

- Reproductive Medicine, 33 (8), 232-238.
- T. K. Adu-Bredu, M. J. Rijken, A. J. Nieto-Calvache et al** (2023). A simple guide to ultrasound screening for placenta accreta spectrum for improving detection and optimizing management in resource limited settings. 160 (3), 732-741.
 - H. E. Baumann, L. K. A. Pawlik, I. Hoesli et al** (2023). Accuracy of ultrasound for the detection of placenta accreta spectrum in a universal screening population. 161 (3), 920-926.
 - N. M. Hùng** (2017). Nghiên cứu Kết quả Điều trị rau cài rặng lược trên sẹo mổ lấy thai tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội Luận văn Thạc sỹ Y học, Đại học Y Hà Nội.
 - L. X. Thắng** (2020). Nghiên cứu kết quả phẫu thuật rau cài rặng lược trên bệnh nhân có sẹo mổ lấy thai tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội Luận văn chuyên khoa cấp II, Đại học Y Hà Nội.

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC IN VITRO CỦA CAO HOA SAO NHÁI HOA VÀNG ĐỊNH HƯỚNG HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ GOUT (COSMOS SULPHUREUS CAV.)

Tạ Quang Vượng¹, Đinh Trường Sơn^{1,2},
Lê Minh Quân¹, Ngô Kiến Đức¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Gout là bệnh viêm khớp do tình trạng tăng acid uric máu gây ra. Điều trị gout hướng đến tác dụng ức chế enzyme xanthin oxidase (XO), là enzyme có liên quan mật thiết đến sự tạo thành acid uric. Trong nghiên cứu này, Sao nhái hoa vàng (SNHV) (*Cosmos sulphureus Cav.*) được chiết xuất và thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm và ức chế enzyme xanthin oxidase in vitro của các cao chiết thu được. **Đối tượng và phương pháp:** Cao toàn phần hoa được chiết ngâm kiệt bằng ethanol 70%; tỉ lệ được liệu : ethanol là 1:20 (kl/tt). Cao toàn phần được chiết lỏng - lỏng lần lượt với n-hexan, ethyl acetat, n-butanol; thu các phân đoạn tương ứng. Hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần được xác định bằng đo quang phổ UV-Vis. Hoạt tính kháng oxy hóa in vitro được đánh giá thông qua khả năng làm mất màu của 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) và thử nghiệm mất màu ABTS (lần lượt ở bước sóng 515 nm và 734 nm). Hoạt tính kháng viêm được thực hiện trên mô hình ức chế proteinase. Hoạt tính ức chế enzyme xanthin oxidase được xác định bằng đo quang phổ UV-Vis của acid uric tại bước sóng 295 nm. **Kết quả:** Cao toàn phần và các cao phân đoạn (ngoại trừ n-hexan) đều chứa polyphenol và flavonoid trong khoảng từ 88,23 - 719,49 mgGAE/g và 26,21 - 208,12 mgCE/g. Các cao chiết SNHV đều có tác động kháng oxy hóa trên cả hai mô hình DPPH và ABTS. Trong đó, cao ethyl acetat thể hiện hoạt tính tốt nhất với IC₅₀ lần lượt là 7,10 và 6,30 µg/ml. Các cao chiết cũng thể hiện khả năng kháng viêm in vitro trên mô hình proteinase, cao ethyl acetat có giá trị IC₅₀ thấp nhất 92,60 µg/ml tương đương chứng dương aspirin (IC₅₀=84,76 µg/ml). Các cao chiết SNHV có tác dụng ức chế enzyme

xanthin oxidase in vitro phụ thuộc nồng độ. Cao phân đoạn ethyl acetat ức chế XO tốt nhất (IC₅₀ là 89,70 µg/ml) và được chứng minh có cơ chế ức chế dạng hỗn hợp. **Kết luận:** Các cao chiết từ hoa Sao nhái hoa vàng đều có các hoạt tính chống oxy hóa, bắt các gốc tự do DPPH và ABTS, kháng viêm và ức chế enzyme xanthine oxidase in vitro. Dược liệu hoa SNHV có tiềm năng trong điều chế các chế phẩm hỗ trợ điều trị bệnh gout. **Từ khóa:** *Cosmos sulphureus Cav.*, kháng gout, kháng oxy hóa, DPPH, ABTS, kháng viêm.

SUMMARY

IN VITRO GOUT TREATMENT-ORIENTED BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE EXTRACT OF COSMOS SULPHUREUS CAV. FLOWER

Objectives: Gout is an inflammatory arthritis caused by hyperuricemia. Gout treatment is aimed at inhibiting the enzyme xanthine oxidase (XO), which is an enzyme related to uric acid formation. In this study, *Cosmos sulphureus* flowers extract and its fractions was evaluated for the antioxidant, anti-inflammatory and xanthine oxidase inhibitory activities in vitro. **Methods:** Dried powder of *Cosmos sulphureus* flowers was percolated in 70% aqueous-ethanol with a ratio of material and solvent of 1:20 w/v. Crude extract was fractionated using liquid-liquid extraction with different solvents of n-hexane, ethyl acetate and n-butanol. Total polyphenols and flavonoids contents were determined by UV-Vis spectrophotometry when colored with Folin-Ciocalteu reagents and aluminum chloride method expressed as gallic acid and coreopsin equivalents, respectively. The capacity of antioxidants of *Cosmos sulphureus* extracts was assessed in DPPH and ABTS radicals scavenging method. The anti-inflammatory activities was performed by the proteinase inhibitory activities. The capacity of xanthine oxidase inhibition activity of the *Cosmos sulphureus* extracts was determined the concentration of uric acid measuring by the absorption at wavelength of 295 nm. **Results:** There was a wide range of polyphenols and flavonoids contents in *Cosmos sulphureus* flowers extract and its fractions (except for n-hexan fraction), the value varied from từ

¹Đại học Y Dược TP HCM

²Trung tâm Sâm và Dược liệu, TP HCM

Chịu trách nhiệm chính: Ngô Kiến Đức

Email: ngokienduc@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 12.01.2024

Ngày phản biện khoa học: 16.2.2024

Ngày duyệt bài: 18.3.2024

88.23 ± 9.66 to 719.49 ± 10.06 mgGAE/g for polyphenols and from 26.21 ± 1.27 to 208.12 ± 11.85 mgCE/g for flavonoids. The antioxidant experiment using DPPH test suggests that all extracts of *Cosmos sulphureus* was capable of scavenging free radicals. The inhibition of DPPH reached 50% with an IC₅₀ as follows 13.29 ± 0.22 µg/mL for crude extract, 7.1 ± 0.08 µg/mL for ethyl acetate fraction, 23.69 ± 0.20 µg/mL for n-butanol fraction, 139.68 ± 0.67 µg/mL for aquarius fraction and 112.93 ± 1.55 µg/mL for n-hexan fraction, respectively. All of *Cosmos sulphureus* extracts elicited a dose dependent inhibition of xanthine oxidase. The IC₅₀ results showed that the strongest activity was observed with ethyl acetate fraction (IC₅₀ = 89.70 ± 1.09 µg/mL). The following experiments indicates that ethyl acetate fraction (IC₅₀ = 90 µg/mL) is a potent xanthine oxidase inhibitor, showed a mixed-type of inhibition pattern.

Conclusions: All of the extracts from the *Cosmos sulphureus* flowers have strongly antioxidant activities, scavenging DPPH and ABTS free radicals, anti-inflammatory and inhibitory enzyme xanthine oxidase in vitro. The *Cosmos sulphureus* flower was a potential materials for product a preparations to support the treatment of gout.

Keywords: *Cosmos sulphureus* Cav., gout, antioxidant, DPPH, ABTS, anti-inflammatory.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh gout là một bệnh rối loạn chuyển hóa base nhân purin ngày càng phổ biến và có xu hướng gia tăng. Cơ chế bệnh sinh của gout là do sự gia tăng nồng độ acid uric trong cơ thể, đồng thời cũng gia tăng nồng độ các gốc oxy hóa gây tổn thương tế bào. Khi acid uric trong máu tăng tăng cao vượt quá giới hạn sẽ xuất hiện các đợt gout cấp với tình trạng viêm, đau khớp dữ dội do sự lắng đọng các tinh thể muối urat trong khớp [1]. Trong thực tế lâm sàng, thuốc hóa được chỉ định đầu tay trong điều trị bệnh gout hiện nay là allopurinol, tuy nhiên allopurinol lại có nhiều tác dụng phụ như tăng enzym gan, suy thận và đặc biệt là dị ứng. Bệnh cạnh đó, khi điều trị cơn gout cấp cần phải sử dụng thêm các thuốc kháng viêm để làm giảm triệu chứng viêm cấp [2]. Vì thế trước những tác dụng phụ có hại allopurinol, xu hướng sử dụng các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu có hoạt tính ức chế xanthin oxidase và có tác động kháng viêm nhằm hỗ trợ điều trị gout, giảm tác dụng phụ ngày càng phát triển. Một số hợp chất được tìm thấy trong dược liệu như flavonoid (quercetin, luteolin, coreopsin), carotenoid đã được biết tới có khả năng ức chế enzym xanthin oxidase giúp làm giảm acid uric [3]. Việc ức chế enzym xanthin oxidase cũng là một cơ chế chống oxy hóa hiệu quả do enzym xanthin oxidase sinh ra các gốc tự do superoxide, khi nồng độ các gốc tự do này quá cao sẽ gia tăng nguy cơ mắc các

bệnh tim mạch, gây lão hóa và ung thư [4]. Sao nhái hoa vàng (*Cosmos sulphureus*) là một loại cây cảnh được trồng nhiều nơi trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Loài cây này đã được báo cáo có nhiều hoạt tính sinh học mạnh như ức chế vi khuẩn, nấm, virus và có tác dụng kháng viêm trên các mô hình động vật thử nghiệm gây loét dạ dày, viêm gan, viêm khớp [5]. Hợp chất chính trong cánh hoa là coreopsin - dạng glycoside của butein được phân lập từ những loài khác đã được nghiên cứu cho thấy nhiều tác dụng sinh học trong hỗ trợ điều trị nhiều bệnh nhờ có đặc tính chống oxy hóa, kháng viêm, ức chế gây độc tế bào ung thư, hỗ trợ điều trị bệnh gout, hỗ trợ điều trị đái tháo đường và có hoạt tính kháng khuẩn. Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá hoạt tính sinh học in vitro của cao hoa sao nhái hoa vàng định hướng hỗ trợ điều trị gout (*Cosmos sulphureus* Cav.).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Hoa của cây Sao nhái hoa vàng (*Cosmos sulphureus* Cav.), thu hái tại khu du lịch "Vườn hoa Bốn Mùa", huyện Xuân Lộc, tỉnh Đồng Nai vào tháng 6/2022. Dược liệu sau khi thu hái tiến hành định danh thực vật tại Bộ môn Bộ Môn Thực Vật, Viện Dược liệu.

Hóa chất, dụng môi:

Enzyme: xanthin oxidase (Sigma, số lot 238158340), trypsin (Sigma, số lot 102205492)

Chất chuẩn, chất đối chiếu: coreopsin (98%, Herbest, Trung Quốc, số lot HR1239W3), acid gallic (98%, SantaCruz Biotechnology, Mỹ), aspirin (Viện kiểm nghiệm, số lot QT078110619), acid ascorbic (Viện kiểm nghiệm, số lot QT016090717), allopurinol (Sigma, số lot MKBZ0649V), DPPH (SantaCruz Biotechnology, Mỹ, số lot L1118), ABTS (TCI, Trung Quốc, số lot U6GJC-RT)

Thiết bị: cân phân tích (Satorius, Đức); máy đo quang phổ UV-Vis SP8001 (Đức), Máy cô quay chân không (Heidolph, Đức).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất cao tổng và các cao phân đoạn: Hoa Sao nhái hoa vàng (SNHV) tươi sau khi thu hái được loại tạp chất, phơi rồi xay đến kích thước 2 mm. Ngâm kiệt 1000 g bột SNHV với 20 lít ethanol 70%, tốc độ rút dịch 2 ml/phút. Dịch chiết thu được được cô quay áp suất giảm để tạo 450 g cao toàn phần (CrE). Chiết lỏng - lỏng 50 g cao toàn phần với lần lượt các dung môi n-hexan, ethyl acetat, n-butanol thu được 8,57 g cao n-hexan, 14,90 g cao ethyl acetat, 11,54 g cao n-butanol, cô dịch nước còn lại được

10,90 g cao nước.

Định lượng polyphenol toàn phần:

Đường chuẩn acid gallic được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch acid gallic 1 mg/ml với methanol có nồng độ trong khoảng 10 - 50 µg/ml. Hút chính xác 1 ml mỗi dung dịch chuẩn, thêm 5 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và 4 ml Na₂CO₃ 7,5%. Hỗn hợp được giữ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút rồi đo quang ở 765 nm. Đường tuyến tính được xây dựng dựa trên mối tương quan giữa mật độ quang và nồng độ của dãy chuẩn. Mẫu thử nguyên liệu được chuẩn bị bằng cách cân chính xác khoảng 0,2 g bột được liệu chiết siêu âm với 100 ml ethanol 70%. Mẫu thử cao chiết được chuẩn bị bằng cách tiến hành pha loãng 0,1 g cao chiết bằng ethanol 70% đến các nồng độ thích hợp. Các mẫu thử được tiến hành tạo màu với thuốc thử Folin-Ciocalteu tương tự chuẩn acid gallic. Hàm lượng polyphenol toàn phần là số mg đường lượng acid gallic trên 1 g mẫu thử khô kiệt (mgGAE/g).

Định lượng flavonoid toàn phần: Đường chuẩn coreopsin được chuẩn bị bằng cách pha loãng coreopsin 1 mg/ml với methanol thành dãy nồng độ trong khoảng 10 - 100 µg/ml. Hút chính xác 1 ml mỗi dung dịch chuẩn, thêm 0,3 ml NaNO₂ 5%, sau 5 phút thêm 0,3 ml AlCl₃ 10%, sau 6 phút thêm 2 ml NaOH 1M và nước cất vừa đủ 10 ml. Đo độ hấp thụ quang phổ tại bước sóng 515 nm. Mẫu thử nguyên liệu được chuẩn bị bằng cách cân chính xác khoảng 0,5 g bột được liệu chiết siêu âm với 100 ml ethanol 70%. Mẫu thử các cao chiết được chuẩn bị bằng cách cân chính xác khoảng 0,1 g mẫu cao chiết hòa tan trong ethanol 70% đến nồng độ thích hợp. Các mẫu thử được tiến hành tạo màu tương tự mẫu chuẩn coreopsin. Hàm lượng flavonoid toàn phần là số mg đường lượng coreopsin trên 1 g mẫu thử khô kiệt (mgCE/g).

Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa in vitro:

Thử nghiệm DPPH: Các cao SNHV được pha thành các dung dịch thử bằng methanol với nồng độ thích hợp. Thành phần hỗn hợp bao gồm: 0,5 ml dung dịch thử, 0,5 ml DPPH 0,6 mM, sau đó thêm 4 ml methanol. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở nhiệt độ thường, tránh ánh sáng trong 30 phút, đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Xác định giá trị IC₅₀ dựa trên phương trình tuyến tính của từng loại cao. Acid ascorbic được dùng làm chứng dương.

Thử nghiệm ABTS: Các cao SNHV được pha thành các dung dịch mẫu thử bằng methanol với nồng độ thích hợp. Chuẩn bị dung dịch ABTS^{•+} bằng cách cho dung dịch ABTS 7mM vào dung dịch K₂S₂O₈ 2,4 mM với thể tích bằng nhau rồi ủ

trong bóng tối 16 giờ, ở nhiệt độ phòng. Sau đó pha loãng dung dịch ABTS^{•+} bằng methanol để thu được độ hấp thụ 0,706 ± 0,01 đơn vị ở bước sóng 734 nm. Tiến hành phản ứng: hỗn hợp phản ứng bao gồm 1,0 ml dung dịch thử ở những nồng độ khác nhau và 1,0 ml dung dịch ABTS^{•+} đã pha loãng, được ủ 7 phút ở điều kiện nhiệt độ thường, tránh ánh sáng. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 734 nm bằng máy đo quang phổ. Sử dụng acid ascorbic làm chuẩn đối chiếu.

Khảo sát hoạt tính kháng viêm in vitro với mô hình ức chế enzyme proteinase:

Chuẩn bị các dung dịch gốc có nồng độ 1 mg/ml trong dung dịch DMSO 5% từ các cao SNHV. Các dung dịch thử có nồng độ khác nhau được pha loãng bằng nước cất hai lần từ dung dịch gốc này. Dung dịch phản ứng bao gồm 0,06 mg Trypsin, 1 ml đệm Tris-HCl 20 mM (pH 7,4), và 1ml mẫu thử nồng độ khác nhau. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở 37°C trong 5 phút, sau đó thêm 1 ml casein 0,8% vào và ủ hỗn hợp trong 20 phút nữa. Sau khi kết thúc quá trình ủ, 2 ml acid pecloric 70% được thêm vào để kết thúc phản ứng. Đem hỗn hợp đi ly tâm và đo độ hấp thụ của phần nổi phía trên ở bước sóng 210 nm. Dung dịch đệm Tris-HCl được sử dụng làm mẫu trắng, sử dụng Aspirin làm chất đối chiếu.

Khảo sát khả năng ức chế hoạt tính enzym xanthine oxidase in vitro:

Các cao SNHV được pha trong DMSO 5% để tạo các dung dịch gốc có nồng độ 10 mg/ml. Sau đó dung dịch gốc này được pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat thành các dung dịch mẫu thử có nồng độ phù hợp. Khả năng ức chế enzym XO được xác định bằng cách lấy 0,1 ml dung dịch thử thêm 0,475 ml đệm phosphat pH 7,5; 0,025 ml enzym XO 0,2 U/ml, ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Thêm 0,4 ml xanthin 2 mM, ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Dùng phản ứng bằng cách thêm 0,5 ml HCl 1M, sau đó thêm 0,5 ml đệm phosphat pH 7,5. Đo mật độ quang ở bước sóng 295 nm. Mẫu chứng được tiến hành tương tự nhưng thay 0,1 ml dung dịch thử bằng 0,1 ml đệm phosphat pH 7,5. Xác định giá trị IC₅₀ dựa trên phương trình tuyến tính của từng loại cao, sử dụng Allopurinol làm đối chứng.

Xác định cơ chế ức chế của cao phân đoạn tiềm năng:

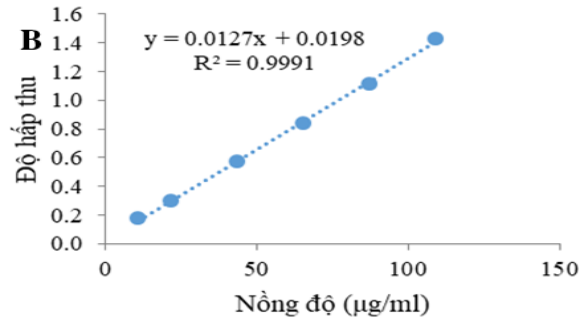
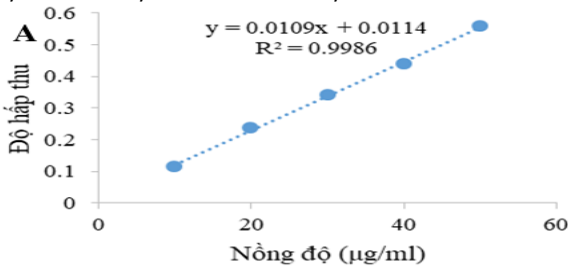
Mẫu thử là cao phân đoạn có hoạt tính ức chế xanthine oxidase mạnh nhất. Quy trình tương tự khảo sát khả năng ức chế xanthine oxidase nhưng thay đổi nồng độ xanthin từ 0,25 - 2,5 mM. Kết quả sau khi đo quang được xử lý, vẽ đồ thị theo phương trình Lineweaver-Buck dựa trên đường tuyến tính của mẫu thử có chứa cao phân đoạn tiềm năng và

không chứa cao, và xác định cơ chế ức chế XO của phân đoạn cao tiềm năng.

2.3. Xử lý số liệu: Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2013. Các kết quả được biểu diễn dưới dạng Mean ± SD (n = 3).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần. Có sự tương quan tuyến tính giữa độ hấp thu và nồng độ acid gallic trong khoảng nồng độ từ 10 - 50 µg/ml. Phương trình hồi quy tuyến tính được xác định từ thực nghiệm là $y = 0,0109x + 0,0114$ với $R^2 = 0,9986$.



Hình 1. Đường tuyến tính thể hiện độ hấp thu theo nồng độ acid gallic (A) và coreopsin (B)

Tương tự, độ hấp thu và nồng độ coreopsin trong khoảng nồng độ từ 10 - 100 µg/ml cũng có mối tương quan chặt chẽ. Phương trình hồi quy tuyến tính được xác định từ thực nghiệm là $y = 0,0127x + 0,0198$ với $R^2 = 0,9991 > 0,995$. Do đó có thể sử dụng các đường chuẩn trên để ngoại suy hàm lượng polyphenol và flavonoid có trong mẫu thử.

Bảng 1. Hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần trong dược liệu và cao hoa SNHV

Mẫu thử	Nguyên liệu	Cao toàn phần	Cao ethyl acetat	Cao n-butanol	Cao nước
Hàm lượng polyphenol toàn phần (mgGAE/g)	129,03±2,25	277,51±4,70	719,49±10,06	112,53±12,44	88,23±9,66
Hàm lượng flavonoid toàn phần (mgCE/g)	47,34±0,92	97,52±2,51	208,12±11,85	62,22±2,15	26,21±1,27

Kết quả cho thấy polyphenol có mặt trong cao toàn phần và các cao phân đoạn ethyl acetat, n-butanol và cao nước. Phân đoạn n-hexan là dung môi không phân cực nên gần như không chứa hợp chất polyphenol. Hàm lượng polyphenol cao nhất trong phân đoạn ethyl acetat là $719,49 \pm 10,06$ mgGAE/g, gấp khoảng 3 lần so với cao toàn phần và 7 lần so với cao n-butanol. Cao nước cũng có chứa hàm lượng thấp polyphenol so với các cao khác.

Kết quả định lượng cho thấy flavonoid có mặt trong cao toàn phần và các cao phân đoạn ethyl acetat, n-butanol và cao nước. Hàm lượng flavonoid cao nhất trong phân đoạn ethyl acetat là $208,12 \pm 11,85$ mgCE/g, cao gấp 2 lần so với cao toàn phần và 3 lần so với cao n-butanol. Trong cao nước cũng chứa lượng thấp flavonoid ($87,77 \pm 0,67$ mgCE/g).

3.2. Hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm in vitro của các cao SNHV

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa: Từ IC₅₀ cho thấy cao toàn phần và các cao phân đoạn đều có hoạt tính kháng oxy hóa trên cả hai mô hình thực nghiệm. Trong thử nghiệm DPPH giá trị IC₅₀ dao động từ $7,1 \pm 0,08$ µg/ml

đến $139,68 \pm 0,67$ µg/ml (chứng dương acid ascorbic có IC₅₀ $4,14 \pm 0,016$ µg/ml). Trong thử nghiệm ABTS cho thấy cao toàn phần và các cao phân đoạn của hoa SNHV đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa thông qua việc loại bỏ các gốc tự do ABTS với giá trị IC₅₀ từ $6,30 \pm 0,021$ µg/ml đến $126,45 \pm 0,188$ µg/ml. Các kết quả được so sánh với chứng dương là acid ascorbic với IC₅₀ là $4,29 \pm 0,031$ µg/ml. Khả năng kháng oxy hóa của phân đoạn ethyl acetat là cao nhất trong cả hai mô hình với giá trị IC₅₀ gấp khoảng 2 lần so với chứng dương, cao n-butanol có hoạt tính kháng oxy hóa trung bình với giá trị IC₅₀ lần lượt gấp khoảng 7 lần so với acid ascorbic, cao toàn phần cũng thể khả năng kháng oxy tốt với IC₅₀ gấp khoảng từ 3 đến 4 lần đối chứng dương. Cao nước và cao n-hexan thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa yếu, tuy nhiên ở mô hình ABTS phân đoạn cao chiết n-hexan cho khả năng chống oxy hóa mạnh với IC₅₀ $27,71 \pm 0,053$ µg/ml (lớn hơn chứng dương khoảng 7 lần).

Khảo sát hoạt tính kháng viêm in vitro với mô hình ức chế enzyme proteinase: Cao toàn phần và các cao phân đoạn của hoa SNHV đều thể hiện khả năng ức chế enzym proteinase

với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ $92,60 \pm 0,696 \mu\text{g/ml}$ đến $1134,57 \pm 21,746 \mu\text{g/ml}$, kết quả được so sánh với chứng dương aspirin với IC_{50} là $84,76 \pm 0,665 \mu\text{g/ml}$. Khả năng ức chế enzym proteinase của phân đoạn ethyl acetat là cao nhất với giá trị IC_{50} $92,60 \pm 0,696 \mu\text{g/ml}$ gần tương đương với chứng dương. Cao toàn phần, cao n-butanol với khả năng ức chế enzym proteinase trung bình với giá trị IC_{50} gấp khoảng 3 và 5 lần aspirin. Khả năng ức chế enzym proteinase thấp hơn ở cao n-hexan với IC_{50} $944,01 \pm 1,809 \mu\text{g/ml}$, gấp khoảng 11 lần chứng dương. Cuối cùng là cao nước với khả năng ức chế thấp nhất so với các cao còn lại với trị số IC_{50} $1134,57 \pm 21,746 \mu\text{g/ml}$ cao hơn aspirin khoảng 13 lần. Ngoại trừ cao n-hexan, cao toàn phần và các cao phân đoạn còn lại của hoa SNHV có sự tương quan giữa hàm lượng flavonoid và khả năng ức chế enzym, cao nhất là cao phân đoạn ethyl acetat và thấp nhất ở cao nước.

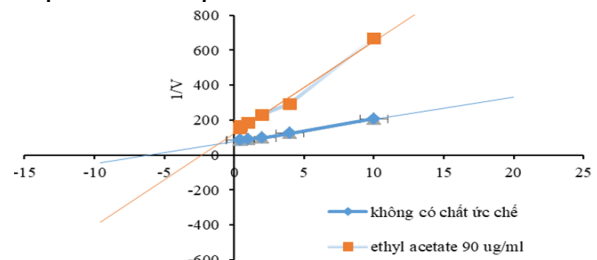
3.3. Hoạt tính ức chế enzym xanthin oxidase in vitro của các cao hoa SNHV. Cao toàn phần, cao nước, cao n-butanol, cao n-hexan và cao ethyl acetat có khả năng ức chế enzym XO với IC_{50} từ $89,70 \pm 1,09 \mu\text{g/ml}$ đến $1138,54 \pm 5,62 \mu\text{g/ml}$ (so với chứng dương allopurinol có IC_{50} là $2,36 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$). Phân đoạn ethyl acetat cho hoạt tính ức chế enzym XO cao nhất, tuy nhiên hoạt tính vẫn thấp hơn so với chứng dương allopurinol khoảng 40 lần. Tiếp theo là cao toàn phần và cao n-butanol có hoạt tính ức chế enzym XO trung bình với IC_{50} lần lượt là $402,36 \pm 3,76 \mu\text{g/ml}$, $359,26 \pm 4,56 \mu\text{g/ml}$. Phân đoạn n-hexan có khả năng ức chế enzym XO yếu, giá trị IC_{50} có giá trị là $1138,54 \pm 5,62 \mu\text{g/ml}$, hoạt tính thấp hơn allopurinol khoảng 500 lần. Cao nước hầu như không có hoạt tính ức chế enzym XO. Ngoại trừ cao n-hexan, cao toàn phần và các cao phân đoạn còn lại cho thấy sự tương quan giữa hàm lượng flavonoid và khả năng ức chế enzym, phân đoạn ethyl acetat có hàm lượng flavonoid cao nhất nên thể hiện khả năng ức chế XO cao nhất, cao nước có hàm lượng flavonoid thấp nên hầu như không ức chế enzyme XO.

3.4. Xác định cơ chế ức chế enzym xanthin oxidase của phân đoạn cao tiềm năng. Từ kết quả khảo sát khả năng ức chế enzyme XO, cao ethyl acetat có hoạt tính mạnh nhất với IC_{50} là $89,70 \pm 1,09 \mu\text{g/ml}$. Do đó, lựa chọn dung dịch mẫu thử là cao ethyl acetat nồng độ $90 \mu\text{g/ml}$ để khảo sát cơ chế ức chế. Dựa vào đồ thị xây dựng từ phương trình Lineweaver-Buck, phân đoạn cao ethyl acetat có cơ chế ức chế hỗn hợp (Hình 2).

IV. BÀN LUẬN

Hàm lượng polyphenol toàn phần và flavonoid toàn phần của cao hoa SNHV:

Trong hoa SNHV có chứa hàm lượng lớn các polyphenol và flavonoid. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, theo đó hoa SNHV chứa nhiều hợp chất polyphenol và các flavonoid như rutin, quercetin, acid caffeic. Trong các cao chiết phân đoạn thì polyphenol và flavonoid tập trung nhiều ở phân đoạn ethyl acetat, cao gấp 3 lần so với cao toàn phần và 7 lần cao n-butanol. Trong phân đoạn ethyl acetat chứa hợp chất chủ yếu là flavonoid. Điều này có thể được giải thích do cao toàn phần có chứa thêm hàm lượng các hợp chất không phân cực, sau khi được tách các hợp chất trên bằng dung môi n-hexan thì phân đoạn ethyl acetat đã chứa hàm lượng polyphenol và flavonoid cao. Kết quả này thuận lợi cho nghiên cứu cơ chế tác động khi khảo sát các hoạt tính sinh học trên hoa.



Hình 2. Biểu đồ xây dựng từ phương trình Lineweaver-Buck khảo sát cơ chế ức chế enzym XO cho cao phân đoạn ethyl acetat

Khả năng kháng oxy hóa in vitro của hoa SNHV: Thông qua hai mô hình háng oxy hóa DPPH và ABTS, kết quả cho thấy cao toàn phần và các cao phân đoạn của hoa SNHV đều có khả năng kháng oxy hóa in vitro phụ thuộc nồng độ. Cao toàn phần với giá trị IC_{50} gấp 3 lần trong thử nghiệm DPPH và 4 lần trong thử nghiệm ABTS so với chứng dương acid ascorbic cho thấy hoa SNHV có khả năng kháng oxy hóa tốt. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Jadav và cộng sự về kết quả cho thấy chiết xuất methanol của hoa SNHV có khả năng cao trong việc ức chế gốc tự do DPPH (89,87%), gần bằng chất đối chứng acid ascorbic (94,05%) ở cùng nồng độ $500 \mu\text{g/ml}$, tuy nhiên báo cáo ông xác định chưa biết rõ được hợp chất nào trong hoa mang lại tác động oxy hóa. Do đó, nghiên cứu đã khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa ở các cao phân đoạn để tìm hiểu cơ chế kháng oxy hóa. Kết quả cho thấy phân đoạn cao ethyl acetat có hoạt tính chống oxy hóa rất mạnh với IC_{50} lần lượt là $7,1 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$ và $6,30 \pm 0,021$ trong hai mô hình. Đối chiếu với hàm lượng flavonoid

và polyphenol ở mỗi cao phân đoạn, thấy rằng khả năng kháng oxy hóa của hoa SNHV chủ yếu là do tác động các hợp chất flavonoid có trong hoa. Phân đoạn n-hexan tuy không có polyphenol cũng có khả năng kháng oxy hóa yếu trong mô hình DPPH ($IC_{50} = 112,93 \pm 1,55 \mu\text{g/ml}$), điều này có thể giải thích do các hợp chất màu không phân cực, nhất là các carotenoid trong hoa SNHV có trong phân đoạn n-hexan góp phần tác động kháng oxy hóa. Bên cạnh đó, mô hình DPPH không thích hợp cho các hợp chất kém phân cực, nghiên cứu đã tiến hành thêm trên ABTS và phân đoạn n-hexan thể hiện tác động kháng oxy hóa khá tốt với giá trị IC_{50} gấp khoảng 7 lần acid ascorbic [6].

Khả năng kháng viêm in vitro của cao hoa SNHV trên mô hình ức chế enzyme proteinase: Cao toàn phần và các cao phân đoạn hoa SNHV đều cho tác động ức chế enzyme proteinase. Cao toàn phần cho kết quả ức chế enzyme mạnh ($IC_{50} = 233,07 \pm 1,162 \mu\text{g/ml}$) so với chứng dương aspirin ($IC_{50} = 84,76 \pm 0,665 \mu\text{g/ml}$). Tuy nhiên khả năng ức chế mạnh nhất là cao phân đoạn ethyl acetat cho giá trị IC_{50} là $92,60 \pm 0,696 \mu\text{g/ml}$, gần tương đương với aspirin. Cao n-butanol cho nồng độ ức chế 50% enzyme cao hơn khoảng 5 lần so với chứng dương. Cao n-hexan, cao nước cho khả năng ức chế đáng kể nhưng yếu hơn các cao còn lại. Từ đó cho thấy hoa SNHV cho tác động ức chế enzyme proteinase tốt và tác động này chủ yếu do các hợp chất flavonoid có trong hoa tác động. Các công trình nghiên cứu đã phân lập được các hợp chất flavonoid trong hoa SNHV như quercetin, butein, luteolin, sulphuretin, fustin được chứng minh là có tác động kháng viêm. Đặc biệt là sulphuretin, fustin có trong hoa SNHV đã được tìm thấy trong vỏ thân loài *Rhus verniciflua* cho tác động kháng viêm mạnh khi thử nghiệm trên mô hình in vivo, bên cạnh đó còn có tác động chống oxy, ức chế enzyme xanthin oxidase và một số enzyme liên quan đến các bệnh chuyển hóa trong cơ thể [7]. Coreopsin là dạng glycoside của butein - flavonoid đặc trưng cho hoa đã được thử nghiệm in vivo cho kết quả kháng viêm mạnh. Butein ức chế sự tạo ra các loại oxy phản ứng (ROS) do TNF- α gây ra và kích hoạt yếu tố hạt nhân- κB (NF- κB) trong các tế bào A549; hợp chất này cũng ức chế quá trình phosphoryl hóa MAPK và Akt, cho thấy rằng đường truyền tín hiệu MAPK/Akt có thể liên quan đến sự ức chế qua trung gian butein đối với sự kết dính bạch cầu do TNF- α gây ra với các tế bào A549. Butein ảnh hưởng đến sự kết dính của tế bào thông qua việc ức chế biểu hiện ICAM-1 và

VCAM-1 do TNF- α gây ra bằng cách ức chế đường truyền tín hiệu NF- κB /MAPK/Akt và việc tạo ra ROS, từ đó làm sáng tỏ vai trò của butein trong phản ứng kháng viêm. Cao n-hexan hầu như không có các polyphenol, flavonoid nhưng vẫn cho tác dụng ức chế enzyme trung bình ($IC_{50} = 944,01 \pm 1,809 \mu\text{g/ml}$) so với chứng dương aspirin ($IC_{50} = 84,76 \pm 0,665 \mu\text{g/ml}$). Từ đó cho thấy các thành phần kém phân cực trong hoa SNHV, trong đó có carotenoid cũng cho tác động ức chế enzyme proteinase đáng kể.

Khả năng ức chế hoạt tính enzyme xanthin oxidase in vitro của cao hoa SNHV: Cao toàn phần và các cao phân đoạn đều có khả năng ức chế enzyme XO, trong đó phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính ức chế XO mạnh nhất ($IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$). Vì thế, hoa của cây SNHV rất khả quan trong việc ứng dụng hỗ trợ điều trị bệnh gout. Từ kết quả định lượng flavonoid và khả năng kháng oxy hóa đã được thực hiện, có thể khả năng ức chế enzyme XO chủ yếu do hợp chất flavonoid có trong hoa tác động. Cao n-hexan có tác động ức chế XO yếu dù không có polyphenol và flavonoid có thể được giải thích do các hợp chất màu không phân cực trong đó có carotenoid tác động [7]. Cao toàn phần cũng có tác động ức chế XO tương đối đáng kể với giá trị $IC_{50} 407,47 \pm 3,18 \mu\text{g/ml}$. Các công trình nghiên cứu trước đây phân lập được các hợp chất có trong hoa SNHV hoa vàng như luteolin, quercetin coreopsin, acid caffeic đều đã được chứng minh có tác động ức chế enzyme XO [3]. Flavonoid chính - butein dạng glycoside (coreopsin) đã được tìm thấy có tác dụng ức chế hoạt động của xanthine oxidase (XO). Phân tích động học ức chế cho thấy butein có khả năng ức chế XO mạnh hơn theo cơ chế ức chế cạnh tranh không nghịch đảo với giá trị IC_{50} là $2,93 \mu\text{M}$.

Cơ chế ức chế enzyme xanthin oxidase của phân đoạn cao tiềm năng: Từ đồ thị xây dựng dựa trên phương trình Lineweaver-Buck, phân đoạn cao ethyl acetat có cơ chế ức chế hỗn hợp, trong các cao dược liệu có chứa phức hợp nhiều thành phần với các kiểu cơ chế ức chế cạnh tranh khác nhau nên cơ chế ức chế hỗn hợp là cơ chế phổ biến của cao dược liệu.

V. KẾT LUẬN

Các cao chiết từ hoa Sao nhái hoa vàng đều có các hoạt tính chống oxy hóa, bắt các gốc tự do DPPH và ABTS, kháng viêm và ức chế enzyme xanthine oxidase in vitro. Dược liệu hoa SNHV có tiềm năng trong điều chế các chế phẩm hỗ trợ điều trị bệnh gout.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Ngô Quý Châu** (2012), Bệnh học Nội khoa tập 2, NXB Y học, tr.171.
2. **Nguyễn Thị Ngọc Lan** (2015), Bệnh học Cơ Xương khớp nội khoa, NXB Y học, tr.187-189.
3. **Oskoueian E., Abdullah N., Hendra R., and Karimi E.** (2011). "Bioactive Compounds, Antioxidant, Xanthine Oxidase Inhibitory, Tyrosinase Inhibitory and Anti-Inflammatory Activities of Selected Agro-Industrial By-products.", International Journal of Molecular Sciences, 12(12), pp. 8610 - 8625.
4. **Sachidanandam K., Fagan S., and Ergul A.** (2005), "Oxidative stress and cardiovascular disease: antioxidants and unresolved issues," Cardiovascular Drug Reviews, 2(32), pp. 115 - 132.
5. **ISO.** Determination of substances characteristic of green and black tea-Part 1: Content of total polyphenols in tea-Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. 2005;
6. **Young A., Lowe G.** (2018), "Carotenoids - Antioxidant Properties", Antioxidants, 7(2), pp. 28.
7. **Kishimoto S., Ohmiya A.** (2009), "Studies on Carotenoids in the Petals of Compositae Plants", Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 78(3), pp. 263 - 272.

ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ SỬ DỤNG VẬT TẠI CHỖ ĐIỀU TRỊ KHUYẾT HỔNG PHẦN MỀM SAU CẮT BỎ KHỐI U VÙNG MẶT TẠI BỆNH VIỆN HỮU NGHỊ ĐA KHOA NGHỆ AN

Bùi Văn Cường¹, Phan Ngọc Khóa², Vũ Ngọc Lâm³,
Dương Mạnh Chiến⁴, Đào Xuân Thành⁴

TÓM TẮT⁷¹

Mục tiêu: Đánh giá kết quả sử dụng vật tại chỗ điều trị khuyết hồng phần mềm sau cắt bỏ khối u vùng mặt tại Bệnh viện Hữu nghị Đa khoa Nghệ An. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu gồm 34 bệnh nhân có tổn thương khuyết hồng phần mềm vùng mặt sau cắt bỏ khối u được tạo hình bằng vật tại chỗ tại Bệnh viện Hữu nghị Đa khoa Nghệ An từ tháng 01/2017 đến tháng 11/ 2022. **Kết quả:** Kết quả cho thấy sau phẫu thuật 7 ngày: 91,18% bệnh nhân có vật sống hoàn toàn; 8,82% vật bị thiếu dưỡng nhẽ. 100% bệnh nhân được che phủ khuyết hồng vùng mặt sau phẫu thuật. 97,06% bệnh nhân liền ngay lần đầu phẫu thuật; 94,12% bệnh nhân không có biến chứng và 94,12% bệnh nhân được đánh giá có kết quả tốt sau phẫu thuật. Đánh giá kết quả phẫu thuật 3 tháng cho thấy: 94,12% bệnh nhân có kết quả đồng màu giữa vùng phẫu thuật và da các vùng khác; 100% bệnh nhân có vật đủ dày và liền sẹo tốt và 94,12% bệnh nhân có kết quả tốt sau phẫu thuật 3 tháng. **Kết luận:** Phẫu thuật sử dụng vật tại chỗ điều trị khuyết hồng phần mềm vùng mặt sau cắt bỏ khối u mang lại hiệu quả cao cả về mặt chức năng, hình thể và chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân.

Từ khóa: Chuyển vật tại chỗ, bệnh nhân khuyết hồng phần mềm vùng mặt, kết quả điều trị.

SUMMARY

EVALUATION OF THE RESULTS OF USING FLAPS IN PLACE OF TREATMENT SOFT PART DEFECTS AFTER FACIAL TUMOR REMOVAL AT NGHE AN GENERAL HOSPITAL

Objective: Evaluate the results of using local flaps to treat soft tissue defects after facial tumor removal at Nghe An General Hospital. **Methods:** The study included 34 patients with soft tissue defects in the facial area after tumor resection and reconstructed with local flaps at Nghe An General Hospital from January 2017 to November 2022. **Results:** Results showed that 7 days after surgery: 91.18% of patients had complete living flaps; 8.82% of flaps were mildly malnourished. 100% of patients had facial defects covered after surgery. 97.06% of patients healed immediately after the first surgery; 94.12% of patients had no complications and 94.12% of patients were assessed to have good results after surgery. Evaluation of 3-month surgical results showed that: 94.12% of patients had uniform color results between the surgical area and the skin of other areas; 100% of patients had flaps that were thick enough and healed well and 94.12% of patients had good results 3 months after surgery. **Conclusion:** Surgery using local flaps to treat soft tissue defects in the facial area after tumor removal brings great results in terms of eye function, appearance, and quality of life for patients. **Keywords:** Local flap transfer, patients with facial soft tissue defects, results of treatment.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tổn khuyết phần mềm vùng mặt sau phẫu thuật cắt bỏ khối u thường gặp với sự đa dạng về mức độ và hình thái tổn thương. Phẫu thuật tạo hình phần mềm vùng mặt sau phẫu thuật cắt bỏ khối u là nhu cầu cấp thiết về thẩm mỹ và đảm

¹Bệnh viện Đa khoa An Việt

²Bệnh viện Hữu nghị Đa khoa Nghệ An

³Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

⁴Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Văn Cường

Email: buicuong25583@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.01.2024

Ngày phản biện khoa học: 20.2.2024

Ngày duyệt bài: 21.3.2024