc đối nhau hoặc mọc thành vòng 3 lá. Mùa hoa từ tháng 3-5, mùa quả tháng 8-10. Quả hình bầu dục, có màu vàng đỏ khi chín, thịt quả màu vàng cam (Đỗ Huy Bích, 2006). Các nghiên cứu hóa học ở trong và ngoài nước cho biết dành dành chứa các nhóm iridoid, phenol đơn giản, flavonoid, lignan và tetraterpenoid. Trong đó, nhóm tetraterpenoid trong quả dành dành như crocetin, crocin thường được sử dụng làm chất màu thực phẩm. Nhóm iridoid với chất tiêu biểu là geniposide, genipin-1-O- β -D-gentiobioside được xem là thành phần chính (Wenping Xiao, 2017; Trần Trọng Biên, 2017; Zhou T, 2005; Wang Y, 2015; Yang Y, 2012). Quả dành dành thể hiện nhiều hoạt tính sinh học như chống oxi hóa, kháng virus, ức chế tế bào ung thư, kháng viêm, chống xơ vữa động mạch, bảo vệ gan, hạ mỡ máu, hạ huyết áp, cải thiện giấc ngủ (Wenping

Xiao, 2017; Ran Deng, 2018; Tống Thanh Huyền, 2017). Cho đến nay, chưa có báo cáo nào đánh giá tác dụng kháng viêm mạn tính trên mô hình thực nghiệm của quả dành dành trồng tại tỉnh Đắk Lắk. Bài báo này thông báo kết quả đánh giá tác dụng kháng viêm mạn tính của cao chiết ethanol 50% từ quả dành dành thu hái tại tỉnh Đắk Lắk.

2. Thực nghiệm

2.1. Nguyên liệu

Mẫu quả dành dành được thu hái tại thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk năm 2021. Mẫu nguyên liệu được PGS.TS. Phan Văn Tân, Khoa Nông lâm nghiệp, Trường Đại học Tây Nguyên giám định tên khoa học. Mẫu sau khi thu hái, rửa sạch, phơi khô, xay thành bột và bảo quản trong túi zipper trong mát.

Mẫu nguyên liệu khô (200 g) được chiết kiệt với dung môi ethanol 50% (4x1500 mL). Lọc thu dịch chiết, cô dưới áp suất giảm, sau đó đông khô thu được cao cồn 50% (GJ-50).

2.2. Phương pháp xác định độc tính cấp

Cho 10 chuột (5 đực, 5 cái) nhện đói ít nhất 12 giờ trước khi cho uống mẫu thử liều duy nhất tối đa có thể qua đường uống, thể tích 50 ml/kg. Theo dõi và ghi nhận cử động tổng quát, biểu hiện về hành vi, trạng thái lông, ăn uống, tiêu tiểu và số lượng chết của chuột trong vòng 72 giờ. Nếu sau 72 giờ, chuột không có dấu hiệu bất thường hoặc chết, tiếp tục theo dõi trong vòng 14 ngày.

2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng viêm mạn

Động vật nghiên cứu

Chuột *Mus musculus* var. albino khỏe mạnh, sạch bệnh được cung cấp bởi Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi ổn định 1 tuần trước khi tiến hành thử nghiệm.

Bố trí thí nghiệm

Phân bố chuột vào các chuồng theo các nhóm thí nghiệm với mỗi nhóm 5 con (Bảng 1). Đo thể tích chân chuột trước khi gây viêm (V0) và vào các ngày 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 của thử nghiệm, ngày tiêm đầu tiên là ngày 1 (N1). Theo dõi và đánh giá mức độ viêm khớp dựa vào sự khác biệt của thể tích khớp gối. Vào ngày thứ 33, chuột bị nhện đói 16 giờ qua đêm, sau đó gây mê bằng diethyl ether thực hiện lấy máu ngoại vi. Mẫu máu được bảo quản trong các ống chứa máu thích hợp để xét nghiệm chỉ số ALP, ALT, AST, CRP, chỉ số RF, chỉ số hồng cầu, bạch cầu. Tiến hành phẫu thuật để thu nhận phần mô khớp gối chân chuột, mẫu mô được bảo quản trong fomalin 10% và được phân tích bằng phương pháp nhuộm HE. (Bảng 1)

Phương pháp thu thập và xử lý kết quả

Dữ liệu được trình bày dưới dạng số trung bình của các thí nghiệm $\pm$ độ lệch chuẩn, $p < 0,05$ được xem là khác nhau có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Độc tính cấp của cao chiết

Cao cồn 50% được phân tán trong nước ở nồng độ cao nhất có thể qua được kim là 1.19g cao khô/ml. Sau khi cho chuột uống cao thử thể tích 20 μ l/g, chuột giảm di chuyển, nằm yên trong vòng 10 -15 phút, sau đó tất cả chuột di chuyển bình thường, khỏe mạnh, ăn cám viên, uống nước, tiêu tiểu, cử động bình thường, không có dấu hiệu bất thường nào và không có chuột nào chết trong thời gian 72 giờ quan sát. Tiếp tục theo dõi chuột trong 14 ngày ở điều kiện chăm sóc bình thường, không có chuột nào chết; chuột không có bất thường về hành vi, trạng thái lông, ăn uống, tiêu tiểu (Bảng 2).

Như vậy cao cồn 50% từ quả dành dành được cho chuột nhắt uống với liều 24 g cao/kg thể trọng không thể hiện độc tính cấp, không làm chết chuột nhắt thử nghiệm.

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng kháng viêm mạn tính

Chỉ số huyết học: bạch cầu tổng (WBC) và hồng cầu (RBC)

Khi phản ứng viêm xảy ra, chỉ số bạch cầu tổng sẽ tăng lên, sự gia tăng của WBC chủ yếu là do sự gia tăng của bạch cầu trung tính. Do đó, dựa vào chỉ số bạch cầu tổng để đánh giá mức độ viêm và hiệu quả làm giảm viêm khớp giữa các nghiệm thức (Bảng 3).

Ở ngày thứ 28, chỉ số bạch cầu tổng nhóm chứng bệnh có giá trị 7.03 ± 0.21 , tăng 2.34 lần so với nhóm đối chứng (3.23 ± 0.25). Điều này chứng minh rằng phản ứng viêm đã xảy ra, mô hình tạo viêm khớp mạn tính bằng carrageenan 2% đã thành công.

Kết quả cho thấy lô chứng dương và lô điều trị 2 có tác dụng làm giảm viêm nhanh hơn so với lô điều trị 1. Chỉ số hồng cầu (Bảng 3) ở nhóm chứng

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm điều trị viêm mạn

Nhóm thí nghiệm	NT 1 Chứng âm	NT 2 Chứng bệnh	NT 3 Chứng dương	NT 4 Điều trị 1	NT 5 Điều trị 2
Tiêm	100µl/lần NaCl 0,9%	100µl/lần carrageenan 2%			
Thời gian tiêm	Tiêm khớp chân trái liên tục 7 lần ở các ngày 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18				
Thời gian nghỉ ngơi	1 tuần sau lần tiêm cuối cùng (ngày 19 - 26)				
Thời gian uống	Uống liên tục từ ngày 27 - 33				
Liều lượng cho uống	Nước		diclofenac 5mg/kg	200 mg cao chiết /kg	400 mg cao chiết /kg

Bảng 2. Kết quả đánh giá độc tính cấp cao cồn 50% dành dành

Chuột thử nghiệm	Cao cồn 50% dành dành									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Phái	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♀	♀	♀	♀
Trọng lượng	22,48	22,4	25,42	22,38	24,52	22,85	25,21	25,1	23,36	24,1
V cho uống (ml)	0,45	0,45	0,51	0,45	0,49	0,46	0,5	0,5	0,47	0,48
Tổng trọng lượng (g)	237,82									
Tổng thể tích (ml)	4,8									
Tổng lượng cao (g)	5,71									
Liều uống (g cao/kg)	24									
Số chuột thử nghiệm	10									
Số chuột chết sau 72 giờ	0									
Số chuột chết sau 14 ngày	0									

Bảng 3. Chỉ số huyết học ở ngày thứ 28

Nghiệm thức	NT 1 Chứng âm	NT 2 Chứng bệnh	NT 3 Chứng dương	NT 4 Điều trị 1	NT 5 Điều trị 2
WBC (10^3 TB/ μ L)	3,23 ^a $\pm$ 0,25	7,03 ^c $\pm$ 0,21	3,70 ^a $\pm$ 0,26	4,20 ^b $\pm$ 0,46	3,5 ^a $\pm$ 0,36
RBC (10^6 TB/ μ L)	8,41 ^a $\pm$ 0,60	6,67 ^b $\pm$ 0,57	8,22 ^a $\pm$ 0,40	8,61 ^a $\pm$ 0,45	8,61 ^a $\pm$ 0,58

Các chữ cái viết thường khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

âm đạt $8,41 \pm 0,60$, trong khi đó nhóm chứng bệnh giảm $1,26$ ($6,67 \pm 0,57$) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Do đó có thể nhận thấy rằng carrageenan 2% gây ra viêm khớp chuột, dẫn tới tình trạng thiếu máu biểu hiện thông qua chỉ số hồng cầu giảm ở nhóm chứng bệnh. So với nhóm chứng âm, các nhóm điều trị không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê.

Chỉ số sinh hóa máu CRP (C reactive protein)

Khi xuất hiện tình trạng viêm, các mô trong cơ thể bị hủy, CRP sẽ được sản xuất và đưa vào huyết thanh (Bảng 4).

Chỉ số CRP của lô chứng âm là $1,55 \pm 0,22$, trong khi đó nhóm chứng bệnh là $4,25 \pm 0,15$. Chỉ số CRP lần lượt giảm dần có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$) ở NT3 và NT4.

Bảng 4. Kết quả chỉ số CRP, ALP, ALT, AST giữa các nghiệm thức

Nghiệm thức	NT 1 Chứng âm	NT 2 Chứng bệnh	NT 3 Chứng dương	NT 4 Điều trị 1	NT 5 Điều trị 2
CRP (mg/dL)	1,55 ^a $\pm$ 0,22	4,25 ^d $\pm$ 0,15	2,19 ^b $\pm$ 0,07	2,84 ^c $\pm$ 0,24	1,93 ^a $\pm$ 0,26
ALP (U/L)	91,63 ^a $\pm$ 10,07	165,56 ^b $\pm$ 10,59	97,46 ^a $\pm$ 9,00	100,56 ^a $\pm$ 9,65	94,56 ^a $\pm$ 6,86
ALT (U/L)	58,23 ^a $\pm$ 9,05	106,43 ^b $\pm$ 8,85	59,53 ^a $\pm$ 9,60	54,50 ^a $\pm$ 6,06	50,06 ^a $\pm$ 4,72
AST (U/L)	110,5 ^a $\pm$ 11,36	286,46 ^c $\pm$ 9,37	110,20 ^a $\pm$ 9,00	197,16 ^b $\pm$ 8,98	96,53 ^a $\pm$ 7,77
RF (U/mL)	1,95 ^a $\pm$ 0,35	9,03 ^d $\pm$ 0,47	3,2 ^b $\pm$ 0,43	4,7 ^c $\pm$ 0,36	3,13 ^b $\pm$ 0,47

Các chữ cái viết thường khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Sử dụng cao chiết liều 400 mg/kg có khả năng làm giảm viêm, chỉ số CRP ở NT5 trở về gần với nhóm chứng âm.

Các chỉ số sinh hóa máu (ALP, ALT, AST)

Chỉ số ALP (Bảng 4) ở NT1 khác biệt có ý nghĩa thống kê so với NT2 ($p < 0,05$). Chỉ số ALP tăng cao cho thấy mức độ bệnh hoạt động cao. Các NT3 - 5 không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê so với NT1. Có thể nhận thấy, nhóm dùng cao chiết liều cao có chỉ số ALP giảm nhiều nhất. Chứng tỏ rằng cao chiết dành dành có thể làm giảm viêm khớp tốt ở liều 400 mg/kg.

Nhóm chứng dương và nhóm điều trị 2 có chỉ số AST không khác biệt về ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng âm, như vậy sau khi điều trị thì chỉ số AST ở 2 nhóm này đã giảm về mức bình thường so với nhóm chứng âm.

Chỉ số RF

RF là một tự kháng thể, được sản xuất bởi hệ thống miễn dịch của cơ thể (Bảng 4). Ở nhóm chứng âm chỉ số RF là $1,95 \pm 0,35$ còn ở nhóm chứng bệnh, chỉ số RF đạt $9,03 \pm 0,47$, tăng rất cao. Như vậy, sau khi gây viêm bằng carrageenan thì chỉ số RF tăng 4,63 lần. Ở NT3 và NT5, chỉ số RF không có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê và đây là 2 nhóm có chỉ số RF giảm nhiều nhất. Do đó, cao chiết dành dành có tác dụng làm giảm viêm và mức độ làm giảm viêm tương đương với thuốc Diclofenac.

Ảnh hưởng của cao chiết dành dành lên thể tích khớp gối chuột

Thể tích khớp gối chuột biểu thị mức độ viêm, phù nề khớp gối giữa các nhóm thí nghiệm. Xác định thể tích khớp gối chuột giúp đánh giá được mức độ gây viêm của carrageenan và tác dụng làm giảm viêm khớp của cao chiết hạt dành dành (Bảng 5).

Giữa các nhóm đều có sự khác biệt về ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tuy nhiên, ở ngày thứ 33 thì thể tích khớp gối lần lượt giảm dần từ NT2 > NT4 > NT3 > NT5 > NT1. Như vậy, cao chiết dành dành liều 400 mg/kg có tác dụng làm giảm viêm và hiệu quả hơn liều 200mg/kg.

Ảnh hưởng của cao chiết dành dành lên kết quả mô học

Nhuộm HE khớp gối chuột nhằm khảo sát cấu trúc hình thái của sụn khớp giữa các nhóm thí nghiệm. Hình ảnh nhuộm mô HE cho thấy bề mặt sụn có sự khác biệt giữa các nhóm thí nghiệm (Hình 1).

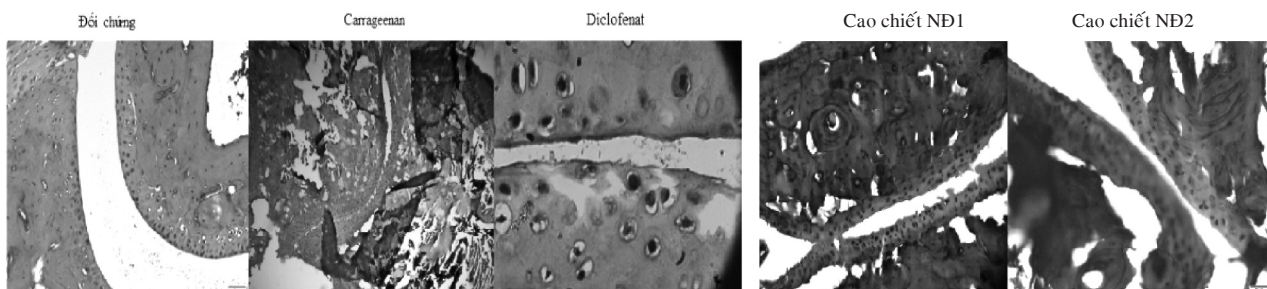
Ở nhóm chứng bệnh, bề mặt sụn khớp bị phá hủy, khe khớp hẹp, xuất hiện các nốt gai, sụn bị kết dính lại với nhau. Nhận xét này tương tự theo Trần Như Quỳnh (2013) và Azza (2015) trên mô hình gây viêm khớp mãn tính bằng carrageenan ở chuột nhắt trắng và chuột cống. Ở nhóm chứng dương, bề mặt sụn khớp tuy chưa láng bóng nhưng đã tách rời nhau do dấu hiệu viêm đã

Bảng 5. Kết quả thể tích khớp gối

Nghiệm thức	Đối chứng	Chứng bệnh	Diclofenac	NĐ1	NĐ2
Ngày 0 (cm ³ /ml)	$0,28^a \pm 0,015$	$0,27^a \pm 0,005$	$0,27^a \pm 0,005$	$0,28^a \pm 0,020$	$0,27^a \pm 0,005$
Ngày 33 (cm ³ /ml)	$0,30^a \pm 0,005$	$0,56^d \pm 0,032$	$0,35^b \pm 0,010$	$0,40^c \pm 0,005$	$0,34^b \pm 0,005$

Các chữ cái viết thường khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Hình 1: Nhuộm hóa mô Hematoxylin- Eosin các nghiệm thức



giảm. Nhóm cao chiết liều 200mg/kg, bề mặt sụn còn các nốt gai, nhóm liều 400 mg/kg, bề mặt sụn trơn láng tuy không bằng với nhóm chứng âm, quá trình hồi phục hiệu quả hơn so với nhóm liều 200 mg/kg, bề mặt sụn khớp ở lô liều cao đã tách ra hoàn toàn.

4. Kết luận

Thử nghiệm độc tính cấp của cao cồn 50% trên chuột nhắt chủng *Mus musculus* var. *albino*

với liều tối đa qua đường uống 24g cao/kg thể trọng, sau 14 ngày không ghi nhận chuột bị chết. Cao cồn 50% thể hiện hoạt tính kháng viêm trên mô hình gây viêm mạn bằng carrageenan 2%. Ở liều 200mg/kg và 400mg/kg, cao chiết có tác dụng kháng viêm trong điều trị viêm khớp ở mô hình gây viêm khớp mãn tính trên chuột, trong đó liều 400mg/kg có tác dụng kháng viêm nhanh và tốt hơn so với liều 200mg/kg ■

Lời cảm ơn:

Nhóm nghiên cứu cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Đắk Lắk theo Quyết định số 3175/QĐ-UBND ngày 30/10/2019.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Đỗ Huy Bích và cs (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập I. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 596-600.
2. Wenping Xiao, Shiming Li, Siyu Wang, Chi Tang Ho (2017). Chemistry and bioactivity of *Gardenia jasminoides*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 43-61.
3. Ran Deng, Feng Li, Hong Wu, Wen-yu Wang, Li Dai, Zheng-rong Zhang and Jun Fu (2018). Anti-inflammatory Mechanism of Geniposide: Inhibiting the Hyperpermeability of Fibroblast-Like Synoviocytes via the RhoA/p38MAPK/NF- κ B/F-Actin Signal Pathway. *Front Pharmacol*, 15(9), 105.
4. Yang Y, Xiao L, Gao H, Xie Z, Dai Y, Xiao J, Kurihara H, Ye W, Zhong Y, Xin S (2012). Chemical constituents from the fruits of *Gardenia jasminoides* Ellis. *Fitoterapia*, 83, 8-9.
5. Kim, IkSoo Lee, Hyun-Ju Jung, MinKyun Nad, Byung-Sun Min, KiHwan Bae (2009). Iridoid glycosides from *Gardeniae Fructus* for treatment of ankle sprain. *Phytochemistry*, 70, 779–784.
6. Tống Thanh Huyền (2017). *Định lượng geniposide và đánh giá tác dụng chống đột quỵ não của cao chiết quả dành dành (Gardenia jasminoides Ellis)*. Khóa luận tốt nghiệp dược sĩ, Đại học Dược Hà Nội.
7. Trần Trọng Biên, Lê Hữu Huy, Nguyễn Văn Hân (2017). Ứng dụng nhựa macroporous D101 trong phân lập geniposid từ quả dành dành (*Gardenia jasminoides* Ellis). *Tạp chí Dược học*, 49, 20-24.
8. Zhou T, Fan GR, Hong Z, Chai Y, Wu Y (2005). Large-scale isolation and purification of geniposide from the fruit of *Gardenia jasminoides* Ellis by high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr A*, 1100, 7-8.
9. Trần Như Quỳnh, Đỗ Thị Hồng Tươi, Trần Mạnh Hùng (2013). Mô phỏng mô hình gây viêm khớp cấp và mạn tính bằng carrageenan trên chuột nhắt. *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 17(4), trang 446–451.
10. Azza, Z. and M. Oudghiri (2015). In vivo anti-inflammatory and antiarthritic activities of aqueous extracts from *Thymelaea hirsuta*. *Pharmacognosy Res*, 7(2): p. 213-6. doi: 10.4103/0974-8490.150510.

Ngày nhận bài: 12/11/2021

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 12/12/2021

Ngày chấp nhận đăng bài: 22/12/2021

Thông tin tác giả:

1. PHẠM THỊ NHẬT TRINH¹

2. LÊ XUÂN BÌNH²

3. TỐNG THANH DANH³

4. VÕ ANH TỶ⁴

5. NGUYỄN THỊ HIỀN TRANG⁴

6. LÊ TRÂM NGHĨA THU⁴

7. HOÀNG NGỌC ANH⁵

8. LÊ TIẾN DŨNG⁵

¹Khoa Sư phạm và Khoa học Cơ bản, Trường Đại học Tiền Giang

²Bệnh viện Ung bướu TP. Hồ Chí Minh

³Khoa Kỹ thuật Hóa học, Đại học Bách Khoa TP. Hồ Chí Minh

⁴Viện Công nghệ Sinh học và thực phẩm, Trường đại học Công nghiệp TP. Hồ Chí Minh

⁵Phòng Vật liệu Sinh dược, Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng

ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF FRUCTUS GARDENIA (*GARDENIA JASMINOIDESELLIS*) EXTRACT

● PHAM THI NHAT TRINH¹

● LE XUAN BINH²

● TONG THANH DANH³

● VO ANH TY⁴

● NGUYEN THI HIEN TRANG⁴

● LE TRAM NGHIA THU⁴

● HOANG NGOC ANH⁵

● LE TIEN DUNG⁵

¹Faculty of Pedagogy and Basic Science, Tien Giang University

²Ho Chi Minh City Oncology Hospital

³Faculty of Chemical Engineering, Ho Chi Minh City University of Technology

⁴Institute of Food and Biotechnology, Industrial University of Ho Chi Minh City

⁵Department of Biopharmaceutical Materials, Institute of Applied Materials Science

ABSTRACT:

This study evaluated the oral acute toxicity and anti-inflammatory activity of ethanol 50% of fructus gardenia. Toxicity tests of 50% ethanol extract were conducted in male and female mice. The anti-inflammatory activity was evaluated by using a chronic inflammatory model as carrageenan induced paw edema. Oral administration of ethanol 50% fructus gardenia extract indicated that the maximum tolerated dose in mice as 24.0 g dry ethanol extract/kg mouse body weight. At that dose, no clinical abnormality after 72 hours and no mice death were observed during 14 days. Oral medication of the extract (200mg/kg and 400 mg/kg) showed dose-dependent and significant antiinflammatory activity in chronic phases of inflammation.

Keywords: fructus gardenia, acute toxicity, chronicinflammatory inhibition.