

STUDY ON ACUTE TOXICITY AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF *EUODIA LEPTA* STEM EXTRACT IN MICE

Nguyen Ngoc Chuong, Nguyen Thi Hong Hieu, Nguyen Ngo Le Minh Anh*

University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city - 217 Hong Bang, district 5, Ho Chi Minh city, Viet Nam

Received: 17/02/2025

Revised: 26/3/2025; Accepted: 11/4/2025

ABSTRACT

Objectives: Supplement the scientific evidence on the safety profile and therapeutic potential of the *Euodia lepta* stem extract in aiding the treatment of inflammation, through acute toxicity evaluations and in vivo assessments of anti-inflammatory activity in mice.

Subjects and methods: Powder of *Euodia lepta* stem (2 kg) was extracted by the percolation method with 96% ethanol and concentrated under reduced pressure to obtain 0.108 kg of crude extract, achieving an extraction efficiency of 5.04%. The chemical composition of alkaloids, flavonoids, coumarins and saponins is determined by characteristic chemical reactions. The main active alkaloid (dictamnine, evolitrine, and kokusaginine) in the extract was determined by thin layer chromatography. The acute oral toxicity of the extract was determined by the Behrens method in mice. An in vivo anti-inflammatory test was conducted using a carrageenan-induced paw edema model in mice, and the degree of paw swelling was measured to evaluate the anti-inflammatory efficacy of the extract.

Results: The chemical composition of alkaloids, flavonoids, coumarin and saponin were identified. The main alkaloid constituents in the extract were performed using thin-layer chromatography, which corresponded to those of the standard reference alkaloids dictamnine, evolitrine, and kokusaginine. The inability to determine the LD₅₀ of the *Euodia lepta* stem extract when administered orally to mice at a maximum dose of 35 g/kg body weight suggests that the extract has a relatively high safety profile, as no signs of lethality were observed even at such a high dose. The *Euodia lepta* stem extract at a dose of 100 mg/kg and 200 mg/kg significantly reduced paw edema in mice, with this effect showing a statistically significant difference compared to the control group ($p < 0.01$). Furthermore, the extract demonstrated equivalent effectiveness in reducing paw edema compared to the positive control group treated with diclofenac (5 mg/kg) at 3 hours after carrageenan sub-plantar injection ($p < 0.01$) and superior efficacy at 24 hours after ($p < 0.001$).

Conclusion: The *Euodia lepta* stem extract is not only safe but also demonstrates a significant effect in reducing paw edema compared to conventional anti-inflammatory drugs. The stem of *Euodia lepta* may have the potential to develop into an effective anti-inflammatory medicinal herb.

Keywords: *Euodia lepta* stem, *Melicope ptelefolia*, alkaloid, acute toxicity, anti-inflammatory.

*Corresponding author

Email: drminhanh@ump.edu.vn Phone: (+84) 962644648 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD4.2366>



NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG KHÁNG VIÊM CỦA CAO CHIẾT THÂN CÂY BA CHẠC (*EUODIA LEPTA*, RUTACEAE) TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Nguyễn Ngọc Chương, Nguyễn Thị Hồng Hiểu, Nguyễn Ngô Lê Minh Anh*

Đại học Y Dược Tp Hồ Chí Minh - 217 Hồng Bàng, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 17/02/2025

Ngày chỉnh sửa: 26/3/2025; Ngày duyệt đăng: 11/4/2025

TÓM TẮT

Mục tiêu: Cung cấp thêm minh chứng khoa học về độ an toàn và khả năng ứng dụng hỗ trợ điều trị viêm của cao chiết từ thân cây ba chạc bằng các thử nghiệm đánh giá độc tính cấp và tác dụng kháng viêm in vivo trên chuột.

Đối tượng và phương pháp: Thân cây ba chạc (2 kg) được chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt với ethanol 96%. Sau đó, dịch chiết được cô đặc dưới áp suất giảm thu được 108g cao đặc, đạt hiệu suất chiết là 5,04%. Thành phần hóa học alkaloid, flavonoid, coumarin và saponin được định tính bằng phản ứng hóa học đặc trưng. Hoạt chất alkaloid chính trong cao chiết (dictamnin, evolitrin và kokusaginin) được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng. Độc tính cấp qua đường uống của cao chiết được đánh giá bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon trên chuột nhắt trắng. Thử nghiệm chống viêm in vivo được tiến hành trên mô hình gây phù chân chuột nhắt trắng bằng carrageenan và độ phù chân được đo để đánh giá hiệu quả chống viêm của cao chiết.

Kết quả: Cao chiết được xác định có các thành phần alkaloid, flavonoid, coumarin và saponin bằng các phản ứng hóa học đặc trưng. Hợp chất alkaloid chính được định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng so với dung dịch chuẩn đối chiếu cho thấy trong cao chiết có dictamnin, evolitrin và kokusaginin. Không xác định được giá trị LD₅₀ của cao chiết thân cây ba chạc khi cho chuột uống với liều tối đa lên đến 35,04 g/kg thể trọng cho thấy rằng cao chiết này có mức độ an toàn khá cao vì không có dấu hiệu gây chết cho chuột. Cao chiết thân cây ba chạc với liều 100 mg/kg và 200 mg/kg có tác dụng làm giảm độ phù chân chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$). Hiệu quả giảm phù chân chuột cũng được ghi nhận là tương đương so với lô chứng dương uống diclofenac (5 mg/kg) ở thời điểm sau 3 giờ gây viêm, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$) và hiệu quả cao hơn ở thời điểm 24 giờ sau khi gây viêm ($p < 0,001$).

Kết luận: Cao chiết thân cây ba chạc không chỉ an toàn mà còn có hiệu quả giảm phù chân chuột đáng kể so với thuốc chống viêm thông thường. Thân cây ba chạc rất có tiềm năng phát triển thành thuốc kháng viêm hiệu quả.

Từ khóa: Thân cây ba chạc, *Melicope ptelefolia*, alkaloid, độc tính cấp, kháng viêm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm là phản ứng bảo vệ cơ thể chống lại nhiễm trùng từ mầm bệnh như virus, vi khuẩn, nấm hay một số nguyên nhân khác. Viêm cũng gây các triệu chứng đau, nóng, sưng, đỏ và ảnh hưởng đến chức năng sinh lý bình thường của cơ thể [1]. Hơn nữa, tình trạng viêm kéo dài có thể gây ra các bệnh nghiêm trọng như bệnh tự miễn dịch, bệnh tim mạch, bệnh tiểu đường typ I và thậm chí bệnh ung thư [2]. Vì vậy, thực hiện phương pháp dùng thuốc ức chế phản ứng viêm quá mức là rất cần thiết. Nhiều cây thuốc và các chất chuyển hóa thứ

cấp của chúng được chứng minh hiệu quả trong điều trị viêm [3-5].

Cây ba chạc có tên khoa học là *Euodia leptota*, Rutaceae, tên đồng danh là *Melicope ptelefolia*, tên thông thường ở Việt Nam còn được gọi là chè đắng, chè cỏ, dầu dậu ba lá [6]. Theo kinh nghiệm dân gian, cây ba chạc từ lâu đã được dùng để điều trị các bệnh hay các triệu chứng như viêm não, chàm, viêm da, cảm lạnh, cảm cúm kèm sốt cao và nhức mỏi, như là một loại trà hay là các loại hạt thuốc y học cổ truyền ở Việt Nam và Trung Quốc. Hơn nữa, cây ba chạc còn là nguyên liệu

*Tác giả liên hệ

Email: drminhanh@ump.edu.vn Điện thoại: (+84) 962644648 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD4.2366>

chính trong nhiều chế phẩm y học cổ truyền ở Trung Quốc để điều trị viêm dạ dày, viêm mũi, cúm và các bệnh khác [7]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học đã chứng minh rằng trong lá và vỏ quả ba chạc có chứa tinh dầu, trong rễ và thân cây ba chạc có alkaloid, flavonoid, coumarin và saponin, trong đó một số hợp chất alkaloid đại diện trong rễ là dictamin, evolitrin và kokusaginin đã được phân lập, xác định cấu trúc hóa học và được xác định có vai trò chính chịu trách nhiệm về tác dụng sinh học. Những nghiên cứu được lý đã chứng minh rằng rễ cây ba chạc có tác dụng kháng viêm in vivo [8]. Thành phần hóa học trong rễ ba chạc về cơ bản tương tự như ở thân và hàm lượng trong rễ cao hơn [9]. Do đó, thân cây ba chạc cũng sẽ có nhiều tiềm năng ứng dụng làm thuốc kháng viêm hiệu quả. Nghiên cứu này được thực hiện để cung cấp thêm minh chứng khoa học về độ an toàn và khả năng ứng dụng hỗ trợ điều trị viêm của cao chiết từ thân cành cây ba chạc bằng các thử nghiệm đánh giá độc tính cấp và tác dụng kháng viêm in vivo trên chuột nhắt trắng.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Thân cây ba chạc được thu hái tại tỉnh Vĩnh Long vào tháng 6/2024, được định danh và lưu mẫu (ký hiệu mẫu: BC06022004) bởi giáo sư Trần Công Luận, Trường Đại học Tây Đô, thành phố Cần Thơ. Dược liệu được thái phiến, sấy khô, tán thành bột nửa thô (1 kg) có kích thước khoảng 1 mm cho quy trình chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt.

2.1.2. Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng khỏe mạnh, chủng Swiss albino do Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang cung cấp, giống đực, trọng lượng 20-25 g/con, 5-6 tuần tuổi, được nuôi ổn định 1 tuần trước thử nghiệm. Động vật được cung cấp đầy đủ thức ăn và nước uống trong quá trình thử nghiệm với chu trình 12 giờ sáng tối (7-19 giờ), nhiệt độ phòng thí nghiệm $23 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.1.3. Dung môi, hóa chất

Ethanol 96% (Chemsol, Việt Nam); methanol (Fisher, Đức); acid TFA (Fisher, Đức); diclofenac natri 50 mg (Novartis, Thụy Sĩ); carrageenin, dictamin, evolitrin và kokusaginin (Sigma Aldrich, Mỹ).

2.1.4. Trang thiết bị

Bếp cách thủy Memmert (Đức), cân kỹ thuật OHAUS Voyager Pro (Thụy Sĩ), máy siêu âm Grant (Đức), máy cô quay chân không Buchi (Đức), máy đo thể tích chân chuột Plethysmometer model 7140 (Ugo Basile, Ý), bảng mỏng sắc ký Silica gel G60, F254 (Merck).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm in vivo, bố trí thí nghiệm ngẫu

nhiên và có đối chứng với chứng âm không điều trị, uống dung môi pha mẫu là nước cất, lô đối chiếu uống thuốc diclofenac.

2.2.2. Khảo sát chất lượng cao chiết

Cân chính xác khoảng 50g bột thân cây ba chạc, khảo sát dung môi chiết xuất với nồng độ ethanol khác nhau là ethanol 40%, ethanol 70%, ethanol 96% và nước. So sánh hiệu suất chiết của 4 loại cao đặc thu được. Dung môi chiết xuất cho hiệu suất chiết cao nhất sẽ được chọn cho quá trình chiết xuất cao chiết thân cây ba chạc phục vụ cho các bước nghiên cứu tiếp theo.

Cao chiết được xác định có chứa các thành phần hóa học alkaloid, flavonoid, coumarin, saponin theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.2. Các hợp chất alkaloid chính là dictamin, evolitrin và kokusaginin được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 5.4 [10].

Dung dịch thử: cân khoảng 20 mg cao chiết thân cành ba chạc hòa tan với 20 ml dung môi methanol, lọc qua giấy lọc. Dịch lọc được sử dụng làm dung dịch mẫu thử.

Dung dịch chuẩn: cân khoảng 2 mg chất chuẩn lần lượt là dictamin, evolitrin và kokusaginin cho vào 3 bình nón nút mài, hòa tan với 5 ml methanol thu được các dung dịch đối chiếu.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký lớp mỏng bằng hệ dung môi dichloromethan - methanol (97:3). Bảng mỏng sau khi khai triển dung môi được để khô ở nhiệt độ phòng. Trên sắc ký đồ mẫu thử phải có các vết cùng màu sắc và trị số R_f tương đương với các vết của mẫu đối chiếu khi quan sát dưới đèn UV 254 nm, 365 nm và phun thuốc thử Dragendorff.

2.2.3. Khảo sát độc tính cấp của cao chiết

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD₅₀ của cao chiết ethanol 96% thân cành ba chạc trên chuột nhắt trắng đường uống bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon. Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Chuột được nhịn đói ít nhất 12 giờ trước khi thử nghiệm. 10 chuột (gồm 5 đực và 5 cái) được cho uống dịch thử nghiệm 1 lần duy nhất với thể tích 20 ml/kg. Cho chuột uống cao chiết với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột. Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó, xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Với những chuột còn sống, tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc.

2.2.4. Đánh giá tác dụng của cao chiết trên thực nghiệm gây viêm bàn chân chuột bởi carrageenan

Liều thử nghiệm thể lựa chọn liều thử tác dụng được lý của cao chiết trong khoảng từ 1/20-1/5 LD₅₀. Trong trường hợp cao chiết được xác định là an toàn, không gây độc tính cấp thì liều dùng cho thử nghiệm sẽ dựa theo kinh nghiệm dân gian [11]. Cây ba chạc được sử dụng được liệu khô (10-20g) mỗi ngày trên người có thể trọng người trung bình 50 kg. Theo hệ số 11.76, liều thử nghiệm được quy đổi áp dụng cho chuột nhắt trắng là (1,8-3,6 g/kg) được liệu, tương đương với 100-200 mg/kg cao chiết. Sử dụng nước cất làm dung môi pha mẫu cao chiết và thuốc đối chứng diclofenac.

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 8 con như sau: lô chứng uống nước cất, lô đối chiếu được cho uống diclofenac (5 mg/kg), các lô thử uống các cao chiết theo bảng 1. Chuột được cho uống 3 lần vào các mốc thời gian 1, 5 và 23 giờ sau khi tiêm 50 µl carrageenan 1% vào gan bàn chân phải. Tiến hành đo thể tích chân phải chuột trước khi tiêm carrageenan và sau khi tiêm 3 và 24 giờ bằng thiết bị đo thể tích chân chuột (Plethysmometer, Ugo Basil, Ý). Thể tích chân chuột được đo 2 lần và lấy trị số trung bình [12].

Bảng 1. Bố trí lô thí nghiệm trên thực nghiệm gây phù chân chuột bởi carrageenan

Lô thử nghiệm	Mẫu thử nghiệm	Liều uống
Chứng	Uống nước cất	-
Đối chiếu	Uống diclofenac	5 mg/kg
Cao chiết liều thấp	Uống cao chiết liều tương đương 1,8g được liệu khô/kg	100 mg/kg
Cao chiết liều cao	Uống cao chiết liều tương đương 3,6g được liệu khô/kg	200 mg/kg

Độ sưng phù chân chuột ở các lô thử nghiệm, biểu thị mức độ viêm được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{(V_{st} - V_{tt})}{V_{tt}} \times 100$$

Trong đó: X là độ sưng phù bàn chân chuột; V_{st} là thể tích chân sau khi tiêm carrageenan; V_{tt} là thể tích chân trước khi tiêm carrageenan.

Mức độ giảm viêm chân chuột ở các lô thử, lô đối chiếu so với lô chứng được tính theo công thức:

$$Y (\%) = \frac{(X_{chứng} - X_{thử})}{X_{chứng}} \times 100$$

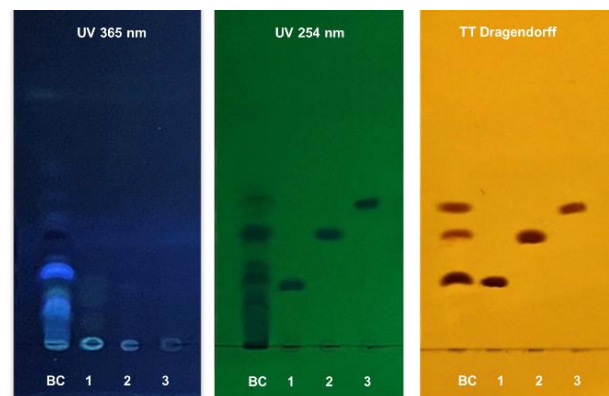
Số liệu thực nghiệm thể hiện bằng số trung bình (M) ± sai số chuẩn của giá trị trung bình (SEM). Xử lý số liệu bằng phần mềm MS Excel 365, phân tích thống kê dựa vào phép kiểm Student t-test. Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi p < 0,05 so với lô chứng hoặc lô đối chiếu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khảo sát chất lượng cao chiết

Dịch chiết thu được từ 4 loại dung môi khác nhau được cô cách thủy đến thể chất cao đặc, được ghi nhận khối lượng, độ ẩm và đánh giá hiệu suất chiết. Kết quả so sánh hiệu suất chiết cho thấy tỉ lệ cao đặc thu được tăng lên theo thứ tự các dung môi nước, ethanol 40%, ethanol 70% và ethanol 96%. Do đó, dung môi ethanol 96% được chọn cho quá trình chiết xuất. Bột thân cây ba chạc (2 kg) được ngâm kiệt với cồn 96% theo tỉ lệ 1:10 (được liệu - dung môi). Dịch chiết được tiếp tục cô thu hồi dung môi và cô cách thủy để thu được cao đặc 108g đạt độ ẩm 10,33% theo quy định của Dược điển Việt Nam V. Hiệu suất chiết cao là 5,04%.

Cao chiết được định tính bằng các phản ứng hóa học và được xác định có chứa các nhóm hợp chất alkaloid, flavonoid, coumarin và saponin. Dung dịch thử cho các phản ứng dương tính với các thuốc thử đặc trưng. Định tính alkaloid với thuốc thử Dragendorff và Bouchardat, dung dịch thử cho kết quả đỏ cam và đỏ nâu. Xác định flavonoid bằng phản ứng cyanidin, dung dịch thử tạo màu hồng đậm. Hợp chất coumarin được thực hiện bằng phản ứng đóng mở vòng lacton và saponin được xác định bằng phản ứng tạo bọt. Các hợp chất alkaloid chính trong cao chiết đã được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng là dictamin, evolitrin và kokusaginin. Trên sắc ký đồ của mẫu thử cao chiết có 3 vết cùng màu sắc và trị số R_f tương đương với 3 vết của mẫu đối chiếu khi quan sát dưới đèn UV 254 nm, 365 nm và phun thuốc thử Dragendorff (hình 1). Hơn nữa, quá trình chiết xuất bột được liệu cũng được kiểm soát cho đến khi dịch chiết sau cùng không còn phát hiện vết alkaloid trên sắc ký lớp mỏng. Kết quả định tính cũng cho thấy rằng với tỉ lệ bột được liệu - dung môi là 1:10 đã đảm bảo thành phần alkaloid được chiết xuất toàn bộ vào dịch chiết bằng phương pháp ngâm kiệt.



Hình 1. Sắc ký đồ định tính cao chiết thân cây ba chạc, dictamen (1), evolitrin (2) và kokusaginin (3). Hệ dung môi triển khai sắc ký lớp mỏng: dichloromethan - methanol (97:3)

3.2. Độc tính cấp của cao chiết

- Giai đoạn thăm dò: liều dùng bằng đường uống khởi đầu từ liều 10 g/kg đến liều 35 g/kg (liều tối đa có thể bơm qua kim đầu tù cho chuột uống) với bước nhảy liều là 5 g/kg. Kết quả không có chuột chết.

- Giai đoạn xác định: từ kết quả thăm dò, giai đoạn xác định độc tính cấp của cao chiết được thực hiện đối với lô chứng uống dung môi pha mẫu là nước cất và lô thử uống cao chiết với liều tối đa có thể bơm qua kim đầu tù là 35 g/kg.

Quan sát trong 72 giờ sau khi cho chuột uống, cả 2 lô nghiên cứu không ghi nhận chuột chết. Ở lô uống cao chiết nhận thấy trong 24 giờ đầu, chuột ít ăn uống, ít vận động, bài tiết phân có màu nhạt hơn so với lô chứng uống dung môi pha mẫu là nước cất, tuy nhiên từ 24-72 giờ sau khi uống cao, chuột ăn uống, vận động bình thường trở lại, bài tiết bình thường.

3.3. Tác dụng kháng viêm của cao chiết trên thực nghiệm gây viêm bàn chân chuột bởi carrageenan

Kết quả thử nghiệm độc tính cấp đã cho thấy cao chiết ethanol 96% từ thân cây ba chạc là an toàn, không xác định được LD₅₀ ở liều tối đa lên đến 35 g/kg. Do đó, thử nghiệm kháng viêm được thực hiện với liều 0,19-0,38 g/kg. Kết quả độ phù chân chuột theo thời gian của các lô thử nghiệm được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Mức độ phù chân chuột (%) của các lô thử nghiệm

Lô (n = 8)	Mức độ phù chân chuột (%)	
	Sau 3 giờ	Sau 24 giờ
Chứng	91,47 ± 7,28	86,29 ± 8,17
Đối chiếu (diclofenac) liều 5 mg/kg	60,78 ± 4,56*	58,62 ± 4,01*
Cao chiết liều 100 mg/kg	65,17 ± 5,51*	32,75 ± 2,50#
Cao chiết liều 200 mg/kg	66,09 ± 5,41*	34,21 ± 3,88#

Ghi chú: *p < 0,01 so với lô chứng tại cùng thời điểm khảo sát; #p < 0,001 so với lô chứng tại cùng thời điểm khảo sát.

Kết quả bảng 2 cho thấy, độ phù chân chuột ở lô đối chiếu ở thời điểm đo 3 giờ và 24 giờ sau tiêm carrageenan có khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng tương ứng (p < 0,01). Sau 3 giờ tiêm carrageenan, độ phù chân chuột của lô cao chiết liều 100 mg/kg đạt 65,17%, khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng tương ứng (p < 0,01) và của lô cao chiết liều 200 mg/kg đạt 66,09%, có khác biệt đạt ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng tương ứng (p < 0,01). Hơn nữa, ở thời điểm 3 giờ sau khi tiêm carrageenan, độ phù chân chuột giữa các lô thử nghiệm

và lô đối chiếu là tương đương nhau và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Sau 24 giờ tiêm carrageenan, độ phù chân chuột được ghi nhận của lô đối chiếu, lô cao chiết liều 100 mg/kg và 200 mg/kg lần lượt là 58,62%, 32,75% và 34,21%, khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng tương ứng (p < 0,01 và p < 0,001). Mặt khác, độ phù chân chuột giữa 2 lô cao chiết liều thấp và liều cao khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3. Mức độ giảm viêm chân chuột (%) của các lô thử nghiệm

Lô (n = 8)	Mức độ giảm viêm (%)	
	Sau 3 giờ	Sau 24 giờ
Đối chiếu (diclofenac) liều 5 mg/kg	33,55 ± 2,05	32,06 ± 2,18
Cao chiết liều 100 mg/kg	28,75 ± 2,75	62,04 ± 2,12
Cao chiết liều 200 mg/kg	27,74 ± 1,41	60,35 ± 4,63

Bảng 3 cho thấy lô đối chiếu, liều 5 mg/kg làm giảm mức độ viêm 33,55% ở thời điểm sau 3 giờ gây viêm, cả hai cao chiết liều 100 mg/kg và 200 mg/kg mức độ giảm viêm đều thể hiện tương đương với thuốc đối chiếu, đạt giá trị lần lượt là 28,75% và 27,74%. Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hiệu quả giảm viêm giữa hai lô cao chiết được thử nghiệm. Hiệu quả kháng viêm của hai lô cao chiết vượt trội hơn so với lô đối chiếu ở thời điểm 24 giờ sau khi gây viêm. Mức độ giảm viêm đạt lần lượt là 62,04% đối với cao chiết liều 100 mg/kg, 60,35% đối với cao chiết liều 200 mg/kg.

4. BÀN LUẬN

Ở Việt Nam, cây ba chạc có phân bố rộng, thường được tìm thấy ở bìa rừng, bờ kênh, mọc rải rác ở khắp nơi từ miền Nam đến miền Bắc. Một số quốc gia khác cũng có cây ba chạc như Trung Quốc, Thái Lan, Ấn Độ, Lào [6]. Nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng dược lý đã được thực hiện theo định hướng sử dụng của cây thuốc này theo y học cổ truyền. Lá cây ba chạc có mùi thơm, thành phần hóa học chủ yếu là tinh dầu. Trong khi đó, rễ và thân của cây ba chạc có chứa alkaloid, flavonoid, coumarin và saponin. Hợp chất alkaloid đại diện trong rễ cây ba chạc đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học là dictamin, evolitrin và kokusaginin. Những hợp chất này được chứng minh là thành phần hóa học chính cho tác dụng kháng viêm của rễ cây ba chạc [9]. Đối với cao chiết thân cây ba chạc, nghiên cứu này cho thấy có mặt thành phần alkaloid như dictamin, evolitrin và kokusaginin, được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng. Do đó, thân cây ba chạc ở Việt Nam cũng có thể là nguồn cung cấp hợp

chất alkaloid quan trọng này để ứng dụng trong nghiên cứu và phát triển các sản phẩm hỗ trợ điều trị viêm.

Nghiên cứu độc tính cấp theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon giúp ích trong xác định phạm vi liều an toàn mà thuốc có thể được sử dụng sao cho không có tác dụng có hại như thay đổi về hành vi, tình trạng sức khỏe, hoặc các dấu hiệu nhiễm độc khác hoặc gây tử vong cho động vật [13]. Kết quả thử nghiệm của nghiên cứu này cho thấy cao chiết thân cây ba chạc không gây độc tính cấp. Liều tối đa có thể cho chuột uống được không có chuột tử vong và không có bất thường về hành vi, trạng thái lông, ăn uống, tiêu, tiểu sau khi theo dõi chuột trong 14 ngày ở điều kiện chăm sóc bình thường. Kết quả không xác định được LD₅₀ và liều Dmax lên đến 35 g/kg thể trọng chuột, ước tính liều sử dụng cho người trung bình 50 kg là 149 g/ngày, lớn hơn khoảng 100 lần liều dùng hàng ngày (10-20 g) theo kinh nghiệm dân gian [11]. Nghiên cứu này bổ sung thêm chứng cứ khoa học về tính an toàn và không gây độc tính cấp đường uống của cao chiết ethanol 96% từ thân cây ba chạc. Nghiên cứu độc tính cấp của cao chiết rễ của cây ba chạc trước đây cũng đã xác định được liều dùng tối đa đối với rễ cây ba chạc 168 g/kg, cao hơn gấp nhiều lần so với liều dùng thông thường hàng ngày [13]. Hơn nữa, nghiên cứu độc tính cấp của Sulaiman M.R và cộng sự cho thấy dịch chiết methanol từ lá cây ba chạc ở mức liều 5 g/kg không gây ra hành vi bất thường cũng như tỷ lệ tử vong ở chuột nhắt [14]. Những kết quả này góp phần khẳng định tính an toàn của rễ, thân và lá cây ba chạc. Tuy nhiên, cần thiết nghiên cứu thêm về độc tính bán trường diễn để cung cấp thêm dữ liệu đầy đủ về tính an toàn của dược liệu này.

Mô hình gây sưng phù chân chuột bằng carrageenan là một mô hình đơn giản được sử dụng phổ biến trên động vật để gây sưng phù chân chuột tại vị trí viêm mà không gây ra bất kỳ các tổn thương hay sự hủy hoại nào đến cơ thể động vật nhằm xác định hoạt tính kháng viêm của các hợp chất khác nhau. 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. Vì vậy mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan được lựa chọn để đánh giá tác dụng chống viêm cấp của cao chiết thân cây ba chạc. Quá trình gây viêm của carrageenan gồm hai pha. Pha sớm hình thành sau khi tiêm khoảng 1 giờ và liên quan đến sự tăng đáng kể các chất hóa học trung gian gây viêm như histamin, serotonin, bradykinin. Quá trình này không bị ức chế bởi các NSAIDs. Pha muộn được hình thành sau khi tiêm khoảng 3 giờ liên quan đến sự tăng đáng kể của prostaglandin, leukotrien và sự tăng thể tích chân chuột, pha muộn này bị ức chế bởi các NSAIDs. Nghiên cứu của Mahani Mahadi và cộng sự ở Malaysia

đã chỉ ra rằng cao chiết rễ cây ba chạc có tác dụng kháng viêm ở hai liều được sử dụng lần lượt là 50 mg/kg và 100 mg/kg [8]. Trong nghiên cứu này, liều dùng cao chiết thân cây ba chạc là 100 mg/kg và 200 mg/kg, dựa trên tính toán quy đổi từ liều dùng thực tế theo kinh nghiệm dân gian. Kết quả nghiên cứu cho thấy liều 100 mg/kg và 200 mg/kg làm giảm phù chân chuột có ý nghĩa thống kê tương đương với thuốc chống viêm thông thường (diclofenac) tại thời điểm sau gây viêm 3 giờ. Mặt khác, khả năng ức chế viêm sau 24 giờ được ghi nhận vượt trội hơn khoảng 2 lần so với diclofenac. Kết quả này là minh chứng khoa học về tác dụng kháng viêm của thân cây ba chạc thu hái ở Việt Nam. Tuy nhiên, để có thêm các dữ liệu khoa học đầy đủ hơn thì cần có những nghiên cứu chống viêm của thân cây ba chạc ở cơ chế phân tử liên quan đến COX-2, iNOS, PEG2 hoặc các yếu tố tiền viêm khác.

5. KẾT LUẬN

Thân cây ba chạc có những hợp chất tự nhiên đặc trưng là dictamin, evolitrin và kokusaginin tương đồng với những hợp chất alkaloid trong rễ cây ba chạc. Cao chiết ethanol 96% từ thân cây ba chạc không gây độc tính cấp đường uống và thể hiện hoạt tính chống viêm tương đương với diclofenac. Thân cây ba chạc rất có tiềm năng phát triển thành dược liệu chống viêm hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ahmed A.U, An overview of inflammation: mechanism and consequences, *Frontiers in Biology*, 2011, 6, 274-281.
- [2] Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J et al, *Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs*, *Oncotarget*, 2018, 9, 7204-7218.
- [3] Bagad A.S, Joseph J.A, Bhaskaran N, Agarwal A, *Comparative Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of Curcuminoids, Turmerones and Aqueous Extract of Curcuma longa*, *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2013, 805756.
- [4] Camargo A, Rangel-Zuñiga O.A, Haro C et al, *Olive oil phenolic compounds decrease the postprandial inflammatory response by reducing postprandial plasma lipopolysaccharide levels*, *Food Chemistry*, 2014, 162, 161-71.
- [5] Nikniaz Z, Ostadrahimi A, Mahdavi R et al, *Effects of Elaeagnus angustifolia L. supplementation on serum levels of inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in females with knee osteoarthritis*, *Complementary Therapies in Medicine*, 2014, 22 (5), 864-9.
- [6] Huỳnh Minh Đạo, Nguyễn Thị Ngọc Bích,

- Nguyễn Thị Thúy Liễu, Trịnh Thị Quỳnh, Nghiên cứu đặc điểm thực vật và thành phần hóa học cây ba chạc (*Euodia lepta* (Spreng.) Merr, họ cam (Rutaceae)) thu hái tại Đà Nẵng, Tạp chí Y Dược học Cần Thơ, 2023, 58, 122-130.
- [7] Lee B.W, Quy Ha T.K, Park E.J, Cho H.M et al, Melicopteline A-E, Unusual Cyclopeptide Alkaloids with Antiviral Activity against Influenza A Virus from *Melicope pteleifolia*, J Org Chem, 2021 Jan 15, 86 (2), 1437-1447.
- [8] Mahani Mahadi et al, The potential effects of *Melicope pteleifolia* root extract as an antinociceptive and anti-inflammatory on animal models, Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University, 2016, 54 (2), 237-241.
- [9] Yao Q, Gao Y, Lai C, Wu C, Zhao C.L, Wu J.L, Tang D.X, The phytochemistry, pharmacology and applications of *Melicope pteleifolia*: A review, The Journal of Ethnopharmacology, 2020, 6, 251, 112546.
- [10] Bộ Y tế, Dược Điển Việt Nam V, Nhà xuất bản Y học, 2018.
- [11] Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Thời Đại, 2016, 123.
- [12] Nguyễn Thị Hồng Ngọc, Nguyễn Diệp Huy Phong, Hồ Thanh Phát, Nguyễn Hoàng Tính, Bùi Thảo Nhi, Nguyễn Văn Luân, Đỗ Châu Minh Vĩnh Thọ, Nghiên cứu tác dụng kháng viêm của cao chuẩn hóa kiểm soát hàm lượng các curcumin từ thân rễ nghệ vàng (*Rhizoma Curcuma longa* L.) trên chuột nhắt trắng, Tạp chí Y học Việt Nam, 2023, 530 (1B).
- [13] Lai W, Tan Y, Yang W, Zhang J, Liu M, Study on the acute toxicity of the aqueous extract of *Polygonum hydropiper*, *Ficus pumila* and *Evodia lepta*, Journal of Hainan Medical University, 2010, 16, 411-412.
- [14] Sulaiman M.R, Mohd Padzil A, Shaari K, Khalid S, Shaik Mossadeq W.M, Mohamad A.S, Ahmad S, Akira A, Israf D, Lajis N, Antinociceptive activity of *Melicope pteleifolia* ethanolic extract in experimental animals, Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010, 937642.

