

Khảo sát tác dụng kháng viêm của cao chiết nước lá cây Lầu đở (*Psychotria rubra* (Lour.) Poir., Rubiaceae)

Hoàng Thị Phương Liên*, Nguyễn Ngọc Bảo Châu

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

*htplien@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Ở Việt Nam, *Lầu đở* (*Psychotria rubra*) được dùng rộng rãi như một dược liệu dân gian. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng kháng viêm của cao chiết nước từ lá cây Lầu đở trên mô hình thực nghiệm: gây phù chân chuột bằng carrageenan 1%, đo thể tích bàn chân chuột sau gây viêm tại các thời điểm: 0 giờ, 3 giờ, 6 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ, 144 giờ. Thuốc đối chứng là diclofenac 5mg/kg. Kết quả thống kê cho thấy Cao chiết nước từ lá cây Lầu đở làm giảm độ phù chân chuột ở cả hai liều 2,50g/kg và 1,25g/kg.

Nhận 10.01.2020

Được duyệt 09.05.2020

Công bố 29.06.2020

Từ khóa

Carrageenan, kháng viêm, Lầu đở

© 2020 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Lầu đở (*Psychotria rubra* (Lour.) Poir., Rubiaceae) thuộc họ Cà phê, mọc tự nhiên hầu hết ở các tỉnh trung du, miền núi Việt Nam[1], [2]. Lầu đở có tác dụng dược lí: kháng ung thư[3], kháng oxi hóa[4], cầm máu[5], kháng viêm (của dịch chiết từ thân cây)[6]. Bài báo này nghiên cứu khảo sát và đánh giá tác dụng kháng viêm của cao chiết nước từ lá cây Lầu đở.

2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu

- Dược liệu

Lá bánh tẻ của cây Lầu đở được thu hái tại huyện Minh Hóa, tỉnh Quảng Bình. Lá sau khi rửa sạch được đem sấy ở nhiệt độ 60°C trong 24 giờ.

- Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng đực, chủng *Swiss albino*, trưởng thành, khỏe mạnh, không dị tật do Viện Vắc-xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang cung cấp. Trọng lượng mỗi con từ 20 - 25g.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

- Cao chiết

Cao Lầu đở được chiết từ bột dược liệu bằng phương pháp chiết nóng theo tỉ lệ 1g bột dược liệu với 5ml dung môi trên bếp cách thủy 90°C chiết 2 lần, 30 phút/lần với dung môi là nước cất. Dịch chiết thu được sẽ mang bốc hơi trên bếp cách thủy ở nhiệt độ 70°C, thu được cao chiết toàn phần, bảo quản tủ lạnh khi chưa sử dụng.

Từ 1000g dược liệu khô, thu được 220,45g cao đặc, độ ẩm là 9,05%. Thể chất cao đặc sệt, màu nâu đỏ, mùi thơm nhẹ.

Khảo sát độc tính cấp thực hiện theo mô hình của GS.TSKH Đỗ Trung Đàm[7], tính toán theo phương pháp Behrens – Karber, ghi nhận LD₅₀ của cao chiết trên chuột nhắt trắng là 25,01g/kg[5].

- Khảo sát tác động kháng viêm

Để đánh giá tác động kháng viêm của dược liệu, nghiên cứu đã thực hiện mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan do Winter và cộng sự[8] đề xuất và cải tiến. Trước khi gây viêm, đo thể tích chân chuột khi bình thường. Chuột được gây viêm bằng cách tiêm vào dưới da gan bàn chân trái 0,025ml dung dịch carrageenan 1% pha trong dung dịch NaCl 0,9%, thực hiện song song với lô sinh lí được tiêm dung dịch NaCl 0,9%. Đo thể tích chân chuột sau khi gây viêm 3 giờ.

Những con chuột tiêm carrageenan có thể tích chân sưng phù nằm trong khoảng 50 - 100% so với bình thường được đưa vào thử nghiệm và chia ngẫu nhiên thành 4 lô.

Lô chứng bệnh: uống nước cất.

Lô đối chứng: uống diclofenac 5mg/kg.

Lô thử nghiệm 1: uống cao chiết nước lá Lầu đở liều 2,50g/kg[5].

Lô thử nghiệm 2: uống cao chiết nước lá Lầu đở liều 1,25g/kg[5].

Lô sinh lí (lô tiêm dung dịch NaCl 0,9%): uống nước cất.

Tiếp tục đo độ phù chân chuột các lô vào các thời điểm 6 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ, 144 giờ sau khi gây viêm. Các lô chuột vẫn tiếp tục cho uống nước cất hoặc diclofenac hoặc cao thử mỗi ngày, vào giờ cố định, với thể tích 0,1ml/10g chuột.

Tác động kháng viêm được đánh giá dựa vào khả năng ức chế sự sưng phù bàn chân chuột giữa các lô thử nghiệm với



lô chứng bệnh và lô đối chứng. Độ phù chân chuột (X%) là tỉ lệ phần trăm độ chênh lệch thể tích chân chuột sau khi gây viêm so với trước khi gây viêm (thời điểm 0 giờ), được tính bằng công thức sau:

$$X\% = \frac{V_s - V_0}{V_0} \times 100$$

Trong đó:

X%: Độ phù chân chuột.

V₀: Thể tích bàn chân chuột đo được trước khi tiêm carrageenan.

V_s: Thể tích bàn chân chuột đo được sau khi tiêm carrageenan s giờ.

2.3 Phân tích và xử lý kết quả

Kết quả được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel, trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± sai số chuẩn của giá trị trung bình (Mean ± SEM) và được đánh giá ý nghĩa thống kê bằng phép kiểm Mann-Whitney trên phần mềm SPSS 22.0. Sự khác biệt có ý nghĩa khi p < 0,05.

3 Kết quả và bàn luận

Bảng 1 Độ sưng phù bàn chân chuột ở các lô thử nghiệm tại các thời điểm khảo sát

| Lô | Sinh lí | Chứng bệnh | Diclofenac 5mg/kg | Cao 2,50 g/kg | Cao 1,25 g/kg |
|---------|-------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 3 giờ | 0,00 ± 0,00 | 63,50 ± 4,01 | 65,73 ± 4,72 | 67,06 ± 4,74 | 65,98 ± 3,54 |
| 6 giờ | 0,00 ± 0,00 | 54,91 [#] ± 4,08 | 25,49 ^{**} ± 4,76 | 49,03 [#] ± 5,28 | 38,11 [#] ± 6,48 |
| 24 giờ | 0,00 ± 0,00 | 47,47 [#] ± 2,94 | 19,86 ^{**} ± 3,28 | 29,24 [#] ± 6,83 | 38,82 [#] ± 4,97 |
| 48 giờ | 0,00 ± 0,00 | 50,00 [#] ± 4,13 | 31,00 ^{**} ± 3,15 | 36,79 [#] ± 4,75 | 35,05 [#] ± 3,29 |
| 72 giờ | 5,05 ± 1,48 | 56,49 [#] ± 5,70 | 28,38 ^{**} ± 3,06 | 28,19 ^{**#} ± 2,90 | 27,19 ^{**#} ± 3,21 |
| 96 giờ | 4,98 ± 1,46 | 48,02 [#] ± 3,72 | 21,85 ^{**} ± 3,8 | 22,55 ^{**#} ± 3,36 | 23,34 ^{**#} ± 2,07 |
| 120 giờ | 7,88 ± 2,15 | 46,22 [#] ± 3,52 | 13,32 ^{**} ± 3,48 | 16,84 ^{**#} ± 3,05 | 12,74 ^{**} ± 2,50 |
| 144 giờ | 7,8 ± 1,46 | 37,56 [#] ± 3,08 | 7,62 ^{**} ± 1,46 | 4,74 ^{**} ± 2,01 | 9,86 ^{**} ± 1,99 |

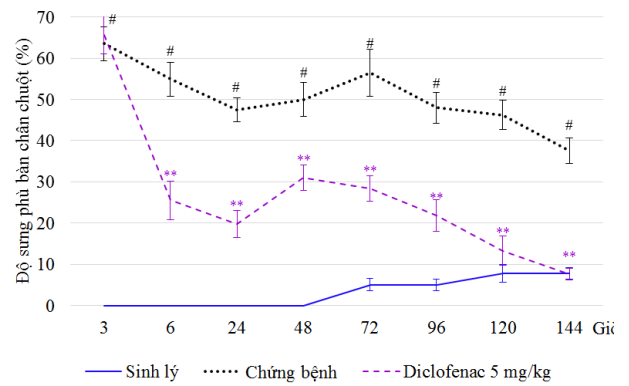
Ghi chú:

(*): p – value < 0,05 so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.

(**): p – value < 0,01 so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.

(#): p – value < 0,01 so với lô sinh lí ở cùng thời điểm.

3.1 Kết quả khảo sát mô hình kháng viêm bằng carrageenan 1%



Hình 1 Độ sưng phù bàn chân chuột ở lô sinh lí, lô chứng bệnh và lô diclofenac

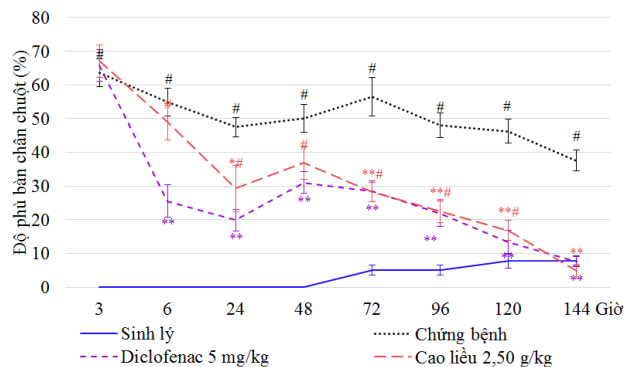
(*): p – value < 0,05 so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.

(**): p – value < 0,01 so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.

(#): p – value < 0,01 so với lô sinh lí ở cùng thời điểm

Nhận xét: kết quả cho thấy độ phù chân chuột ở lô chứng bệnh so với lô sinh lí khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,01) ở tất cả các thời điểm 3 giờ, 6 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ và 144 giờ. Độ phù chân chuột ở lô diclofenac 5mg/kg so với lô chứng bệnh giảm có ý nghĩa thống kê (p < 0,01) ở tất cả các thời điểm 6 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ và 144 giờ. Như vậy, việc tiêm carrageenan 1% có tác động gây phù chân chuột trong tất cả các thời điểm khảo sát và cho đáp ứng tốt với thuốc đối chứng diclofenac, có thể sử dụng để khảo sát tác động kháng viêm của cao chiết nước lá Lầu đở.

3.2 Kết quả tác động kháng viêm của dịch chiết nước lá Lầu đở, liều 2,50g/kg



Hình 2 Độ sưng phù bàn chân chuột ở lô cao liều 2,50 g/kg

(*): p – value < 0,05 so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.

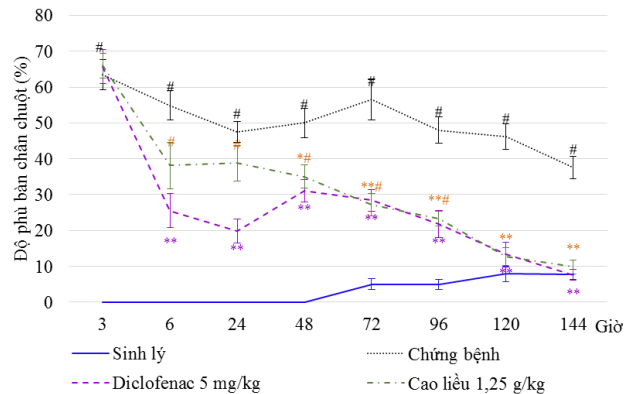
(**): p – value < 0,01 so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.

(#): p – value < 0,01 so với lô sinh lí ở cùng thời điểm

Nhận xét: Lô cao thử liều 2,50g/kg có tác động giảm độ phù chân chuột so với lô chứng bệnh tại tất cả thời điểm, đặc biệt đạt ý nghĩa thống kê tại các thời điểm 24 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ và 144 giờ (p < 0,05). Như vậy, cao thử liều 2,50g/kg thể hiện tác động kháng viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan. Mức giảm độ phù chân chuột ở lô cao thử liều 2,50g/kg khác biệt không có ý

nghĩa thống kê so với lô đối chứng sử dụng diclofenac. Tại thời điểm 144 giờ, độ phù bàn chân chuột của lô thử với liều 2,50g/kg so với lô sinh lí khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), chứng tỏ tại thời điểm này thể tích chân chuột trở về bình thường.

3.3 Kết quả khảo sát tác động giảm đau của dịch chiết nước lá Lấu đỏ, liều 1,25g/kg



Hình 3 Độ sưng phù bàn chân chuột ở lô cao liều 1,25g/kg

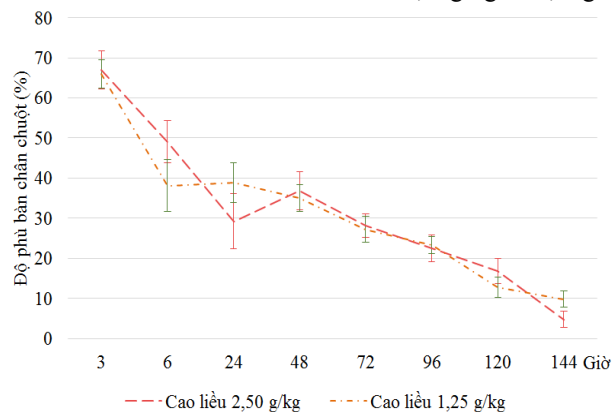
(*): p – value $< 0,05$ so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.

(**): p – value $< 0,01$ so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.

(##): p – value $< 0,01$ so với lô sinh lí ở cùng thời điểm.

Nhận xét: lô cao thử liều 1,25g/kg có tác động giảm độ phù chân chuột so với lô chứng bệnh trong suốt quá trình thử nghiệm và đạt ý nghĩa thống kê các thời điểm 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ và 144 giờ ($p < 0,05$). Độ phù chân chuột ở lô cao thử liều 1,25g/kg khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô diclofenac. Như vậy, kể từ thời điểm 48 giờ sau khi uống thuốc, cao thử liều 1,25g/kg thể hiện tác động kháng viêm tương đương với diclofenac trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan. Tại thời điểm 120 giờ và 144 giờ, độ phù chân chuột ở lô thử nghiệm 1,25g/kg so với lô sinh lí khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) chứng tỏ tại các thời điểm này thể tích chân chuột trở về bình thường.

3.4 Kết quả khảo sát so sánh tác động kháng viêm của dịch chiết nước lá Lấu đỏ ở hai mức liều: 2,50g/kg và 1,25g/kg



Hình 4 Độ sưng phù bàn chân chuột ở hai lô cao và lô sinh lí

Nhận xét: độ phù chân chuột của 2 lô cao chiết nước lá Lấu đỏ liều 2,50g/kg và 1,25g/kg khác biệt không có ý nghĩa thống kê vào tất cả các thời điểm thử nghiệm ($p > 0,05$) chứng tỏ 2 mức liều có hiệu quả kháng viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan tương đương nhau.

Bàn luận: Kết quả khảo sát cho thấy LD_{50} của cao chiết nước lá Lấu đỏ đường uống trên chuột là 25,01g/kg[5]. Liều có tác dụng dược lí thường dao động trong giới hạn từ 1/20 đến 1/5 LD_{50} [7]. Vì vậy, đề tài chọn liều 2,50g/kg và 1,25g/kg (tương đương với 1/10 và 1/20 LD_{50}) để đánh giá tác động kháng viêm của cao chiết nước lá Lấu đỏ.

Có nhiều mô hình thực nghiệm để khảo sát tác dụng kháng viêm *in vivo* như mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan, mô hình gây ban đỏ da bằng tia tử ngoại, mô hình gây u hạt bằng amian, mô hình gây phù tai chuột bằng TPA...[9], [10]. Trong đó, mô hình gây viêm bàn chân chuột bằng carrageenan được sử dụng rộng rãi do thủ thuật đơn giản, kết quả chính xác và không cần giết hoặc lấy một bộ phận, cơ quan chuột để đo kết quả.

Trong mô hình gây phù chân chuột sử dụng carrageenan, có thể theo dõi trên toàn bộ chuột thử nghiệm hoặc chỉ lựa chọn các chuột có độ sưng phù chân trong khoảng 50%-100% tại thời điểm 3 giờ để đưa vào thử nghiệm. Mô hình theo dõi toàn bộ chuột thử nghiệm có ưu điểm là nhanh, giúp tiết kiệm thời gian, thích hợp cho sàng lọc số lượng nhiều các chất thử nghiệm hoặc khảo sát tác dụng dự phòng viêm. Tuy nhiên, nếu quá trình gây viêm không đồng nhất và tương đương giữa các lô thì kết quả sẽ không chính xác. Đề tài sử dụng mô hình lựa chọn chuột có độ phù từ 50%-100% tại thời điểm 3 giờ để đưa vào thử nghiệm và theo dõi trong 6 ngày. Sau khi gây viêm 3 giờ, chuột được lựa chọn và chia ngẫu nhiên vào các lô để không có sự khác biệt sau đó mới dùng thuốc đối chứng hoặc thuốc thử nghiệm để điều trị. Mô hình này thực hiện tốn nhiều thời gian, cần sử dụng số lượng chuột nhiều hơn nhưng cho kết quả ổn định và chính xác hơn, tránh được sai số do kĩ thuật gây viêm.

Kết quả thử nghiệm cho thấy, cao chiết nước lá Lấu đỏ liều 2,50g/kg và 1,25g/kg thể hiện tác động kháng viêm đáng kể so với lô chứng bệnh, tác động này tương đương với diclofenac 5mg/kg và đã đưa chân chuột ở 2 lô này về bình thường giống như lô sinh lí (liều 2,50g/kg ở thời điểm 144 giờ và liều 1,25g/kg ở thời điểm 120 giờ và 144 giờ). Điều này tương đồng với các nghiên cứu trước đó về tác động kháng viêm *in vitro* và *in vivo* của cây Lấu đỏ[4], [6]. Tác giả Phạm Thị Hòa đã chứng minh tác dụng kháng viêm của cao nước và cao cồn 70% chiết xuất từ thân cây Lấu đỏ với liều 7,2g/kg và 14,4g/kg thể hiện bằng sự giảm khối lượng u hạt tươi, u hạt khô trên mô hình gây u hạt bằng amian và tác động giảm độ phù chân chuột trên mô hình gây viêm bằng carragenan ở chuột nhắt trắng. Như vậy, cả lá và thân cây Lấu đỏ đều thể hiện tác dụng kháng viêm trên mô hình thực nghiệm. Thực tế theo kinh nghiệm dân gian, có thể dùng lá hoặc thân cây Lấu đỏ để

kháng viêm, giảm đau. Nghiên cứu chúng tôi tiến hành sử dụng dịch chiết từ lá với liều lượng thấp, nhưng vẫn đạt hiệu quả kháng viêm có thể cho thấy tính ứng dụng cao của dược liệu trong thực tế.

4 Kết luận

Cao chiết nước từ lá cây Lầu đỏ ở cả 2 liều 2,50g/kg và 1,25g/kg đều thể hiện tác dụng kháng viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng carragenan. Kết quả này định hướng cho việc tối ưu hóa sử dụng dược liệu cũng như tiền đề cho việc phân lập các hợp chất có tính kháng viêm từ lá cây Lầu đỏ.

Tài liệu tham khảo

1. Bùi Mỹ Linh, Trần Thị Thúy Quỳnh (2013), "Khảo sát thực vật học và thành phần hóa học của cây Lầu đỏ (*Psychotria rubra* (Lour.) Poir., Rubiaceae)", Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, 17(1): tr. 185-190.
2. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Phương và cộng sự (2006), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Vol.2, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 151-153.
3. Toshimitsu Hayashi, Forrest T. Smith, Kuo-Hsiung Lee (1987), "Antitumor agents. 89. Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure-activity relationships", Journal of Medicinal Chemistry, 30(11): pp. 2005-2008.
4. Kyong-Suk Jin, Hyun Ju Kwon, Byung Woo Kim (2014), "Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory effects of *Malus huphensis*, *Ophiorrhiza cantonensis*, and *Psychotria rubra* ethanol extracts", Korean Journal of Microbiology and Biotechnology, 42 (3): pp. 275-284.
5. Hoàng Thị Phương Liên, Nguyễn Thị Thùy Trang, Nguyễn Lê Thanh Tuyền (2018), "Khảo sát độc tính cấp và thăm dò tác dụng chống đông máu của dịch chiết nước từ lá cây Lầu đỏ *Psychotria rubra* (Lour.) Poir, Rubiaceae", Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Nguyễn Tất Thành, 04: tr. 70-73.
6. Phạm Thị Hóa (2013), "Khảo sát tác dụng kháng viêm của cây Lầu đỏ (*Psychotria rubra* (Lour.) Poir.)", Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, 17 (1): tr. 145-149.
7. Đỗ Trung Đàm (2017), Phương pháp xác định độc tính của thuốc, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr.15-189.
8. Charles A. Winter, Edwin A. Risley, George W. Nuss (1962), "Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory Drugs.", Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine, 111: pp. 544-547.
9. Đỗ Trung Đàm (2017), Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 427 – 608.
10. Vũ Bình Dương, Nguyễn Hoàng Ngân (2015), "Tác dụng chống viêm, giảm đau của cao lỏng khớp tiêu thống trên động vật thực nghiệm", Tạp chí y - dược học quân sự, 04: tr. 42-49.

Study on anti-inflammatory effect of aqueous leaf extract of *Psychotria rubra* (Lour.) Poir, Rubiaceae

Hoang Thi Phuong Lien*, Nguyen Ngoc Bao Chau
Faculty of Pharmacy - Nguyen Tat Thanh University.
*htplien@ntt.edu.vn

Abstract Introduction: In Vietnam, Lau do (*Psychotria rubra*) is widely used as a medicinal plant for curing diseases, but studies on this plant are still limited. Therefore, this study was conducted for the purpose of determining and evaluating the anti-inflammatory effect of *Psychotria rubra*'s leaf. Methods: The aqueous leaf extract of *Psychotria rubra* was studied for its anti-inflammatory activity in carrageenan-induced paw edema in mice. The paw volume was measured plethysmometrically at 0h, 3h, 6h, 24h, 48 h, 72h, 96h, 120h, 144h after injection. Diclofenac 5mg/kg was used as the control in this experiment. Results and Discussion: The aqueous leaf extract of *Psychotria rubra* significantly ($P < 0,05$) reduced carrageenan-induced paw edema in mice at both dose 2,50 g/kg and 1,25 g/kg. Conclusion: *Psychotria rubra*'s leaf has anti-inflammatory effect in research doses.

Keywords Carrageenan, anti-inflammatory, *Psychotria rubra*.