

STUDY ON ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF ETHYL ACETAT EXTRACT FROM *HYPTIS SUAVEOLENS* (L.) POIT

Hoang Thi Phuong Lien*, Bui Son Nam

Nguyen Tat Thanh University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 21/10/2022	This study aims to determine the acute toxicity, analgesic and anti-inflammatory effects of the ethyl acetate fraction from the ethanolic extract of <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit. <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit was extracted in absolute ethanol 70%. Further, the crude extract was partitioned in <i>n</i> -hexane, chloroform, ethyl acetate, aqueous. The acute toxicity experiment was done as per OECD guidelines 423. The study was done on 3 males and 3 females ICR mice which were administered an initial dose of 5000 mg/kg body weight. No mortality and signs of toxicity were observed in two weeks. Analgesic activity was determined using an acetic acid-induced writhing test on adult male mice. Carrageenan-induced paw oedema model was used for anti-inflammatory activity assessment. In both models, mice were pre-treated for 7 days with the fraction at dose 250 mg/kg, 500 mg/kg and diclofenac 5 mg/kg. In the acetic acid-induced writhing model, the fraction exhibited analgesic effect with 36.78%, 45.53% reduction in writhing response at dose of 250 mg /kg and 500 mg/kg body weight compared to the vehicle group. The anti-inflammatory experiment showed that the extract at both doses significantly ($p < 0.05$) reduced the paw oedema. The ethyl acetat fraction from <i>Hyptis suaveolens</i> is safe and exhibits analgesic and anti-inflammatory activity.
Revised: 07/12/2022	
Published: 20/12/2022	
KEYWORDS	
<i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit.	
Analgesic	
Anti-inflammatory	
Carrageenan	
Acetic acid	

ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG GIẢM ĐAU, KHÁNG VIÊM CỦA CAO PHÂN ĐOẠN ETHYL ACETAT TỪ CÂY TÍA TÔ DẠI

Hoàng Thị Phương Liên*, Bùi Sơn Nam

Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 21/10/2022	Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá độc tính cấp, tác động giảm đau và kháng viêm của phân đoạn ethyl acetat từ cây Tía tô dại. Toàn cây trên mặt đất của Tía tô dại được ngâm kiệt với cồn 70%, sau đó cao chiết được lắcc phân bố thành các cao phân đoạn <i>n</i> -hexan, chloroform, ethyl acetat và nước. Đánh giá độc tính cấp thực hiện theo hướng dẫn của OECD 423. Thử nghiệm được tiến hành trên 3 chuột đực, 3 chuột cái chủng ICR, liều khởi đầu là 5.000 mg/kg. Kết quả cho thấy không có chuột tử vong hay dấu hiệu bất thường sau 2 tuần theo dõi. Đánh giá tác động giảm đau thông qua mô hình gây đau quặn bằng acid acetic. Đánh giá tác động kháng viêm thông qua mô hình gây viêm bàn chân chuột bằng carrageenan. Ở cả 2 mô hình, chuột được điều trị dự phòng bằng cao thử liều 250 mg/kg, 500 mg/kg, diclofenac 5 mg/kg trong 7 ngày. Ở mô hình giảm đau, cao thử liều 250 mg/kg và 500 mg/kg làm giảm tương ứng 36,78%, 45,53% số lần đau so với lô tá dược. Ở mô hình kháng viêm, cao thử ở cả hai liều cũng thể hiện tác động giảm độ phù chân chuột. Cao phân đoạn ethyl acetat từ cây Tía tô dại không gây độc tính cấp, thể hiện tác động giảm đau, kháng viêm trên mô hình thực nghiệm.
Ngày hoàn thiện: 07/12/2022	
Ngày đăng: 20/12/2022	
TỪ KHÓA	
Tía tô dại	
Giảm đau	
Kháng viêm	
Carrageenan	
Acid acetic	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6746>

* Corresponding author. Email: htplien@ntt.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Tía tô dại, tên khoa học là *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., thuộc họ Lamiaceae, là loại dược liệu truyền thống được sử dụng ở một số nơi trên thế giới để điều trị đau, viêm, loét dạ dày, nhiễm trùng [1]. Trên thế giới, đã có các nghiên cứu về tác dụng của dược liệu này như chống oxy hóa [2], kháng khuẩn [3], kháng nấm [4], kháng ung thư [5], loét dạ dày [6]... Nghiên cứu của tác giả R. Shenoy và A. Shirwaikar đã chứng minh tính kháng viêm của dịch chiết ethanol từ Tía tô dại [7]. Tác giả Paolo Grassi và cộng sự đã phân lập được diterpenoid là suaveolol và methyl suaveolat từ cây Tía tô dại có tác động kháng viêm tại chỗ, kém hơn indomethacin 2 tới 3 lần [8]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh tác động giảm đau của các cao chiết với các dung môi khác nhau từ Tía tô dại [9]-[11]. Trong đó, nhóm nghiên cứu của tác giả Begum đã chứng minh tác động giảm đau ngoại biên và giảm đau trung ương rõ rệt của phân đoạn ete dầu hỏa và ethyl acetat từ cây Tía tô dại [11]. Tại Việt Nam, đã có nghiên cứu đặc điểm hình thái, giải phẫu và khảo sát sơ bộ thành phần hóa học của cây Tía tô dại [12]. Một nghiên cứu vào năm 2020 đã tiến hành xác định các thành phần hóa học và đánh giá tính kháng khuẩn, kháng nấm của tinh dầu từ lá và hoa Tía tô dại [13].

Nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc sử dụng dược liệu trong điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng Việt Nam một cách an toàn, hiệu quả, chúng tôi thực hiện khảo sát đánh giá tác động giảm đau, kháng viêm của cao phân đoạn ethyl acetat từ cây Tía tô dại.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng, có cả đực và cái, trưởng thành, chủng ICR, 3,5 tuần tuổi, khỏe mạnh, không dị tật, được cung cấp từ Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế Nha Trang, có trọng lượng 15 ± 2 g (Hình 1). Chuột được chia nuôi trong các hộp nhựa trắng (8 – 10 con), phân loại giới tính, cho quen với môi trường ít nhất 5 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm. Chuột thử nghiệm độc tính cấp sử dụng 50% đực, 50% cái. Thử nghiệm giảm đau và kháng viêm sử dụng chuột đực. Chuột được cung cấp thức ăn và nước uống đầy đủ trong suốt thời gian thử nghiệm.



Hình 1. Chuột nhắt sử dụng trong thử nghiệm

2.1.2. Mẫu thử

Cây Tía tô dại được thu hái tại phường Tân Tài, thành phố Phan Rang – Tháp Chàm, tỉnh Ninh Thuận vào tháng 7/2020. Bộ phận trên mặt đất của Tía tô dại được rửa sạch, sấy ở nhiệt độ 50°C , xay nhỏ (Hình 2).



(1)



(2)

Hình 0. Hình ảnh Tía tô đại (1) và bột dược liệu Tía tô đại (2)

2.1.3. Hóa chất

Acid acetic (Sigma Aldrich, Hoa Kỳ), Tween 80 (GHTech, Trung Quốc), Carrageenan (Sigma Aldrich, Mỹ), Ethyl acetat (Xilong, Trung Quốc), Chloroform (VN-Chemsol, Việt Nam), *n*-hexan (Xilong, Trung Quốc), nước muối sinh lý NaCl 0,9% (B. Braun, Việt Nam), Voltaren 50 mg (diclofenac natri – Novartis, Thổ Nhĩ Kỳ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết xuất dược liệu

Bột khô tía tô đại được ngâm kiệt bằng cồn 70% để tạo dịch chiết. Sau đó, dịch chiết được cô cạn thành cao đặc trên bếp cách thủy ở nhiệt độ 70°C. Cao chiết được thêm nước cất và lắc phân bố lỏng – lỏng với các dung môi *n*-hexan, CHCl₃, EtOAc để thu được các dịch chiết phân đoạn. Các dịch chiết phân đoạn được cô cạn thành cao đặc bằng cách sử dụng máy cô quay ở nhiệt độ và áp suất thích hợp, thu được các phân đoạn cao *n*-hexan, CHCl₃, EtOAc, nước.

2.2.2. Phương pháp khảo sát độc tính cấp cao phân đoạn ethyl acetat

Thí nghiệm độc tính cấp được tiến hành theo mô hình liều cố định 5000 mg/kg, thể tích cho uống là 50 ml/kg trọng lượng chuột [14]. Tween 80 7% được sử dụng làm dung môi trợ tan cho cao phân đoạn ethyl acetat Tía tô đại.

Cho chuột nhịn đói ít nhất 12 giờ trước khi tiến hành thí nghiệm. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô gồm 06 con chuột (03 chuột đực và 03 chuột cái). Lô sinh lý uống nước cất, lô tá dược uống tween 80 7%, lô thử nghiệm uống cao ethyl acetat Tía tô đại với liều 5000 mg/kg.

Theo dõi và ghi nhận tình trạng chung của chuột và số lượng chết của chuột ở mỗi lô trong vòng 72 giờ đầu sau khi uống cao thử. Nếu sau 72 giờ, chuột không có dấu hiệu bất thường hoặc chết, tiếp tục theo dõi trong vòng 14 ngày. Tùy theo tỷ lệ sống/chết, tiếp tục tiến hành thử nghiệm để xác định LD50.

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu tác động giảm đau

Phân chia chuột thành các lô ngẫu nhiên (mỗi lô 10 con), cho uống nước cất hoặc diclofenac hoặc cao thử với thể tích 10 ml/kg trọng lượng chuột trong suốt 7 ngày của quá trình thử nghiệm.

Lô chứng bệnh (CB): Uống nước cất.

Lô tá dược (TD): Uống dung môi hòa tan cao phân đoạn ethyl acetat Tía tô đại.

Lô chứng dương (CD): Uống diclofenac với liều 5 mg/kg [15].

Lô thử nghiệm: Uống cao ethyl acetat Tía tô đại với liều được tính toán từ kết quả khảo sát độc tính cấp.

Vào ngày thứ 7 của thử nghiệm, sau khi cho chuột uống nước cất, diclofenac hoặc cao thử được 1 giờ, gây đau bằng cách tiêm phúc mô (IP) dung dịch acid acetic 1% với thể tích là 10 ml/kg thể trọng. Đếm các cơn đau quặn theo 8 giai đoạn (0-5 phút, 5-10 phút, 10-15 phút, 15-20 phút, 20-25 phút, 25-30 phút, 30-35 phút, 35-40 phút) sau khi tiêm acid acetic. Chuột được tính là đau quặn khi toàn thân vờn dãi, hai chân sau duỗi ra, uốn cong người, xoắn mình sang một bên, co thắt bụng, bụng chạm sát vào sàn. Các biểu hiện của đau quặn như trên tạo thành từng cơn.

Nếu cao phân đoạn làm giảm số cơn đau có ý nghĩa thống kê thì thuốc có tác dụng giảm đau trong mô hình thực nghiệm này [6]. Tính tỷ lệ % ức chế các cơn đau quặn (I%) của mỗi lô so với lô chứng bệnh theo công thức (1).

$$I(\%) = \frac{Mc - Mt}{Mc} \times 100\% \quad (1)$$

Trong đó: Mc là số cơn đau quặn trung bình ở lô chứng bệnh.

Mt là số cơn đau quặn trung bình ở lô chứng dương hoặc lô thử nghiệm.

2.2.4. Phương pháp nghiên cứu tác động kháng viêm

Phân chia chuột thành các lô ngẫu nhiên (mỗi lô 8 con), cho uống nước cất hoặc diclofenac hoặc cao thử với thể tích 10 ml/kg trọng lượng chuột trong suốt 7 ngày của quá trình thử nghiệm.

Lô sinh lý (SL), lô chứng bệnh (CB): Uống nước cất.

Lô tá dược (TD): Uống dung môi hòa tan cao phân đoạn ethyl acetat.

Lô chứng dương (CD): Uống diclofenac, liều 5 mg/kg [15].

Lô thử nghiệm: Uống cao ethyl acetat Tía tô đại với liều được tính toán từ kết quả khảo sát độc tính cấp.

Vào ngày thứ 7 của thử nghiệm, tiến hành đo thể tích và ghi nhận thể tích trước gây viêm V_0 bằng máy đo thể tích bàn chân chuột Plethysmometer (Ugo Basile, Italia). Sau khi uống nước cất, diclofenac hoặc cao thử 1 giờ, chuột ở các lô CB, TD, CD, lô thử nghiệm được tiêm 0,025 ml dung dịch carrageenan 1% vào gan bàn chân trái để gây viêm bàn chân; chuột lô sinh lý được tiêm dung dịch NaCl 0,9%. Sau đó, tất cả chuột được cho vào lồng có giá đỡ để tránh nhiễm trùng chân. Đo thể tích bàn chân chuột lần lượt sau 1, 3, 5, 24 giờ (V_t) sau khi gây viêm.

Độ phù chân chuột (X%) là tỷ lệ phần trăm độ chênh lệch thể tích chân chuột trước và sau khi gây viêm, được tính bằng công thức (2).

$$X(\%) = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100\% \quad (2)$$

Trong đó: X: Độ phù chân chuột (%).

V_t : Thể tích chân chuột tại thời điểm t sau khi gây viêm (ml).

V_0 : Thể tích chân chuột tại thời điểm trước khi gây viêm (ml).

2.2.5. Xử lý kết quả và phân tích thống kê

Kết quả được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và phần mềm SPSS 26.0 và được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ sai số chuẩn của giá trị trung bình (Mean $\pm$ SEM). Dùng phép kiểm Mann-Whitney và phép kiểm Kruskal - Wallis để so sánh sự khác biệt giữa các lô thử nghiệm. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả khảo sát độc tính cấp cao phân đoạn ethyl acetat

Sau 72 giờ uống liều duy nhất cao thử nghiệm, tất cả chuột ở các lô đều khỏe mạnh, cử động bình thường, nhanh nhẹn, không có biểu hiện co giật, xù lông, thờ gáp hay bất kỳ dấu hiệu bất thường nào khác. Bên cạnh đó, trong vòng 14 ngày, tất cả chuột ở các lô đều ăn uống, hoạt động bình thường cũng như không tìm thấy bất kỳ hoại tử, bất kỳ tổn thương nào trên các cơ quan của chuột. Liều cao thử nghiệm 5000 mg/kg không gây chết chuột, có nghĩa là giá trị LD50 của cao ethyl acetat ở khoảng cao hơn 5000 mg/kg. Theo Hệ thống hài hòa toàn cầu về phân loại và ghi

nhân hóa chất GHS (Globally Harmonised System for Classification of Chemicals), LD50 của cao ethyl acetat được xếp vào phân loại 6 – chất gần như không có độc tính. Kết quả này phù hợp với báo cáo trước đó của tác giả Thiago C. Santos (2007) khi nghiên cứu độc tính của cao chiết nước từ lá *Hyptis suaveolens*, ở nồng độ 5000 mg/kg cao chiết không gây chết chuột thử nghiệm [9].

Chỉ số điều trị TI (LD50/ED50) của một thuốc lớn hơn hoặc bằng 10 thì được coi là an toàn [16]. Vì giá trị LD50 của cao chiết lớn hơn 5.000 mg/kg, nghiên cứu tiếp tục thực hiện đánh giá tác động giảm đau, kháng viêm với liều 500 mg/kg (lô EA 500 – tương ứng với 1/10 liều 5.000 mg/kg) và 1/20 (lô EA 250 – tương ứng với 1/20 liều 2.500 mg/kg).

3.2. Kết quả khảo sát tác dụng giảm đau của cao phân đoạn ethyl acetat

Kết quả khảo sát số lần đau quận trung bình của chuột các lô thử nghiệm theo thời gian được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Số lần đau trung bình của các lô chuột thử nghiệm

Khoảng thời gian khảo sát (phút)	Lô chuột thử nghiệm				
	CB	TD	CD	EA 250	EA 500
0-5	2,2 ± 0,4	3,5 ± 0,5	0,9* ± 0,3	3,30 ± 0,5	2,4 ± 0,6
>5-10	10,2 ± 0,8	12,0 ± 0,9	4,6** ± 0,7	7,8### ± 0,7	6,9### ± 0,6
>10-15	12,2 ± 0,9	13,4 ± 0,9	6,7** ± 0,7	8,7### ± 0,7	8,0### ± 0,7
>15-20	10,1 ± 0,8	10,0 ± 1,1	4,5** ± 0,6	6,0### ± 0,3	5,8### ± 0,7
>20-25	7,6 ± 0,8	9,3 ± 1,2	3,2** ± 0,4	4,6### ± 0,4	3,8### ± 0,5
>25-30	6,2 ± 0,7	6,0 ± 0,8	2,3** ± 0,3	3,2### ± 0,3	2,3### ± 0,3
>30-35	5,4 ± 0,8	4,7 ± 0,5	1,5** ± 0,2	1,7### ± 0,3	1,3### ± 0,3
>35-40	3,2 ± 0,7	3,3 ± 0,5	0,4** ± 0,2	0,8### ± 0,3	0,6### ± 0,2
0-40	57,1 ± 3,6	62,2 ± 3,7	24,1** ± 2,5	36,1### ± 1,5	31,1### ± 2,4

Ghi chú:

*, ** : p < 0,05; p < 0,01 so với lô chứng bệnh cùng thời điểm khảo sát.

#, ## : p < 0,05; p < 0,01 so với lô tá dược cùng thời điểm khảo sát.

@, @@ : p < 0,05; p < 0,01 so với lô chứng dương cùng thời điểm khảo sát.

Số lần đau trung bình của chuột ở tất cả các thời điểm của lô chứng bệnh so với lô tá dược khác nhau không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05), chứng tỏ rằng dung môi hòa tan cao không gây ảnh hưởng số lần đau của chuột. Diclofenac làm giảm số lần đau so với lô chứng bệnh trong suốt quá trình khảo sát, thỏa mãn yêu cầu để làm thuốc đối chứng dương (p < 0,05).

Trong tổng thời gian khảo sát, số lần đau của cao thử nghiệm ở liều 250 mg/kg và 500 mg/kg lần lượt là 36,1 ± 1,53, 31,1 ± 2,3, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô tá dược với số lần đau là 62,2 ± 3,7 (p < 0,05). Xét trên từng khoảng 5 phút, cả hai liều cao đều có tác dụng làm giảm số lần đau quận so với lô tá dược, đặc biệt, sự khác biệt trong các khoảng từ 5 tới 40 phút đạt ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Tỷ lệ % ức chế các cơn đau quận của các lô CD, EA 250 và EA 500 được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ % ức chế các cơn đau quận của các lô chuột thử nghiệm

Khoảng thời gian (phút)	Lô thử nghiệm		
	CD	EA 250	EA 500
0-5	59,09	—	—
>5-10	54,90	23,53	32,35
>10-15	45,08	28,69	34,43
>15-20	55,45	40,59	42,57
>20-25	57,89	39,47	50,00
>25-30	62,90	48,39	62,90
>30-35	72,22	68,52	75,93
>35-40	87,5	75,00	81,25
0-40	57,79	36,78	45,53

Cao ethyl acetat liều 250 mg/kg và 500 mg/kg thể hiện tác động ức chế đau trong các khoảng từ 5 tới 40 phút, tỷ lệ ức chế đau trong khoảng từ 23,53% tới 75,00% và 32,35% tới 81,25% so với lô chứng dương là 45,08% tới 87,50%. Số lần đau giữa lô cao ethyl acetat 250 mg/kg và lô chứng dương ở tại các khoảng thời gian 5 – 10, 10 – 15, 20 – 25, 25 – 30 phút khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), cho thấy tác dụng giảm đau của cao ethyl acetat 250 mg/kg kém hơn diclofenac 5 mg/kg ở đa số thời điểm khảo sát. Số lần đau giữa lô cao ethyl acetat 500 mg/kg và lô chứng dương chỉ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở khoảng 5 – 10 phút ($p < 0,05$), chứng tỏ rằng cao ethyl acetat phát huy tác động chậm hơn nhưng tương đương với diclofenac ở các khoảng thời gian từ 10 tới 40 phút.

Cao ethyl acetat liều 250 mg/kg và liều 500 mg/kg cho hiệu quả giảm đau, làm giảm số lần đau trung bình của chuột so với lô chứng bệnh và lô tá dược ($p < 0,05$). Tuy nhiên, mức độ khởi phát tác dụng giảm đau của cao thử chậm hơn so với thuốc giảm đau thông thường là diclofenac liều 5 mg/kg. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước về tác động giảm đau của cây Tía tô đại [1], [9]-[11].

3.3. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng viêm của cao phân đoạn ethyl acetat

Kết quả khảo sát sự thay đổi độ sưng phù bàn chân chuột của các lô thử nghiệm theo thời gian được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ phù bàn chân chuột ở các lô thử nghiệm

Lô	Độ sưng phù bàn chân chuột (%)			
	%X ₁	%X ₃	%X ₅	%X ₂₄
Lô SL	13,64 ± 1,72	4,55 ± 1,72	0,00	0,00
Lô CB	28,41** ± 2,23	52,27** ± 1,49	47,73** ± 1,49	47,16** ± 1,70
Lô TD	26,70** ± 2,18	51,14** ± 2,39	48,30** ± 1,91	47,73** ± 1,49
Lô CD	25,00 ± 1,49	27,27## ± 1,49	26,14## ± 1,42	21,02## ± 0,83
Lô EA 250	28,03 ± 0,76	34,28@@& ± 1,69	32,58@@& ± 1,81	28,03@@& ± 1,88
Lô EA 500	24,70 ± 1,15	32,22@@& ± 1,35	26,49@@ ± 1,78	22,43@@ ± 1,39

Ghi chú:

*, ** : $p < 0,05$; $p < 0,01$ so với lô sinh lý cùng thời điểm khảo sát.

#, ## : $p < 0,05$; $p < 0,01$ so với lô chứng bệnh cùng thời điểm khảo sát.

@, @@ : $p < 0,05$; $p < 0,01$ so với lô tá dược cùng thời điểm khảo sát.

& : $p < 0,05$ so với lô chứng dương cùng thời điểm khảo sát.

Sau khi tiêm dung dịch carrageenan 1%, độ sưng phù chân chuột ở lô chứng bệnh tại thời điểm 1h, 3h, 5h, 24h lần lượt là 28,41%, 52,27%, 47,73%, 47,16% có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô sinh lý và thời điểm gây sưng phù chân chuột nhất rơi vào khoảng thời điểm 3h-5h. Độ sưng phù chân chuột sau 1h, 3h, 5h, 24h của lô chứng bệnh so với lô tá dược khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này chứng tỏ rằng dung môi hòa tan mẫu thử không ảnh hưởng lên độ phù bàn chân chuột.

Lô cao ethyl acetat 250 mg/kg và 500 mg/kg có tác dụng làm giảm độ sưng phù chân chuột so với lô tá dược ở tất cả các thời điểm khảo sát và đạt ý nghĩa thống kê từ 3h tới 24h ($p < 0,05$).

Độ phù chân chuột của lô ethyl acetat 250 mg/kg cao hơn so với lô diclofenac 5 mg/kg, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở các thời điểm 3 giờ, 5 giờ, 24 giờ sau tiêm carrageenan. Độ phù chân chuột của lô ethyl acetat 500 mg/kg cao hơn lô chứng dương sử dụng diclofenac 5 mg/kg, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê tại thời điểm 5 giờ và 24 giờ sau gây viêm ($p > 0,05$). Điều này gợi ý cho việc tác động kháng viêm của cao chiết xảy ra chậm hơn so với diclofenac.

Cao ethyl acetat liều 250 mg/kg và liều 500 mg/kg cho hiệu quả kháng viêm, làm giảm độ sưng phù bàn chân chuột so với lô chứng bệnh và lô tá dược ($p < 0,05$). Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây [1], [7], [8], [17].

Hoạt tính kháng viêm, giảm đau của cao chiết có thể liên quan mật thiết tới hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học tồn tại trong cao chiết, trong đó nổi bật nhất có terpenoid [1], [8], [9], [11].

Khi so sánh về tỷ lệ giảm phù chân chuột của 2 lô cao, cho thấy cao ethyl acetat 500 mg/kg có độ phù chân chuột thấp hơn, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với cao ethyl acetat liều 250 mg/kg tại thời điểm sau gây viêm 24 giờ ($p < 0,05$). Điều này cho thấy tác động kháng viêm của cao phụ thuộc liều dùng, nên nếu muốn có tác động kháng viêm mạnh, cần dùng liều 500 mg/kg chuột. Tuy nhiên, viêm đau khớp là bệnh mãn tính, cần sử dụng thuốc lâu dài. Vì vậy, chúng tôi đề nghị tiến hành khảo sát độc tính bán trường diễn, trường diễn, khảo sát tác động kháng viêm, giảm đau trên các mô hình sử dụng thuốc lâu ngày hơn để đánh giá chính xác hơn về chi phí, hiệu quả và độc tính để lựa chọn liều sử dụng hợp lý nhất.

4. Kết luận

Cao ethyl acetat từ toàn cây trên mặt đất của Tía tô đại an toàn, không gây ra độc tính ở liều 5000 mg/kg trọng lượng chuột sau 14 ngày theo dõi, được xếp vào phân loại 6 – chất gần như không có độc tính. Cao chiết ở liều 250 mg/kg và liều 500 mg/kg đều cho tác dụng giảm đau, kháng viêm trên mô hình thực nghiệm. Nghiên cứu này góp phần chứng minh tính an toàn cũng như cung cấp cơ sở khoa học để tiếp tục các nghiên cứu sâu hơn theo định hướng giảm đau, kháng viêm của cao ethyl acetat của Tía tô đại nhằm mục tiêu ứng dụng trị liệu trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] P. Mishra, S. Sohrab, and S. K. Mishra, "A review on the phytochemical and pharmacological properties of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit," *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 7, no. 1, pp. 1-11, 2021.
- [2] S. A. Oscar *et al.*, "Phytochemical screening, antioxidant activity and in vitro biological evaluation of leave extracts of *Hyptis suaveolens* (L.) from south of Mexico," *South African Journal of Botany*, vol. 128, pp. 62-66, 2020.
- [3] K. Sharma and K. Dabhadkar, "Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Hyptis suaveolens*," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 11, no. 1, pp. 438-444, 2020.
- [4] V. C. Mbatchou, S. Abdullatif, and R. Glover, "Phytochemical screening of solvent extracts from *Hyptis suaveolens* LAM for fungal growth inhibition," *Pakistan Journal of Nutrition*, vol. 9, no. 4, pp. 358-361, 2010.
- [5] K. Poonkodi *et al.*, "Chemical composition of essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit and its invitro anticancer activity," *Journal of Pharmacy Research*, vol. 11, no. 5, pp. 410-413, 2017.
- [6] N. Z. T. Jesus *et al.*, "*Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae), a medicinal plant protects the stomach against several gastric ulcer models," *Journal of ethnopharmacology*, vol. 150, no. 3, pp. 982-988, 2012.
- [7] R. Shenoy and A. Shirwaikar, "Anti-inflammatory and free radical scavenging studies of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae)," *Indian Drugs*, vol. 39, no. 11, pp. 574-577, 2002.
- [8] P. Grassi *et al.*, "Anti-inflammatory activity of two diterpenes of *Hyptis suaveolens* from El Salvador," *Zeitschrift für Naturforschung C*, vol. 61, no. 3-4, pp. 165-170, 2006.
- [9] T. C. Santos *et al.*, "Antinociceptive effect and acute toxicity of the *Hyptis suaveolens* leaves aqueous extract on mice," *Fitoterapia*, vol. 78, no. 5, pp. 333-336, 2007.
- [10] M. A. Islam *et al.*, "Phytochemical and biological investigation of seeds of *Hyptis Suaveolens*," *Khulna University Studies*, vol. 10, pp. 185-190, 2022.
- [11] A. Begum, V. Sama, and J. P. Dodle, "Study of antinociceptive effects on acute pain treated by bioactive fractions of *Hyptis suaveolens*," *Journal of Acute Disease*, vol. 5, no. 5, pp. 397-401, 2016.
- [12] N. T. Tran and V. L. Vo, "Botanical characteristics of *Hyptis suaveolens* L. (Poit.)," *Ho Chi Minh City Journal of Medicine*, vol. 26, no. 2, pp. 10-18, 2022.
- [13] T. C. Nguyen *et al.*, "Chemical Compositions of Essential Oils and Antimicrobial Activity of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae) from Vietnam," *European Journal of Medicinal Plants*, vol. 31, no. 8, pp. 114-123, 2020.

- [14] OECD, *Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, 2002.
- [15] A. Rauf *et al.*, "In Vivo Anti-Inflammatory, Analgesic, Muscle Relaxant, and Sedative Activities of Extracts from *Syzygium cumini* (L.) Skeels in Mice," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2022, pp. 1-7, 2022.
- [16] R. K. Tekade, "Chapter 1 - Scientific Rationale for Designing Controlled Drug Delivery Systems," in *Basic Fundamentals of Drug Delivery*, Academic Press, 2019, pp. 1-2.
- [17] D. Yada, T. Sivakkumar, and N. Srinivas, "Aqueous Extract of *Hyptis suaveolens* Whole Plant Inhibits Carrageenan-Induced Paw Edema in Rats," *Advances in Pharmacology and Pharmacy*, vol. 9, no. 3, pp. 75-80, 2021.