

HOẠT TÍNH CHỐNG VIÊM *IN VITRO* VÀ *IN VIVO* CỦA CAO CHIẾT ETHYL ACETATE TỪ VỎ THÂN CÂY NÚC NÁC (*OROXylum indicum*)

Nguyễn Thúc Thu Hương, Hoàng Nam Nhật, Trần Thị Hồng Ngọc
Nguyễn Thị Hồng, Phan Hồng Minh và Mai Phương Thanh✉

Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

Nghiên cứu này đã khảo sát đặc tính kháng viêm của cao chiết ethyl acetate (EtOAc) từ vỏ thân nuc nác (*Oroxylum indicum*). Tác dụng kháng viêm được đánh giá thông qua hiệu quả ức chế sản sinh nitric oxide (NO) ở đại thực bào RAW 264.7 được kích thích bằng lipopolysaccharid và mô hình viêm màng bụng do carrageenan gây ra trên chuột cống. Cao chiết EtOAc cho thấy khả năng làm giảm đáng kể sản xuất NO *in vitro* và thể tích dịch tiết phúc mạc cũng như số lượng bạch cầu trong dịch tiết phúc mạc *in vivo* theo cách phụ thuộc liều. Nhìn chung, kết quả của nghiên cứu này đã chứng minh đặc tính kháng viêm của chiết xuất thử nghiệm trên cả *in vitro* và *in vivo*. Do đó, cao chiết EtOAc từ vỏ thân nuc nác có thể được sử dụng làm nguồn dược phẩm chức năng tiềm năng để phát triển các thực phẩm bổ sung sức khỏe nhằm hỗ trợ kiểm soát tình trạng viêm.

Từ khoá: Núc nác, viêm, RAW 264.7, carrageenan, lipopolysaccharid, chuột cống.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm có thể được coi là một trong những phản ứng của cơ thể đối với tổn thương mô hoặc nhiễm trùng và thường được biểu hiện bằng đỏ, sưng, nóng và đau.¹ Các phản ứng viêm được tạo ra và duy trì thông qua sự tương tác của các chất trung gian gây viêm, chẳng hạn như histamine, kinin, cytokine, eicosanoid, calcitonin gene-related peptide, chất P và yếu tố hoạt hóa tiểu cầu, có nguồn gốc từ bạch cầu và các mô bị tổn thương.² Biểu hiện chính của viêm là sự thâm nhiễm của bạch cầu và hình thành phù nề.³

Thông thường, các tình trạng viêm được kiểm soát bằng thuốc kháng viêm. Các thuốc này có thể có bản chất steroid hoặc không steroid. Các thuốc steroid bao gồm glucocorticoid, chẳng hạn

như prednisone, prednisolone, triamcinolone, methylprednisolone, betamethasone và dexamethasone. Glucocorticoid có thể gây ra các tác dụng phụ như tăng đường huyết, tăng huyết áp, yếu cơ, dễ bị nhiễm trùng, hội chứng Cushing, loét dạ dày và các vấn đề sức khỏe tâm thần.⁴ Các thuốc kháng viêm không steroid (NSAID), chẳng hạn như piroxicam, aspirin, aceclofenac, ibuprofen, diclofenac, naproxen, indomethacin và celecoxib, chủ yếu ức chế sự tổng hợp prostaglandin hoặc cyclooxygenase. Mặc dù có hiệu quả lâm sàng, NSAID cũng được ghi nhận về nguy cơ gây loét dạ dày, tổn thương gan và thận, và các biến cố tim mạch.⁵

Việc sử dụng cây thuốc để phòng ngừa và điều trị/chữa khỏi bệnh tật của con người đã có từ thời cổ đại. Cho đến nay, cây thuốc vẫn có vai trò quan trọng trong việc duy trì sức khỏe con người ở các nước đang phát triển do thiếu cơ sở chăm sóc sức khỏe ban đầu, nghèo đói, nhu cầu về thuốc giá rẻ ngày càng tăng và ít tác

Tác giả liên hệ: Mai Phương Thanh

Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

Email: maiphuongthanh.ump@vnu.edu.vn

Ngày nhận: 25/07/2025

Ngày được chấp nhận: 08/08/2025

dụng phụ liên quan đến thuốc.⁶ Thực vật cung cấp nguồn hợp chất có hoạt tính sinh học với các đặc tính dược lý quan trọng.⁷

Núc nác (*Oroxylum indicum*), một loại cây có kích thước trung bình thuộc họ Chùm ớt (Bignoniaceae), là một loại cây điển hình được tìm thấy ở các nước Nam Á và Đông Nam Á. Theo y học cổ truyền, vỏ thân núc nác được dùng làm thuốc chữa tiêu chảy, kiết lỵ, đau dạ dày, nhiễm trùng đường tiết niệu, tiểu rắt, tiểu ra máu, ho, viêm họng. Ngoài ra, dược liệu này còn được dùng chữa dị ứng và các chứng bệnh ngoài da (mẩn ngứa, mụn nhọt, sởi...) và sử dụng làm thuốc bổ. Mỗi bộ phận của cây dược liệu này đều có thể là nguồn cung cấp một số flavonoid thiết yếu về mặt y học, bao gồm baicalein, chrysin và oroxylin A. Chiết xuất thô và các hợp chất phân lập từ núc nác thể hiện một loạt các hoạt tính sinh học *in vitro* và *in vivo*, bao gồm chống oxy hóa, hạ đường huyết, chống ung thư, bảo vệ gan, kích thích miễn dịch và chống viêm.^{8,9}

Trên thực tế cần phải tiếp tục thực hiện thêm nhiều nghiên cứu để cung cấp đầy đủ hơn các bằng chứng khoa học đáng tin cậy về các công dụng theo y học cổ truyền của thực vật và chiết xuất của chúng. Các nghiên cứu khoa học chủ yếu bao gồm các thí nghiệm *in vitro* và/hoặc *in vivo* để đánh giá hiệu quả điều trị tiềm năng của các loại thảo dược.¹⁰ Với công dụng đáng chú ý đối với tình trạng viêm, chúng tôi đã tiến hành sàng lọc một cách có hệ thống về hiệu quả kháng viêm của nhiều phân đoạn cao chiết khác nhau từ vỏ thân cây của dược liệu núc nác. Nghiên cứu này được thiết kế để khảo sát hoạt tính ức chế viêm của cao chiết phân đoạn ethyl acetat từ vỏ thân cây núc nác trên tế bào đại thực bào RAW 264.7 được cảm ứng bởi lipopolysaccharid (LPS) và trên chuột cống trắng bị gây viêm màng bụng bằng carrageenan.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Cao chiết vỏ thân núc nác

Vỏ thân cây núc nác (*Oroxylum indicum* (L.) Kurz) được thu hái tại tỉnh Hoà Bình vào tháng 02/2025, đã được định danh tại Bộ môn Dược liệu - Dược học cổ truyền, Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội. Sau khi làm khô và nghiền nhỏ, nguyên liệu được chiết bằng ethanol 70%, sau đó phân đoạn bằng dung môi ethyl acetate (EtOAc). Cô đặc cao EtOAc bằng thiết bị bay hơi quay chân không và bảo quản ở nhiệt độ 4 - 8°C. Chế phẩm cao được hoàn nguyên bằng dung dịch CMC 0,5% trước khi sử dụng.

Động vật thực nghiệm

Chuột cống trắng trưởng thành chủng *Wistar*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 180–220g do Học viện Quân Y cung cấp. Động vật được nuôi thích nghi tại Phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội trong điều kiện tiêu chuẩn 12 giờ sáng/tối, ăn và uống nước tự do.

Hóa chất, thiết bị phục vụ nghiên cứu

Tế bào RAW 264.7 (ATCC TIB 71) được cung cấp bởi Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (Hà Nội, Việt Nam).

Các hóa chất chính được sử dụng trong nghiên cứu gồm: lipopolysaccharide (LPS, Sigma); môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco, USA); phosphate buffered saline (PBS, Gibco, USA); huyết thanh phôi bê (Fetal bovine serum-FBS, Gibco, USA); penicillin–streptomycin (PS); dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, USA); kit xác định tỷ lệ tế bào sống (CCK-8, Sdojindo, Japan); kit xác định hàm lượng ROS (CM-H2DCFDA, Invitrogen, USA); kit phân tích NO (kit Griess Reagent (Invitrogen, Mỹ)); đĩa nuôi cấy kích thước 60x15mm, 90x20mm, đĩa 96

giếng thành trong (SPL Life Sciences, Korea), đĩa 96 giếng thành đen đáy kính trong (SPL Life Sciences, Korea), kính hiển vi soi ngược Axiovert (Germany), hệ thống kính Apotome 2; máy đọc đĩa 96 giếng và các thiết bị vật tư tiêu hao khác. Aspirin 200 mg/kg (Bayer) được dùng làm thuốc đối chứng dương. Carrageenan sodium salt (BDH Chemicals, Anh), formaldehyd, dung dịch NaCl 0,9%. Các thiết bị bao gồm cân điện tử Precisa LX2200c (Thụy Sĩ), máy sinh hóa Chem5 V3 (Erba, Đức), máy ly tâm Hettich, máy đếm tế bào ABX Micros ES60 (Horiba Medical, Pháp).

2. Phương pháp

Tác dụng chống viêm cấp in vitro

Nuôi cấy tế bào: Tế bào RAW 264.7 được nuôi trong môi trường DMEM có bổ sung 10% FBS và 1% PS trong điều kiện nhiệt độ 37°C và độ ẩm 5% CO₂. Môi trường nuôi được thay mới sau 2 - 3 ngày. Tế bào được cấy chuyển khi mật độ đạt khoảng 80% bề mặt đĩa nuôi.

Đánh giá khả năng gây độc tế bào: Độc tính tế bào của cao chiết EtOAc trên tế bào RAW 264.7 đã được nghiên cứu để chọn nồng độ không gây độc dẫn đến khả năng sống của tế bào trên 80%.¹¹ Cao chiết phân đoạn EtOAc của núc nác được hòa tan trong DMSO và được pha loãng với DMEM theo các nồng độ khảo sát (0,1; 1;10; 50; 100; 250; 500 và 1000 µg/ml). Để đánh giá tính độc của cao chiết đối với tế bào RAW 264.7, tế bào này được nuôi trong đĩa 96 giếng với mật độ 10.000 tế bào/giếng trong 24 giờ và được ủ với cao chiết thử nghiệm ở dải nồng độ nêu trên trong 24 giờ. Tại cuối thời điểm thí nghiệm, tỷ lệ sống của các mẫu tế bào được phân tích bằng kit Cell Counting Kit-8 (CCK-8, Dojindo, Nhật Bản), độ hấp thụ được đo ở bước sóng 450nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Gây mô hình viêm bằng LPS: Mô hình *in vitro* sử dụng tế bào RAW 264.7 đã được sử

dụng rộng rãi để sàng lọc hoạt tính của các thuốc chống viêm mới.¹³ Tế bào RAW 264.7 được nuôi trên đĩa 96 giếng với mật độ 10000 tế bào/giếng trong 24 giờ. Tiếp đó, mẫu phân tích được chia thành các nhóm như sau:

(1) mẫu đối chứng âm/đối chứng (ĐC): tế bào tiếp tục được nuôi trong điều kiện môi trường nuôi bình thường (DMEM, 10% FBS, 1% PS, 37°C và 5% CO₂) trong 48 giờ;

(2) mẫu thí nghiệm (LPS): tế bào bị gây viêm bằng LPS 500 ng/ml. Trong nhóm LPS, các mẫu phân tích được chia thành: (2-1) mẫu LPS+DMSO 0.1%: tế bào được nuôi trong môi trường có DMSO 0.1% trong 2 giờ và có bổ sung LPS trong 24 giờ tiếp theo; (2-2) mẫu LPS+ cao chiết EtOAc: tế bào RAW 264.7 được nuôi trong môi trường có cao chiết EtOAc (ở các nồng độ khác nhau) trong 2 giờ và bổ sung LPS trong 24 giờ tiếp theo.

Cuối thời điểm thí nghiệm, các mẫu tế bào được dùng để phân tích tỷ lệ sống, hàm lượng NO.

Đánh giá hàm lượng NO: Nồng độ NO trong môi trường nuôi cấy tế bào được đo bằng phương pháp phản ứng Griess sử dụng kit Griess Reagent theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Invitrogen, Mỹ).¹⁴ Tế bào được nuôi trên đĩa 96 giếng với mật độ 10.000 tế bào/giếng. Ngay tại cuối thời điểm thí nghiệm (tế bào được nuôi trong các điều kiện như mô tả nêu trên), 50 µl phần dịch nổi trong mỗi giếng nuôi được chuyển sang giếng mới và dùng để phân tích lượng NO. Tiếp đó, 50µl thuốc thử Griess Reagent được bổ sung vào mỗi giếng và tiếp tục được ủ trong 15 phút. Sau đó, mẫu ủ được đo ở bước sóng có độ hấp thụ 540nm. Hàm lượng NO của mỗi mẫu thí nghiệm được xác định dựa vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO₂ và được so sánh % với mẫu chứng âm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Khả năng ức chế NO được tính dựa theo công thức:

$$\% \text{ ức chế NO} = \left(1 - \frac{\text{Hàm lượng NO LPS + cao chiết}}{\text{Hàm lượng NO LPS + DMSO}} \right) \times 100\%$$

Tác dụng chống viêm cấp *in vivo*

Nghiên cứu được tiến hành dựa trên phương pháp gây viêm màng bụng của Griswold và cộng sự (1987).¹⁵ Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô nghiên cứu như sau:

- Lô 1: Uống nước cất (n = 8).
- Lô 2: Uống aspirin 200 mg/kg (n = 8).
- Lô 3: Uống cao EtOAc núc nác liều 100 mg/kg/ngày (n = 10).
- Lô 4: Uống cao EtOAc núc nác liều 300 mg/kg/ngày (n = 10).

Động vật được uống nước cất hoặc thuốc thử một lần mỗi ngày vào buổi sáng, liên tục trong 5 ngày. Vào ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, tiêm vào khoang phúc mạc của từng chuột dung dịch gây viêm màng bụng (carrageenan

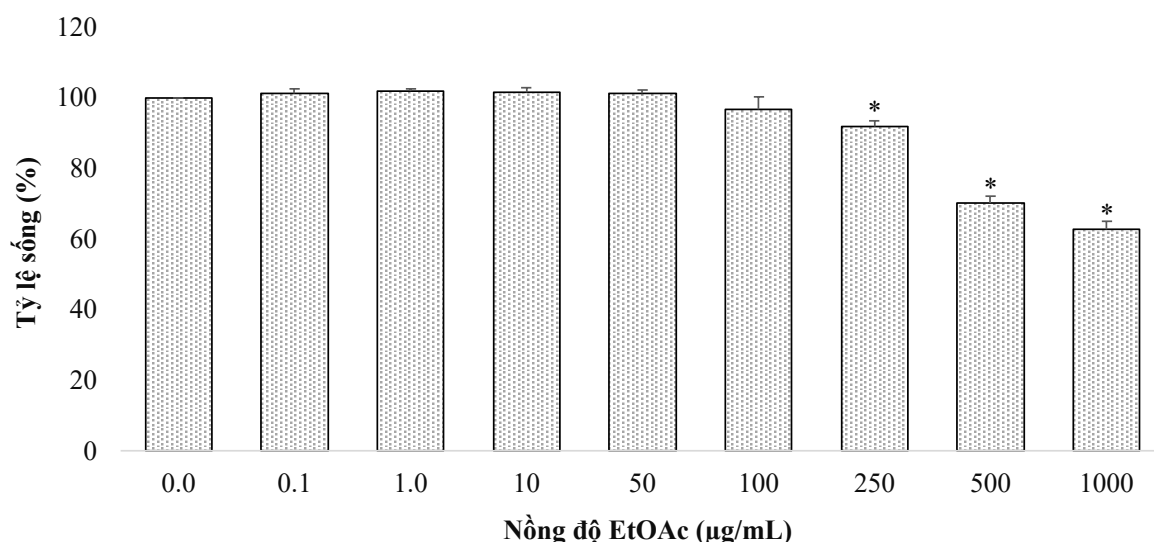
0,05g và formaldehyd 1,4mL, pha vừa đủ trong 100mL dung dịch NaCl 0,9%), tiêm với thể tích tiêm 1 mL/100 g thể trọng chuột. Sau 24 giờ kể từ khi gây viêm, tiến hành mổ chuột, hút dịch rỉ viêm từ ổ bụng để đánh giá các chỉ số bao gồm: thể tích dịch rỉ viêm, số lượng bạch cầu và hàm lượng protein toàn phần trong dịch rỉ viêm.

Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.0, sử dụng test thống kê thích hợp để so sánh sự khác biệt giữa các lô. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Tác dụng ức chế NO của cao chiết *in vitro*



* $p < 0,05$ khác biệt so với nhóm đối chứng (nồng độ EtOAc 0.0 µg/mL) (Student's t-test)

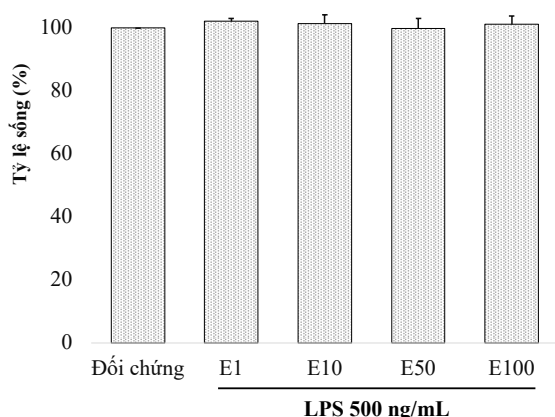
Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của cao chiết EtOAc núc nác lên khả năng sống của tế bào RAW 264.7 trong môi trường nuôi cấy bình thường

Ảnh hưởng của cao chiết EtOAc từ vỏ thân cây núc nác lên khả năng sống của tế bào RAW 264.7 được đánh giá bằng kit CCK-8.

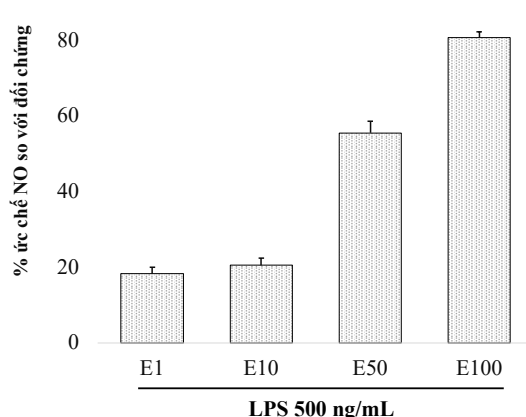
Biểu đồ 1 biểu diễn tỷ lệ sống của tế bào RAW 264.7 khi tiếp xúc với cao chiết EtOAc trong điều kiện nuôi cấy bình thường. Quan sát biểu đồ nhận thấy, cao chiết EtOAc từ vỏ thân cây núc nác ở dải nồng độ khảo sát (0,1 - 100 $\mu\text{g/ml}$) không làm giảm tỷ lệ sống của tế bào RAW 264.7 khi nuôi cấy trong điều kiện bình thường so với nhóm đối chứng, chứng tỏ chiết xuất không gây độc tế bào trong khoảng nồng

độ này. Các mức nồng độ cao hơn (250, 500, và 1000 $\mu\text{g/ml}$) có tỷ lệ sống của tế bào giảm đáng kể so với lô đối chứng ($p < 0,05$). Do đó, dải nồng độ từ 0,1 - 100 $\mu\text{g/ml}$ được lựa chọn là phù hợp cho các thí nghiệm tiếp theo nhằm đánh giá hoạt tính kháng viêm. Kết quả này bước đầu khẳng định tính an toàn của cao chiết EtOAc núc nác trên dòng tế bào thực nghiệm RAW 264.7.

(A) 120

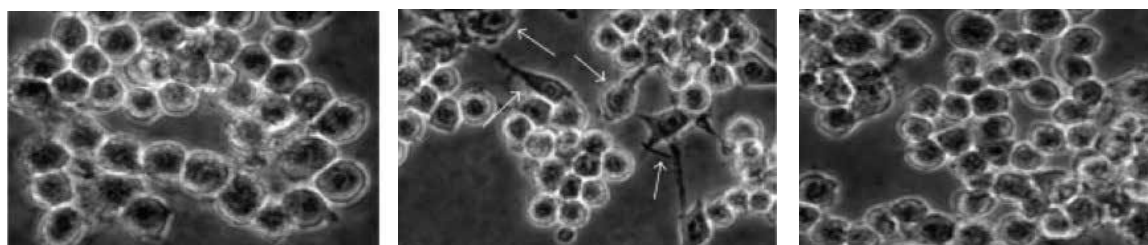


(B) 100



E1, E10, E50, E100: các nồng độ cao chiết EtOAc tương ứng 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/ml}$

Biểu đồ 2. (A) Tỷ lệ sống của tế bào RAW 264.7 và (B) mức độ sản sinh NO của tế bào RAW 264.7 trong môi trường nuôi cấy có cao chiết EtOAc núc nác và LPS



Mẫu đối chứng

Mẫu LPS + DMSO 0.1%

Mẫu LPS + EtOAc 100 $\mu\text{g/ml}$

Hình 1. Mật độ tế bào RAW 264.7 tại thời điểm sau 18 giờ tiếp xúc với LPS (mũi tên trắng biểu thị các tế bào RAW 264.7 bị chết)

Ảnh hưởng của cao chiết EtOAc lên khả năng sống của tế bào RAW 264.7 trong môi trường có LPS tiếp tục được khảo sát ở dải nồng độ 1 - 100 $\mu\text{g/ml}$. Hình ảnh trong Biểu đồ 2A và Hình 1 cho thấy, tỷ lệ sống của tế bào

RAW 264.7 giữa mẫu đối chứng và các nhóm mẫu cao chiết EtOAc không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Cao chiết EtOAc núc nác thể hiện hiệu quả ức chế sự sinh tổng hợp NO theo cách phụ thuộc liều (Biểu đồ 2B).

Ở nồng độ 1 và 10 $\mu\text{g/ml}$, khả năng ức chế NO của cao chiết còn thấp (khoảng 18-20%) và không có sự khác biệt rõ rệt so với mẫu tế bào không phơi nhiễm với cao chiết. Tuy nhiên, từ nồng độ 50 $\mu\text{g/ml}$ trở lên, mức ức chế tăng mạnh, đạt hiệu quả cao nhất tại 100 $\mu\text{g/ml}$ với tỷ lệ ức chế NO xấp xỉ 80%. Kết quả này cho

thấy tiềm năng chống viêm đáng kể của cao chiết EtOAc của vỏ thân cây núc nác thông qua cơ chế ức chế tổng hợp NO trên mô hình viêm tế bào RAW 264.7 được cảm ứng bằng LPS.

2. Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm màng bụng

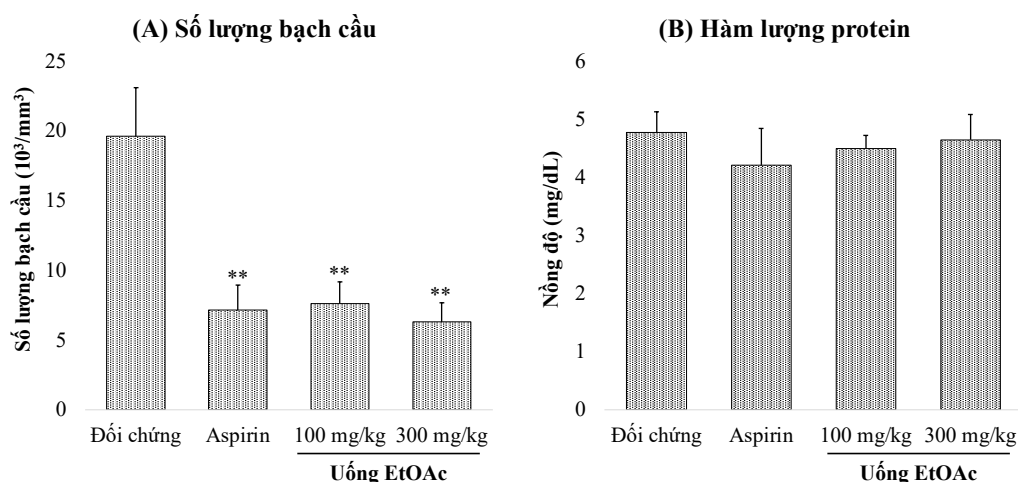
Bảng 1. Ảnh hưởng của cao chiết EtOAc núc nác đến tỷ lệ chuột có dịch rỉ viêm và thể tích dịch rỉ viêm trong ổ bụng

Lô nghiên cứu	Có dịch rỉ viêm	Thể tích dịch rỉ viêm (mL)
Lô 1: Đối chứng	8/8	$2,10 \pm 0,14$
Lô 2: Aspirin 200 mg/kg	6/8	$1,33 \pm 0,08^{**}$
Lô 3: EtOAc 100 mg/kg	7/10	$2,20 \pm 0,33$
Lô 4: EtOAc 300 mg/kg	7/10	$1,76 \pm 0,17^*$

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$ so với lô đối chứng (Student's t-test)

Số liệu Bảng 1 cho thấy, sau khi tiêm màng bụng hỗn hợp carrageenan và formaldehyd, 100% chuột ở lô đối chứng không được điều trị gì đều có dịch rỉ viêm trong ổ bụng. Tỷ lệ chuột có dịch rỉ viêm có xu hướng giảm ở các lô chuột được uống aspirin hoặc cao chiết EtOAc,

tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê. Đo lượng dịch rỉ viêm trong ổ bụng nhận thấy, chuột được uống aspirin 200 mg/kg và cao chiết EtOAc 300 mg/kg có lượng dịch thấp hơn đáng kể so với chuột ở lô đối chứng không được điều trị gì.



** $p < 0,001$ so với lô đối chứng (Student's t-test)

Biểu đồ 3. Ảnh hưởng của cao chiết EtOAc núc nác đến (A) số lượng bạch cầu và (B) hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm

Biểu đồ 3 biểu diễn ảnh hưởng của cao chiết EtOAc núc nác đến số lượng bạch cầu và hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm được hút từ ổ bụng chuột. Quan sát biểu đồ nhận thấy, aspirin và cao chiết EtOAc núc nác (100 và 300 mg/kg) đều làm giảm số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng ($p < 0,001$). Hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm có xu hướng giảm ở các lô chuột được điều trị với aspirin hoặc cao chiết EtOAc, tuy sự khác biệt so với lô đối chứng là chưa rõ rệt ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Viêm có thể được mô tả là phản ứng phức tạp của cơ thể đối với các kích thích có hại như mầm bệnh, chất gây kích ứng hoặc tế bào bị tổn thương. Phản ứng này được kích hoạt để khôi phục lại tình trạng bình thường của mô hoặc cơ thể. Viêm cổ điển được đặc trưng bởi sự gia tăng lưu lượng máu, đỏ ở phần bị ảnh hưởng và phù nề.³ Về mặt sinh lý, viêm dẫn đến tiết ra nhiều cytokine, protein pha cấp tính và tập trung bạch cầu đến vị trí bị tổn thương.¹⁻³ Viêm đã được chỉ ra là nguyên nhân chính gây ra một số bệnh ở người bao gồm các rối loạn thần kinh, tim mạch, đường tiêu hoá, răng và thận. Viêm cũng liên quan đến lão hóa, đái tháo đường, béo phì, viêm cột sống dính khớp, đa xơ cứng, viêm tụy và ung thư.^{16,17} Các chiến lược chống viêm sẽ mang lại lợi ích trong việc làm giảm các rối loạn liên quan đến viêm. Trong nghiên cứu này, hoạt tính chống viêm của cao chiết ethyl acetate (EtOAc) từ vỏ thân cây núc nác được đánh giá trên hai mô hình: thử nghiệm *in vitro* sử dụng tế bào RAW 264.7 cảm ứng LPS và mô hình *in vivo* gây viêm màng bụng bằng hỗn hợp carrageenan và formaldehyd trên chuột cống trắng.

Trong các môi trường nuôi cấy, bao gồm môi trường sinh lý và môi trường có LPS, cao chiết EtOAc núc nác không gây độc lên dòng tế bào

RAW 264.7 ở dải nồng độ từ 0,1-100 µg/ml (Biểu đồ 1, Biểu đồ 2A, và Hình 1). Kết quả này khẳng định độ an toàn sinh học của mẫu thử đối với tế bào. Hoạt tính chống viêm *in vitro* của cao chiết EtOAc được xác định dựa trên mức độ ức chế sản sinh NO trong đại thực bào RAW 264.7 được xử lý bằng LPS. LPS kích hoạt đại thực bào giải phóng cytokine và các chất trung gian gây viêm bao gồm NO, cyclooxygenase-2, TNF- α và IL-6.¹⁸ NO đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa các phản ứng sinh lý, bao gồm cả viêm, và được sử dụng như một dấu ấn sinh học quan trọng cho hoạt tính chống viêm của các hợp chất sinh học.¹⁹ Do đó, khả năng ức chế sản xuất NO trong các tế bào RAW được kích thích bởi LPS của một hợp chất cho thấy tiềm năng chống viêm của nó. Số liệu trong Biểu đồ 2B chỉ ra khả năng ức chế sinh tổng hợp NO phụ thuộc liều của cao chiết EtOAc với hiệu quả cao nhất tại nồng độ 100 µg/ml đạt mức ức chế xấp xỉ 80%. Dịch chiết từ các bộ phận khác của cây núc nác cũng cho thấy khả năng ức chế sản xuất NO từ các tế bào đại thực bào RAW 264.7 và tế bào vi thần kinh đệm BV2 được hoạt hoá bởi LPS.²⁰⁻²² Các thành phần hóa học thu được từ các bộ phận khác nhau của cây núc nác bao gồm chrysin, apegenin, prunetin, sitosterol, oroxindin, biochanin-A, acid ellagic, baicalein, scutellarein, tetuin, antraquinone và aloe-emodin.⁹ Đặc điểm hoá học tương tự nhau của các bộ phận của cây có thể liên quan đến hiệu quả chống viêm đáng chú ý của dịch chiết có nguồn gốc từ nhiều phần khác nhau của núc nác.

Hoạt tính chống viêm *in vivo* của cao chiết EtOAc được đánh giá trên mô hình gây viêm màng bụng chuột cống bằng carrageenan. Khi được tiêm vào khoang màng bụng, carrageenan có khả năng làm tăng tính thấm mao mạch, gây ra sự thâm nhiễm bạch cầu, thoát protein vào mô, hoặc tiết dịch và giải phóng cytokine. Những hiện tượng này đóng vai trò quan trọng trong việc kích hoạt các quá trình viêm.²³ Dựa

trên báo cáo của một số tác giả về mức liều ức chế phản ứng viêm của cao chiết núc nác trên loài gặm nhấm, tác dụng chống viêm *in vivo* của cao chiết EtOAc từ vỏ thân cây núc nác được khảo sát ở hai mức liều 100 và 300 mg/kg.^{24,25} Kết quả cho thấy cả hai liều của cao chiết thử nghiệm đều làm giảm có ý nghĩa thống kê số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm ($p < 0,001$) (Biểu đồ 3A). Đây là chỉ số phản ánh mức độ xâm nhập của bạch cầu viêm vào ổ viêm, cho thấy rõ hiệu lực ức chế phản ứng viêm cấp của cao chiết. Tuy nhiên, chỉ có liều 300 mg/kg cho thấy khả năng làm giảm thể tích dịch rỉ viêm ($p < 0,01$), trong khi liều 100 mg/kg chưa ghi nhận sự thay đổi có ý nghĩa (Bảng 1). Điều này cho thấy tác dụng chống viêm của cao chiết có xu hướng phụ thuộc liều, và mức liều cao hơn có thể cần thiết để đạt được hiệu quả tối ưu trong ức chế phản ứng viêm toàn bộ.

Cơ chế ức chế viêm chính xác của vỏ cây núc nác vẫn chưa được xác định rõ. Tuy nhiên, thành phần flavonoid và các hợp chất phenolic khác có mặt trong núc nác có thể góp phần vào tác dụng chống viêm của dược liệu này. Các dịch chiết khác nhau của vỏ thân cây núc nác đã được phát hiện có tác dụng dọn gốc DPPH, anion superoxide, hydroxyl, nitric oxide và các gốc Fe^{3+} , vốn là những tác nhân chính gây ra phản ứng viêm.²⁶ Ngoài tác dụng dọn gốc tự do, dịch chiết từ vỏ thân cây núc nác cũng có thể làm giảm hoạt hóa các cytokine như NF- κ B, TNF α , IL-1 β và IFN γ . Biochanin-A có trong vỏ thân của cây núc nác đã được chỉ ra là có tác dụng ức chế TNF α .^{9,27} Chrysin được phân lập từ vỏ thân cây núc nác đã thể hiện tác dụng ức chế hoạt hóa phiên mã của NF- κ B và Cox-II.^{9,28} Các flavonoid khác như baicalein, baicalin và oroxylin A có trong vỏ thân cây núc nác cũng đã được chứng minh là có tác dụng ức chế con đường NF- κ B, từ đó làm giảm biểu hiện của các cytokine và enzyme tiền viêm, do đó làm giảm phản ứng viêm.^{9,29,30}

V. KẾT LUẬN

Các phát hiện trong nghiên cứu này cho thấy cao chiết EtOAc từ vỏ thân cây Núc nác thể hiện tác dụng chống viêm rõ rệt, thông qua hiệu quả ức chế sản sinh NO *in vitro*, giảm thể tích dịch rỉ viêm và hạn chế xâm nhập bạch cầu vào ổ viêm *in vivo*. Các kết quả này là tiền đề cho việc tiếp tục nghiên cứu, phân lập hoạt chất và phát triển các chế phẩm chống viêm có nguồn gốc tự nhiên từ núc nác trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Megha KB, Joseph X, Akhil V, Mohanan PV. Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders. *Phytomedicine*. 2021; 91: 153712. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153712.
2. Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*. 2018; 11(5): 627-635. doi: 10.14202/vetworld.2018.627-635.
3. Stone WL, Basit H, Zubair M, et al. Pathology, Inflammation. [Updated 2024 Aug 11]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534820/>.
4. Sinibaldi S. Anti-inflammatory Drugs: Glucocorticoids. In: Esquinas, A.M., Mina, B., Spadaro, S., Perrotta, D., De Sanctis, F. (eds) *Pharmacology in Noninvasive Ventilation. Noninvasive Ventilation. The Essentials*. Springer, Cham. 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-031-44626-9_28.
5. Ghlichloo I, Gerriets V. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/>.

6. Hao DC, Xiao PG. Pharmaceutical resource discovery from traditional medicinal plants: Pharmacophylogeny and pharmacophylogenomics. *Chin Herb Med*. 2020; 12(2): 104-117. doi: 10.1016/j.chmed.2020.03.002.
7. Nasim N, Sandeep IS, Mohanty S. Plant-derived natural products for drug discovery: current approaches and prospects. *Nucleus (Calcutta)*. 2022; 65(3): 399-411. doi: 10.1007/s13237-022-00405-3.
8. Dinda B, SilSarma I, Dinda M, Rudrapaul P. *Oroxylum indicum* (L.) Kurz, an important Asian traditional medicine: from traditional uses to scientific data for its commercial exploitation. *J Ethnopharmacol*. 2015; 161:255-78. doi: 10.1016/j.jep.2014.12.027.
9. Harminder, Singh V, Chaudhary AK. A Review on the Taxonomy, Ethnobotany, Chemistry and Pharmacology of *Oroxylum indicum* Vent. *Indian J Pharm Sci*. 2011; 73(5): 483-90. doi: 10.4103/0250-474X.98981.
10. Süntar I. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochem Rev*. 2020; 19: 1199-1209. doi: 10.1007/s11101-019-09629-9.
11. ISO. Biological evaluation of medical devices, Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. ISO 10993-5. Geneva: ISO; 2009.
12. Möller MN, Rios N, Trujillo M, Radi R, Denicola A, Alvarez B. Detection and quantification of nitric oxide-derived oxidants in biological systems. *J Biol Chem*. 2019; 294(40): 14776-14802. doi: 10.1074/jbc.REV119.006136.
13. Facchin BM, Dos Reis GO, Vieira GN, Mohr ETB, da Rosa JS, et al. Inflammatory biomarkers on an LPS-induced RAW 264.7 cell model: a systematic review and meta-analysis. *Inflamm Res*. 2022; 71(7-8): 741-758. doi: 10.1007/s00011-022-01584-0.
14. Csonka C, Páli T, Bencsik P, Görbe A, Ferdinandy P, Csont T. Measurement of NO in biological samples. *Br J Pharmacol*. 2015; 172(6): 1620-32. doi: 10.1111/bph.12832.
15. Griswold DE, Marshall PJ, Webb EF, Godfrey R, Newton J Jr, et al. SK&F 86002: a structurally novel anti-inflammatory agent that inhibits lipoxygenase- and cyclooxygenase-mediated metabolism of arachidonic acid. *Biochem Pharmacol*. 1987; 36(20): 3463-70. doi: 10.1016/0006-2952(87)90327-3.
16. Pahwa R, Goyal A, Jialal I. Chronic Inflammation. [Updated 2023 Aug 7]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>.
17. Vb Furman D, Campisi J, Verdin E et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*. 2019; 25: 1822–1832. doi: 10.1038/s41591-019-0675-0.
18. Tian Y, Zhou S, Takeda R, Okazaki K, Sekita M, Sakamoto K. Anti-inflammatory activities of amber extract in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. *Biomed Pharmacother*. 2021; 141: 111854. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111854.
19. Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*. 2007; 15(6): 252-259. doi: 10.1007/s10787-007-0013-x.
20. Mairuae N, Cheepsunthor P, Buranrat B. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Oroxylum indicum* Kurz (L.) fruit extract in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2021; 20(4): 833-838. doi: 10.4314/tjpr.v20i4.25.

21. Mairuae N, Buranrat B, Yannasithinon S, Cheepsunthor P. Oroxyllum indicum Kurz (L) leaf extract exerted antioxidant and anti-inflammatory effects on LPS-stimulated BV2 microglial cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2024; 23(9): 1409-1415. doi: 10.4314/tjpr.v23i9.2.
22. Dunkhunthod B, Talabnin C, Murphy M, Thumanu K, Sittisart P, et al. Intracellular ROS Scavenging and Anti-Inflammatory Activities of Oroxyllum indicum Kurz (L.) Extract in LPS plus IFN- γ -Activated RAW264.7 Macrophages. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2020; 2020: 7436920. doi: 10.1155/2020/7436920.
23. Sousa-Neto BP, Cunha FVM, Nunes DB, Gomes BS, Amorim LV, et al. Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of the Indole-Derived N-Salicyloyltryptamine on Peritonitis and Joint Disability Induced by Carrageenan in Rodents. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2022; 2022: 5524107. doi: 10.1155/2022/5524107.
24. Lalrinzuali K, Vabeiryureilai M, Jagetia GC. Investigation of the Anti-Inflammatory and Analgesic Activities of Ethanol Extract of Stem Bark of Sonapatha Oroxyllum indicum In Vivo. *Int J Inflam*. 2016; 2016: 8247014. doi: 10.1155/2016/8247014.
25. Pathak BK, Palandurkar KM, Singh M, Trigunayat A, Singh A, et al. Evaluation of In vivo Analgesic and Anti-inflammatory Activity of Oroxyllum indicum, Baicalein, Chrysin with Phytochemical Analysis and Molecular Docking Study. *Pharmacogn J*. 2023; 15(5): 811-822.
26. Lalrinzuali K, Vabeiryureilai M, Jagetia GC, Lalawmpuii PC. Free radical scavenging and antioxidant potential of different extracts of Oroxyllum indicum in vitro. *Advances in Biomedicine and Pharmacy*. 2015; 2(3): 120-130. doi: 10.19046/abp.v02i03.02.
27. Liu X, Wang T, Liu X, Cai L, Qi J, et al. Biochanin A protects lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury in mice by activating the Nrf2 pathway and inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *Int Immunopharmacol*. 2016; 38: 324-31. doi: 10.1016/j.intimp.2016.06.009.
28. Yao Y, Chen L, Xiao J, Wang C, Jiang W, et al. Chrysin protects against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice through attenuation of oxidative stress and inflammation. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(11): 20913-26. doi: 10.3390/ijms151120913.
29. Hu Z, Guan Y, Hu W, Xu Z, Ishfaq M. An overview of pharmacological activities of baicalin and its aglycone baicalein: New insights into molecular mechanisms and signaling pathways. *Iran J Basic Med Sci*. 2022; 25(1): 14-26. doi: 10.22038/IJBMS.2022.60380.13381.
30. Sajeev A, Hegde M, Girisa S, Devanarayanan TN, Alqahtani MS, et al. Oroxylin A: A Promising Flavonoid for Prevention and Treatment of Chronic Diseases. *Biomolecules*. 2022; 12(9): 1185. doi: 10.3390/biom12091185.

Summary

IN VITRO AND IN VIVO ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES OF ETHYL ACETATE EXTRACT OF STEM BARK OF OROXYLUM INDICUM

This investigation focused on the anti-inflammatory effects of the ethyl acetate extract derived from *Oroxylum indicum* stem bark. The assessment of anti-inflammatory activity was conducted by evaluating nitric oxide (NO) inhibition in RAW 264.7 macrophages that were activated with lipopolysaccharide (LPS) and in an animal model of carrageenan-induced peritonitis. The *O. indicum* extract exhibited a notable decrease in NO production *in vitro*, as well as a reduction in both the volume of peritoneal exudate and the total leukocyte count in the peritoneal exudate *in vivo*, in a dose-dependent manner. In summary, the findings of this study confirmed the anti-inflammatory properties of the tested extract in both *in vitro* and *in vivo* settings. Therefore, the ethyl acetate extract may serve as a promising source of nutraceuticals for the formulation of health food supplements to address inflammation-related issues.

Keywords: *Oroxylum indicum*, inflammatory, RAW 264.7, carrageenan, lipopolysaccharide, rat.