

***Phyllanthus amarus* AMELIORATES CALCIUM OXALATE-INDUCED NEPHROLITHIASIS VIA ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY**

Huynh Hong Phien, Tran Thanh Men*

Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 28/01/2023	The effects of bio-active compounds in plants are shown to be based on their antioxidant capacity, which helps to reduce the damage caused by free radicals generated from the formation and development of urinary stones. <i>Phyllanthus amarus</i> extract contains a large amount of antioxidants that can play an important role in the adsorption and neutralization of free radicals. This antioxidant activity can largely be attributed to the phenolic and flavonoid components contained in the plant with concentrations of 438.13 ± 16.37 (mg GAE/g extract) and 157.10 ± 1.31 (mg QE/g extract), respectively. Oxidation resistance was evaluated through 4 methods DPPH, ABTS, RP, TAC, with EC_{50} values of 129.74 ± 3.05 ; 82.35 ± 1.25 ; 196.03 ± 6.66 and 40.32 ± 2.78 $\mu\text{g/mL}$, respectively. <i>Phyllanthus amarus</i> extract reduced the denaturation of bovine serum albumin protein with an IC_{50} of 1.52 ± 0.28 mg/mL, 7.24 times lower than that of the standard diclofenac (0.21 ± 0.08 mg/mL). The nucleation of calcium oxalate crystals was inhibited by the extract of <i>Phyllanthus amarus</i> with IC_{50} of 4.74 ± 0.31 mg/mL. These results suggest that <i>Phyllanthus amarus</i> can be considered as a potential medicinal plant for the treatment of urinary stones.
Revised: 14/4/2023	
Published: 19/4/2023	
KEYWORDS	
Calcium oxalate	
Antioxidant	
Anti-inflammatory	
<i>Phyllanthus amarus</i>	
Bioactive compounds	

DIỆP HẠ CHÂU CẢI THIỆN BỆNH SỎI THẬN DO CALCIUM OXALATE GÂY RA THÔNG QUA KHÁNG OXY HÓA VÀ KHÁNG VIÊM

Huỳnh Hồng Phiến, Trần Thanh Mên*

Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 28/01/2023	Tác dụng của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong thực vật được thể hiện dựa trên khả năng chống oxy hóa, giúp giảm thiểu tác hại gây ra bởi các gốc tự do sinh ra từ quá trình hình thành và phát triển sỏi niệu. Chiết xuất diệp hạ châu chứa một lượng lớn chất chống oxy hóa có thể đóng vai trò quan trọng trong việc hấp phụ và trung hòa các gốc tự do. Hoạt tính chống oxy hóa này phần lớn có thể là do thành phần phenolic và flavonoid có chứa trong thực vật với hàm lượng lần lượt là $438,13 \pm 16,37$ (mg GAE/g cao chiết) và $157,10 \pm 1,31$ (mg QE/g cao chiết). Khả năng kháng oxy hóa được đánh giá qua 4 phương pháp DPPH, ABTS, RP, TAC với giá trị EC_{50} lần lượt là $129,74 \pm 3,05$; $82,35 \pm 1,25$; $196,03 \pm 6,66$ và $40,32 \pm 2,78$ $\mu\text{g/mL}$. Cao chiết diệp hạ châu giúp giảm biến tính protein albumin huyết thanh bò với IC_{50} là $1,52 \pm 0,28$ mg/mL, thấp hơn 7,24 lần so với chất chuẩn diclofenac ($0,21 \pm 0,08$ mg/mL). Sự tạo mầm của tinh thể calcium oxalate bị ức chế bởi chiết xuất từ diệp hạ châu với IC_{50} là $4,74 \pm 0,31$ mg/mL. Những kết quả này cho thấy diệp hạ châu có thể xem là một dược liệu tiềm năng để điều trị sỏi tiết niệu.
Ngày hoàn thiện: 14/4/2023	
Ngày đăng: 19/4/2023	
TỪ KHÓA	
Calcium oxalate	
Kháng oxy hóa	
Kháng viêm	
Diệp hạ châu	
Hợp chất sinh học	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7240>

* Corresponding author. Email: tmen@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Stress oxy hóa được cho là kết quả của sự mất cân bằng giữa các loại oxy phản ứng (ROS) và khả năng chống oxy hóa của cơ thể, đóng một vai trò quan trọng trong việc hình thành và tiến triển các tổn thương ở tế bào thận [1], [2]. Sự lắng đọng tinh thể ở thận có thể làm rối loạn chuỗi vận chuyển điện tử trong ty thể, do đó gây ra sự giải phóng ROS quá mức, dẫn đến stress oxy hóa [3]. Ngoài ra, sự hình thành tinh thể còn kích thích tế bào thận sản xuất và giải phóng các chất trung gian gây ra tình trạng viêm, lâu dần sẽ dẫn đến quá trình viêm cấp tính, làm tổn thương tế bào thêm trầm trọng [4]. Vì vậy, để điều trị và ngăn ngừa sỏi niệu hiệu quả, điều quan trọng là phải sử dụng kết hợp các tác nhân có đặc tính ức chế sỏi, chống oxy hóa và kháng viêm.

Thực vật và các hợp chất tự nhiên của chúng đã được chứng minh có tiềm năng để điều trị sỏi niệu, giảm nguy cơ tái phát sỏi thận và ảnh hưởng đến sự hình thành và phát triển của các tinh thể [5], [6]. Một số loại dược liệu và các hợp chất tự nhiên đã được ứng dụng thành công cho những mục đích này. Chiết xuất methanol lá *Launaea procumbens* từ nghiên cứu của Makasana [7] đã chứng minh tác dụng chống sỏi niệu của chiết xuất tiềm năng trên mô hình chuột bệnh sỏi thận do ethylene glycol gây ra. Phân đoạn giàu saponin được điều chế từ quả *Solanum xanthocarpum* cho thấy tác dụng ngăn chặn sự tạo mầm và kết tụ tinh thể calcium oxalate trong dung dịch nước tiểu nhân tạo [8]. Tác dụng chống sỏi niệu của dược phẩm có nguồn gốc từ thực vật (nutraceuticals) được giải thích có thể là do tác dụng chống oxy hóa của chúng đối với cơ thể con người. Stress oxy hóa đã được chứng minh là có liên quan đến kết tinh calcium oxalate ở thận và suy thận [9]. Do đó, liệu pháp kháng oxy hóa có thể là một trong những phương pháp hiệu quả để ngăn chặn sự tạo mầm cũng như sự liên kết và tăng trưởng của các tinh thể calcium oxalate trong thận [10].

Diệp hạ châu hay có tên khoa học là *Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn, được biết đến với nhiều tên gọi khác như rau chó đẻ răng cưa (thân màu xanh), diệp hòe thái, lão nha châu, trăn châu thảo, ... Diệp hạ châu chứa nhiều các hợp chất có hoạt tính sinh học như lignan, polyphenol, flavonoid, tannin, triterpene, sterol và alkaloid [11], [12]. Dịch chiết và các hợp chất được phân lập từ diệp hạ châu có các hoạt tính dược lý bao gồm kháng virus, kháng viêm, bảo vệ gan, chống oxy hóa, chống sốt rét, chống đái tháo đường, hạ huyết áp, bảo vệ thận và lợi tiểu [13]. Chiết xuất và các lignan tinh khiết như phylltetralin, nirtetralin và niranthin thể hiện hoạt tính kháng viêm hiệu quả trong điều kiện *in vitro* và *in vivo* [14].

Do đó, nghiên cứu đánh giá tác dụng của cây diệp hạ châu cải thiện bệnh sỏi thận do calcium oxalate gây ra thông qua kháng oxy hóa và kháng viêm là vô cùng cần thiết để hướng đến ly trích các hợp chất có hoạt tính sinh học hỗ trợ và điều trị bệnh sỏi thận trên người.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương tiện

Vật liệu thí nghiệm: Diệp hạ châu gồm thân, lá, hoa (trên mặt đất) (Hình 1) được thu hái tại thành phố Cần Thơ. Tiến hành loại bỏ các phần bị hư hại, rửa sạch, cắt nhỏ (2 cm), sấy khô ở nhiệt độ 50°C. Sau đó, mẫu được nghiền thành bột.

Đối tượng thí nghiệm: Ruồi giấm hoang dại *D. melanogaster* chủng Canton S (CS) được cung cấp từ phòng thí nghiệm Biofunctional Chemistry (Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản).

Hóa chất: Ethanol, methanol, 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonate (ABTS)), gallic acid, quercetin, calcium chloride (CaCl_2), sodium oxalate ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) và một số hóa chất khác.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Điều chế cao chiết

Mẫu bột sau khi xay (200 g) được cho vào túi vải và được ngâm trong 600 mL ethanol (96°) theo tỉ lệ (1:3). Mẫu được ngâm 3 lần, mỗi lần ngâm 24 giờ, dung dịch trong bình ngâm sẽ được

lọc qua giấy lọc để loại bỏ phần bột cặn, đem cô quay thu hồi dung môi. Phần dịch trích được cô quay đuổi dung môi, thu được cao ethanol tổng (15,5 g).



Hình 1. Mẫu cây diệp hạ châu được thu tại thành phố Cần Thơ

2.2.2. Định lượng thành phần hóa học

Định lượng phenolic: Thành phần phenolic của chiết xuất đã được phân tích trong nghiên cứu này. Tổng hàm lượng hợp chất phenolic được định lượng theo phương pháp Folin–Ciocalteu [15]. Độ hấp thụ của mẫu được so sánh với đường chuẩn ($TPC = 0,0778x + 0,0255$; $R^2 = 0,9975$) của acid gallic (2–20 $\mu\text{g/mL}$). Các kết quả được biểu thị bằng mg đương lượng acid gallic trên mỗi g cao chiết (mg GAE/g).

Định lượng flavonoid: Tổng hàm lượng flavonoid được xác định bằng phương pháp so màu nhôm clorua [16]. Đường chuẩn ($QE = 0,0046x + 0,0218$, $R^2 = 0,9832$) của quercetin (20–100 $\mu\text{g/mL}$) được sử dụng làm chuẩn và kết quả được biểu thị bằng mg quercetin tương đương trên mỗi g cao chiết (mg QE/g).

2.2.3. Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa

DPPH: Thử nghiệm kháng oxy hóa DPPH được tiến hành theo phương pháp của Jadid và cộng sự (2017) [17], có hiệu chỉnh. Các chất kháng oxy hóa sẽ trung hòa gốc tự do DPPH, chuyển từ màu tím sang màu vàng nhạt. Giá trị abs càng thấp chứng tỏ khả năng bắt gốc tự do DPPH càng cao. Hỗn hợp phản ứng bao gồm 100 μL cao chiết nồng độ lần lượt là 0; 31,25; 62,5; 125 và 250 $\mu\text{g/mL}$ lần lượt cho vào các giếng đã có 100 μL DPPH (nồng độ 6×10^{-4} M). Hỗn hợp được ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm. Thử nghiệm được lặp lại 3 lần. Acid gallic được xem là đối chứng dương.

ABTS: Thử nghiệm kháng oxy hóa ABTS^{•+} được tiến hành theo phương pháp của Fidrianny và cộng sự (2015) [18], có hiệu chỉnh. Dựa trên nguyên tắc khi cho các chất kháng oxy hóa vào dung dịch ABTS^{•+} khử ion ABTS^{•+} thành ABTS, dung dịch sẽ mất màu xanh. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho dung dịch các cao chiết có nồng độ khác nhau và acid gallic làm chất chuẩn vào dung dịch ABTS (50 $\mu\text{g/mL}$) theo tỉ lệ 1:1. Ủ tối ở nhiệt độ phòng trong 10 phút, hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 734 nm. Mẫu trắng (dung môi pha loãng cao chiết) được chuẩn bị bằng cách thay thế cùng một lượng dịch chiết đã pha loãng. Acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn.

Khử sắt (RP): Khả năng khử sắt (RP) của chiết xuất phân đoạn thực vật được thực hiện theo mô tả bởi Chaves và cộng sự (2020) [19], có hiệu chỉnh. Cho 500 μL cao chiết ở các nồng độ khảo sát khác nhau vào 500 μL đệm phosphate (0,2 mM, pH = 6,6), tiếp theo cho 500 μL potassium ferrocyanide 1% vào hỗn hợp, giữ hỗn hợp 20 phút ở 50°C trong bể nước. Sau đó, bổ sung 500 μL trichloroacetic acid 10%, ly tâm 3000 vòng/10 phút. Lấy 500 μL lớp trên cho vào eppendorf, bổ sung 500 μL nước cất và 100 μL FeCl₃ 0,1%. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm.

TAC: Thử nghiệm được báo cáo bởi Nazir và cộng sự (2020) [20], được sử dụng để kiểm tra khả năng chống oxy hóa tổng thể của các mẫu. Trong thí nghiệm, 100 μL mẫu dịch chiết ở các nồng độ khác nhau và 900 μL thuốc thử TAC (acid sunfuric 0,6 M, sodium phosphate 28 mM và amonium molybdate 4 mM) được cho vào các ống Eppendorf. Hỗn hợp phản ứng được đặt trong bể ủ nhiệt ở 90°C trong 90 phút, sau đó làm mát ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ của các mẫu được đo ở bước sóng 630 nm.

2.2.4. Đánh giá hoạt tính kháng viêm

Cao chiết được xác định khả năng kháng viêm thông qua hoạt động ức chế sự biến tính protein [21]. Phản ứng gồm 150 μL cao chiết với 150 μL dung dịch albumin huyết thanh bò 5%. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ủ ở 27°C trong 15 phút. Sự biến tính protein được gây ra bằng cách giữ hỗn hợp phản ứng ở 70°C trong 10 phút. Mẫu được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 660 nm. Diclofenac được sử dụng làm chất chuẩn.

2.2.5. Đánh giá hiệu quả ức chế sự hình thành hạt mầm tinh thể calcium oxalate

Hiệu quả ức chế sự hình thành mầm tinh thể oxalate của cao chiết được xác định dựa trên phương pháp của Bawari và cộng sự (2018) [22], có hiệu chỉnh. Dung dịch calcium chloride (CaCl_2) nồng độ 5 mmol/L và sodium oxalate ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) nồng độ 7,5 mmol/L được chuẩn bị tương ứng trong dung dịch đệm Tris HCl (0,05 mol/L) và NaCl (0,15 mol/L) ở pH 6,5. Hỗn hợp phản ứng bao gồm 1 mL cao chiết hoặc chất chuẩn ở nồng độ khảo sát cho phản ứng với 1 mL dung dịch CaCl_2 , sau đó thêm 1 mL dung dịch $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở 37°C trong 30 phút. Độ hấp thụ quang phổ (OD) của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 620 nm bằng máy đo quang phổ.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Hàm lượng flavonoid và phenolic có trong cao chiết điệp hạ châu

Cây thuốc là món quà ý nghĩa mà thiên nhiên ban tặng cho con người, giúp chữa được nhiều bệnh và có nhiều ứng dụng trong các lĩnh vực như mỹ phẩm, thuốc nhuộm, nước giải khát, hương liệu thực phẩm và chất bảo quản. Phenolic, flavonoid là các chất chuyển hóa thứ cấp của thực vật đã được chứng minh cho thấy có tiềm năng lớn trong trị liệu và được coi là nguồn chất chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm và chống tiểu đường đầy tiềm năng. Do đó, định lượng hai nhóm hợp chất này là cần thiết để đánh giá hiệu quả của cao chiết điệp hạ châu trong cải thiện bệnh sỏi thận do calcium oxalate gây ra thông qua kháng oxy hóa và kháng viêm. Hàm lượng phenolic và flavonoid được xác định lần lượt dựa vào đường chuẩn acid gallic ($y = 0,0778x + 0,0255$; $R^2 = 0,9975$) và quercetin ($y = 0,0046x + 0,0218$, $R^2 = 0,9832$) với hàm lượng phenolic và flavonoid được xác định lần lượt là $438,13 \pm 16,37$ (mg GAE/g cao chiết) và $157,10 \pm 1,31$ (mg QE/g cao chiết). Diosmin là một glycoside flavonoid, thuộc nhóm polyphenol khác được tìm thấy nhiều trong rau và trái cây thuộc họ cam quýt [23]. Nó thường được sử dụng như một loại thuốc tự nhiên cho các bệnh thận khác nhau và bảo vệ thận khỏi các biến chứng của tiểu đường, nhiễm độc thận và stress oxy hóa [24].

3.2. Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết

Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong thực vật, tác dụng của chúng được thể hiện thông qua khả năng chống oxy hóa giúp giảm thiểu độc tính gây ra bởi các gốc tự do liên quan đến việc hình thành và phát triển sỏi niệu [10].

Bảng 1. Hiệu quả kháng oxy hóa in vitro của cao chiết điệp hạ châu ở 4 phương pháp

EC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH	ABTS	RP	TAC
Cao chiết	$129,74 \pm 3,05$	$82,35 \pm 1,25$	$196,03 \pm 6,66$	$40,32 \pm 2,78$
Acid gallic	$3,59 \pm 0,02$	$0,47 \pm 0,01$	$10,4 \pm 0,01$	$19,20 \pm 0,01$

Ghi chú: Số liệu được trình bày là trung bình của 3 lần lặp lại $\pm$ độ lệch chuẩn

Phương pháp DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) thường được áp dụng để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của các chất chiết xuất từ thực vật. Trong nghiên cứu này, hiệu quả kháng oxy hóa của chiết xuất diệp hạ châu được thể hiện bằng việc thay đổi màu DPPH do được ở bước sóng 517 nm. Kết quả về khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của chiết xuất được thể hiện thông qua giá trị EC_{50} trình bày trong Bảng 1. Hoạt tính khử gốc tự do DPPH của cao chiết diệp hạ châu ($EC_{50} = 129,74 \pm 3,05 \mu\text{g/mL}$) trong dãy nồng độ thử nghiệm (0; 31,25; 62,5; 125; 250 $\mu\text{g/mL}$) cho thấy có khả năng kháng oxy hóa hiệu quả. So sánh với nghiên cứu trước đó của Poompachee và cộng sự (2011) [25] cho thấy, chiết xuất diệp hạ châu có hiệu quả dung hòa gốc tự do DPPH tốt hơn so với nghiên cứu hiện tại với EC_{50} là $39,0 \pm 4,3 \mu\text{g/mL}$.

Hiệu quả làm sạch gốc tự do $ABTS^+$ được xác định dựa trên tỷ lệ giảm độ hấp thụ quang phổ của $ABTS^+$ sau khi có sự hiện diện của chiết xuất có hoạt tính kháng oxy hóa. Hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong cao chiết diệp hạ châu được đánh giá thông qua giá trị EC_{50} và được trình bày ở Bảng 1. Tương tự như phương pháp DPPH, kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết ethanol từ diệp hạ châu có hoạt tính kháng oxy với giá trị EC_{50} là $82,35 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$. Tuy nhiên, về mặt định lượng, hiệu quả loại bỏ triệt để trong xét nghiệm ABTS cho thấy hiệu quả cao hơn đáng kể so với xét nghiệm DPPH.

Chất kháng oxy hóa sẽ khử phức Fe^{3+} trong phân tử kali ferricyanid thành Fe^{2+} , sau khi bổ sung $FeCl_3$ sẽ tạo phức có màu xanh dương. Hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong cao chiết được xác định dựa trên giá trị EC_{50} và được trình bày ở Bảng 1. Hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong cao chiết được xác định dựa trên giá trị EC_{50} là $196,03 \pm 6,66 \mu\text{g/mL}$.

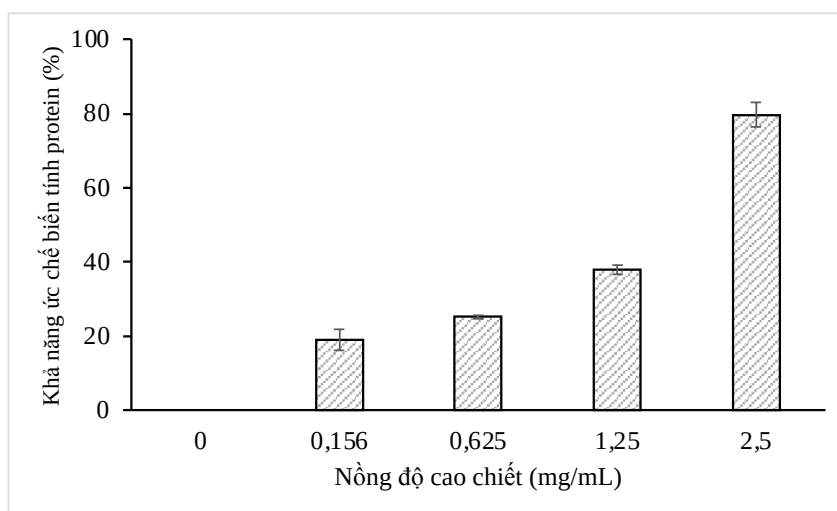
Thử nghiệm TAC lần đầu tiên được phát triển bởi Miller và cộng sự (1993) [26] được xem như một phương pháp đơn giản và thuận tiện được sử dụng đo tổng khả năng chống oxy hóa. Chất kháng oxy hóa sẽ khử $Mo(VI)$ về $Mo(V)$ trong môi trường acid, tạo thành phức hợp phosphate/ $Mo(V)$ có màu xanh lá cây. Khả năng kháng oxy hóa được biểu diễn thông qua giá trị EC_{50} , giá trị EC_{50} càng nhỏ thì khả năng kháng oxy hóa càng tốt. Hoạt tính kháng oxy hóa của các phân đoạn bằng phương pháp TAC được trình bày ở Bảng 1. Kết quả nghiên cứu cho thấy, giá trị EC_{50} là $40,32 \pm 2,78 \mu\text{g/mL}$, thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa đầy tiềm năng.

Tác dụng chống sỏi tiết niệu của dược phẩm được chứng minh là do tác dụng chống oxy hóa của chúng. Calcium oxalate là thành phần chính của sỏi tiết niệu, liệu pháp chống oxy hóa có thể là một trong những phương pháp hiệu quả để ngăn chặn quá trình tạo mầm cũng như liên kết và phát triển của các tinh thể calcium oxalate [27]. Cao chiết diệp hạ châu cho kết quả kháng oxy hóa hiệu quả, từ đó cho thấy tiềm năng chống sỏi tiết niệu thông qua con đường chống oxy hóa.

3.3. Kết quả kháng viêm

Bên cạnh khả năng chống oxy hóa, tác dụng kháng viêm của các hợp chất cũng được xem là một trong những cơ chế ức chế các biến chứng của bệnh sỏi thận. Để xác định khả năng bảo vệ các protein của cao chiết khỏi sự biến tính do các gốc tự do gây ra, tiến hành thử nghiệm ức chế biến tính albumin huyết thanh bò ở nhiệt độ 70°C với các nồng độ cao chiết khác nhau. Thử nghiệm được tiến hành với các dãy nồng độ khác nhau tùy theo khả năng chống biến tính protein để xác định giá trị IC_{50} (Hình 2).

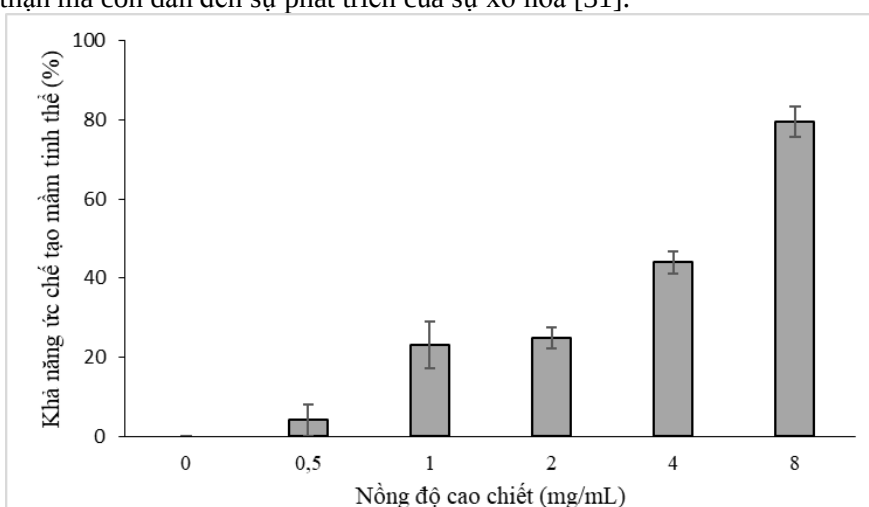
Kết quả nghiên cứu (Hình 2) cho thấy giá trị IC_{50} của cao chiết ethanol từ diệp hạ châu ($IC_{50} 1,52 \pm 0,28 \text{ mg/mL}$) cao hơn so với giá trị IC_{50} của chất chuẩn diclofenac ($IC_{50} 0,21 \pm 0,08 \text{ mg/mL}$). Điều này chứng minh hoạt tính kháng viêm của cao chiết thấp hơn so với đối chứng diclofenac. Quercetin và hyperoside thuộc nhóm hợp chất flavonoid, thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, lợi tiểu, hạ đường huyết và kháng viêm đầy tiềm năng [28]. Hai bioflavonoid này được coi là phương pháp điều trị hiệu quả để kiểm soát sỏi thận dựa trên tác dụng ức chế sự lắng đọng của các tinh thể calcium oxalate, hoạt động chống oxy hóa chống lại tổn thương tế bào ống thận (thông qua tăng hoạt động SOD và catalase) và chống lại ảnh hưởng của quá trình apoptotic [29].



Hình 2. Biểu đồ thể hiện hoạt tính ức chế khả năng biến tính protein albumin huyết thanh bò 5%

3.4. Kết quả ức chế tạo mầm tinh thể calcium oxalate

Trong tổn thương thận do calcium oxalate gây ra, các tinh thể kết tủa trong ống thận và tương tác với các tế bào biểu mô ống thận để gây ra stress oxy hóa và viêm [30]. Căng thẳng oxy hóa quá mức và viêm nhiễm sẽ không chỉ làm tăng sự lắng đọng và lưu giữ các tinh thể oxalate trong tế bào ống thận mà còn dẫn đến sự phát triển của sự xơ hóa [31].



Hình 3. Biểu đồ thể hiện hiệu quả ức chế tạo mầm tinh thể calcium oxalate của chiết xuất ethanol diệp hạ châu

Cao chiết diệp hạ châu đã được chứng minh có tiềm năng chống oxy hóa và kháng viêm đầy triển vọng, dựa trên cơ sở đó nghiên cứu đã tiến hành khảo sát khả năng ức chế tinh thể calcium oxalate từ chiết xuất của loài thực vật tiềm năng này, được thể hiện qua Hình 3.

Từ kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hóa và kháng viêm của chiết xuất từ diệp hạ châu cho thấy đây là loài thực vật tiềm năng trong nghiên cứu về dược liệu. Khảo sát tiếp theo được thực hiện để đánh giá khả năng ức chế sự hình thành tinh thể calcium oxalate của cao chiết diệp hạ châu. Từ kết quả trình bày ở Hình 3 cho thấy, cao chiết diệp hạ châu có hoạt tính ức chế sự tạo mầm tinh thể calcium oxalate với IC_{50} là $4,74 \pm 0,31$ mg/mL. So với các nghiên cứu trước đây, chiết xuất từ lá *Phyllanthus niruri* Linn. cho thấy hiệu quả hòa tan tinh thể calcium oxalate ngang

bằng với thuốc tiêu chuẩn cystone, cụ thể chiết xuất nước (50 mg/mL) có thể hòa tan 56,8%, trong khi cystone hòa tan 58,4% tinh thể [32]. Từ đó cho thấy, chiết xuất diệp hạ châu trong nghiên cứu hiện tại có hiệu quả tốt hơn so với nghiên cứu của Khare và cộng sự (2014) [32], nhưng lại kém hiệu quả hơn so với nghiên cứu của Gul và cộng sự (2021) [33] cho thấy ở nồng độ 1 mg/mL, chiết xuất nước từ lá *P. niruri* có khả năng ức chế lên đến 63,33%.

4. Kết luận

Diệp hạ châu là một nguồn chất chống oxy hóa tiềm năng, được thể hiện ở trong cả 4 phương pháp DPPH, ABTS, RP và TAC. Chiết xuất cũng thể hiện đặc tính kháng viêm và ức chế tạo mầm tinh thể calcium oxalate, với hiệu quả ức chế phụ thuộc vào liều lượng cao chiết. Từ đó cho thấy, diệp hạ châu có thể xem là một dược liệu tiềm năng để điều trị sỏi tiết niệu vì khả năng ức chế tạo mầm tinh thể calcium oxalate và đặc tính chống oxy hóa và kháng viêm của chiết xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] A. E. Azab, A. A. Adwas, A. S. I. Elsayed, A. A. Adwas, A. S. I. Elsayed, and F. A. Quwaydir, "Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body," *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, vol. 6, no. 1, 2019, doi: 10.15406/jabb.2019.06.00173.
- [2] A. Charlton, J. Garzarella, K. A. M. Jandeleit-Dahm, and J. C. Jha, "Oxidative stress and inflammation in renal and cardiovascular complications of diabetes," *Biology*, vol. 10, no. 1, 2021, doi: 10.3390/biology10010018.
- [3] P. Wigner, R. Grębowski, M. Bijak, J. Saluk-Bijak, and J. Szemraj, "The interplay between oxidative stress, inflammation and angiogenesis in bladder cancer development," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 9, 2021, doi: 10.3390/ijms22094483.
- [4] C. Boonla, "Oxidative Stress in Urolithiasis," in *Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells*, 2018, doi: 10.5772/intechopen.75366.
- [5] B. V. S. R. Radha, "HERBAL PLANTS USED IN THE TREATMENT OF UROLITHIASIS: A REVIEW," *International Journal of Pharmaceutical Research and Development (IJPRD)*, vol. 5, 2013, Art. no. 0974.
- [6] D. Sansores-España *et al.*, "Plants Used in Mexican Traditional Medicine for the Management of Urolithiasis: A Review of Preclinical Evidence, Bioactive Compounds, and Molecular Mechanisms," *Molecules*, vol. 27, no. 6, 2022, doi: 10.3390/molecules27062008.
- [7] A. Makasana, V. Ranpariya, D. Desai, J. Mendpara, and V. Parekh, "Evaluation for the anti-urolithiatic activity of *Launaea procumbens* against ethylene glycol-induced renal calculi in rats," *Toxicol Rep*, vol. 1, 2014, doi: 10.1016/j.toxrep.2014.03.006.
- [8] P. K. Patel, M. A. Patel, M. G. Saralai, and T. R. Gandhi, "Anti-urolithiatic effects of *Solanum xanthocarpum* fruit extract on ethylene-glycol-induced nephrolithiasis in rats," *Journal of Young Pharmacists*, vol. 4, no. 3, 2012, doi: 10.4103/0975-1483.100022.
- [9] E. Amengual-Cladera *et al.*, "Phytotherapy in a rat model of hyperoxaluria: The antioxidant effects of quercetin involve serum paraoxonase 1 activation," *Exp Biol Med*, vol. 236, no. 10, 2011, doi: 10.1258/ebm.2011.011090.
- [10] K. Agarwal and R. Varma, "Ethnobotanical study of antilithic plants of Bhopal district," *J Ethnopharmacol*, vol. 174, 2015, doi: 10.1016/j.jep.2015.08.003.
- [11] L. Y. Foo, "Amarulone, a Novel Cyclic Hydrolysable Tannin from *Phyllanthus Amarus*," *Nat Prod Lett*, vol. 3, no. 1, 1993, doi: 10.1080/10575639308043836.
- [12] J. R. Patel, P. Tripathi, V. Sharma, N. S. Chauhan, and V. K. Dixit, "Phyllanthus amarus: Ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology: A review," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 138, no. 2, 2011, doi: 10.1016/j.jep.2011.09.040.
- [13] R. Krithika *et al.*, "Isolation, characterization and antioxidative effect of phyllanthin against CCl₄-induced toxicity in HepG2 cell line," *Chem Biol Interact*, vol. 181, no. 3, 2009, doi: 10.1016/j.cbi.2009.06.014.
- [14] C. A. L. Kassuya, D. F. P. Leite, L. V. de Melo, V. L. C. Rehder, and J. B. Calixto, "Anti-inflammatory properties of extracts, fractions and lignans isolated from *Phyllanthus amarus*," *Planta Med*, vol. 71, no. 8, 2005, doi: 10.1055/s-2005-871258.

- [15] V. L. Singleton and J A Jr. Rossi, "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents," *Am J Enol Vitic*, vol. 16, no. 3, pp. 144-158, 1965.
- [16] J. Zhishen, T. Mengcheng, and W. Jianming, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals," *Food Chem*, vol. 64, no. 4, 1999, doi: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2.
- [17] N. Jadid, D. Hidayati, S. R. Hartanti, B. A. Arraniry, R. Y. Rachman, and W. Wikanta, "Antioxidant activities of different solvent extracts of Piper retrofractum Vahl. using DPPH assay," in *AIP Conference Proceedings*, 2017, vol. 1854, doi: 10.1063/1.4985410.
- [18] I. Fidrianny, A. Rizkiya, and K. Ruslan, "Antioxidant activities of various fruit extracts from three solanum sp. using DPPH and ABTS method and correlation with phenolic, flavonoid and carotenoid content," *J Chem Pharm Res*, vol. 7, no. 5, pp. 666-672, 2015.
- [19] N. Chaves, A. Santiago, and J. C. Alías, "Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used," *Antioxidants*, vol. 9, no. 1, 2020, doi: 10.3390/antiox9010076.
- [20] S. Nazir *et al.*, "Callus culture of Thai basil is an effective biological system for the production of antioxidants," *Molecules*, vol. 25, no. 20, 2020, doi: 10.3390/molecules25204859.
- [21] M. Shah, Z. Parveen, and M. R. Khan, "Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the stem bark of Sapindus mukorossi," *BMC Complement Altern Med*, vol. 17, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s12906-017-2042-3.
- [22] S. Bawari, A. N. Sah, and D. Tewari, "Antiuro lithiatic activity of daucus carota: An in vitro study," *Pharmacognosy Journal*, vol. 10, no. 5, 2018, doi: 10.5530/pj.2018.5.148.
- [23] M. E. Crespo, J. Gálvez, T. Cruz, M. A. Ocete, and A. Zarzuelo, "Anti-inflammatory activity of diosmin and hesperidin in rat colitis induced by TNBS," *Planta Med*, vol. 65, no. 7, 1999, doi: 10.1055/s-2006-960838.
- [24] M. M. Abdel-Daim, H. A. Khalifa, A. I. Abushouk, M. A. Dkhil, and S. A. Al-Quraishy, "Diosmin Attenuates Methotrexate-Induced Hepatic, Renal, and Cardiac Injury: A Biochemical and Histopathological Study in Mice," *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2017, 2017, doi: 10.1155/2017/3281670.
- [25] K. Poompachee and N. Chudapongse, "Comparison of the antioxidant and cytotoxic activities of phyllanthus virgatus and phyllanthus amarus extracts," *Medical Principles and Practice*, vol. 21, no. 1, 2011, doi: 10.1159/000331596.
- [26] N. J. Miller, C. Rice-Evans, M. J. Davies, V. Gopinathan, and A. Milner, "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates," *Clin Sci*, vol. 84, no. 4, 1993, doi: 10.1042/cs0840407.
- [27] M. C. Nirumand *et al.*, "Dietary plants for the prevention and management of kidney stones: Preclinical and clinical evidence and molecular mechanisms," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 3, 2018, doi: 10.3390/ijms19030765.
- [28] L. Zhu, J. Chen, J. Tan, X. Liu, and B. Wang, "Flavonoids from Agrimonia pilosa Ledeb: Free radical scavenging and DNA oxidative damage protection activities and analysis of bioactivity-structure relationship based on molecular and electronic structures," *Molecules*, vol. 22, no. 3, 2017, doi: 10.3390/molecules22030195.
- [29] H. K. Park *et al.*, "Reduction of Oxidative Stress in Cultured Renal Tubular Cells and Preventive Effects on Renal Stone Formation by the Bioflavonoid Quercetin," *Journal of Urology*, vol. 179, no. 4, 2008, doi: 10.1016/j.juro.2007.11.039.
- [30] S. R. Khan, B. K. Canales, and P. R. Dominguez-Gutierrez, "Randall's plaque and calcium oxalate stone formation: role for immunity and inflammation," *Nature Reviews Nephrology*, vol. 17, no. 6, 2021, doi: 10.1038/s41581-020-00392-1.
- [31] S. R. Khan, "Reactive oxygen species, inflammation and calcium oxalate nephrolithiasis," *Translational Andrology and Urology*, vol. 3, no. 3, 2014, doi: 10.3978/j.issn.2223-4683.2014.06.04.
- [32] P. Khare, V. K. Mishra, K. Arun, N. Bais, and R. Singh, "Study on in vitro anti-lithiatic activity of Phyllanthus niruri linn. leaves by homogenous precipitation and turbiditory method," *Int J Pharm Pharm Sci*, vol. 6, no. 4, pp. 124-127, 2014.
- [33] M. T. Gul *et al.*, "Evaluation of phyllanthus niruri L. From Malaysia for in-vitro anti-urolithiatic properties by different Solvent extraction," *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research Series B: Biological Sciences*, vol. 64, no. 1, 2021, doi: 10.52763/pjsir.biol.sci.64.1.2021.81.86.