

TÁC DỤNG CHỐNG OXY HÓA VÀ ỨC CHẾ XANTHINE OXIDASE *IN VITRO* CỦA CAO CHIẾT TỪ THÂN DÂY ĐAU XƯƠNG

● Nguyễn Hoàng Minh¹ ● Chương Thị Ngọc Hiếu² ● Nguyễn Thị Thu Hương^{3,*}

¹ Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp.HCM

² Trung tâm Công nghệ Sinh học Tp.HCM

³ Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Việc đánh giá hoạt tính sinh học của dược liệu là một nhiệm vụ cấp thiết và hữu ích để tìm ra các nguồn nguyên liệu hỗ trợ điều trị các bệnh lý. **Mục tiêu:** Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của các cao chiết toàn phần từ thân Dây đau xương [*Tinospora sinensis* (Lour.) Merr.]. **Đối tượng và phương pháp:** Tiến hành đánh giá hoạt tính dập tắt gốc tự do 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào và ức chế xanthine oxidase của các cao chiết nước, cao chiết ethanol 45%, cao chiết ethanol 80% từ thân Dây đau xương (viết tắt: TS-AE, TS-EE45, TS-EE80; tương ứng). **Kết quả:** Kết quả trên hai thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH và ức chế peroxy hóa lipid tế bào cho thấy TS-EE80 ($IC_{50} = 88,32 \mu\text{g/mL}$; $IC_{50} = 68,25 \mu\text{g/mL}$; tương ứng) thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn TS-EE45 ($IC_{50} = 121,63 \mu\text{g/mL}$; $IC_{50} = 100,37 \mu\text{g/mL}$; tương ứng) và TS-AE, tuy nhiên yếu hơn các chứng dương (acid ascorbic với $IC_{50} = 4,18 \mu\text{g/mL}$ và Trolox với $IC_{50} = 37,02 \mu\text{g/mL}$; tương ứng). Đánh giá hoạt tính ức chế xanthine oxidase cũng cho thấy TS-EE80 ($IC_{50} = 15,19 \mu\text{g/mL}$) thể hiện hoạt tính mạnh nhất, theo sau là TS-AE ($IC_{50} = 21,62 \mu\text{g/mL}$) và TS-EE45 ($IC_{50} = 27,80 \mu\text{g/mL}$). Tất cả các cao chiết từ Dây đau xương đều thể hiện hoạt tính ức chế xanthine oxidase yếu hơn chứng dương allopurinol ($IC_{50} = 3,94 \mu\text{g/mL}$). **Kết luận:** Cao chiết ethanol 80% từ thân Dây đau xương được chọn là cao chiết tiềm năng do thể hiện hoạt tính chống oxy hóa và ức chế xanthine oxidase tốt hơn.

Từ khóa: thân Dây đau xương, hoạt tính chống oxy hóa, ức chế xanthine oxidase

ANTIOXIDANT AND XANTHINE OXIDASE INHIBITORY ACTIVITIES OF *TINOSPORA SINENSIS* STEM EXTRACTS

● Nguyen Hoang Minh ● Chuong Thi Ngoc Hieu ● Nguyen Thi Thu Huong

ABSTRACT

Background: Evaluating biological activity of medicinal herbs has been necessary and useful in order to find out the natural sources for adjuvant treatment of various diseases. **Objective:** The aim of the study was to investigate the *in vitro* antioxidant properties of crude extracts from the stems of *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr. **Methods:** The assays of DPPH scavenging activity, lipid peroxidation inhibitory activity and xanthine oxidase inhibitory activity were applied to investigate the effects of aqueous extract, 45% ethanol extract, and 80% ethanol extract (abbreviated: TS-AE, TS-EE45, TS-EE80; respectively) from *T. sinensis* stems. **Results:** The results from DPPH and lipid peroxidation inhibitory assays showed that TS-EE80 ($IC_{50} = 88.32 \mu\text{g/mL}$; $IC_{50} = 68.25 \mu\text{g/mL}$;

* Tác giả liên hệ, PGS. TS. Nguyễn Thị Thu Hương, Email: huongntt1@hiu.vn

(Ngày nhận bài: 22/10/2022; Ngày nhận bản sửa: 08/11/2022; Ngày duyệt đăng: 16/11/2022)

respectively) induced antioxidant activity better than TS-EE45 ($IC_{50} = 121.63 \mu\text{g/mL}$; $IC_{50} = 100.37 \mu\text{g/mL}$; respectively) and TS-AE. However, these activities were weaker than the positive controls (ascorbic acid with $IC_{50} = 4.18 \mu\text{g/mL}$ and Trolox with $IC_{50} = 32.07 \mu\text{g/mL}$). Similarly, TS-EE80 had the strongest xanthine oxidase inhibitory activity ($IC_{50} = 15.19 \mu\text{g/mL}$), followed by TS-AE ($IC_{50} = 21.62 \mu\text{g/mL}$), and TS-EE45 ($IC_{50} = 27.80 \mu\text{g/mL}$). All *T. sinensis* extracts exhibited xanthine oxidase inhibitory activity weaker than the positive control allopurinol ($IC_{50} = 3.94 \mu\text{g/mL}$). Conclusions: The 80% ethanol extract from *T. sinensis* stems may be a potential candidate extract since it showed antioxidant effect and xanthine oxidase inhibitory activity better than other extracts.

Keywords: stems of *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr., Antioxidant activity, xanthine oxidase inhibitory activity

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các gốc tự do chứa oxy (Reactive oxygen species, ROS) được tạo ra bởi quá trình chuyển hóa oxy hóa ty thể và hệ thống cytochrome P450 trong tế bào và từ các nguồn ngoại sinh như bức xạ UV hoặc môi trường ô nhiễm. Tuy nhiên, ROS được tạo ra quá mức sẽ gây ra stress oxy hóa và có thể gây tổn thương cho DNA, protein và lipid; liên quan đến các bệnh lý như ung thư, đái tháo đường, rối loạn tim mạch và lão hóa [1]. Việc tìm kiếm các nguồn hoạt chất chống oxy hóa tự nhiên mới là cần thiết để ngăn ngừa các bệnh lý gây bởi stress oxy hóa.

Dây đau xương [*Tinospora sinensis* (Lour.) Merr.] là dược liệu được sử dụng điều trị các bệnh về xương khớp trong y học cổ truyền. Các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy thân cây Dây đau xương có chứa một số nhóm chất như: steroid, flavonoid, alkaloid, glycoside và một số hợp chất có hoạt tính sinh học đã được phân lập như: magnoflorin, berberin, tinosporicid, menispermacid, palmatin, (+)-malabarolid và tinosinen I, tinosposid A và tinosposid B [2]. Các hợp chất phân lập trong thân Dây đau xương như rhodiolat, tinosporin A, tinosporin B và cycloeucalenol đã được chứng minh có tác dụng ức chế gốc tự do superoxid và elastase *in vitro* [3]. Berberin có trong Dây đau xương được chứng minh có tác dụng kháng viêm theo cơ chế ức chế các yếu tố tiền viêm (IL-1 β , TNF- α), giảm hoạt động của elastase ở khớp và kích hoạt con đường chống oxy hóa Nrf2 [4]. Trong nghiên cứu của Tạ Quang Đăng (2020), viên nang Tam Diệu có chứa thành phần Dây đau xương thể hiện tác dụng giảm acid uric máu ở mô hình bệnh gút mạn thực nghiệm thông qua việc ức chế xanthin oxidase [5]. Dựa trên những tiền đề nghiên cứu, đề tài tiếp tục đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết toàn phần từ Dây đau xương trên các thử nghiệm *in vitro*, nhằm xác định cao chiết tiềm năng có hoạt tính tốt nhất để định hướng tạo ra các chế phẩm từ dược liệu Dây đau xương trong ngăn ngừa hoặc hỗ trợ điều trị các bệnh lý.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu Dây đau xương (thân cây) thu hái tại Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội vào tháng 03/2022, được Bộ môn Tài nguyên Dược liệu - Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh định danh và lưu mẫu (Mã lưu mẫu ký hiệu TBĐT-022022DL). Dây Đau xương sau thu hái được rửa sạch, phơi khô đạt độ ẩm dược liệu $\leq 13.0\%$ (đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V) và được xay thành bột có kích thước qua cỡ mắt rây số 250 (0,25 mm) (theo chuyên luận dược liệu Dây đau xương trang 1138 -1139 Dược điển Việt Nam V). Bột Dây đau xương được chiết sắc hãm với dung môi nước cất và dịch chiết thu được được cô cách thủy cho cao chiết nước (TS-AE) hoặc được chiết ngấm kiệt với dung môi ethanol ở nồng độ 45% hay 80% và được cô giảm áp cho ra cao chiết còn 45% (TS-EE45) và cao chiết còn 80% (TS-EE80). Các cao chiết được chiết

xuất với tỷ lệ 1:20 (bột được liệu:dung môi). Hiệu suất chiết xuất của TS-AE, TS-EE45, TS-EE80 lần lượt là 11.5%, 13.6% và 10.8%. Độ ẩm (mất khối lượng do làm khô) của TS-AE, TS-EE45, TS-EE80 là 14.95%, 16.94%, 15.11% (đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V cho cao đặc là < 20%).

2.2. Hóa chất, thuốc thử nghiệm

Nhà cung cấp Sigma (USA): Xanthine oxidase (XO), xanthine, allopurinol, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), trolox (đồng phân tan trong nước của vitamin E), acid 2-thiobarbituric (TBA). Nhà cung cấp Merck (Germany): Acid trichloroacetic (TCA) và acid ascorbic. Ethanol 96% được dùng (Công ty CP Dược phẩm OPC-Việt Nam). Các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn nghiên cứu.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) là một gốc tự do có bước sóng cực đại hấp thụ tại 515-517 nm và có màu tím. Các chất có khả năng chống oxy hóa sẽ trung hòa gốc DPPH bằng cách cho hydrogen, làm giảm độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và màu của dung dịch phản ứng sẽ nhạt dần, chuyển từ tím sang vàng [6]. Sự giảm màu đó sẽ được xác định bằng cách đo quang ở bước sóng 515-517 nm.

Tiến hành: 0,5 mL mẫu thử ở các nồng độ khảo sát được cho phản ứng với đồng lượng dung dịch DPPH 0,6 mM pha trong MeOH. Hỗn hợp phản ứng được để tránh ánh sáng và ở nhiệt độ phòng 30 phút. Đo quang ở bước sóng 515 nm. Acid ascorbic được sử dụng làm chất đối chiếu. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Công thức tính % hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH (HTCO):

$$\text{HTCO}\% = [(\text{OD}_C - \text{OD}_T) / \text{OD}_C] \times 100$$

Trong đó: OD_C : Mật độ quang của chứng; OD_T : Mật độ quang của mẫu thử.

2.3.2. Thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào

Xác định khả năng ức chế peroxy hóa lipid của mẫu nghiên cứu qua việc xác định hàm lượng malonyl dialdehyd (MDA), là sản phẩm của quá trình peroxy hóa lipid tế bào. MDA có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric để tạo thành phức trimethin màu hồng có đỉnh hấp thụ cực đại ở $\lambda = 532$ nm.

Tiến hành: Thử nghiệm sử dụng cơ chất là dịch đồng thể não chuột (chuột nhắt trắng đực chủng *Swiss albino*, 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng 25 ± 2 gram). 0,1 ml mẫu thử ở các nồng độ thử nghiệm được cho phản ứng với 0,5 ml dịch đồng thể não và thêm đệm phosphat vừa đủ 2 ml. Ủ hỗn hợp phản ứng ở 37°C trong 15 phút và dừng phản ứng bằng 1 ml acid tricloacetic 10%. Sau khi ly tâm lấy dịch trong cho phản ứng với 1 ml acid thiobarbituric 0.8% trong 15 phút ở nhiệt độ 100°C . Làm lạnh và tiến hành đo quang ở bước sóng 532 nm. Trolox, đồng phân của vitamin E được sử dụng làm chất đối chiếu [7]. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Công thức tính % hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid (HTCO):

$$\text{HTCO}\% = [(\text{OD}_C - \text{OD}_T) / \text{OD}_C] \times 100$$

Trong đó: OD_C : Mật độ quang của chứng; OD_T : Mật độ quang của mẫu thử.

2.3.3. Thử nghiệm ức chế xanthine oxidase (XO)

Xanthin oxidase (XO) xúc tác quá trình chuyển hóa xanthin thành acid uric. Nếu có mặt chất ức chế XO thì lượng acid uric sinh ra sẽ giảm. Bằng cách đo mật độ quang của sản phẩm acid uric ở bước sóng 290 nm khi có hoặc không có chất ức chế thì sẽ tính được phần trăm ức chế của mẫu thử. Thử nghiệm được áp dụng để sàng lọc các chất có tác dụng điều trị bệnh gút [8].

Tiến hành dựa trên phương pháp của Noro Tadataka và cộng sự (1983) có điều chỉnh để phù

hợp với điều kiện phòng thí nghiệm [9 - 10]. Hỗn hợp phản ứng gồm: 100 µl dung dịch mẫu thử, 300 µl dung dịch đệm phosphat 50 mM (pH = 7,5), 100 µl dung dịch XO (0,2 U/mL), 100 µL nước cất. Hỗn hợp này được ủ ở 37°C trong 15 phút, sau đó thêm 200 µL xanthin 0,15 mM trong dung dịch đệm rồi ủ tiếp 30 phút. Kết thúc phản ứng bằng cách thêm 200 µL HCl 0,5 M. Hỗn hợp phản ứng được đem đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 295 nm. Mẫu chứng được tiến hành tương tự nhưng dung dịch thử được thay bằng dung dịch đệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Để có cơ sở đánh giá hoạt tính của những mẫu chất khảo sát đối với XO, nghiên cứu sử dụng allopurinol làm đối chứng dương.

Hoạt tính ức chế hoạt động của XO được tính theo công thức: $%I = [(OD_C - OD_T) / OD_C] \times 100$

Trong đó: OD_C : mật độ quang của chứng; OD_T : mật độ quang của mẫu thử.

2.4. Đánh giá kết quả

Kết quả được đánh giá thông qua giá trị IC₅₀ (inhibitory concentration) là nồng độ chất oxy hóa cần để ức chế (trung hòa) 50% gốc tự do DPPH, MDA hoặc XO và được xác định trong trường hợp mẫu thử thể hiện hoạt tính chống oxy hóa > 50% ở nồng độ sàng lọc.

Các số liệu được biểu hiện bằng giá trị trung bình: $M \pm SEM$ (Standard error of the mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình) và được xử lý bởi phần mềm MS excel 2016, thống kê dựa vào phép kiểm One – Way ANOVA (phần mềm SigmaStat 3.5, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH của các cao chiết từ thân Dây đau xương

Kết quả ở bảng 1 cho thấy TS-EE45, TS-EE80 ở nồng độ phản ứng 250 µg/ml thể hiện hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH trên 50%, tốt hơn đạt ý nghĩa thống kê so với TS-AE ($p < 0,001$). Từ đó, nghiên cứu chỉ tiến hành xác định IC₅₀ của TS-EE45 và TS-EE80 lần lượt là 113,34 µg/mL; 94,27 µg/mL. Kết quả thử nghiệm này được so sánh với acid ascorbic (hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH với IC₅₀ là 4,18 µg/mL). Từ giá trị IC₅₀ của thử nghiệm này cho thấy TS-EE80 thể hiện hoạt tính dập tắt gốc tự do tốt hơn TS-EE45 ($p < 0,001$); nhưng yếu hơn chứng dương acid ascorbic.

Bảng 1. Kết quả khảo sát hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH

Mẫu	Hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH (%)				
Nồng độ (µg/mL)	250,00				
TS-AE	31,08 ± 1,27 ^a				
Nồng độ (µg/mL)	250,00	187,50	125,00	62,50	31,25
TS-EE45	80,95 ± 0,63	66,93 ± 0,88 ^a	53,11 ± 0,19 ^a	33,30 ± 0,79 ^a	27,71 ± 0,58
Nồng độ (µg/mL)	187,50	125,00	62,50	31,25	12,50
TS-EE80	83,43 ± 0,28	64,68 ± 0,22	40,41 ± 0,29	29,89 ± 1,11	26,03 ± 0,49

^a $p < 0,05$ khác biệt thống kê khi so sánh các cao chiết tại cùng một nồng độ. Kết quả biểu thị trị số trung bình ± SEM (n = 3). Viết tắt: Cao chiết nước (TS-AE), cao chiết cồn 45% (TS-EE45) và cao chiết cồn 80% (TS-EE80).

3.2. Hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào của các cao chiết từ thân Dây đau xương

Hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào của các cao chiết TS-AE, TS-EE45, TS-EE80 được so

sánh với Trolox (Đồng phân tan trong nước của vitamin E). TS-EE45, TS-EE80 ở nồng độ phản ứng 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ thể hiện hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào trên 50%, tốt hơn đạt ý nghĩa thống kê so với TS-AE ($p < 0,001$).

Bảng 2. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào não chuột

Mẫu	Hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào (%)				
Nồng độ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	150				
TS-AE	36,08 \pm 0,76 ^a				
Nồng độ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	150	100	50	25	12,5
TS-EE45	61,00 \pm 0,63 ^b	51,21 \pm 0,26 ^a	37,68 \pm 0,29 ^a	33,28 \pm 0,65	27,56 \pm 0,19
TS-EE80	76,13 \pm 0,37 ^c	63,31 \pm 0,58	44,72 \pm 0,58	35,09 \pm 0,15	29,48 \pm 0,31

^(a-c) $p < 0,05$ khác biệt thống kê khi so sánh các cao chiết tại cùng một nồng độ. Kết quả biểu thị trị số trung bình \pm SEM ($n = 3$). Viết tắt: Cao chiết nước (TS-AE), cao chiết cồn 45% (TS-EE45) và cao chiết cồn 80% (TS-EE80).

TS-EE80 ($\text{IC}_{50} = 65,75 \mu\text{g}/\text{mL}$) thể hiện khả năng ức chế peroxy hóa lipid tế bào tốt hơn TS-EE45 ($\text{IC}_{50} = 93,48 \mu\text{g}/\text{mL}$). Tuy nhiên, cả 3 cao chiết từ Dây đau xương đều thể hiện tác dụng ức chế peroxy hóa lipid tế bào yếu hơn chứng dương Trolox ($\text{IC}_{50} = 32,07 \mu\text{g}/\text{mL}$).

3.3. Hoạt tính ức chế xanthine oxidase (XO) của các cao chiết từ thân Dây đau xương

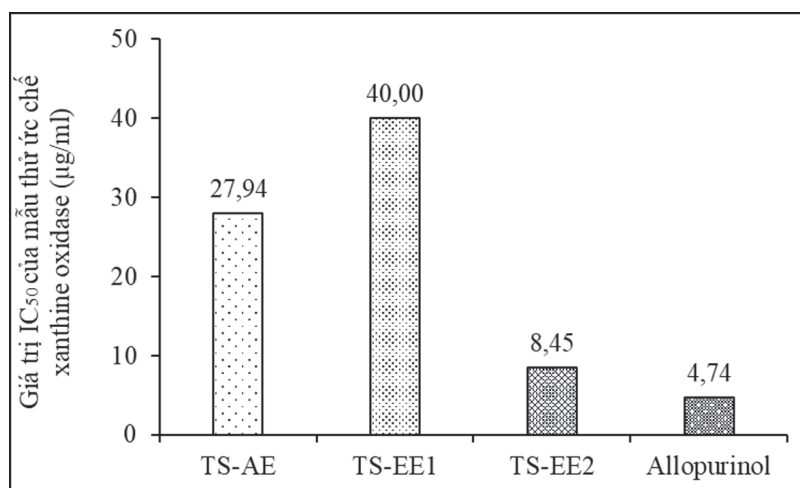
Kết quả Bảng 3 cho thấy các cao chiết TS-AE, TS-EE45, TS-EE80 ở nồng độ phản ứng 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ có hoạt tính ức chế xanthine oxidase lần lượt là 78,58 \pm 0,63; 58,20 \pm 0,63; 83,59 \pm 0,37%; tương ứng.

Bảng 3. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế xanthine oxidase

Mẫu	Hoạt tính ức chế xanthine oxidase (%)				
Nồng độ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	100	50	25	10	5
TS-AE	78,58 \pm 0,63	61,35 \pm 0,26	50,68 \pm 0,29	40,38 \pm 0,65	23,79 \pm 0,19
TS-EE45	58,20 \pm 0,63 ^a	56,56 \pm 0,26 ^a	49,82 \pm 0,29 ^a	42,28 \pm 0,65	27,56 \pm 0,19
TS-EE80	83,59 \pm 0,37	71,47 \pm 0,58 ^a	57,25 \pm 0,58 ^a	48,13 \pm 0,15	26,44 \pm 0,31

^(a-c) $p < 0,05$ khác biệt thống kê khi so sánh các cao chiết tại cùng một nồng độ. Kết quả biểu thị trị số trung bình \pm SEM ($n = 3$). Viết tắt: Cao chiết nước (TS-AE), cao chiết cồn 45% (TS-EE45) và cao chiết cồn 80% (TS-EE80).

Allopurinol thể hiện hoạt tính ức chế xanthine oxidase với $\text{IC}_{50} = 4,74 \mu\text{g}/\text{mL}$. TS-EE80 ($\text{IC}_{50} = 8,45 \mu\text{g}/\text{mL}$) thể hiện hoạt tính ức chế xanthine oxidase tốt hơn TS-AE ($\text{IC}_{50} = 27,94 \mu\text{g}/\text{mL}$), TS-EE45 ($\text{IC}_{50} = 40,00 \mu\text{g}/\text{mL}$). Các cao chiết từ Dây đau xương đều có hoạt tính ức chế xanthine oxidase yếu hơn chứng dương allopurinol.



Hình 1. Hoạt tính ức chế xanthine oxidase của các mẫu thử

Viết tắt: Cao chiết nước (TS-AE), cao chiết cồn 45% (TS-EE45) và cao chiết cồn 80% (TS-EE80).

4. THẢO LUẬN

Dây đau xương được sử dụng trong nhiều bài thuốc hỗ trợ điều trị các bệnh lý, sốt, kháng viêm, gan, đái tháo đường, suy nhược cơ thể. Nghiên cứu cho thấy các cao chiết từ Dây đau xương thể hiện hoạt tính chống oxy hóa thông qua việc dập tắt gốc tự do DPPH, ức chế peroxy hóa lipid tế bào và ức chế xanthine oxidase.

Môi trường sống ngày càng ô nhiễm, thực phẩm nhiễm bẩn, lạm dụng thuốc tân dược, rượu, bia, thuốc lá cùng với lối sống không lành mạnh dẫn đến tần suất những bệnh do tỷ lệ gia tăng các căn nguyên gốc tự do như bệnh gút và bệnh gan ngày càng cao. Stress oxy hóa (stress OXH) gây ra những phản ứng peroxy hóa lipid của màng tế bào (lipid peroxidation), dẫn đến những tổn thương về chức năng và cấu trúc của màng tế bào cả ngoại biên. Stress OXH làm gia tăng sự hình thành các gốc tự do (free radicals) có độc tính cao như: OH• (gốc hydroxyl), H₂O₂, O₂• (oxy đơn bội), LO• (gốc lipoxyd), LOO• (lipoperoxyd), RO• (gốc alkoxyd), LOOH và là yếu tố bệnh sinh của những căn bệnh tim mạch, rối loạn chuyển hóa, các chứng viêm, xơ gan, ung thư...[1]. Dây đau xương chứa nhiều hợp chất thứ cấp steroid, phenolic, flavonoid, alkaloid, glycosid có khả năng cho proton H⁺ để loại trừ các gốc tự do được sinh ra trong quá trình chuyển hóa ở cơ thể [2 - 3]. Nghiên cứu của đề tài cho kết quả tương đồng với nghiên cứu trước đây về hoạt tính nổi trội của cao chiết ethanol 80%, trong đó, Anindita Banerjee và cộng sự đã xác định hàm lượng phenolic tổng, flavonoid toàn phần và flavonol trong cao chiết ethanol 80% từ Dây đau xương lần lượt là 18,18 ± 0,09 mg GAE/mg dược liệu; 0,17 ± 0,002 tương đương mg rutin/g cao khô; 0,24 ± 0,004 tương đương mg quercetin/g cao khô [11]. Ngoài ra, các thành phần chính có hoạt tính chống oxy hóa và chống đái tháo đường trong thân Dây đau xương đã được xác định là berberin, acid caffeic, myricetin và acid ferulic [11]. Hoạt chất myricetin có tác dụng ức chế xanthin oxidase, do myricetin liên kết trực tiếp với vòng isoalloxazin ở miền FAD (flavin adenine dinucleotide) của xanthine oxidase [12]. Berberin có khả năng chống oxy hóa và kháng viêm thông qua việc kích hoạt các con đường truyền tín hiệu như AMPK, MAPKs, Nrf2/HO, NF-5kB; ức chế tình trạng viêm làm giảm các cytokine tiền viêm như TNF- α, interleukin-6, interferon-γ và interleukin-17 đồng thời làm tăng tỷ lệ các cytokine chống viêm/tiền viêm như interleukin-10/interleukin-1β, interleukin-10/interleukin-6, interleukin-10/TNF- α [13].

Kết quả nghiên cứu còn cho thấy cao chiết ethanol 80% thể hiện hoạt tính ức chế xanthine

oxidase tốt hơn cao chiết ethanol 45% và cao chiết nước. Xanthine oxidase là một enzym quan trọng trong chuyển hóa purin. Xanthine oxidase xúc tác hai phản ứng cuối cùng trong quá trình sinh tổng hợp acid uric của cơ thể. Do đó, hoạt tính của enzym này ảnh hưởng trực tiếp đến nồng độ acid uric trong máu và nước tiểu. Lượng acid uric cao ảnh hưởng đến nhiều cơ quan trong cơ thể như mạch máu, tim, màng não, mắt..., và phổ biến nhất là bệnh gút [8]. Do đó, ức chế hoạt động của xanthine oxidase sẽ làm giảm sự hình thành acid uric, ngăn chặn hoặc làm chậm bệnh gút và các biến chứng của bệnh lý một cách hiệu quả. Allopurinol là chất ức chế mạnh xanthine oxidase, làm giảm sinh tổng hợp acid uric, giảm nồng độ acid uric trong máu và nước tiểu. Allopurinol không những làm các sạn urat hòa tan dễ dàng, ngăn chặn tiến triển thành viêm khớp mạn mà còn làm tăng đào thải qua thận các tiền chất oxypurin. Do đó đề tài chọn chứng dương allopurinol cho thử nghiệm hoạt tính ức chế xanthin oxidase. Nghiên cứu tiếp theo cần khảo sát tác dụng theo hướng điều trị gút của cao chiết ethanol Dây đau xương trên mô hình tăng acid uric máu ở chuột nhắt trắng.

Ngoài ra, xanthine oxidase còn là một tác nhân xúc tác sản sinh các ROS có thể gây stress oxy hóa ở các tế bào, cơ quan trong cơ thể. Hydrogen peroxid và gốc tự do superoxid là những chất gây tổn thương tế bào do phá hủy DNA, phá vỡ màng tế bào làm giải phóng Ca^{2+} , có liên quan đến một số bệnh lý như viêm, xơ vữa động mạch, ung thư [14]. Do đó, hoạt tính chống oxy hóa và hoạt tính ức chế xanthine oxidase có mối liên quan thuận với nhau.

Từ những kết quả nghiên cứu này và các công bố trước đây đã gợi ý hướng nghiên cứu tiếp theo cần tiến hành để xác định hoạt chất chính quyết định hoạt tính chống oxy hóa trong cao chiết ethanol 80% từ Dây đau xương (định tính, định lượng, phân lập) để tạo tiền đề nghiên cứu sâu hơn các tác dụng sinh học trên các thử nghiệm *in vivo* của dược liệu Dây đau xương trong tương lai.

4. KẾT LUẬN

Cao chiết ethanol 80% từ thân Dây đau xương được lựa chọn là cao tiềm năng qua các thử nghiệm *in vitro* với các hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH, ức chế peroxy hóa lipid tế bào và ức chế xanthine oxidase. Kết quả là tiền đề cho những nghiên cứu *in vivo* theo hướng điều trị bệnh lý xương khớp, trong đó có bệnh gút.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ilaria Liguori, Gennaro Russo, Francesco Curcio, Giulia Bulli, Luisa Aran, David Della-Morte, Gaetano Gargiulo, Gianluca Testa, Francesco Cacciatore, Domenico Bonaduce, and Pasquale Abete, "Oxidative stress, aging, and diseases", *Clinical Interventions in Aging*, vol. 13, pp. 757–772, 2018.
- [2] Sachet Hegde, M. Jayaraj, A review of the medicinal properties, phytochemical and biological active compounds of *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr., *Journal of Biologically Active Products from Nature*, vol. 6, no. 2, pp. 84 – 94, 2016.
- [3] Sio - Hong Lam, Po-Hsun Chen, Hsin-Yi Hung, Tsong-Long Hwang, Chih-Chao Chiang, Tran Dinh Thang, Ping-Chung Kuo and Tian-Shung Wu, "Chemical Constituents from the Stems of *Tinospora sinensis* and Their Bioactivity", *Molecules*, vol. 23, no. 10, pp. 25 – 41, 2018.
- [4] Palani Dinesh, Mahaboob Khan Rasool, "Berberine, an isoquinoline alkaloid suppresses TXNIP mediated NLRP3 inflammasome activation in MSU crystal stimulated RAW 264.7 macrophages through the upregulation of Nrf2 transcription factor and alleviates MSU crystal induced inflammation in rats", *International Immunopharmacology*, vol. 44, pp. 26 – 37, 2017.
- [5] Tạ Quang Đăng, "Nghiên cứu độc tính và tác dụng điều trị bệnh gút mạn tính của viên nang cứng Tam diệu gia vị trên thực nghiệm và lâm sàng", Luận án Tiến sĩ Y học-Đại học Y Hà Nội, tr. 1- 184, 2020.

- [6] Amarowicz R, Pegg RP, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA, “Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies”, *Food Chemistry*, vol. 84, pp. 551-562, 2004.
- [7] Stroeve EA and Makarova VG, “Determination of lipid peroxidation rate in tissue homogenate laboratory”. In: *Manual in Biochemistry-Moscow*, 243 -256, 1989.
- [8] Pál Pacher, Alex Nivorozhkin, Csaba Szabó, “Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol”, *Pharmacological Reviews*, vol. 58, no.1, pp. 87–114, 2006.
- [9] Noro T, Oda Y, Miyase T, Ueno A, Fukushima S, “Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*”, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, vol. 31, no. 11, pp. 3984-3987, 1983.
- [10] Wu N, Zu Y, Fu Y, Kong Y, Zhao J, Li X, Li J, Wink M, Efferth T, ”Antioxidant Activities and Xanthine Oxidase Inhibitory Effects of Extracts and Main Polyphenolic Compounds Obtained from *Geranium sibiricum* L.”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 58, no. 8, pp. 4737–4743, 2010.
- [11] Anindita Banerjee, Bithin Maji, Sandip Mukherjee, Kausik Chaudhuri, Tapan Seal, “In vitro anti-diabetic and anti-oxidant activities of ethanol extract of *Tinospora sinensis*”, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, vol. 9 , no. 2, pp. 42-47, 2017.
- [12] Cen Zhang, Guowen Zhang, Yijing Liao, Deming Gong, “Myricetin inhibits the generation of superoxide anion by reduced form of xanthine oxidase”, *Food Chemistry*, vol. 221, pp. 1569 – 1577, 2017.
- [13] Hira Naz, Sidra Naz, Rabab Miraj, Akfish Zaheer, Nada Azam, Muhammad Ishaq, Muhammad Hanif, “The effect of berberine, a drug from chinese folk medicine, on serum and urinary uric acid levels in rats with hyperuricemia”, *Cureus Journal Medical Science*, vol.13, no. 2, pp. 131 – 186, 2021.
- [14] Halina Cichoż Lach and Agata michalak, “Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases,” *World Journal Gastroenterol*, vol. 20, no. 25, pp. 8082 – 8091, 2014.