

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG KHÁNG VIÊM CỦA CAO CHIẾT BNTL TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Hứa Hoàng Oanh¹, Nguyễn Thị Phương Thùy¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát khả năng kháng viêm của cao BNTL với thành phần là các dược liệu dân gian Bìm bịp, Ngũ trảo, Thanh táo và Lá lốt. Nghiên cứu bước đầu thực hiện trên mô hình chuột nhắt trắng bị gây viêm bởi carrageenan làm cơ sở cho các thử nghiệm lâm sàng tiếp theo để đánh giá tác dụng kháng viêm của cao BNTL dùng tại chỗ.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Đánh giá tác dụng kháng viêm của cao BNTL trên mô hình gây viêm bằng carrageenan trên chuột nhắt trắng sau 1, 2, 24 và 48 giờ.

Kết quả: Cao BNTL dùng tại chỗ với liều 0,2 g có tác dụng làm giảm độ phù chân chuột có ý nghĩa thống kê sau 1 giờ và 48 giờ gây viêm ($p < 0,05$).

Kết luận: Cao BNTL dùng tại chỗ có tác dụng kháng viêm cấp trên chuột nhắt trắng gây viêm bởi carrageenan sau 1 giờ và 48 giờ gây viêm.

Từ khóa: kháng viêm cấp, carrageenan, BNTL, Bìm bịp, Ngũ trảo, Thanh táo, Lá lốt

SUMMARY

ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF BNTL EXTRACT IN MICE

Objectives: The aim of this study was to investigate anti-inflammatory effect of BNTL extract from four folk medicinal herbs: Clinacanthus nutans (Burm. f.) Lindau, Vitex negundo L., Justicia gendarussa L., Piper lolot L.. This initial research of BNTL extract for anti-inflammatory activity in rat model of carrageenan-induced paw edema was conducted as the basis for further clinical trials to evaluate the anti-inflammatory effects of topically applied BNTL.

Methods: Assess the therapeutic anti-inflammatory activities of BNTL extract in carrageenan-induced paw edema in mice after 1, 2, 24 and 48 hours.

Results: BNTL extract with 0.2 g dose which was topical applied could reduce edema in carrageenan-induced paw edema in mice after 1 hour and 48 hours.

Conclusion: This study exhibited that the BNTL extract applied topically possesses anti-inflammatory activity.

Keywords: Anti-inflammatory effects, carrageenan, BNTL extract, Clinacanthus nutans (Burm. f.) Lindau, Vitex negundo L., Justicia gendarussa L., Piper lolot L.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm là một phản ứng tự vệ của cơ thể đối với các kích thích như chất gây dị ứng và/hoặc tổn thương các mô. Mặt khác, phản ứng viêm không kiểm soát được là nguyên

¹Khoa Y học Cổ truyền – Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Hứa Hoàng Oanh

SĐT: 0334205210

Email: hhoanh@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 30/05/2022

Ngày phản biện khoa học: 27/07/2022

Ngày duyệt bài: 04/08/2022

nhân chính của một loạt các chuỗi rối loạn bao gồm dị ứng, rối loạn chức năng tim mạch, hội chứng chuyển hóa, ung thư và các bệnh tự miễn, tạo ra gánh nặng kinh tế lớn cho cá nhân và xã hội⁽¹⁾. Có nhiều loại thuốc khác nhau để kiểm soát và ngăn chặn các phản ứng viêm đã được sử dụng phổ biến: Steroid, thuốc kháng viêm không steroid và thuốc ức chế miễn dịch. Đây là những loại thuốc có liên quan đến nhiều tác dụng phụ không mong muốn và trên thực tế lâm sàng, mục tiêu của người thầy thuốc là dùng liều điều trị tối thiểu để đạt hiệu quả cao nhất với ít tác dụng phụ nhất. Do đó, cho thấy cần có các yếu tố chống viêm tự nhiên trong điều trị bằng thuốc để tăng hiệu quả trị liệu và hạn chế ở mức độ thấp nhất các tác dụng phụ không mong muốn^(1,1). Thuốc được liệu và thuốc cổ truyền là nguồn quan trọng trong điều trị viêm, nhưng cần thiết phải chứng minh tác dụng của các bài thuốc này thông qua các phương pháp khoa học để có y học chứng cứ. Đó là lý do thực hiện nghiên cứu về tác dụng chống viêm trên chuột nhắt trắng của cao BNTL có nguồn gốc từ bài thuốc dân gian⁽³⁾ được chiết từ Bìm bịp (*Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau), Ngũ trảo (*Vitex negundo* L.), Thanh táo (*Justicia gendarussa* L.) và Lá lốt (*Piper lolot* L.) (nên gọi tắt là cao BNTL).

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Cao BNTL được chiết xuất từ hỗn hợp các dược liệu Bìm bịp, Ngũ trảo, Thanh táo, Lá lốt với tỷ lệ 1:1:1:1⁽³⁾. Các dược liệu khô được cung cấp bởi Bệnh viện Y học cổ truyền Thành phố Hồ Chí Minh đạt tiêu chuẩn cơ sở. Cao BNTL được chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt với dung môi còn 70% theo tỷ lệ 10:1 (dung môi: dược

liệu), sau đó dịch chiết còn được cô quay thu hồi dung môi và cô cách thủy đến dạng cao đặc có độ ẩm 18,1%, độ tro toàn phần 8%, độ tro không tan trong acid 0,05%, hiệu suất chiết thu được là 11,1% (xác định theo ĐĐVN V – PL9.6, PL9.7 và PL9.8).

Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng Swiss albino, khỏe mạnh, cả 2 phái, 5 – 6 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 20 ± 2 g, được cung cấp bởi Viện Pasteur TP.HCM và được nuôi ổn định ở điều kiện tiêu chuẩn 1 tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

Thuốc thử nghiệm và trang thiết bị

Hóa chất gây mô hình: Carrageenan (Sigma-Aldrich, USA)

Thuốc đối chiếu:

- Voltaren Emulgel (GSK, lô sản xuất RD4H-A, HSD: 07/2023). Hoạt chất: Diclofenac diethylamine 1,16%.

- Salonpas gel (Histamitsu, lô sản xuất 3971, HSC: 03/2026). Hoạt chất: Methyl Salicylate 15%, 1 – menthol 7%.

Trang thiết bị:

- Thiết bị đo thể tích chân chuột (Plethysmometer của UgoBasile, Italy).

- Cân phân tích 4 số lẻ (Mettler AE, Germany), cân điện tử 2 số lẻ (Tanita KD 420).

- Băng keo lụa Urgo Strong Adhesive Tape.

Địa điểm nghiên cứu

Phòng Thí nghiệm Y Dược cổ truyền, Khoa Y học cổ truyền, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Phương pháp nghiên cứu

Định tính sơ bộ các hợp chất tự nhiên trong cao BNTL

Cao BNTL được chiết xuất trong dung môi thích hợp để thực hiện các phản ứng định tính sơ bộ các nhóm hoạt chất bằng các phản ứng hóa học đặc trưng theo bảng 1⁽⁴⁾.

Bảng 1. Phương pháp phân tích các nhóm hợp chất có trong cao chiết

Nhóm hợp chất	Thuốc thử/ Cách thực hiện	Phản ứng dương tính
Tinh dầu	Bốc hơi tới cạn	Có mùi thơm
Alkaloid	Thuốc thử chung alkaloid	Kết tủa
Coumarin	Phát quang trong kiềm	Phát quang mạnh hơn
Anthraquinon	KOH 10%	Dung dịch kiềm có màu hồng tới đỏ
Flavonoid	Mg/HCl đậm đặc	Dung dịch có màu hồng tới đỏ
Polyphenol	Thuốc thử Folin-Ciocalteu	Phức màu xanh
Tannin	FeCl ₃	Xanh rêu hay xanh đen (polyphenol)
	Dung dịch gelatin muối	Tủa bông trắng (tannin)
Saponin	Lắc mạnh với nước	Tạo bọt
	Thuốc thử Liebermann	Có vòng tím nâu
Acid hữu cơ	Bột Na ₂ CO ₃	Sủi bọt

Kết quả phân tích được đánh giá theo các mức sau: (-) không có, (±) không rõ, (+) có ít, (++) có nhiều, (+++) có rất nhiều.

Đánh giá tác dụng kháng viêm trên chuột nhắt trắng bằng mô hình carrageenan^(4,6,7)

Bước 1: Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 6 con.

- Lô 1: (lô bệnh lý): không bôi thuốc.
- Lô 2: bôi Voltaren vào gan bàn chân phải chuột (0,2 g)
- Lô 3: bôi Salonpas gel vào gan bàn chân phải chuột (0,2 g)
- Lô 4: bôi Cao BNTL vào gan bàn chân phải chuột (0,2 g)

Chuột sau khi bôi thuốc được dán băng keo lụa urgo để tránh hao hụt lượng thuốc. Băng dán được tháo ra trước khi tiến hành thử nghiệm.

Bước 2: Đo thể tích chân phải chuột ban đầu (V₀). Sau đó tiến hành gây viêm bằng cách tiêm dưới da gan bàn chân phải chuột 0,025 ml carrageenan 1%.

Bước 3: Bôi thuốc ngay sau khi tiêm carrageenan. Các lô chuột sau khi bôi thuốc tại chỗ sẽ dùng băng dán để tránh làm hao hụt lượng thuốc. Chuột được tiếp tục bôi thuốc 3 lần trong 2 ngày liên tục sau khi tiêm

carrageenan (vào lúc 8 giờ sáng và 16 giờ chiều).

Bước 4: Đo lại thể tích chân phải chuột sau khi tiêm 1 giờ, 2 giờ, 24 giờ, 48 giờ

Bước 5: Đánh giá kết quả tác dụng kháng viêm được biểu diễn bằng % mức độ giảm sưng phù chân chuột trong lô thử nghiệm so với lô chứng và lô đối chiếu bôi Voltaren. Độ sưng phù chân chuột biểu thị mức độ viêm, được tính theo công thức:

$$X \% = (V_t - V_0) / V_0 \times 100\%$$

X: độ phù tính theo %

V₀: thể tích chân chuột trước khi gây viêm.

V_t: thể tích chân chuột sau khi gây viêm ở thời điểm t.

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng Excel. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± sai số chuẩn (M ± SE). Sự khác biệt giữa các lô được coi là có ý nghĩa thống kê khi p < 0,05.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Định tính sơ bộ các hợp chất tự nhiên trong cao BNTL

Cao BNTL sau khi thực hiện các phản ứng hóa học đặc trưng để xác định các nhóm hợp chất có trong cao chiết thì thu được kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả định tính sơ bộ các hợp chất hữu cơ trong cao BNTL

Nhóm hợp chất	Thuốc thử/ Cách thực hiện	Kết quả	Kết luận
Tinh dầu	Bốc hơi tới cạn	Có mùi thơm	++
Alkaloid	Thuốc thử chung alkaloid	Không kết tủa	-
Coumarin	Phát quang trong kiềm	Phát quang mạnh hơn	+++
Anthraquinon	KOH 10%	Dung dịch kiềm không có màu hồng tới đỏ	-
Flavonoid	Mg/HCl đậm đặc	Dung dịch có màu hồng tới đỏ	++
Polyphenol	Thuốc thử Folin-Ciocalteu	Phức màu xanh	+++
Tannin	FeCl ₃	Xanh rêu (polyphenol)	+
	Dung dịch gelatin muối	Tủa bông trắng (tannin)	
Saponin	Lắc mạnh với nước	Tạo bọt	+++
	Thuốc thử Liebermann	Có vòng tím nâu	
Acid hữu cơ	Bột Na ₂ CO ₃	Không sủi bọt	-

Ghi chú: (-): không có, (+): có ít, (++) : có nhiều, (±): không rõ, (+++): có rất nhiều

Sau khi tiến hành định tính sơ bộ các hợp chất hữu cơ có trong cao BNTL thì sơ bộ xác định được các nhóm hợp chất như: Tinh dầu, saponin, coumarin, flavonoid, tannin, polyphenol.

Đánh giá tác dụng kháng viêm trên chuột nhắt trắng bằng mô hình carrageenan

Đánh giá trên mô hình gây phù chân chuột nhắt trắng bằng carrageenan: Sau khi tiêm carrageenan, tất cả các chuột ở lô chứng bệnh lý đều xuất hiện phù bàn chân tại các thời điểm 1, 2, 24 và 48 giờ.

Bảng 3. Thể tích bàn chân phải chuột trước khi gây viêm và sau gây viêm bằng carrageenan tại các thời điểm 1, 2, 24 và 48 giờ (n=6, Mean ± SD)

	V0	V1	V2	V24	V48
Chứng bệnh lý	0,585 ± 0,09	0,960 ± 0,17	0,690 ± 0,09	0,612 ± 0,04	0,773 ± 0,06
ΔV		0,38 ± 0,12	0,11 ± 0,04	0,06 ± 0,11	0,19 ± 0,13
p		0,0002*	0,0008*	0,11	0,008*

*: $p < 0,05$: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bàn chân chuột ở lô gây viêm nhưng không có ý nghĩa thống kê.

Số liệu thu được cho thấy tại các thời điểm 1, 2 và 48 giờ, chuột ở lô chứng bệnh lý đều xuất hiện phù bàn chân có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô chứng sinh lý. Riêng tại thời điểm 24 giờ cũng có xuất hiện phù

Kết quả thử tác dụng chống viêm cấp của cao BNTL trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan được thể hiện qua bảng dưới đây:

Bảng 4. Trung bình độ tăng thể tích bàn chân chuột của các lô thử nghiệm sau gây viêm tại các thời điểm khảo sát (n=6, Mean $\pm$ SD)

Các lô thí nghiệm	Trung bình độ tăng thể tích bàn chân chuột (ΔV) ở các thời điểm sau gây viêm			
	1 giờ	2 giờ	24 giờ	48 giờ
Chứng bệnh lý	0,39 $\pm$ 0,12	0,11 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,11	0,19 $\pm$ 0,13
Tham chiếu Voltaren	0,15 $\pm$ 0,16*	0,17 $\pm$ 0,14	0,06 $\pm$ 0,19	0,03 $\pm$ 0,13*
Tham chiếu Salopas	0,16 $\pm$ 0,13*	0,29 $\pm$ 0,19	0,30 $\pm$ 0,22	0,19 $\pm$ 0,23
Cao BNTL	0,216 $\pm$ 0,14*	0,36 $\pm$ 0,17	0,32 $\pm$ 0,16	0,11 $\pm$ 0,13**/**

* $p < 0,05$: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng

** $p < 0,05$: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô tham chiếu dùng Voltaren

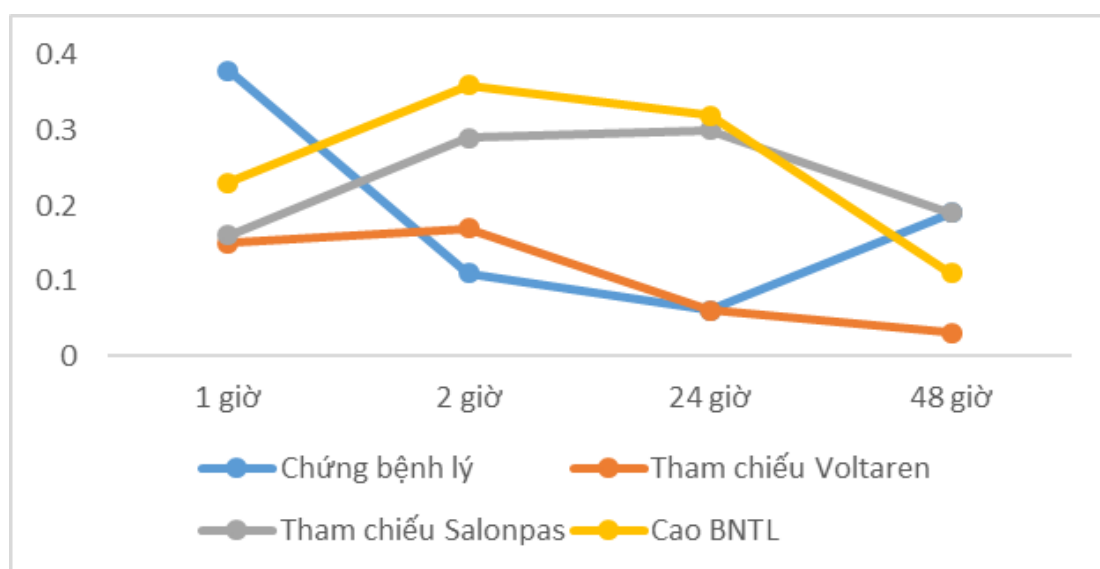
So với lô chứng bệnh lý:

- Tại thời điểm 1 giờ sau gây viêm: Lô dùng thuốc Voltaren, Salopas và cao BNTL đều làm giảm độ tăng thể tích bàn chân chuột tại thời điểm sau gây viêm 1 giờ có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Độ tăng thể tích bàn chân chuột sau gây viêm 1 giờ ở cả 3 lô dùng thuốc Voltaren, Salopas và cao BNTL khác nhau không có ý nghĩa thống kê.

- Tại thời điểm 2 giờ và 24 giờ: Cả 3 lô dùng thuốc Voltaren, Salopas và cao BNTL lại không làm giảm độ tăng thể tích bàn chân

chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý.

- Tại thời điểm 48 giờ: Lô dùng thuốc Voltaren và cao BNTL có tác dụng làm giảm độ tăng thể tích bàn chân chuột so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,05$), trong khi lô dùng thuốc Salopas không làm giảm độ tăng thể tích bàn chân chuột so với lô chứng bệnh lý ($p > 0,05$). Lô dùng thuốc Voltaren có độ tăng thể tích bàn chân chuột ít hơn lô dùng cao BNTL.



Hình 1. Biểu đồ trung bình độ tăng thể tích bàn chân chuột của các lô thử nghiệm sau gây viêm tại các thời điểm khảo sát

Như vậy, Voltaren và cao BNTL có tác dụng làm giảm thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 1 giờ và 48 giờ sau gây viêm, trong khi Salonpas chỉ làm giảm thể tích bàn chân chuột tại thời điểm 1 giờ sau gây viêm so với lô chứng bệnh lý.

IV. BÀN LUẬN

Định tính sơ bộ các hợp chất hữu cơ có trong cao BNTL đã sơ bộ xác định được các nhóm hợp chất như: Tinh dầu, saponin, coumarin, flavonoid, tannin, polyphenol. Các hợp chất chính có tác dụng kháng viêm của các dược liệu trong cao BNTL đã được công bố trong các nghiên cứu trước đây^(8,9,10,11), cụ thể trong Bìm bịp là các flavonoid (vitexin, orientin) và các polyphenol (clinacosid A, clinacosid B); Ngũ trảo có tinh dầu (sabinen, viridiflorol) và flavonoid (casticin, vitexicarpin); flavonoid (aromadendrin) của Thanh táo và tinh dầu (benzyl benzoat, benzyl alcohol) trong Lá lốt, đây là các hợp chất tan tốt dung môi cồn. Như vậy, nghiên cứu sử dụng cồn 70% là phù hợp để chiết được các thành phần hợp chất tự nhiên có hoạt tính kháng viêm trong các dược liệu Bìm bịp, Ngũ trảo, Thanh táo, Lá lốt tương ứng với các tài liệu đã công bố trước đây^(8,9,10,11).

Trong các mô hình thực nghiệm được sử dụng để sàng lọc các loại thuốc chống viêm, mô hình gây phù chân sau của chuột bằng cách tiêm một chất có khả năng gây viêm (chất kích ứng) là một trong những mô hình được sử dụng phổ biến nhất. Carrageenan là một polysaccharid được sulfat hóa có nguồn

gốc từ một số loài tảo. Tiêm carrageenan vào gan bàn chân sau của chuột sẽ xuất hiện rất nhanh hiện tượng tăng tính thấm thành mạch, hình thành dịch rỉ viêm và bạch cầu thoát mạch, chủ yếu là bạch cầu trung tính, vào mô viêm. Trong suốt quá trình viêm do carrageenan gây ra, có sự giải phóng lần lượt các chất trung gian hóa học của quá trình viêm, như histamin, 5-hydroxytryptamin, bradykinin, và cuối cùng là các prostaglandin. Các bạch cầu trung tính di chuyển vào mô viêm sẽ giải phóng vào khoảng gian bào các gốc tự do oxygen gây độc (như $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 và $OH^{\cdot-}$), các gốc oxygen này sẽ phản ứng với nitơ oxit hình thành các gốc tự do phản ứng (như $ONOO^{\cdot-}$, $NO_2^{\cdot-}$ và $NO_3^{\cdot-}$) làm tăng cường và khuếch đại phản ứng viêm⁽⁶⁾. Mô hình này dễ áp dụng và khá nhạy trong dược lý thực nghiệm để bước đầu đánh giá về khả năng chống viêm của một thuốc, kết quả bước đầu này sẽ cho phép đánh giá sơ bộ cũng như mở ra hướng nghiên cứu trên mô hình tiếp theo. Kết quả đánh giá mô hình cho thấy chân chuột ở lô bệnh lý bị tăng thể tích, phù to tại thời điểm 1, 2 và 48 giờ sau gây viêm bằng carrageenan và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thể tích chân chuột ban đầu trước khi gây viêm ($p < 0,05$).

So với lô chứng bệnh lý, các lô dùng cao BNTL, lô dùng thuốc tham chiếu Voltaren và lô dùng thuốc tham chiếu Salonpas đều cho thấy có tác dụng kháng viêm tại thời điểm 1 giờ sau gây viêm. Tác dụng kháng viêm được đánh giá thông qua mức độ ức chế tăng thể tích phù viêm. Tác dụng làm giảm độ phù chân chuột giữa các lô tham chiếu dùng

Voltaren và Salonpas với lô dùng cao BNTL không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) tại thời điểm 1 giờ sau gây viêm, chứng tỏ cao BNTL có tác dụng kháng viêm nhanh, thể hiện ngay sau 1 giờ trên chân chuột bị gây viêm. Thời điểm 2 giờ và 24 giờ sau gây viêm, cả Voltaren, Salonpas và cao BNTL đều không thể hiện tác dụng kháng viêm. Tại thời điểm 48 giờ sau gây viêm, Voltaren và cao BNTL lại thể hiện tác dụng kháng viêm. Như đã nói ở trên, mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan được dùng để khảo sát hoạt tính ức chế của thuốc chống lại các autacoid. Các autacoid, như nitric oxide, histamin, serotonin, kinin, các prostaglandin... là những chất trung gian thần kinh hoặc điều hòa thần kinh, đóng vai trò trong một số quá trình bệnh lý viêm đau, dị ứng. Tác dụng chống phù viêm ở giai đoạn đầu (0 – 2 giờ) được xem là tác dụng ức chế các chất trung gian amino acid và hoạt tính ở giai đoạn sau được xem là tác dụng ức chế các dẫn xuất của acid arachidonic, chủ yếu là các prostaglandin⁽¹²⁾. Cao BNTL làm giảm phù có ý nghĩa thống kê tại thời điểm 1 giờ và 48 giờ sau gây viêm, chứng tỏ cao BNTL có tác dụng ức chế đối với nhiều loại chất trung gian autacoid.

V. KẾT LUẬN

Cao BNTL (Bìm bịp, Ngũ trảo, Thanh táo, Lá lốt) dùng tại chỗ với liều 0,2 g có tác dụng kháng viêm cấp sau 1 giờ và 48 giờ gây viêm trên chuột nhắt trắng bị gây viêm bằng carrageenan.

Đề tài mới chỉ bước đầu khảo sát hoạt tính kháng viêm cấp của cao BNTL, một cao được điều chế từ 4 dược liệu được phối hợp theo bài thuốc dân gian với cỡ mẫu nghiên cứu nhỏ. Để định hướng phát triển sản phẩm có hoạt tính kháng viêm từ dược liệu, cần có những nghiên cứu tiếp theo trên cao BNTL với cỡ mẫu lớn hơn.

VI. LỜI CẢM ƠN

Đề tài nghiên cứu được tài trợ một phần bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bagad AS, Joseph JA, Bhaskaran N, and Agarwal A** (2013). Comparative evaluation of anti-inflammatory activity of curcuminoids, turmerones, and aqueous extract of *Curcuma longa*. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013(4):805756.
2. **Ghasemian M, Owlia MB** (2015). A different look at pulsed glucocorticoid protocols: is high dose oral prednisolone really necessary just after initiation of pulse therapy? *Case Reports in Practice*, 3(1):1-3.
3. **Hoàng Sơn** (2018). Bài thuốc từ thiên nhiên. Trong: Hoàng Sơn. *Y học cổ truyền – Cây thuốc nam – Bài thuốc từ thiên nhiên*, Nhà xuất bản Thanh Hóa, tr.189-191.
4. **Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu** (1985). *Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*, Nhà xuất bản Y học, TP. Hồ Chí Minh, tr.11-48.
5. **Đoàn Thị Nhu** (2006). *Phương pháp nghiên cứu dược lý thuốc chống viêm*. Trong: Viện dược liệu. *Phương pháp nghiên cứu tác dụng*

- được lý của thuốc từ dược thảo, Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật, Hà Nội, tr.140-142.
6. **Winter CA, Risley EA, Nuss GW** (1962). Carragenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings Society of Experimental Biological Medicine*, 111:544-547.
 7. **Đinh Thị Lam** (2017). Nghiên cứu tính an toàn, tác dụng chống viêm, giảm đau của cao xoa Bách xà trên thực nghiệm và lâm sàng bệnh viêm khớp dạng thấp. Luận án Tiến sĩ, trường Đại học Y Hà Nội, tr.40-81.
 8. **Khoo LW, Audrey Kow S, Lee MT, Tan CP, Shaari K, Tham CL, Abas F** (2018). A comprehensive review on phytochemistry and pharmacological activities of *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018(2):1-39.
 9. **Zheng CJ, Li HQ, Ren SC, Xu CL, Rahman K, Qin LP, Sun YH** (2015). Phytochemical and pharmacological profile of *Vitex negundo*. *Phytotherapy Research*, 29(5):633-647.
 10. **Sangeetha Sr, Kavitha K, Sujatha K, Umamaheswari S** (2014). Phytochemical and pharmacological profile of *Justicia gendarussa* Burm f. – Review. *Pharmacy Research*, 8:990-997.
 11. **Gutierrez RMP, Gonzalez AMN, Hoyo-Vadillo C** (2013). Alkaloids from Piper: A review of its phytochemistry and pharmacology. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13:163-193.
 12. **Lingadurai S, Nath LK, Kar PK, Besra SE, Joseph RV** (2007). Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of methanolic extract of the leaves of *Fraxinus floribunda* Wallich. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines*, 4(4):411-416.