

Tác dụng làm lành vết thương và tính kích ứng da của cao chiết và chế phẩm kem chứa cao chiết lá Chùm ngây trên thực nghiệm

Lý Hải Triều¹, Lê Thị Kim Oanh¹, Đinh Trường Sơn¹, Lâm Bích Thảo¹,
Lê Quý Trí¹, Nguyễn Thị Thu Hương² và Lê Văn Minh^{1*}

¹Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh - Viện Dược liệu

²Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Các sản phẩm từ thảo dược được sử dụng phổ biến để chữa lành vết thương. Lá Chùm ngây (*Moringa oleifera* Lam.) được biết có khả năng làm lành vết thương. **Mục tiêu:** Khảo sát tác dụng làm lành vết thương và tính kích ứng da của cao chiết và chế phẩm dạng kem có chứa cao lá Chùm ngây. **Đối tượng và phương pháp:** Mô hình chuột cắt da gây vết thương hở được áp dụng để khảo sát tác dụng làm lành vết thương của cao chiết và chế phẩm. Tính kích ứng da của cao chiết và chế phẩm được đánh giá bằng thử nghiệm kích ứng da thỏ. **Kết quả:** Cao lá Chùm ngây nồng độ 7.5% w/v có tác dụng làm lành vết thương tốt hơn các nồng độ khác thông qua khả năng làm giảm diện tích vết thương. Điều trị vết thương với chế phẩm kem có chứa 7.5% w/v cao lá Chùm ngây đã làm tăng đáng kể sự co vết thương sau 3 ngày điều trị. Hơn nữa, cao chiết nồng độ 7.5% và chế phẩm kem có khả năng tái tạo cấu trúc mô da tại vùng vết thương sau 11 ngày điều trị. Mặt khác, cao chiết và chế phẩm gây kích ứng không đáng kể trên da thỏ. **Kết luận:** Cao chiết và chế phẩm kem chứa cao lá Chùm ngây ở nồng độ 7.5% có tác dụng làm lành vết thương chuột và an toàn trên da thỏ.

Từ khóa: lá Chùm ngây, chế phẩm kem, làm lành vết thương, tính kích ứng da

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vết thương hở là một dạng tổn thương làm rách da, phá vỡ cấu trúc của biểu bì, các mô dưới da; tổn thương nặng có thể gây tổn thương cho các cấu trúc khác như cơ, mạch máu, dây thần kinh,... Quá trình làm lành vết thương là phản ứng của cơ thể đối với tổn thương và giúp phục hồi cấu trúc da thông qua nhiều giai đoạn và cơ chế khác nhau. Thời gian lành vết thương tùy thuộc vào vị trí, độ rộng của vết thương, tốc độ tái tạo của các tế bào bị tổn thương và tổng trạng cơ thể [1]. Cơ thể có cơ chế tự làm lành vết thương và không cần can thiệp từ bên ngoài. Tuy nhiên với những vết thương nặng cần phải can thiệp để làm lành nhanh tránh ảnh hưởng đến sức khỏe bệnh nhân và tính thẩm mỹ [2]. Các sản phẩm từ dược liệu có khả năng làm lành vết thương được sử dụng khá phổ biến bởi các lợi ích lâm sàng và kinh tế [3]. Cây Chùm ngây có tên khoa học là *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae), được sử dụng rộng rãi làm thực phẩm và thuốc y học cổ truyền. Nhiều tác dụng dược lý của lá Chùm ngây đã được báo cáo như kháng khuẩn, kháng oxy

hóa, kháng viêm, bảo vệ thần kinh, bảo vệ gan, hạ đường huyết,... Một số thành phần hóa học như flavonoid, alkaloid, polyphenol, acid phenolic,... được phát hiện trong lá Chùm ngây [4]. Hơn nữa, tác dụng chữa lành vết thương của lá Chùm ngây cũng được chứng minh trong nhiều nghiên cứu trước đây [5 - 7]. Do đó, việc nghiên cứu và định hướng phát triển sản phẩm có khả năng làm lành vết thương từ lá Chùm ngây có triển vọng lớn. Trong nghiên cứu này, khả năng làm lành vết thương của cao chiết lá Chùm ngây và chế phẩm dạng kem bôi có chứa cao chiết lá Chùm ngây được khảo sát trên mô hình chuột cắt da tạo vết thương hở. Tính an toàn của cao chiết và chế phẩm cũng được đánh giá thông qua thử nghiệm về tính kích ứng da trên thỏ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Nguyên liệu thực vật: Lá Chùm ngây (*Moringa oleifera* Lam.) được thu tại huyện Tri Tôn, tỉnh An

Tác giả liên hệ: TS. Lê Văn Minh

Email: lvminh05@gmail.com

Giang vào tháng 3 năm 2021. Lá Chùm ngây được làm sạch, phơi sấy khô (độ ẩm $10.24\% \pm 0.27$), xay thành bột. Cao chiết lá Chùm ngây được chuẩn bị bằng phương pháp chiết ngấm kiệt với ethanol 45% và đã được tiêu chuẩn hóa theo tiêu chuẩn cơ sở của Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM. Hiệu suất chiết cao tính trên khối lượng khô kiệt đạt 19.63%. Chế phẩm dạng kem có chứa 7.5% (w/w) cao lá Chùm ngây bao gồm các thành phần cao lá Chùm ngây (7.5 g), nước cất (51.3 g), sáp ong (3.3 g), dầu parafin (16.4 g), cetostearyl alcohol (5.3 g), propylen glycon (15 g), tween 80 (1 g) và nipagin M (0.2 g). Kem nền không chứa cao lá Chùm ngây với các thành phần khác tương tự. Hàm lượng isoquercitrin trong cao lá Chùm ngây (đã trừ độ ẩm $18.58\% \pm 0.14$) và chế phẩm kem chứa cao chiết lá Chùm ngây bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) tương ứng là $0.79\% \pm 0.02$ và $0.05\% \pm 0.00$.

Động vật thử nghiệm: Chuột nhắt trắng đực chủng *Swiss albino*, trưởng thành, khỏe mạnh, trọng lượng từ 20 - 22 g. Chuột được nuôi trong các lồng nhựa và nuôi dưỡng trong điều kiện thí nghiệm một tuần trước khi thí nghiệm. Thỏ trắng trưởng thành dòng New Zealand, giống cái (không sử dụng thỏ mang thai hoặc đang cho con bú), khỏe mạnh, trọng lượng từ 2.0 - 2.5 kg. Thỏ được nhốt riêng từng con và nuôi dưỡng trong điều kiện thí nghiệm 5 ngày trước khi thí nghiệm. Động vật thử nghiệm và thực phẩm dạng viên được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế TP. Nha Trang. Động vật thử nghiệm được nuôi trong phòng chăn nuôi có hệ thống xử lý khí thải, ở điều kiện duy trì nhiệt độ 25 - 30°C với độ ẩm $65 \pm 5\%$ và chu kỳ 12 giờ sáng - tối (sáng từ 6:00 - 18:00).

Trang thiết bị: Lồng nuôi chuột, lồng nuôi thỏ, hệ thống xử lý khí thải, máy ảnh canon, kính hiển vi

Olympus BX53F.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Mô hình chuột cắt da tạo vết thương hở

Một vùng xác định ở lưng chuột được cạo sạch lông, vệ sinh vùng da sau khi cạo lông, đánh dấu tròn đường kính 10 mm, gây mê bằng ketamin (80 mg/kg) - xylazin (20 mg/kg) và tạo vết thương theo hình tròn đã đánh dấu bằng dụng cụ thí nghiệm sắc, vô trùng (ngày 0).

Đối với khảo sát tác dụng của cao chiết, chuột được chia thành các lô ($n = 8$) như sau:

- Lô 1: Chuột được bôi glycerin;
- Lô 2: Chuột được bôi cao chiết lá Chùm ngây 1% (w/v) trong glycerin;
- Lô 3: Chuột được bôi cao chiết lá Chùm ngây 5% (w/v) trong glycerin;
- Lô 4: Chuột được bôi cao chiết lá Chùm ngây 7.5% (w/v) trong glycerin;
- Lô 5: Chuột được bôi cao chiết lá Chùm ngây 10% (w/v) trong glycerin;
- Lô 6: Chuột được bôi dung dịch NaCl 0.9%;
- Lô 7: Chuột được bôi kem gentamicin 0.1% (Nhật Bản).

Đối với đánh giá tác dụng của chế phẩm kem, chuột được chia thành các lô ($n = 8$) như sau:

- Lô 1: Chuột được bôi kem nền;
- Lô 2: Chuột được bôi kem nền có chứa 7.5% (w/w) cao chiết lá Chùm ngây;
- Lô 3: Chuột được bôi dung dịch NaCl 0.9%;
- Lô 4: Chuột được bôi kem gentamicin 0.1% (Nhật Bản).

Chuột được bôi mẩu 2 lần/ngày vào buổi sáng và buổi chiều bắt đầu từ ngày thứ 1, trong 11 ngày. Diện tích vết thương được đo vào buổi sáng ở các ngày thứ 1, 3, 5, 7, 9 và 11 bằng phần mềm Image J. Mức độ co rút vết thương được tính bằng công thức:

$$\%WC \text{ (wound contraction)} = \frac{\text{Diện tích vết thương ngày 0} - \text{Diện tích vết thương ngày } n}{\text{Diện tích vết thương ngày 0}} \times 100$$

Kết thúc thử nghiệm, chuột được giải phẫu tách lấy mẫu da tại vùng da đã được bôi các mẫu thử với đường kính và độ sâu tương đương với thời điểm bắt đầu thử nghiệm, các mẫu da được chuyển vào dung dịch bảo quản (Neutral Buffered Formalin 10%). Mẫu sau khi xử lý, nhúng parafin và cắt lát dày 3 μm được tiến hành nhuộm Hematoxylin và Eosin (H&E). Sau đó, tiến hành quan sát mô tả và chụp hình vùng mô dưới kính hiển vi (Olympus BX53F, Tokyo, Japan) [8].

2.2.2. Thử kích ứng da trên thỏ

Quy trình thử nghiệm được thực hiện theo hướng dẫn thử nghiệm kích ứng da của Bộ Y tế (Quyết định số 3113/1999/QĐ-BYT, ngày 11/10/1999). Trước ngày thí nghiệm (24 giờ), vùng lưng đều về hai bên cột sống được làm sạch lông một khoảng đủ rộng để đặt các mẫu thử và đối chứng (khoảng 10 cm \times 15 cm). Những thỏ có da khỏe mạnh, đồng đều và lành lặn được dùng thí nghiệm. Mỗi mẫu được thử trên 03 thỏ. Liều chất thử trên mỗi thỏ là

0.5 g mẫu thử hoặc 0.5 mL chloroform (chứng dương) hoặc 0.5 mL dung dịch NaCl 0.9% (chứng âm). Mẫu thử đã chuẩn bị được đặt lên miếng gạc không gây kích ứng (2.5 cm × 2.5 cm) có độ dày thích hợp rồi đắp lên da hoặc không đặt gì (chứng sinh lý). Miếng gạc được cố định bằng băng dính không gây kích ứng ít nhất trong 4 giờ. Sau đó, bỏ gạc và băng dính, chất thử còn lại được làm sạch bằng dung dịch NaCl 0.9% không gây kích ứng da. Vị trí thoa mẫu thử hoặc đặt chloroform, NaCl 0.9% được thay đổi luân phiên giữa các thử.

Quan sát và ghi điểm phản ứng trên chỗ da đặt mẫu thử nghiệm hoặc chloroform hoặc NaCl 0.9% so với da kề bên không đặt chất thử ở các thời điểm 1 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi làm sạch mẫu thử. Có thể kéo dài hơn thời gian quan sát khi có tổn thương sâu để có thể đánh giá đầy đủ hơn về khả năng hồi phục hoặc không hồi phục của vết thương nhưng không nên quá 14 ngày. Đánh giá phản ứng trên da ở các mức độ gây ban đỏ, phù nề theo quy định được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Mức độ phản ứng trên da thử

Phản ứng	Điểm đánh giá
Sự tạo vảy và ban đỏ	
Không ban đỏ	0
Ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
Ban đỏ nhìn thấy rõ	2
Ban đỏ vừa phải đến nặng	3
Ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) đến tạo thành vảy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ	4
Gây phù nề	
Không phù nề	0
Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
Phù nề nhận thấy rõ (viền phù nề phồng lên rõ)	2
Phù nề vừa phải (da phồng lên khoảng 1mm)	3
Phù nề nghiêm trọng (da phồng lên trên 1mm và có lan rộng ra vùng xung quanh)	4
Tổng số điểm kích ứng tối đa có thể	8

Những thay đổi khác trên da cần theo dõi và ghi chép đầy đủ. Trên mỗi thử, điểm phản ứng ở những thời gian quan sát ở 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ được tính bằng tổng số điểm ở hai mức độ ban đỏ và phù nề chia cho số lần (3 lần) quan sát. Điểm kích ứng của mẫu thử được lấy trung bình điểm phản ứng của các thử đã thử. Trong trường hợp có dùng mẫu đối chứng, điểm phản ứng của mẫu thử được trừ đi số điểm của mẫu đối chứng. Đối chiếu điểm kích ứng với các mức độ quy định trên bảng 2 để xác định khả năng gây kích ứng trên da thử của mẫu thử [9 - 10].

Bảng 2. Phân loại các phản ứng trên da thử

Loại phản ứng	Điểm trung bình
Kích ứng không đáng kể	0 - 0.5
Kích ứng nhẹ	> 0.5 - 2.0
Kích ứng vừa phải	> 2.0 - 5.0
Kích ứng nghiêm trọng	> 5.0 - 8.0

2.2.3. Phân tích dữ liệu

Các số liệu được biểu diễn bằng giá trị trung bình ± sai số chuẩn của giá trị trung bình (Mean ± SEM) và

xử lý thống kê bằng One-way ANOVA và t-test sử dụng phần mềm GraphPad Prism 8.0.2 (USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0.05$.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Tác dụng làm lành vết thương của cao chiết lá Chùm ngây

Kết quả nghiên cứu cho thấy diện tích vết thương giảm theo thời gian ở các lô chuột được bôi cao chiết lá Chùm ngây, đặc biệt là ở lô chuột được bôi cao chiết nồng độ 7.5 và 10%. Phần trăm mức độ co vết thương trung bình của các lô chuột được thể hiện ở Bảng 3. Tác dụng làm lành vết thương của cao chiết từ lá Chùm ngây ở nồng độ 7.5% tốt hơn các nồng độ còn lại và tương đương với kem gentamicin 0.1%. Vào ngày thứ 3, lô chuột được bôi cao chiết 7.5% có tỷ lệ lành vết thương cao hơn đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột được bôi NaCl 0.9% ($p < 0.05$), glycerin ($p < 0.05$) và cao chiết 1% ($p < 0.01$). Vào ngày thứ 5, lô chuột được bôi cao chiết 7.5% có tỷ lệ lành vết thương cao hơn đạt ý nghĩa thống kê so với lô

chuột được bôi NaCl 0.9% và glycerin ($p < 0.05$). Vào ngày thứ 7, lô chuột được bôi cao chiết 7.5% có tỷ lệ lành vết thương cao hơn đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột được bôi dung dịch NaCl 0.9% ($p < 0.05$), glycerin ($p < 0.01$), cao chiết 1% ($p < 0.01$) và cao chiết 5% ($p < 0.05$). Vào ngày thứ 9 và 11, lô chuột được bôi cao chiết 7.5% có tỷ lệ

lành vết thương cao hơn đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột được bôi NaCl 0.9% ($p < 0.001$), glycerin ($p < 0.001$), cao chiết 1% ($p < 0.001$), cao chiết 5% ($p < 0.001$) và cao chiết 10% ($p < 0.05$). Vì vậy, nồng độ 7.5% cao chiết lá Chùm ngây được chọn để bào chế chế phẩm dạng kem cho các đánh giá tiếp theo.

Bảng 3. Tác dụng làm lành vết thương của cao chiết lá Chùm ngây trên mô hình chuột cắt da tạo vết thương hở

Lô ($n = 8$)	Tỷ lệ lành vết thương (%)					
	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 9	Ngày 11
NaCl 0.9%	0	17.92 ± 1.36	35.02 ± 3.83	51.68 ± 1.65	66.83 ± 0.95 ^{e,f,g}	83.40 ± 1.25 ^h
Glycerin	0	16.88 ± 3.77	34.33 ± 5.75	47.38 ± 4.76 ^c	65.96 ± 4.76 ^{e,f,g}	80.94 ± 6.36 ^c
Kem gentamicin 0.1%	0	22.88 ± 3.11	49.76 ± 6.01	69.81 ± 1.93 ^b	91.05 ± 1.96	97.82 ± 0.53
Cao chiết 1%	0	19.58 ± 1.60	37.45 ± 4.81	51.40 ± 4.37	62.85 ± 3.17 ^{e,f,g}	86.53 ± 3.23
Cao chiết 5%	0	21.88 ± 0.76	40.47 ± 2.32	55.19 ± 5.74	70.13 ± 4.66 ^{f,g}	85.14 ± 2.61
Cao chiết 7.5%	0	30.75 ± 2.39 ^{a,b}	48.83 ± 2.17 ^a	71.61 ± 3.30 ^{b,d}	88.28 ± 1.77 ^e	96.83 ± 1.08 ^{b,e,d}
Cao chiết 10%	0	26.39 ± 3.76	44.37 ± 4.72	60.50 ± 5.12	80.48 ± 2.05	92.14 ± 1.12

^a $p < 0.05$, khác biệt đáng kể so với NaCl 0.9% và Glycerin; ^b $p < 0.05$, khác biệt đáng kể so với cao chiết 1%; ^c $p < 0.01$, khác biệt đáng kể so với cao chiết 7.5% và gentamicin 0.1%; ^d $p < 0.05$, khác biệt đáng kể so với NaCl 0.9% và cao chiết 5%; ^e $p < 0.05$, khác biệt đáng kể so với cao chiết 10%; ^f $p < 0.001$, khác biệt đáng kể so với cao chiết 7.5%; ^g $p < 0.0001$, khác biệt đáng kể so với gentamicin 0.1%; ^h $p < 0.05$, khác biệt đáng kể so với cao chiết 7.5% và gentamicin 0.1%.

3.2. Tác dụng làm lành vết thương của chế phẩm kem chứa cao chiết lá Chùm ngây

Bảng 4. Tác dụng làm lành vết thương của chế phẩm dạng kem có chứa cao chiết lá Chùm ngây trên mô hình chuột cắt da tạo vết thương hở

Lô ($n = 8$)	Tỷ lệ lành vết thương (%)					
	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 9	Ngày 11
Kem nền	0	7.83 ± 3.91	33.16 ± 5.40	49.05 ± 3.76	62.33 ± 9.98	83.84 ± 6.05
Kem Chùm ngây 7.5%	0	27.39 ± 6.51 ^a	42.89 ± 2.39 ^b	67.11 ± 2.62 ^{c,d,e}	87.24 ± 2.43 ^{a,e}	98.23 ± 0.90 ^{a,b}
Kem gentamicin 0.1%	0	20.86 ± 1.67	40.58 ± 3.32 ^b	59.14 ± 2.40 ^f	81.79 ± 2.64 ^f	97.37 ± 0.99 ^b
NaCl 0.9%	0	15.36 ± 2.19	25.90 ± 2.73	35.86 ± 3.56	55.69 ± 5.36	80.64 ± 5.22

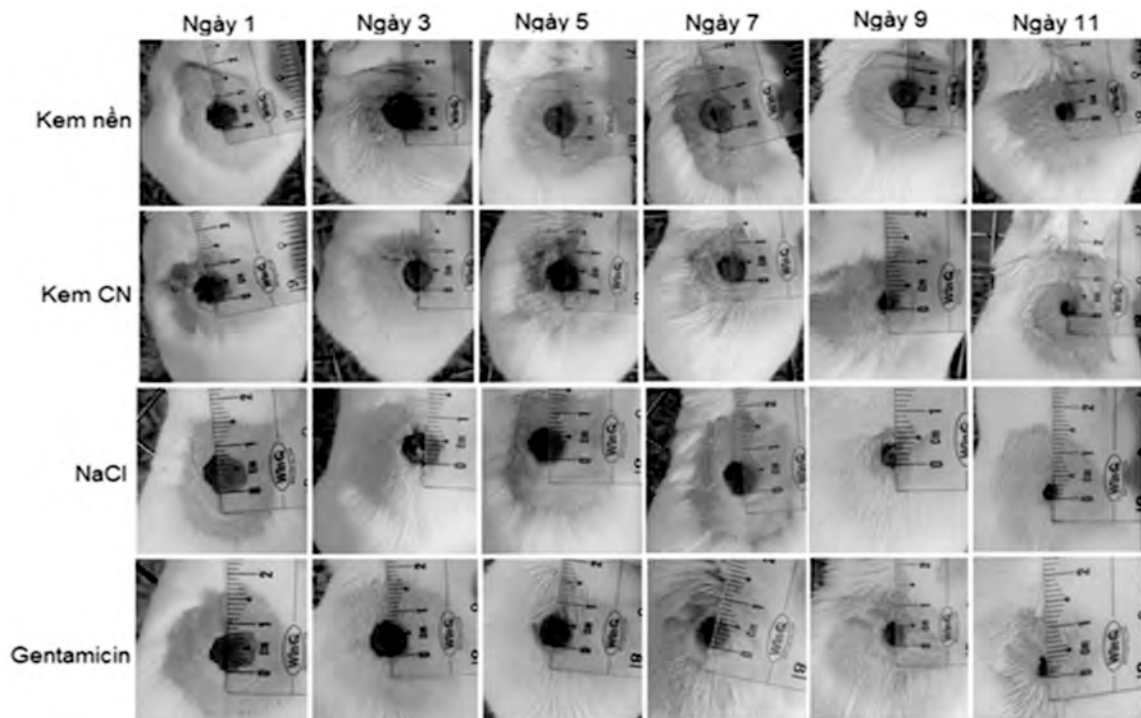
^a $p < 0.05$, khác biệt đáng kể so với kem nền; ^b $p < 0.01$, khác biệt đáng kể so với NaCl 0.9%; ^c $p < 0.01$, khác biệt đáng kể so với kem nền; ^d $p < 0.05$, khác biệt đáng kể so với thuốc mỡ 7.5%; ^e $p < 0.0001$, khác biệt đáng kể so với NaCl 0.9%; ^f $p < 0.001$, khác biệt đáng kể so với NaCl 0.9%.

Kết quả nghiên cứu cho thấy diện tích vết thương đã giảm theo thời gian ở các lô chuột được bôi các chế phẩm kem từ cao lá Chùm ngây (Hình 1). Phần trăm mức độ co vết thương của chuột được bôi chế phẩm dạng kem có chứa cao lá Chùm ngây ở nồng độ 7.5% được thể hiện ở Bảng 4. Vào ngày thứ 3, lô chuột được bôi kem chứa cao lá Chùm ngây 7.5% có tỷ lệ lành vết thương cao hơn đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột được bôi kem nền và cao hơn so với lô chuột được bôi NaCl 0.9% và gentamicin

0.1% ($p < 0.05$). Vào ngày thứ 5, lô chuột được bôi kem có chứa cao lá Chùm ngây 7.5% có tỷ lệ lành vết thương cao hơn đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột được bôi NaCl 0.9% ($p < 0.05$) và cao hơn so với lô chuột được bôi kem nền. Vào ngày thứ 7, lô chuột được bôi kem có chứa cao lá Chùm ngây 7.5% có tỷ lệ lành vết thương cao hơn đạt ý nghĩa thống kê so với lô chuột được bôi kem nền ($p < 0.01$) và NaCl 0.9% ($p < 0.001$) và cao hơn so với lô chuột được bôi gentamicin 0.1%. Vào ngày thứ 9 và

11, lô chuột được bôi kem có chứa cao lá Chùm ngây 7.5% có tỷ lệ lành vết thương cao hơn đạt ý

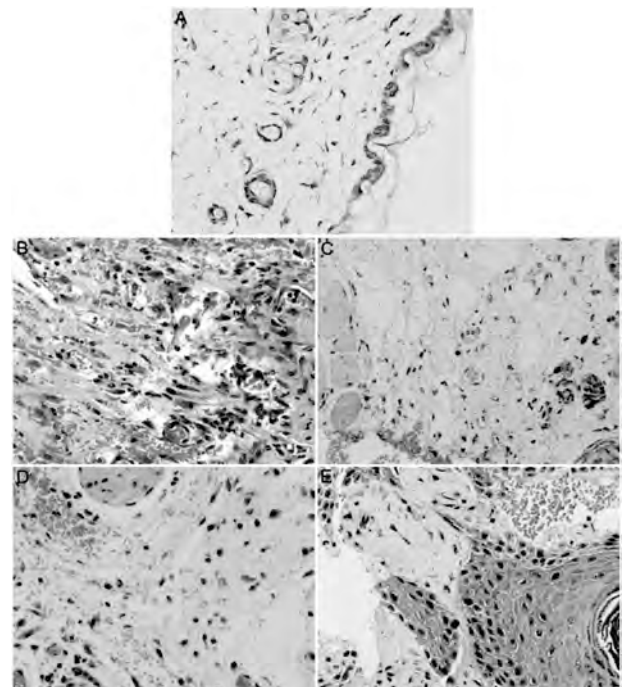
nghĩa thống kê so với lô chuột được bôi kem nền ($p < 0.05$) và NaCl 0.9% ($p < 0.01$).



Hình 1. Hình ảnh vết thương ở các lô chuột tại các thời điểm khảo sát. CN: Chùm ngây

Nghiên cứu tiến hành đánh giá mô học da chuột trước và sau khi kết thúc thời gian bôi các mẫu thử nghiệm (Hình 2). Kết quả cho thấy mô da trước thử nghiệm bình thường gồm lớp thượng bì 4 - 5 hàng tế bào gai phân cực rõ với 1 hàng tế bào đáy, bề mặt sừng hóa với lớp sừng mỏng. Lớp bì gồm các sợi collagen lỏng lẻo, tế bào sợi và nguyên bào sợi, nang lông rải rác (Hình 2A). Sau 11 ngày bôi kem nền hoặc NaCl 0.9%, tổn thương loét da được phát hiện, mất hoàn toàn biểu mô gai và lớp bì nhú. Bề mặt ổ loét đóng mòi dày chứa huyết thanh đông tụ, xác bạch cầu đơn nhân trung tính (BCĐNTT). Ổ loét chứa chất xơ huyết, BCĐNTT và mảnh vỡ nhân tế bào viêm, đáy ổ loét là mô hạt viêm với sự tăng sản mạnh nguyên bào sợi và các vi mạch nội mô phồng. Có hiện tượng tăng gai ở bờ ổ loét và tái tạo biểu mô gai một phần ở bờ ổ loét. Lớp bì tăng sản sợi, sung huyết lan tỏa, xuất huyết nhiều nơi; có hiện tượng thấm nhập nhiều BCĐNTT (Hình 2B, 2E). Trong khi đó, cấu trúc mô da được bôi kem có chứa 7.5% cao lá Chùm ngây có lớp thượng bì không tăng gai, không tăng sừng; lớp bì xuất hiện tăng sinh nguyên bào sợi thưa thớt, rải rác; có hiện tượng thấm nhập rải rác BCĐNTT, ít tương bào; xuất huyết rải rác, sung huyết nhẹ cũng được phát hiện (Hình 2C). Da được bôi gentamicin có lớp thượng bì tăng gai, tăng hạt, tăng sừng, bong tróc thượng bì kèm xuất huyết dưới thượng bì, dịch thanh xơ huyết; lớp bì sung huyết, xuất huyết nhiều nơi, phù nề, tăng sinh mạnh nguyên bào sợi và vi mạch nội mô

phồng; có hiện tượng thấm nhập BCĐNTT mức độ vừa; không có tái tạo biểu mô gai (Hình 2D).



Hình 2. Hình ảnh mô học các mẫu da được nhuộm hematoxylin và eosin (độ phóng đại 40×). (A) Mô học da trước khi điều trị, (B) Mô học da được bôi kem nền, (C) Mô học da được bôi kem có chứa 7.5% cao lá Chùm ngây, (D) Mô học da được bôi kem gentamicin 0.1%, (E) Mô học da được bôi dung dịch NaCl 0.9%.

Từ các kết quả cho thấy chế phẩm dưới dạng kem bôi có chứa 7.5% cao lá Chùm ngây có tác dụng làm lành vết thương và có thể được tiếp tục nghiên cứu sâu hơn.

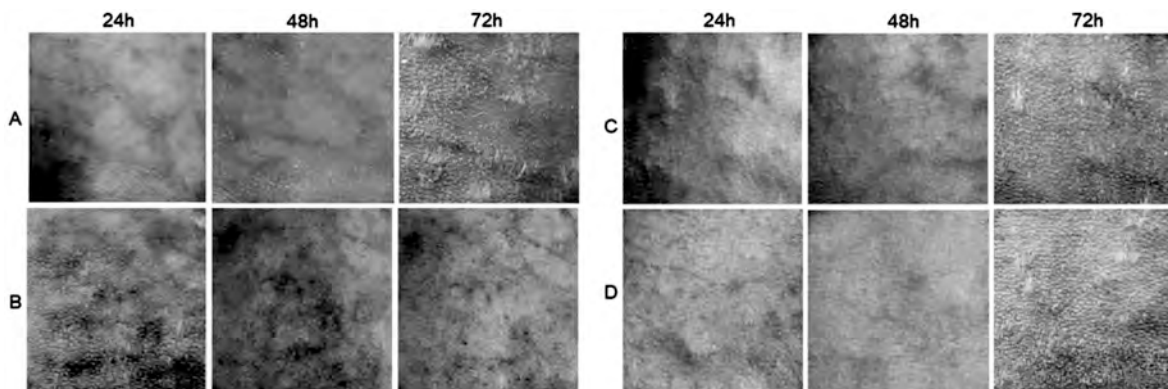
3.3. Tính kích ứng da của cao chiết và chế phẩm kem có chứa cao lá Chùm ngây

Kết quả khảo sát cho thấy vùng da tiếp xúc với NaCl 0.9% không có biểu hiện bất thường, không có dấu hiệu ban đỏ hay phù nề trong suốt thời gian thử

thử nghiệm. Vùng da tiếp xúc với chloroform có hiện tượng ban đỏ nhận thấy rõ từ thời điểm 1 giờ sau khi làm sạch da với mức độ ban đỏ từ 1 đến 3, ban đỏ vẫn duy trì sau 24, 48 và 72 giờ với mức độ giảm dần theo thời gian. Vùng da tiếp xúc với cao chiết lá Chùm ngây hoặc chế phẩm kem có chứa cao chiết lá Chùm ngây không có dấu hiệu ban đỏ hay phù nề ở tất cả các thời điểm quan sát, tình trạng da bình thường như phần da chứng sinh lý. Kết quả về điểm kích ứng của các mẫu thử được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Điểm phản ứng trên da của các mẫu thử

Thời điểm	Đặt NaCl 0.9%	Đặt chloroform	Đặt cao chiết	Đặt kem
Sau 24 giờ	0	2	0	0
Sau 48 giờ	0	1.33	0	0
Sau 72 giờ	0	1.33	0	0
Trung bình	0 ± 0	1.55 ± 0.22	0 ± 0	0 ± 0



Hình 3. Hình ảnh bề mặt da thử sau các khoảng thời gian khác nhau (24, 48, 72 giờ) tiếp xúc với mẫu thử Vùng da tiếp xúc với NaCl 0.9% (A), chloroform (B), cao chiết lá Chùm ngây (C) và chế phẩm kem có chứa cao lá Chùm ngây (D).

Như vậy, cao chiết lá Chùm ngây và chế phẩm kem có chứa cao chiết lá Chùm ngây đều gây kích ứng da không đáng kể trên da thử.

Tác dụng làm lành vết thương của cao chiết ethanol 45% từ lá Chùm ngây ở các nồng độ khác nhau đã được khảo sát trong nghiên cứu này. Kết quả của nghiên cứu cho thấy lô chuột được bôi cao chiết ở nồng độ 7.5% (w/v) có kích thước vết thương giảm đáng kể so với lô chuột bôi glycerin hay NaCl 0.9% và tốt hơn các nồng độ còn lại (1, 5 và 10%). Việc áp dụng điều trị tại vị trí vết thương sẽ có lợi do có thể cung cấp các hoạt chất có nồng độ cao và bền vững tại vị trí vết thương, góp phần làm vết thương co lại và đóng vết thương nhanh hơn [11]. Hợp chất có hoạt tính sinh học từ dịch chiết có thể được giải phóng nhanh chóng và đẩy nhanh quá trình tái tạo biểu bì. Ngoài ra, sự hấp thụ hoạt chất toàn thân ít hơn so với đường uống

khi điều trị tại chỗ, điều này có thể làm giảm nguy cơ tác dụng phụ nếu có. Do đó, nghiên cứu đã tiến hành bào chế chế phẩm dạng kem bôi có chứa 7.5% cao chiết lá Chùm ngây. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy chế phẩm kem có chứa cao lá Chùm ngây có tác dụng làm lành vết thương và góp phần tái tạo cấu trúc mô da ở vùng bị thương sau 11 ngày điều trị. Hơn nữa, cả cao chiết từ lá Chùm ngây và chế phẩm kem có chứa 7.5% cao chiết lá Chùm ngây đều an toàn trên da thử sau khi đánh giá mức độ kích ứng da. Điều này cho thấy triển vọng tiếp tục nghiên cứu phát triển sản phẩm có khả năng làm lành vết thương từ lá Chùm ngây. Một số nghiên cứu trước đây cũng cho thấy tác dụng chữa lành vết thương của lá Chùm ngây với các dung môi chiết xuất khác nhau. Kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy cao chiết ethanol 95% từ lá Chùm ngây ở nồng độ 4%

có tác dụng làm lành vết thương trên mô hình chuột tạo vết thương hở thông qua giảm đáng kể kích thước vết thương vào ngày thứ 3 và sau 14 ngày điều trị [12]. Thuốc mỡ có chứa cao chiết ethanol 70% từ lá Chùm ngây có khả năng chữa lành vết thương tiềm năng ở nồng độ khác nhau (3.5%, 5% và 10%) phụ thuộc vào nồng độ, nồng độ 10% có hiệu quả tốt hơn các nồng độ còn lại và thuốc mỡ có chứa gentamicin sau 14 ngày điều trị trên mô hình chuột vết thương hở có nhiễm trùng bởi *S. aureus* và *P. aeruginosa* [13]. Một nghiên cứu khác cho thấy thuốc mỡ có chứa cao chiết ethyl acetat (phân đoạn giàu flavonoid) từ lá Chùm ngây ở nồng độ 3.25% và 5% có tác dụng làm lành vết thương với tỷ lệ đóng vết thương ở ngày thứ 12 tương ứng là 70% và 70.4% so với gentamicin là 75% [14]. Tác dụng chữa lành vết thương của lá Chùm ngây có thể là nhờ vào nhiều tác dụng sinh học kết hợp lại như kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, tăng tổng hợp collagen, thúc đẩy hình thành mạch,... bởi sự

hiện diện đa dạng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong lá Chùm ngây như flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin, alkaloid có tác dụng kháng khuẩn, hoạt hóa đại thực bào loại bỏ vi khuẩn; polyphenol, tannin, flavonoid (như rutin, quercetin, kaempferol) có tác dụng kháng oxy hóa; steroid, flavonoid (quercetin) có tác dụng kháng viêm [15].

4. KẾT LUẬN

Cao chiết ethanol 45% từ lá Chùm ngây có tác dụng làm lành vết thương trên mô hình chuột cắt da gây vết thương hở. Trong đó, nồng độ 7.5% (w/v) cao chiết có tác dụng tốt hơn nên được lựa chọn để bào chế chế phẩm dạng kem định hướng nghiên cứu ứng dụng. Chế phẩm dạng kem có chứa 7.5% (w/v) cao chiết lá Chùm ngây cũng thể hiện tác dụng làm lành vết thương trên da chuột. Đồng thời, cao chiết ethanol 45% từ lá Chùm ngây và chế phẩm dạng kem có chứa cao chiết lá Chùm ngây không gây kích ứng trên da thỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G. S. Schultz, G. A. Chin, L. Moldawer, R. F. Diegelmann, "Principles of Wound Healing," In: Fitridge R, Thompson M, editors. Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists, Adelaide (AU): University of Adelaide Press, 23, 2011.
- [2] J. McSwan, J. Gudin, X. J. Song, ... G. Pickering, "Self-Healing: A Concept for Musculoskeletal Body Pain Management - Scientific Evidence and Mode of Action," *Journal of Pain Research*, Vol. 14, pp. 2943-2958, 2011. DOI: 10.2147/JPR.S321037.
- [3] G. Albahri, A. Badran, A. Hijazi, ... O. Merah, "The Therapeutic Wound Healing Bioactivities of Various Medicinal Plants," *Life*, Vol. 13, No. 2, 317, 2023. DOI: 10.3390/life13020317.
- [4] S. Arora, S. Arora, "Nutritional significance and therapeutic potential of *Moringa oleifera*: The wonder plant," *Journal of Food Biochemistry*, Vol. 45, No. 10, e13933, 2021. DOI: 10.1111/jfbc.13933.
- [5] A. A. Al-Ghanayem, M. S. Alhussaini, M. Asad, B. Joseph, "*Moringa oleifera* Leaf Extract Promotes Healing of Infected Wounds in Diabetic Rats: Evidence of Antimicrobial, Antioxidant and Proliferative Properties," *Pharmaceuticals (Basel)*, Vol. 15, No. 5, 528, 2022. DOI: 10.3390/ph15050528.
- [6] S. Gothai, P. Arulselvan, W. S. Tan, S. Fakurazi, "Wound healing properties of ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* in normal human dermal fibroblasts," *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, Vol. 5, No. 1, pp. 1-6, 2016. DOI: 10.5455/jice.20160201055629.
- [7] A. A. Al-Ghanayem, M. S. Alhussaini, M. Asad, B. Joseph, "Effect of *Moringa oleifera* Leaf Extract on Excision Wound Infections in Rats: Antioxidant, Antimicrobial, and Gene Expression Analysis," *Molecules*, Vol. 27, No. 14, 4481, 2022. DOI: 10.3390/molecules27144481.
- [8] H. T. Ly, N. M. T. Pham, T. K. O. Nguyen, T.P. Q. Bui, X. Ke, V. M. Le, "Phytochemical Analysis and Wound-Healing Activity of Noni (*Morinda citrifolia*) Leaf Extract," *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, Vol. 26, No. 4, pp. 379-393, 2022. DOI: 10.1080/10496475.2020.1748159.
- [9] Ministry of Health, Vietnam. Test Guideline: Acute Dermal Irritation/corrosion Test (Decisi5on No. 3113/1999/QĐ-BYT, October 11, 1999).
- [10] J. H. Draize, G. Woodward, O. Calvary, "Methods for the Study of Irritation and Toxicity of Substances Applied Topically to the Skin and Mucous Membranes," *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 82, pp. 377-390, 1944.
- [11] B. A. Lipsky, C. Hoey, "Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds," *Clinical*

Infectious Diseases, Vol. 49, pp. 1541-1549, 2009. DOI: 10.1086/644732.

[12] A. Susanto, R. K. Muhaimina, A. Amaliya, A. B. Sutjiatmo, "The effectiveness of ethanolic extract of *Moringa oleifera* (Lam.) gel on the wound healing process of the Rat's palate," *Journal of International Dental and Medical Research*, Vol. 12, No. 12, pp. 504-509, 2019.

[13] S. A. Tofiq, H. A. Azeez, H. H. Othman, "Wound healing activities of *Moringa oleifera* leaves extract cultivated in Kurdistan region-Iraq," *Jordan Journal of Biological Sciences*, Vol. 14, No. 4, pp. 637-645, 2021. DOI: 10.54319/jjbs/140403.

[14] M. Coker, G. Adejo, B. Emikpe, V. Oyebanji, "Evaluation of the wound healing potential of ointment preparation of ethyl acetate extract of *Moringa oleifera* (Lam) in rats," *African Journal of Traditional, Complementary Alternative Medicines*, Vol. 15, No. 3, pp. 64-71, 2018. DOI: 10.21010/ajtcam.v15i3.8.

[15] N. Mohammad Shafie, R. N. I. Raja Shahrman Shah, P. Krishnan, N. Abdul Haleem, T. Y. C. Tan, "Scoping Review: Evaluation of *Moringa oleifera* (Lam.) for Potential Wound Healing in *In Vivo* Studies," *Molecules*, Vol. 27, No. 17, 5541, 2022. DOI: 10.3390/molecules27175541.

Wound healing activity and dermal irritation of the extract and cream preparation from moringa leaves in experimental animals

Ly Hai Trieu, Le Thi Kim Oanh, Dinh Truong Son, Lam Bich Thao,
Le Qui Tri, Nguyen Thi Thu Huong and Le Van Minh

ABSTRACT

Background: Herbal products have been commonly used to heal wounds. *Moringa oleifera* (Lam.) are known to have wound healing capacity. *Objective:* Investigating the wound healing activity and dermal irritation of extract and cream preparation containing *Moringa* leaf extract. *Methods:* Excision wound model in mice was applied to investigate the wound healing activity of the extract and preparation. Skin irritation of the extract and preparation was evaluated by rabbit skin irritation test. *Results:* *Moringa* leaf extract at concentration of 7.5% w/v had a better wound healing effect than other concentrations through its ability to reduce wound area. Treatment of wounds with cream containing 7.5% w/v *Moringa* leaf extract significantly increased wound contraction after 3 days. Furthermore, the extract and cream preparation had the ability to regenerate skin tissue structure in the wound area after 11 days of treatment. On the other hand, the extract and preparation were not significantly irritating to rabbit skin. *Conclusions:* The extract and cream preparation of *Moringa* leaves at concentration of 7.5% w/v had wound healing effect in mice and had no irritation on rabbit skin.

Keywords: *Moringa oleifera* leaf extract, cream preparation, wound healing, dermal irritation

Received: 03/07/2023

Revised: 25/07/2023

Accepted for publication: 23/08/2023