

Khảo sát độc tính cấp và tác động kháng viêm của dịch chiết nước cây Nở ngày đất (*Gomphrena celosoides* Mart., Amaranthaceae)

Lê Thị Kim Anh*, Trần Ngọc Tín, Trương Mỹ Linh, Nguyễn Thị Trúc Linh, Nguyễn Hoàng Mỹ An, Hoàng Thị Phương Liên, Võ Thị Thu Hà

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành.

*vttha@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Ở Việt Nam, những nghiên cứu về dược liệu Nở ngày đất (*Gomphrena celosoides* Mart.) vẫn còn ít ỏi và hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát độc tính cấp và đánh giá tác động kháng viêm của cao đặc Nở ngày đất được chiết bằng dung môi nước.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Để khảo sát độc tính cấp, nghiên cứu đã cho chuột uống cao dược liệu liều tối đa có thể qua đường uống và ghi nhận sự sống chết của chuột trong 72 giờ tiếp theo. Mô hình gây phù chân chuột bằng carragenan được thực hiện để đánh giá khả năng kháng viêm của Nở ngày đất. Sau khi gây viêm, chuột được cho uống cao và được theo dõi độ sưng phù bàn chân mỗi ngày trong suốt quá trình thử nghiệm.

Kết quả - Thảo luận: Nghiên cứu xác định liều tối đa có thể qua kim (D_{max}) không làm chết chuột thử nghiệm, không gây độc tính cấp đường uống trên chuột là 11,8g/kg. Ngoài ra, nghiên cứu cũng cho thấy cao nước Nở ngày đất thể hiện tác động kháng viêm ở liều 300mg/kg và 600mg/kg.

Kết luận: Nở ngày đất không gây độc ở liều khảo sát và có tác động kháng viêm. Đây là cây thuốc có tiềm năng cao để điều trị các bệnh về viêm và cần được phân lập các nhóm chất có hoạt tính sinh học hoặc nghiên cứu thêm về các tác dụng dược lý khác.

Nhận 09.09.2018

Được duyệt 21.11.2018

Công bố 25.12.2018

Từ khóa

Nở ngày đất,
Gomphrena celosoides,
độc tính cấp,
kháng viêm,
carrageenan,
phù chân chuột.

© 2018 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Trong những năm gần đây, thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đang trở thành đề tài nghiên cứu hàng đầu vì các dược liệu này không những hiệu quả mà còn hạn chế được các tác dụng phụ khi sử dụng lâu dài. Nở ngày đất tên khoa học là *Gomphrena celosoides*, thuộc họ rau dền, có nguồn gốc từ Nam Mỹ đã được du nhập, phân bố và phát triển mạnh ở Việt Nam. Cây mọc rải rác ven đường hoặc vùng đất khô. Là dạng cỏ sống lâu, mọc năm rồi đứng, phân nhánh nhiều; rễ to. Ở nước ngoài, vài năm trở lại đây đã có nhiều nghiên cứu về các thành phần hóa học[1], khả năng kháng khuẩn[2], điều trị loét dạ dày[3], tác dụng hạ glucose huyết và giảm acid uric huyết[4]... Tuy nhiên, các nghiên cứu về độc tính và tác dụng dược lý của loài cây này ở Việt Nam vẫn còn khá hạn chế. Do đó, với mục tiêu làm sáng tỏ thêm về độc tính và các tác dụng dược lý chưa được tìm hiểu đầy đủ của cây Nở ngày đất, nghiên cứu đã khảo sát độc tính

cấp và đánh giá tác động kháng viêm của dịch chiết nước và dịch chiết cồn toàn cây trên các mô hình thực nghiệm.

2 Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên vật liệu

2.1.1 Dược liệu

Toàn cây Nở ngày đất được thu hái tại huyện Châu Đức, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu. Cây sau khi rửa sạch được đem đi phơi trong 3 ngày đến khi khô hoàn toàn. Sau đó đem cây khô đi xay nhỏ thành bột.

2.1.2 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 khoảng từ 20 – 28 gam.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chiết xuất dược liệu

Cân 150g bột Nở ngày đất đã xay nhỏ vào bình nón có nút mài. Đun hồi lưu bột Nở ngày đất với 1.500ml nước cất bằng bếp cách thủy trong 90 phút. Sau đó lọc nóng dịch chiết qua bông, lọc 2 lần. Dịch chiết được cô lại thành cao đặc bằng bếp cách thủy ở nhiệt độ 70°C. Sau khi cô, cao đặc thu được có khối lượng là 36,58g, tương ứng với hiệu suất chiết là 24,39%.

2.2.2 Khảo sát độc tính cấp đường uống

Chia chuột ngẫu nhiên vào 02 lô, mỗi lô 06 con (gồm 03 con đực và 03 con cái): lô 1 chuột được uống nước cất, lô 2 chuột uống cao nước Nở ngày đất. Trước khi tiến hành thử nghiệm, chuột thử nghiệm được nhịn đói 12 giờ trước khi cho uống cao được liều liều tối đa có thể qua đường uống (nồng độ đặc nhất có thể qua kim uống đầu dò, thể tích cho uống 0,2ml/10g trọng lượng chuột).

Theo dõi và ghi nhận cử động tổng quát, biểu hiện hành vi, số lượng chuột chết trong 72 giờ và tiếp tục theo dõi đến đủ 14 ngày. Mô và quan sát đại thể của những con chết và những con còn sống sau 14 ngày quan sát.

2.2.3 Khảo sát tác động kháng viêm in vivo

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 [5] 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 sinh lí. Đo thể tích chân chuột sau khi gây viêm 3 giờ.

Những con chuột có thể tích chân sưng phù nằm trong khoảng 50 - 100% so với bình thường được đưa vào thử nghiệm và chia ngẫu nhiên vào 04 lô: lô 1 chuột được cho uống nước cất, lô 2 chuột uống thuốc đối chứng diclofenac liều 5mg/kg, lô 3 uống cao nước Nở ngày đất liều 300mg/kg, lô 4 uống cao nước Nở ngày đất liều 600mg/kg. Chuột được cho uống với thể tích là 0,1ml/10g thể trọng chuột và được cho uống 1 lần/ ngày từ lúc sau khi gây viêm và đến 6 ngày tiếp theo. Theo dõi và đo thể tích chân chuột mỗi ngày vào một giờ nhất định.

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

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

Trong đó:

X%: Độ phù chân chuột.

V_0 : Thể tích bàn chân chuột đo được trước khi tiêm carrageenan.

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

2.2.4 Phân tích thống kê kết quả

Các số liệu về tác dụng kháng viêm được trình bày ở dạng số trung bình \pm SEM (standard error of mean – sai số chuẩn của số trung bình). Sự khác biệt giữa các lô thử, lô đối chứng so với lô chứng được kiểm tra, phân tích bằng phép kiểm Mann - Whitney với phần mềm Minitab 17.0, $p < 0,05$ được cho là khác biệt có ý nghĩa thống kê.

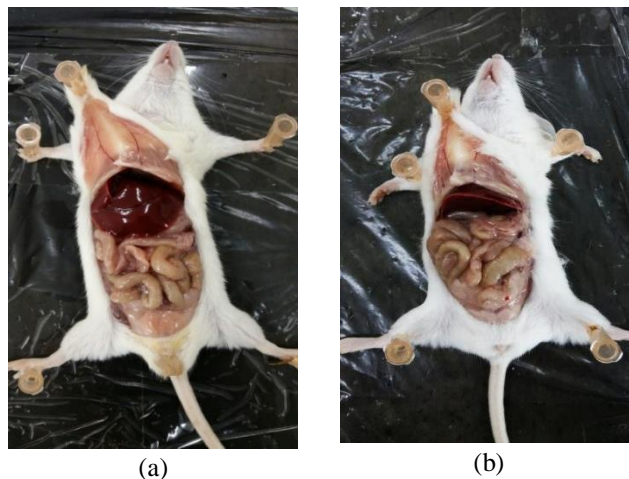
3 Kết quả và bàn luận

3.1 Kết quả độc tính cấp đường uống

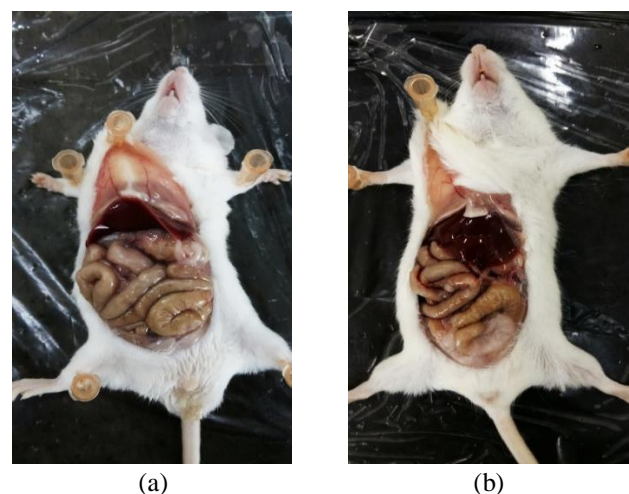
Đối với cao nước Nở ngày đất, nồng độ cao đặc nhất có thể qua kim cho uống là 11,8g/kg.

Quan sát thấy sau 24 giờ đầu, toàn bộ chuột không có dấu hiệu bất thường, vẫn ăn uống bình thường. Tiếp tục quan sát tiếp 48 giờ và 72 giờ kế, số lượng chuột cho uống cao vẫn bảo toàn, không có triệu chứng lạ nào xảy ra. Sau 14 ngày toàn bộ chuột vẫn sống khỏe mạnh và bình thường.

Chuột được giải phẫu để quan sát các cơ quan trong cơ thể. Kết quả cho thấy không có thay đổi nào về đại thể tim, phổi, gan, thận, hệ tiêu hóa.



Hình 1 Đại thể (a) chuột đực và (b) chuột cái bình thường sau 14 ngày.



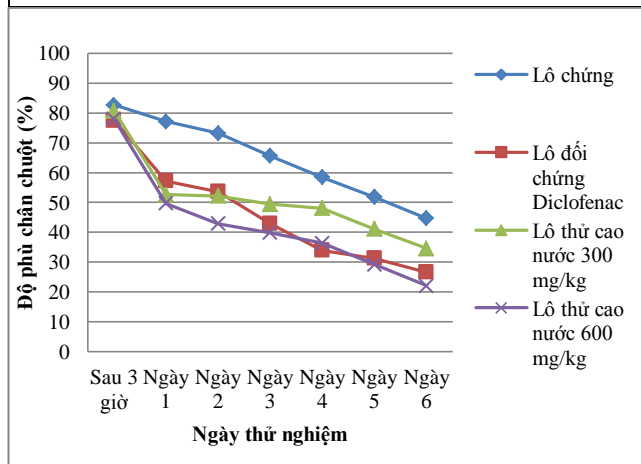
Hình 2 Đại thể (a) chuột đực và (b) chuột cái sau 14 ngày thử độc tính cấp đường uống đối với cao nước Nở ngày đất.

3.2 Kết quả kháng viêm trong mô hình thực nghiệm
 Kết quả thử nghiệm về sự thay đổi độ phù bàn chân chuột theo thời gian giữa các lô được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1 Sự thay đổi độ phù bàn chân chuột ở lô thử nghiệm cao nước Nở ngày đất liều 300mg/kg và liều 600mg/kg.

Lô	Sau 3 giờ	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6
Lô chứng	82,69 ± 1,33	77,15 ± 2,32	73,20 ± 2,02	65,63 ± 2,25	58,45 ± 1,50	51,83 ± 2,21	44,66 ± 1,11
Lô đối chứng	77,47 ± 2,05	57,23 ± 3,78*	53,58 ± 5,01*	42,86 ± 4,52*	33,96 ± 4,43*	31,26 ± 4,28*	26,57 ± 3,96*
Lô thử nghiệm (300mg/kg)	80,72 ± 2,20	52,63 ± 2,21*	52,21 ± 2,56*	49,41 ± 1,86*	48,03 ± 2,16*	41,12 ± 2,06*	34,59 ± 2,25*
Lô thử nghiệm (600mg/kg)	77,93 ± 2,18	49,67 ± 2,04*	42,85 ± 4,27*	39,82 ± 1,79*	36,36 ± 2,25*	29,21 ± 2,19*	21,99 ± 2,29*

Kí hiệu * tương ứng với giá trị $p < 0,05$: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm.



Hình 3 Độ phù bàn chân chuột ở lô thử nghiệm cao nước Nở ngày đất liều 300mg/kg, liều 600mg/kg so với lô chứng và lô đối chứng.

So với lô bệnh lí, lô uống cao nước liều 300mg/kg và liều 600mg/kg đều là giảm độ sưng phù bàn chân chuột có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) trong suốt cả quá trình thử nghiệm.

3.3 Bàn luận

Nghiên cứu khảo sát được liều tối uống đa có thể qua kim (D_{max}) không làm chết chuột thử nghiệm, không gây độc tính cấp đường uống trên chuột nhất trắng là 11,8g/kg đối với cao nước Nở ngày đất.

Sau khi khảo sát độc tính cấp đường uống của cao Nở ngày đất, đề tài tiến hành khảo sát tác động kháng viêm của cao nước Nở ngày đất ở 2 liều 300mg/kg và 600mg/kg.

Kết quả cho thấy thuốc đối chứng diclofenac, cao nước Nở ngày đất làm giảm đáng kể mức độ phù chân chuột có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô bệnh lí chỉ uống nước cất trong suốt quá trình thử nghiệm.

Mức độ giảm độ sưng phù bàn chân chuột của cao nước Nở ngày đất ở hai liều 300mg/kg và 600mg/kg tuy có khác biệt với lô thuốc đối chứng diclofenac liều 5mg/kg nhưng sự khác biệt này lại không có ý nghĩa thống kê. Như vậy cao nước Nở ngày đất tác động kháng viêm tương đương thuốc đối chứng diclofenac 5mg/kg.

Khi so sánh tác động kháng viêm giữa 2 mức liều của cao nước Nở ngày đất, không có sự khác biệt về mức độ làm giảm độ sưng phù chân chuột ở ngày thứ nhất và ngày thứ hai sau khi gây viêm. Tuy nhiên, từ ngày thứ ba đến ngày thứ sáu, liều 600mg/kg thể hiện tác động kháng viêm mạnh hơn và có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với liều 300mg/kg.

4 Kết luận

Tóm lại, nghiên cứu khảo sát được liều tối đa có thể cho uống qua kim (D_{max}) không làm chết chuột, không gây độc tính cấp đường uống trên chuột nhất là 11,8 g/kg đối với cao nước Nở ngày đất. Ngoài ra, cao nước Nở ngày đất đều thể hiện tác động kháng viêm ở cả 2 liều khảo sát và liều 600 mg/kg có tác động mạnh hơn liều 300 mg/kg. Khả năng ức chế viêm của cao nước không khác biệt với thuốc đối chứng diclofenac. Điều đó cho thấy, Nở ngày đất là dược liệu rất có tiềm năng dùng để điều trị các bệnh về viêm.

Tài liệu tham khảo

1. Dosumu, O.O., Onocha, P., Ekundayo, O., Ali, M. (2014), "Isolation of Aurantiamides from *Gomphrena celosioides* Mart." Iran. J. Pharm. Res. IJPR 13, 143.
2. Dosumu, O.O., Ekundayo, O., Idowu, P.A., Onocha, P.A. (2011), "Isolation of 3-(4-hydroxyphenyl) methylpropenoate and bioactivity evaluation of *Gomphrena celosioides* extracts", EXCLI J. 2010 Dec 6;9:173-180.
3. Oluwabunmi IJ, Abiola T. (2015), "Gastroprotective effect of methanolic extract of *Gomphrena celosioides* on indomethacin induced gastric ulcer in Wistar albino rats", International Journal of Applied and Basic Medical Research, Jan-Apr 2015, Vol 5, Issue 1, 41 – 45.
4. Đỗ Duy Cường, Nguyễn Hoàng Minh, Nguyễn Thị Thu Hương, "Tác dụng hạ glucose huyết và giảm acid uric huyết của các cao chiết từ cây Nở ngày đất", Tạp chí Dược liệu số 1+2, 93 – 99.
5. Winter CA, EA Risley, GW Nuss (1962), "Carrageenin - induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti - inflammatory drugs", Proc Soc Exp Biol Med., 111: 544 - 547.

Determination of acute toxicity and anti – inflammatory activity of *Gomphrena celosioides* Amaranthaceae extract

Le Thi Kim Anh*, Tran Ngoc Tin, Truong My Linh, Nguyen Thi Truc Linh, Nguyen Hoang My An, Hoang Thi Phuong Lien, Vo Thi Thu Ha

Pharmacy Faculty of Nguyen Tat Thanh University

*vttha@ntt.edu.vn

Abstract

Introduction: In Viet Nam, the study of No ngay dat (*Gomphrena celosioides* Mart.) is still limited. Therefore, this study was conducted for the purpose of determining acute toxicity and evaluating the anti – inflammatory effects of *Gomphrena celosioides* aqueous extract.

Materials and Methods: To determine acute toxicity, the study enrolled mice for oral dosing at the maximum possible oral dose and recorded live or death of mice in the next 72 hours. A carrageenan – induced paw edema assay was performed to evaluate the anti-inflammatory effects of *Gomphrena celosioides*. After inflammation, the mice were given a therapeutic dose and monitored the paw volume every day during the test.

Results and Discussion: The results showed that aqueous extract at 11,8g/kg (D_{max}) did not kill the test mice and not have acute oral toxicity. Besides that, aqueous extract also has anti-inflammatory effect at 300mg/kg and 600mg/kg.

Conclusion: *Gomphrena celosioides* is not toxic at the tested dose and shows significant anti – inflammatory activity. This is a highly potential medicinal plant for the treatment of inflammatory diseases and should be isolated some bioactivity compounds or investigates the others pharmacological effects.

Keywords No ngay dat, *Gomphrena celosioides*, acute toxicity, anti – inflammatory, carrageenan.