

Khảo sát tác động kháng viêm của một số hợp chất flavonoid phân lập từ cây ngải cứu (*artemisia vulgaris* asteraceae) trên chuột nhắt trắng

Võ Thị Thu Hà

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành
vocaoha3685@yahoo.com.vn

Tóm tắt

Ngải cứu là một dược liệu rất triển vọng trong việc giảm các triệu chứng viêm. Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát tác động kháng viêm của một số hợp chất flavonoid phân lập từ cây ngải cứu (*Artemisia vulgaris* – Asteraceae): NC1(5,7-Dihydroxy-6,3',4'-trimethoxy flavon), NC2 (5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxy flavon) thuộc nhóm flavonoid nhằm góp phần tạo nguồn nguyên liệu mới từ tự nhiên có tác động trị liệu tốt và ít tác dụng phụ. *Đối tượng*: NC1 và NC2 được chiết xuất từ cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* – Asteraceae). *Phương pháp*: Tác động kháng viêm được khảo sát theo mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan 1%. Thử nghiệm trên chuột được đo trước khi gây viêm, ba giờ sau khi gây viêm xác định lại độ phù. Lô chứng uống nước cất, lô thử nghiệm uống NC1, NC2 và lô đối chứng uống diclofenac 5mg/kg, theo dõi độ phù trong 6 ngày thử nghiệm. Hai chất khảo sát đều chứng tỏ có tác động kháng viêm. Hiệu quả kháng viêm của hợp chất NC2 thể hiện tác động nhanh hơn, mạnh hơn và tương đối ổn định hơn NC1. Tác động kháng viêm của NC2 bằng 117% so với diclofenac 5mg/kg. Đề tài đã khảo sát được hiệu quả kháng viêm của hai hợp chất NC1 và NC2 phân lập từ cây ngải cứu (*Artemisia vulgaris* – Asteraceae), đặc biệt cho thấy NC2 là một chất có nhiều tiềm năng để có thể nghiên cứu và phát triển thành một hợp chất kháng viêm hiệu quả trong tương lai.

Nhận 15.12.2017
Được duyệt 26.01.2018
Công bố 01.02.2018

Từ khóa

Ngải cứu, kháng viêm, carrageenan, phù chân chuột

© 2018 Journal of Science and Technology - NTTU

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đang trở thành đề tài nghiên cứu hàng đầu vì các thuốc này không những an toàn mà còn có tác dụng cộng hưởng của nhiều hoạt chất sinh học trong thành phần của cây thuốc. Việt Nam ta được thiên nhiên ưu ái ban tặng một thảm thực vật phong phú đa dạng bao gồm nhiều loại cây thuốc quý, trong đó Ngải cứu cũng là một vị thuốc quen thuộc được ứng dụng rất lâu đời trong cuộc sống của người dân. Nghiên cứu từ các tài liệu nước ngoài cho thấy lá Ngải cứu có chứa một số hợp chất có hoạt tính sinh học cao. Các chất này có khả năng kháng virus sốt vàng da [5], vi khuẩn *Streptococcus mutans*[3], giảm đau ngoại biên [7], chống sinh đột biến [4]... Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã phân lập được trong lá ngải cứu có hơn hai mươi flavonoid. Các chất này là những flavonoid có hoạt tính mạnh, có tác dụng kháng viêm, làm giảm sự tăng sinh các tế bào gây chết[3]. Chúng có tác dụng

hiệp đồng với các thuốc trị ung thư như tiazofurin trên các tế bào ung thư biểu mô buồng trứng của người. Có thể dùng liều tiazofurin thấp hơn trong liệu pháp kết hợp, do đó làm giảm tác dụng không mong muốn. Các flavonoid này cũng làm tăng tác dụng của thuốc trị ung thư carboxytriazol trên tế bào ung thư biểu mô ở vú và làm tăng hoạt tính chống tăng sinh các tế bào gây hại của thuốc busulfan[3],... Do đó, với mục tiêu tìm kiếm các hợp chất mới trong tự nhiên có hoạt tính sinh học cao và góp phần làm sáng tỏ thêm những tác động dược lý chưa được tìm hiểu đầy đủ trên cây Ngải cứu, trong đó có tác động kháng viêm, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu khảo sát tác động kháng viêm của một số hợp chất thiên nhiên tinh khiết phân lập từ cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* – Asteraceae).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1 Thử vật thử nghiệm



Chuột nhắt trắng, đực, trưởng thành, chủng *Swiss albino*, nặng từ 25-30 g, khoẻ mạnh, không dị tật do Viện vắc xin và sinh phẩm y tế Nha Trang cung cấp.

Chuột được chia nuôi trong các hộp nhựa trắng 6-8 con, cho quen với môi trường ít nhất 2 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm.

2.2 Chất thử nghiệm

Các hợp chất thiên nhiên được phân lập từ cây Ngải Cứu (*Artemisia vulgaris* - Arteraceae) do Khoa Hóa – Đại học Quốc gia Tp Hồ Chí Minh cung cấp. Các chất thử nghiệm bao gồm:

NC1 (5,7-Dihydroxy-6,3',4'-trimethoxy flavon)

NC2 (5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxy flavon)

Các chất thử nghiệm được bào chế dưới dạng hỗn dịch uống ở liều 2,5 mg/kg và 5 mg/kg.

Công thức điều chế hỗn dịch uống:

Chất khảo sát 5 mg hoặc 10 mg

NaCMC 2%

Tween 80 0,2%

Nước cất vừa đủ 100%

2.3 Khảo sát tác dụng kháng viêm

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 các lô:

Lô chứng: uống nước cất (0,1ml/10g)

Lô tá dược: uống tá dược (0,1 ml/10g)

Lô đối chứng: uống diclofenac 5 mg/kg (0,1 ml/10g)

Lô thử nghiệm: uống chất khảo sát liều 2,5 mg/kg hoặc 5 mg/kg (0,1 ml/10g)

Các bocal đựng chuột đều có vi lưới đỡ cách ly nhằm hạn chế gây ra những tổn thương, nhiễm trùng khi chân chuột tiếp xúc với trấu lót ở đáy bocal. Theo dõi thể tích chân chuột mỗi ngày vào một giờ nhất định trong 6 ngày tiếp theo.

Tác dụng ức chế phù được biểu thị bằng % giảm mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô dùng chất nghiên cứu so với mức độ tăng của lô chứng và tính theo công thức:

$$Y\% = (M_c - M_t) / V_c \times 100$$

Trong đó: Y% - tỉ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột, M_c - tỉ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô đối chứng, M_t - tỉ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng chất nghiên cứu.

2.4 Phân tích thống kê

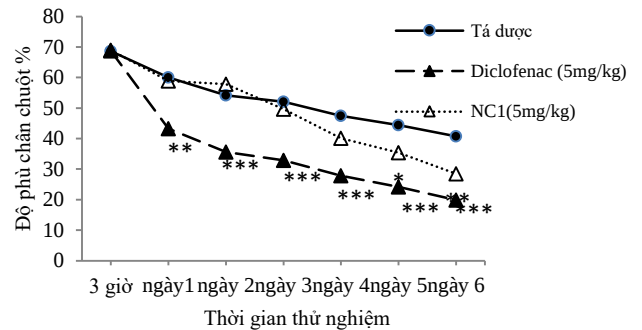
Các số liệu được trình bày ở dạng số trung bình $\pm$ SEM (standard error of mean – sai số chuẩn của số trung bình). Sự khác biệt giữa các lô được phân tích bằng phép kiểm Kruskal – Wallis và sau đó là Mann - Whitney với phần mềm Minitab 15.0, $P < 0,05$ được cho là có ý nghĩa thống kê.

Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm SigmaPlot 12.0

-Về cường độ tác động:

3. Kết quả và thảo luận

Sau khi tiến hành nghiên cứu hai hợp chất tinh khiết là NC1 (5,7-Dihydroxy-6,3',4'-trimethoxy flavon) và NC2 (5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxy flavon) được phân lập từ cây Ngải cứu, các kết quả thu được như sau:

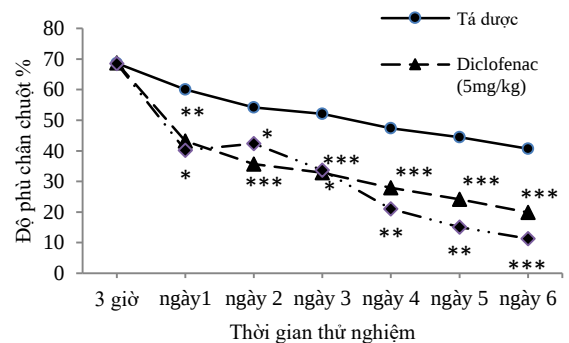


Hình 1 Độ sưng phù chân chuột ở các lô tá dược, diclofenac (5 mg/kg) và NC1 (5 mg/kg)

3.1 Khảo sát tác động kháng viêm của NC1 (5,7-Dihydroxy-6,3',4'-trimethoxy flavon)

NC1 (5 mg/kg) thể hiện tác động kháng viêm chậm và yếu. Tác động kháng viêm chỉ xuất hiện vào ngày 5,6 của quá trình thử nghiệm, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô tá dược.

3.2 Khảo sát tác động kháng viêm của NC2 (5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxy flavon)



Hình 2 Độ sưng phù chân chuột ở các lô tá dược, diclofenac (5 mg/kg) và NC2 (5 mg/kg)

NC2 (5 mg/kg) thể hiện tác động kháng viêm từ ngày 1 đến ngày 6 của quá trình thử nghiệm, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô tá dược.

3.3 So sánh tác động kháng viêm của NC1 và NC2 ở 2 liều: 2,5 mg/kg và 5mg/kg

-Về thời gian tác động:

Bảng 1. Thời gian tác động kháng viêm của chất NC1

	liều 2,5 mg/kg và 5 mg/kg	
	Liều 2,5 mg/kg	Liều 5 mg/kg
Số ngày tác động (ngày)	3	2

Không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa hai liều 2,5 mg/kg và 5 mg/kg của NC1 trong suốt quá trình thử nghiệm.

So sánh tác động kháng viêm của NC2 ở 2 liều: 2,5 mg/kg và 5 mg/kg.

-Về thời gian tác động:

Bảng 2. Thời gian tác động kháng viêm của chất NC2

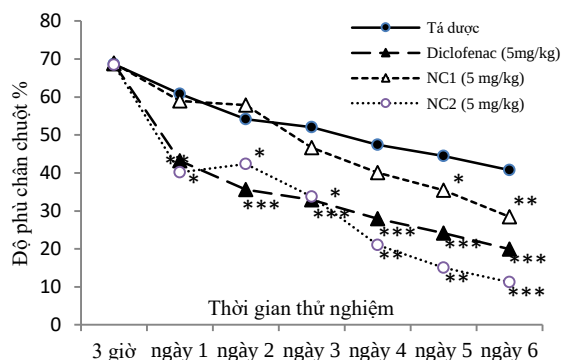
liều 2,5 mg/kg và 5 mg/kg		
	Liều 2,5 mg/kg	Liều 5 mg/kg
Số ngày tác động (ngày)	5	6

-Về cường độ tác động:

Phép kiểm thống kê cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa hai liều 2,5 mg/kg và 5 mg/kg của NC2 trong suốt quá trình thử nghiệm.

Tóm lại, với 2 chất NC1 và NC2 được chọn khảo sát ở hai liều 2,5 mg/kg và 5 mg/kg đường uống, sự thay đổi liều không làm thay đổi đáng kể tác động kháng viêm và khi sử dụng ở liều thấp (2,5 mg/kg), đối với NC1 tác động kháng viêm xuất hiện sớm hơn 1 ngày so với khi sử dụng ở liều cao (5 mg/kg). Còn đối với NC2 khi sử dụng ở liều thấp (2,5 mg/kg) tác động kháng viêm xuất hiện chậm hơn 1 ngày so với khi sử dụng ở liều cao (5 mg/kg).

3.4 So sánh tác động kháng viêm của hai chất NC1 và NC2



Hình 3. Độ sưng phù chân chuột ở các lô NC1 (5 mg/kg), NC2 (5 mg/kg)

-Về thời gian tác động:

Bảng 3. Thời gian tác động kháng viêm của NC1, NC2

(liều 5 mg/kg)		
Hợp chất	NC1 (5 mg/kg)	NC2 (5 mg/kg)
Số ngày tác động (ngày)	2	6

-Về cường độ tác động:

Trong nhóm hợp chất flavonoid được khảo sát ở liều 5 mg/kg, NC2 cho tác động kháng viêm nhanh, mạnh và kéo dài đến hết quá trình thử nghiệm. Cường độ ức chế viêm: NC2 > NC1

NC2 và NC1 có cấu trúc tương tự nhau, vòng B có hai nhóm thế methoxy (-OCH₃) ở vị trí ortho. Sự xuất hiện thêm một nhóm hydroxyl (-OH) ở vị trí 3' trên vòng C đối với hợp chất NC2 làm gia tăng đáng kể tác động kháng viêm so với NC1 cả về thời gian tác động và cường độ tác động.

4. Kết luận

Hai hợp chất được phân lập từ cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* – Asteraceae), được chọn để tiến hành khảo sát đều thể hiện tác động kháng viêm.

- Nhìn chung hai hợp chất khảo sát thuộc nhóm flavonoid có tác động kháng viêm tương đối mạnh.

- NC2 thể hiện tác động kháng viêm sớm, nhanh, mạnh và duy trì ổn định trong suốt quá trình thử nghiệm, còn hợp chất NC1 thể hiện tác động kháng viêm chậm và yếu hơn.

- Tác động kháng viêm của NC2 (5 mg/kg) tương đối mạnh hơn tác động kháng viêm của diclofenac (5 mg/kg), khả năng ức chế viêm của NC2 bằng 117% khả năng ức chế của diclofenac.

- Giữa NC1 và NC2, sự gia tăng số lượng nhóm hydroxyl (-OH) làm gia tăng đáng kể tác động kháng viêm.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội, 2004, tr. 36-37.
2. Gilani AH, Yaeesh S, Jamal Q, Ghayur MN, "Hepatoprotective activity of aqueous – methanol extract of *Artemisia vulgaris*", *Phytother Res*, 2 (2005) 170.
3. Hiramatsu N. , "Antimutagenicity of Japanese traditional herbs, gennoshoko, yomogi, senburi and iwa-tobacco", *Biofactors*, 1 (2004) 123.
4. Khan AU, Gilani AH, "Antispasmodic and bronchodilator activities of *Artemisia vulgaris* are mediated through dual blockade of muscarinic receptors and calcium influx", *J Ethnopharmacol*, 126(3) (2009) 480.
5. Merfort I, "Perspectives on sesquiterpenelactones in inflammation and cancer", *Curr Drug Targets*, 11 (2011) 1560.
6. Natividad GM, Broadley KJ, Kariuki B, Kidd EJ, Ford WR, Simons C "Actions of *Artemisia vulgaris* extracts and isolated sesquiterpene lactones against receptors mediating contraction of guinea pig ileum and trachea", *J Ethnopharmacol*, 1(2011) 806.
7. Pol-Fachin L, Verli H "Structural glycobioogy of the major allergen of *Artemisia vulgaris* pollen, Art v1: O-Glycosylation influence on the protein dynamics and allergenicity", *Glycobiology* 6 (2012) 817.

Study on anti-inflammatory effects of some flavonoids isolated from wormwood (*artemisia vulgaris* – asteraceae) in mice

Vo Thi Thu Ha

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

Abstract Wormwood is a promising herb to alleviate symptoms of inflammatory. In this research, we evaluate the anti-inflammatory effects of some flavonoids isolated from Wormwood: NC1(5,7-Dihydroxy-6,3',4'-trimethoxy flavon), NC2 (5,7,3'-Trihydroxy-6,4',5'-trimethoxy flavon) to contribute to creating new materials from natural sources which have good therapeutic and few side effects. **Materials:** Two pure natural compounds: NC1, NC2 were isolated from Wormwood (*Artemisia vulgaris* – Asteraceae). **Methods:** The anti-inflammatory effects were studied by using carrageenan-induced paw edema model in mice. Paw volume of mice was measured before injecting carrageenan 1%. Three hours after carrageenan injection, measure paw volume again and calculate the edema percentage. Control group was given distil water, while experiment groups were given NC1, NC2 and positive control group received diclofenac 5mg/kg PO. The edema percentage was determined in the next day, and the procedure kept continue in 6 days after inflammation inducing. Two tested compounds have anti – inflammatory. The anti – inflammatory effect of NC2 is faster, stronger and more stable than NC1. The anti – inflammatory effect of NC2 is 117% respectively in comparison with diclofenac 5mg/kg. The research has successfully proved the anti-inflammatory effects of two pure natural compounds isolated from Wormwood (*Artemisia vulgaris* – Asteraceae), especially NC2 is a promising compound for anti – inflammatory drug research and development.

Keywords Wormwood (*Artemisia vulgaris* – Asteraceae), anti – inflammatory, carrageenan, paw edema