

HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM CỦA CAO CHIẾT SÂM VIỆT NAM (*PANAX VIETNAMENSIS*) ĐỐI VỚI TẾ BÀO RAW 264.7**Phạm Thị Bích¹, Ngô Thị Hải Yến¹, Phạm Trọng Khá¹,
Bùi Thị Hương², Vũ Thị Thu¹**¹Khoa Sinh học, Trường Đại học khoa học Tự Nhiên, ĐHQGHN²Viện Y sinh Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt-NgaTác giả chịu trách nhiệm khoa học: **Vũ Thị Thu***Tác giả liên hệ chính: **Vũ Thị Thu**Email: vtthu2015@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 09/05/2023

Ngày phản biện: 16/05/2023

Ngày chấp nhận đăng: 15/06/2023

TÓM TẮT

Sâm Việt Nam (Panax vietnamensis, SVN) là cây dược liệu quý và đặc hữu của Việt Nam. SVN được chứng minh là có tác dụng tăng cường hệ miễn dịch, chống ôxi hóa, chống ung thư. Tuy nhiên, tác dụng của SVN với các tổn thương viêm còn chưa được làm sáng tỏ. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng kháng viêm của phân đoạn cao chiết nước và cao chiết butanol của SVN đối với tế bào RAW 264.7 được kích hoạt viêm bởi lipopolysaccharide (LPS). Tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy trong điều kiện môi trường bình thường hoặc bị xử lý với LPS. Cao chiết SVN được bổ sung vào trước thời điểm xử lý gây viêm bởi LPS. Cuối thời điểm thí nghiệm, khả năng sống của tế bào, hàm lượng nitric oxide (NO) và gốc ôxi phản ứng (reactive oxygen species, ROS) của tế bào được xác định bằng các kit CCK-8, Griess Reagent và CM-H2DCFDA. Kết quả thu được cho thấy, cao chiết butanol của SVN (50 và 100 µg/ml) đã làm tăng đáng kể tỷ lệ tế bào sống của tế bào RAW 264.7 trong điều kiện có LPS. Mẫu tế bào bị gây viêm bởi LPS đồng thời được bổ sung cao chiết butanol của SVN có lượng NO và ROS giảm rõ rệt ($p < 0,05$ so với nhóm chỉ có LPS). Tuy nhiên, cao chiết nước của SVN chưa thể hiện các hoạt tính khảo sát. Kết quả nghiên cứu bước đầu cung cấp các dẫn liệu thể hiện tác dụng bảo vệ cao chiết butanol của SVN đối với tế bào RAW 246.7 thông qua khả năng làm giảm các sản phẩm trung gian của quá trình viêm như NO và ROS.

Từ khóa: Sâm Việt Nam, RAW 264.7, LPS, nitric oxide.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hệ miễn dịch có vai trò bảo vệ cơ thể trước các yếu tố gây bệnh từ bên ngoài và những rối loạn nội sinh. Điển hình, trạng thái viêm là chuỗi các phản ứng tự nhiên của hệ miễn dịch để chống lại các tác nhân gây bệnh. Các tác nhân gây viêm có thể kể đến như nhiễm trùng, tổn thương mô, mất cân bằng nội môi, trong đó cơ chế viêm do nhiễm trùng được hiểu rõ hơn cả [1]. Phản ứng viêm được điều phối bởi một loạt các chất trung gian tạo thành các mạng lưới điều tiết vô cùng phức tạp. Các chất trung gian làm thay đổi

các trạng thái chức năng của các mô, cơ quan. Các nghiên cứu viêm đặc biệt quan tâm đến cách thức đáp ứng của hệ miễn dịch bởi các bạch cầu được vận hành liên tục dưới dạng các tế bào biệt hóa ở các mô, cơ quan. Việc sản xuất quá mức các chất trung gian gây viêm như nitric oxide (NO), các gốc ôxi phản ứng (reactive oxygen species, ROS), các loại interleukin thể hiện sự đáp ứng của tế bào trong quá trình viêm [2].

Hiện nay, trong điều trị viêm, thuốc chứa steroid (glucocorticoid-GC) và không

steroid (NSAIDs) thường được chỉ định sử dụng. Tuy nhiên, bên cạnh tác dụng kháng viêm, giảm đau thì các loại thuốc này thường mang lại các tác dụng không mong muốn liên quan đến tim mạch, tiểu đường và tiêu hóa. Vì vậy, hướng nghiên cứu sàng lọc các thảo dược có hoạt tính kháng viêm và an toàn đã đang nhận được nhiều sự quan tâm.

Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*, SVN) là loại thảo dược quý của Việt Nam và được chứng minh là có tác dụng tăng cường hệ miễn dịch, chống ôxi hóa, chống ung thư. Đặc biệt, chiết suất saponin toàn phần của SVN có tác dụng bảo vệ tế bào cơ tim thông qua bảo toàn một số chức năng ty thể, giảm sản xuất ROS của tế bào H9C2 trong điều kiện mô hình thiếu máu cục bộ/tưới máu [3, 4]. Tuy nhiên, cơ sở khoa học về hoạt tính chống viêm của cao chiết SVN vẫn chưa được làm rõ. Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng viêm của SVN được đánh giá thông qua việc phân tích tỷ lệ sống, hàm lượng NO và ROS của đại thực bào RAW264.7 trong điều kiện gây viêm bằng LPS.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu, hóa chất và thiết bị

Tế bào RAW 264.7 (ATCC TIB 71) được tặng bởi Viện hóa học các hợp chất thiên nhiên. Cao chiết nước (SVN-N) và cao chiết butanol (SVN-B) của SVN được cung cấp bởi Trường Đại học Phenikaa. Cao chiết được trữ ở nhiệt độ 4°C cho đến khi sử dụng. Các hóa chất chính được sử dụng trong nghiên cứu gồm: lipopolysaccharide (LPS, Sigma); môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco, USA); Photphate Buffered Saline (PBS, Gibco, USA); huyết thanh phôi bê (Fetal bovine serum-FBS, Gibco, USA); penicillin–streptomycin (PS); Dimethyl Sulfoxide (DMSO, Sigma, USA); kit xác định tỷ lệ tế bào sống (CCK-8, Sdojindo, Japan); kit xác định hàm lượng

ROS (CM-H₂DCFDA, Invitrogen, USA); kit phân tích NO (kit Griess Reagent (Invitrogen, Mỹ); đĩa nuôi cấy kích thước 60x15mm, 90x20mm, đĩa 96 giếng thành trong (SPL Life Sciences, Korea), đĩa 96 giếng thành đen đáy kính trong (SPL Life Sciences, Korea), kính hiển vi soi ngược Axiovert (Germany), hệ thống kính Apotome 2; máy đọc đĩa 96 giếng và các thiết bị vật tư tiêu hao khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nuôi tế bào

Tế bào RAW 264.7 được nuôi trong môi trường DMEM có bổ sung 10% FBS và 1% PS trong điều kiện nhiệt độ 37°C và độ ẩm 5% CO₂. Môi trường nuôi được thay mới sau 2-3 ngày. Tế bào được cấy chuyển khi mật độ đạt khoảng 80% bề mặt đĩa nuôi.

Đánh giá khả năng gây độc tế bào

Cao chiết phân đoạn cao chiết nước (SVN-N) và cao chiết butanol (SVN-B) của SVN được hòa tan trong DMSO và được pha loãng với DMEM theo các nồng độ khảo sát (0,1; 1;10; 50; 100; 250; 500 và 1000 µg/ml). Để đánh giá tính độc của cao chiết đối với tế bào RAW 264.7, tế bào này được nuôi trong đĩa 96 giếng với mật độ 10000 tế bào/giếng trong 24 giờ và được ủ với SVN-N và SVN-B ở dải nồng độ nêu trên trong 24 giờ. Tại cuối thời điểm thí nghiệm, tỷ lệ sống của các mẫu tế bào được phân tích bằng kit Cell Counting Kit-8 (CCK-8, Dojindo, Nhật Bản), độ hấp thụ được đo ở bước sóng 450 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Gây mô hình viêm bằng LPS

Tế bào RAW 264.7 được nuôi trên đĩa 96 giếng với mật độ 10000 tế bào/giếng trong 24 giờ. Tiếp đó, mẫu phân tích được chia thành: (1) mẫu đối chứng âm/đối chứng (ĐC): tế bào tiếp tục được nuôi trong điều kiện môi trường nuôi bình thường (DMEM, 10% FBS, 1% PS, 37°C và 5% CO₂) trong 48 giờ; (2) mẫu thí nghiệm (LPS): tế bào bị gây viêm bằng

LPS 500 ng/ml. Trong nhóm LPS, các mẫu phân tích được chia thành: (2-1) mẫu LPS+DMSO 0.1%: tế bào được nuôi trong môi trường có DMSO 0.1% trong 2 giờ và có bổ sung LPS trong 24 giờ tiếp theo [5, 6]; (2-2) mẫu LPS+SVN: tế bào RAW 264.7 được nuôi trong môi trường có SVN-N hoặc SVN-B (ở các nồng độ khác nhau, 2 giờ) trước giai đoạn nuôi 24 giờ có bổ sung LPS. Cuối thời điểm thí nghiệm, các mẫu tế bào được dùng để phân tích tỷ lệ sống, hàm lượng NO và ROS.

Đánh giá hàm lượng NO

Hàm lượng NO được xác định bằng kit Griess Reagent theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Invitrogen, Mỹ). Tế bào được nuôi trên đĩa 96 giếng với mật độ

10000 tế bào/giếng. Ngay tại cuối thời điểm thí nghiệm (tế bào được nuôi trong các điều kiện như mô tả nêu trên) 50 µl phần dịch nổi trong mỗi giếng nuôi được chuyển sang giếng mới và dùng để phân tích lượng NO. Tiếp đó, 50 µl thuốc thử Griess Reagent được bổ sung vào mỗi giếng và tiếp tục được ủ trong 15 phút. Sau đó, mẫu ủ được đo ở bước sóng có độ hấp thụ 540 nm. Hàm lượng NO của mỗi mẫu thí nghiệm được xác định dựa vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO₂ và được so sánh % với mẫu chứng âm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Khả năng ức chế NO được tính dựa theo công thức:

$$\% \text{ Ức chế NO} = \left(1 - \frac{\text{Hàm lượng NO}_{\text{LPS+SVN}}}{\text{Hàm lượng NO}_{\text{LPS+DMSO}}} \right) \times 100\%$$

Đánh giá hàm lượng ROS

Tế bào được nuôi trên đĩa 96 giếng đen, đáy kính hoặc đĩa confocal với mật độ 10000 tế bào/giếng ở 37°C và 5% CO₂. Cuối thời điểm xử lý gây viêm hoặc bổ sung thuốc, mẫu thí nghiệm được nhuộm với CM-H₂DCFDA (ex/em = 485/535 nm) trong 30 phút ở 37°C, 5% CO₂. Sự thay đổi mật độ huỳnh quang được ghi lại bằng máy đọc huỳnh quang đĩa 96 giếng. Ảnh huỳnh quang được chụp lại bằng hệ thống kính hiển vi soi ngược kết hợp Apotome 2 (Zeiss, Đức). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Phân tích thống kê

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± sai số chuẩn (SD). Sự

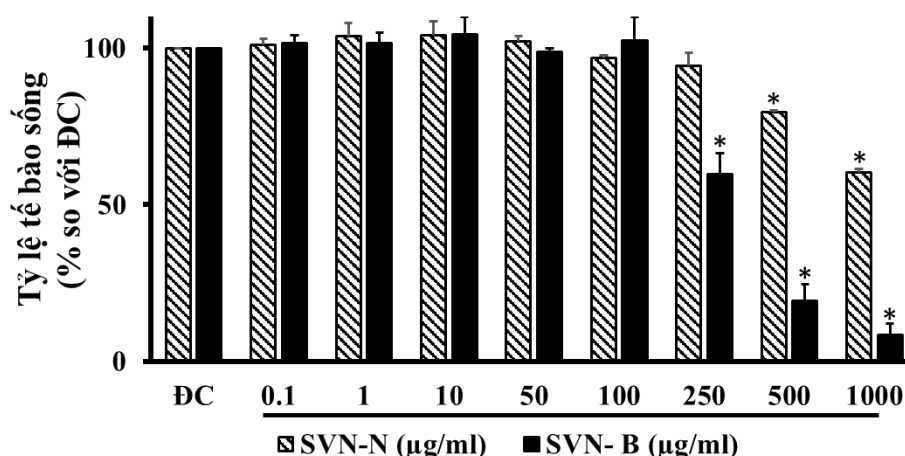
khác biệt giữa hai nhóm được đánh giá bằng phân tích phương sai một chiều (ANOVA) và phép thử Tukey. Sự khác biệt với giá trị p < 0,05 được coi là có ý nghĩa. Hình ảnh huỳnh quang được xử lý bằng phần mềm ZenBlue 2.5.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khả năng sống của tế bào RAW 264.7 trong các điều kiện nuôi cấy

Khả năng sống của tế bào RAW 264.7 trong điều kiện nuôi bình thường

Ảnh hưởng của cao chiết SVN-N và SVN-B lên khả năng sống của tế bào RAW 264.7 ở điều kiện bình thường được đánh giá bằng kit CCK-8. Kết quả được thể hiện trong Hình 1.



Hình 1. Tỷ lệ sống của tế bào RAW 264.7 trong môi trường nuôi có cao chiết VN-N và SVN-B

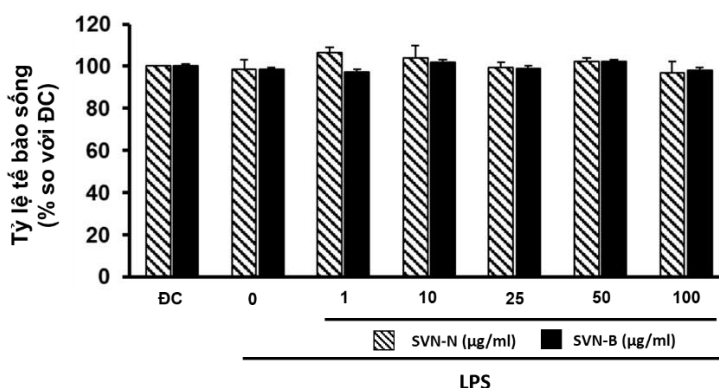
ĐC: đối chứng; SVN-N: phân đoạn cao chiết nước (SVN-N); SVN-B: phân đoạn cao chiết butanol; *: $p < 0,05$, khác biệt so với nhóm đối ĐC

Kết quả trên Hình 1 cho thấy, các cao chiết SVN-N (nồng độ 0,1-250 µg/ml) và SVN-B (nồng độ 0,1-100 µg/ml) không thể hiện tính độc đối với tế bào RAW 264.7 (tỷ lệ sống của tế bào không có sự khác biệt so với nhóm đối chứng). Do đó, dải nồng độ từ 0,1-100 µg/ml được lựa chọn dùng cho các thí nghiệm xác định hoạt tính kháng viêm của các cao chiết SVN. Độc tính của cao sâm Việt Nam cũng đã được xác định trên dòng tế bào H9C2. Kết quả nghiên cứu cho thấy cao sâm Việt Nam thể hiện độc tính yếu đối với dòng tế bào

này ($IC_{50} = 1059,84$ µg/ml, ở dải nồng độ <500 µg/ml không thể hiện độc tính với tế bào [11]. Ngoài ra, chúng tôi chưa thấy có công bố nào khác về độc tính của cao chiết sâm Việt Nam đối với các dòng tế bào nuôi cấy khác.

Khả năng sống của tế bào RAW 264.7 trong điều kiện gây viêm bằng LPS

Khả năng sống của tế bào RAW 264.7 trong các điều kiện thử nghiệm tiếp tục được phân tích và kết quả được thể hiện ở Hình 2.

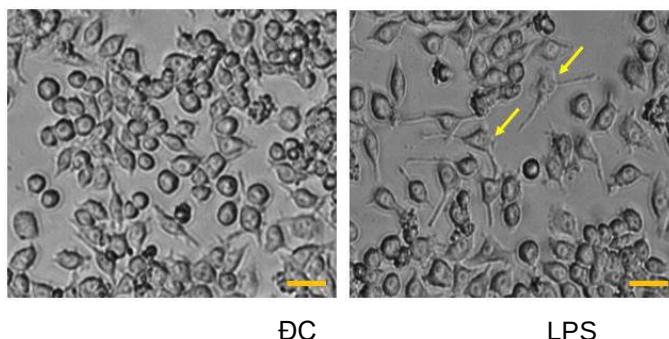


Hình 2. Tỷ lệ sống của tế bào RAW264.7 trong điều kiện môi trường nuôi khác nhau

ĐC: tế bào được nuôi trong điều kiện bình thường, SVN-N: tế bào được nuôi trong điều kiện bổ phân đoạn cao chiết nước trước khi bị xử lý gây viêm bằng LPS; SVN-B: tế bào được nuôi trong điều kiện bổ phân đoạn cao chiết butanol trước khi bị xử lý gây viêm bằng LPS

Kết quả cho thấy, tỷ lệ sống của tế bào RAW 264.7 giữa các nhóm mẫu thí nghiệm là không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Mặc dù sự khác biệt về tỷ lệ sống là không có ý nghĩa thống kê, nhưng hình thái tế bào của nhóm đối chứng và nhóm tế bào bị xử lý LPS có

sự khác biệt khá rõ (Hình 3). Ở mẫu đối chứng, tế bào có hình thái đồng nhất, trong khi đó ở nhóm tế bào bị gây viêm bằng LPS có sự thay đổi hình thái, tế bào bị kích hoạt hình thành nhiều chân giả (mũi tên vàng).



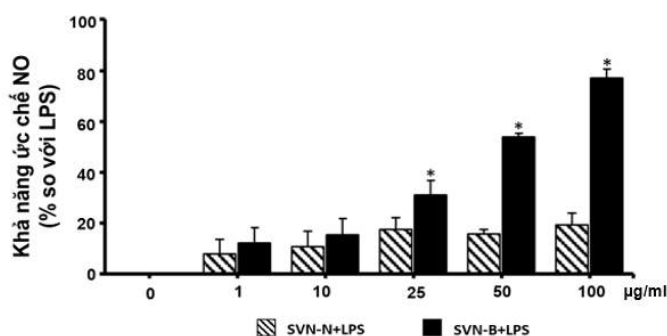
Hình 3. Hình thái của tế bào RAW264.7 trong điều kiện nuôi bình thường và điều kiện bị xử lý gây viêm

ĐC: đối chứng, LPS: lipopolysaccharide; thanh bar: 25μm, vật kính 40X

3.2. Khả năng ức chế tổng hợp NO của cao chiết SVN đối với tế bào RAW 264.7 trong điều kiện gây viêm bởi LPS

Nitric oxide (NO) được biết đến là một phân tử tín hiệu đóng vai trò chính trong cơ chế bệnh sinh của chứng viêm. Hợp chất này được coi là chất trung gian gây viêm và được sản xuất quá mức trong các điều kiện sinh lý thay đổi bất thường. Do đó, ức chế sinh tổng hợp NO đóng

vai trò quan trọng trong việc kiểm soát các bệnh viêm. Các chất ức chế sinh tổng hợp NO được chứng minh là có thể sử dụng để điều trị chứng viêm [7, 8]. Trong nghiên cứu này, hoạt tính chống viêm của cao chiết từ SVN được đánh giá thông qua khả năng ức chế sự sản sinh NO của các tế bào RAW 264.7. Kết quả phân tích thể hiện trong Hình 4.



Hình 4. Khả năng ức chế sinh tổng hợp NO của SVN-N và SVN-B đối với tế bào RAW 264.7 trong điều kiện gây viêm LPS

*Các mẫu tế bào bị gây viêm bằng LPS được tiền xử lý với cao chiết SVN-N hoặc cao chiết SVN-B (nồng độ 0- $\mu\text{g/ml}$); *: $p < 0,05$, khác biệt so với nhóm LPS; NO: nitric oxide*

Kết quả trong Hình 4 cho thấy, khả năng ức chế sự sản sinh NO của nhóm tế bào gây viêm bằng LPS có bổ sung SVN-B tăng dần theo nồng độ và có sự khác biệt so với nhóm tế bào không được bổ sung cao chiết SVN-B (0% khả năng ức chế sản sinh NO). Nồng độ SVN-B tăng từ 1 $\mu\text{g/ml}$ đến 100 $\mu\text{g/ml}$ tương ứng với khả năng ức chế NO tăng từ khoảng $12,26 \pm 6.10\%$ đến $77.09 \pm 3.54\%$. Đặc biệt, các mẫu tế bào có được bổ sung SVN-B ở các nồng độ thử 25, 50 và 100 $\mu\text{g/ml}$ có tỉ lệ ức chế sự hình thành NO là khác biệt có ý nghĩa so với nhóm có SVN-B nồng độ thử 1 và 10 $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0.05$). Trong khi đó, hoạt tính ức chế tổng hợp NO của cao chiết SVN-N ở các liều từ 1 đến 100 $\mu\text{g/ml}$ đều có tăng (so với nhóm tế bào bị xử lý viêm bởi LPS), nhưng thấp hơn so với kết quả phân tích ở mẫu thử SVN-B. Đồng thời, hoạt tính ức chế sự sản sinh NO khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm mẫu thử SVN-N ($p > 0.05$). Dựa vào kết quả thu được, các nồng độ thử 25, 50 và 100 $\mu\text{g/ml}$ của SVN-B được lựa chọn để tiếp tục phân tích sâu hơn tín hiệu tác dụng chống viêm của SVN.

Hoạt tính chống viêm của một số loại sâm cũng đã được nghiên cứu, trong nghiên cứu của Sang Yun Han và cs đã chỉ ra kết quả hoạt tính chống viêm của dịch chiết từ sâm Hàn Quốc (Korea ginseng) có tác dụng làm giảm sản sinh NO và giảm biểu hiện mRNA của các gen gây viêm như cyclooxygenase-2, NO synthase, giảm hoạt động của protein kinase B [10]. Tương tự, hoạt chất Ginsenoside Rb3 được chiết suất từ sâm có khả năng làm giảm sản xuất NO và PGE2 bằng cách làm giảm biểu hiện iNOS và COX2; đồng thời ức chế các cytokine tiền viêm như IL-1 β , IL-6 và TNF- α [12]. Như vậy, kết quả thu được từ nghiên cứu

này đã bước đầu cho thấy dịch chiết của SVN, đặc biệt là SVN-B thể hiện khả năng ức chế sản sự sản sinh sản phẩm NO. Tuy nhiên, việc triển khai thêm các nghiên cứu để làm sáng tỏ hơn cơ chế tác dụng của SVN đối trong mối liên hệ với NO là cần thiết.

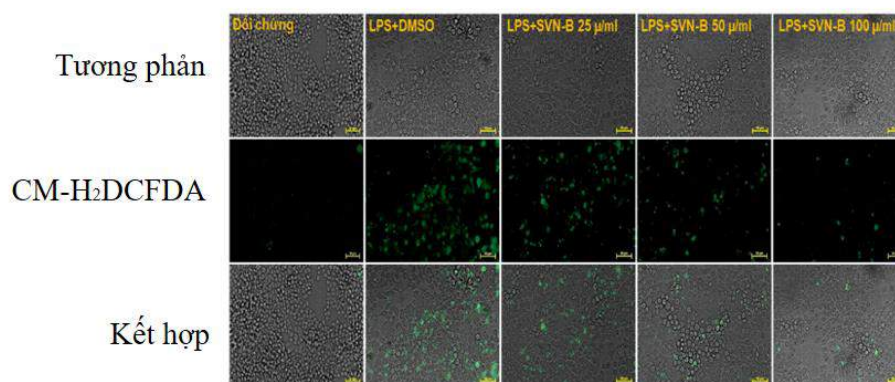
3.3. Khả năng ức chế hình thành ROS của cao chiết SVN đối với tế bào RAW 264.7 trong điều kiện gây bởi LPS

Các gốc ôxi phản ứng (ROS) là các phân tử tín hiệu đóng vai trò quan trọng trong sự tiến triển của các rối loạn viêm. Tại vị trí viêm, một loạt các gốc ROS được tăng cường bởi bạch cầu đa nhân trung tính và gây rối loạn chức năng nội mô và tổn thương mô. ROS đóng vai trò vừa là phân tử báo hiệu vừa là chất trung gian gây viêm. Đặc biệt gốc O_2^- có thể nhanh chóng kết hợp với NO để tạo thành các loại nitơ phản ứng (reactive nitrogen species, RNS) làm tăng tác động gây viêm của ROS [2]. Trong nghiên cứu này, để tìm hiểu vai trò của SVN đối với sự thay đổi hàm lượng ROS trong mô hình viêm, hàm lượng ROS của tế bào RAW 264.7 trong điều kiện bị gây viêm bằng LPS ở nhóm tế bào có được bổ sung cao chiết SVN-B và nhóm không được bổ sung cao chiết SVN-B được phân tích. Sự thay đổi lượng H_2O_2 được xác định gián tiếp thông qua sự thay đổi tín hiệu huỳnh quang của CM- H_2DCFDA .

Kết quả thể hiện trong thể hiện trong Hình 5 và Hình 6 cho thấy, tín hiệu mật độ huỳnh quang CM- H_2DCFDA (màu xanh) của các tế bào RAW 264.7 bị xử lý LPS tăng đáng kể so với nhóm đối chứng, khoảng $196,3 \pm 11,3\%$ (100% đối chứng). Đặc biệt, nhóm mẫu tế bào được bổ sung SVN-B ở các nồng độ 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ trước khi gây viêm bằng LPS khoảng 2 giờ có tỉ

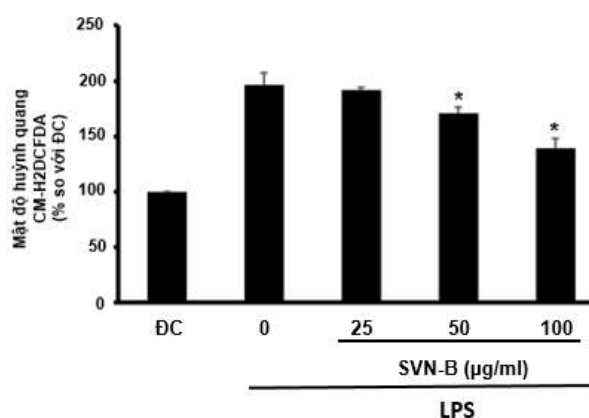
lệ mật độ huỳnh quang CM-H₂DCFDA giảm đáng kể với giá trị tương ứng $170,6 \pm 6,1\%$ và $139,6 \pm 8,7\%$; và các giá trị này là khác biệt rõ rệt so với tỉ lệ mật độ huỳnh quang CM-H₂DCFDA của nhóm tế

bào chỉ có LPS ($196,3 \pm 11,3\%$, $p < 0,05$) (Hình 5 và Hình 6). Như vậy, cao chiết SVN-B ở nồng độ 50, 100 $\mu\text{g/ml}$ thể hiện khả năng kháng viêm thông qua làm giảm hàm lượng ROS trong điều kiện có LPS.



Hình 5. Hình ảnh huỳnh quang CM-H₂DCFDA của tế bào Raw 264.7 trong các điều kiện khác nhau

ĐC: tế bào được nuôi cấy trong điều kiện bình thường; LPS+DMSO: tế bào được nuôi có bổ sung DMSO trước khi bị xử lý gây viêm bằng LPS và; LPS+SVN-B: tế bào được nuôi trong môi trường có bổ sung cao chiết SVN-B ở các nồng độ 25, 50 và 100 $\mu\text{g/ml}$ trước khi bị xử lý gây viêm bằng LPS. Màu xanh: màu huỳnh quang của CM-H₂DCFDA, thanh bar: 50 μm , vật kính 10X



Hình 6. Mật độ huỳnh quang CM-H₂DCFDA của tế bào RAW 264.7 ở các điều kiện khác nhau

ĐC: đối chứng; SVN-B: tế bào được nuôi trong điều kiện bổ sung phân đoạn cao chiết butanol trước khi bị xử lý gây viêm bằng LPS; *: $p < 0,05$, khác biệt so với nhóm ĐC.

Sâm Việt Nam là loại thảo dược quý của Việt Nam, hoạt tính sinh học của cao sâm và saponin chính từ Sâm Việt Nam đã được xác định bao gồm tác dụng chống oxy hóa, giảm stress oxy hóa ty thể, giảm

tổn thương tế bào, bảo vệ cấu trúc và chức năng của ty thể của tế bào cơ tim chuột trong mô hình thiếu ôxi-tái cung cấp ôxi in vitro [3, 4]. Nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng thành phần hoạt tính của nhân

sâm *Panax* có tác dụng chống viêm và điều hòa miễn dịch, bao gồm điều chỉnh sự cân bằng của các tế bào miễn dịch, ức chế sự biểu hiện của các cytokine, cũng như kích hoạt thụ thể Toll-like 4; ginsenosides có thể đóng vai trò là một loại thuốc điều trị mới tiềm năng trong phòng ngừa và điều trị bệnh viêm ruột [9]. Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng viêm của cao chiết butanol của SVN trên dòng tế bào RAW264.7 được kích hoạt viêm bằng LPS đã được minh chứng thông qua khả năng làm giảm sự hình thành quá mức các sản phẩm trung gian của đáp ứng viêm (NO, ROS), qua đó làm giảm tỉ lệ tế bào chết gây bởi LPS.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu bước đầu đã khảo sát được khả năng bảo vệ tế bào và khả năng kháng viêm của cao chiết butanol của Sâm Việt Nam đối với đại thực bào RAW264.7 trong điều kiện gây viêm bởi LPS thông qua việc ức chế sự hình thành NO và ROS. Tuy nhiên, con đường tác dụng của SVN-B cũng như thành phần saponin chính có tác dụng kháng viêm vẫn cần được làm rõ hơn ở các nghiên cứu tiếp theo.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn GS. Han Jin, PGS.TS. Nguyễn Hữu Tùng, TS Hoàng Kim Chi đã hỗ trợ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Ruslan Medzhitov (2008)**, Origin and physiological roles of inflammation, *Nature*, 454(24), <https://doi.org/10.1038/nature07201>
2. **Manish Mittal, Mohammad Rizwan Siddiqui, Khiem Tran, Sekhar P. Reddy, and Asrar B. Malik (2014)**, Reactive Oxygen Species in, Inflammation and Tissue Injury,

Antioxidants & Redox Signaling, 20 (7) <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>

3. **Vu Thi Thu, Ngo Thi Hai Yen, Nguyen Huu Tung, Pham Thi Bich, Jin Han, Hyoung Kyu Kim (2021)**, Majonoside-R2 extracted from Vietnamese ginseng protects H9C2 cells against hypoxia/reoxygenation injury via modulating mitochondrial function and biogenesis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 36, 2021 <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.127814>
4. **Ngo Thi Hai Yen, Vu Thi Thu (2021)**, Vietnamese ginseng extract attenuates oxidative stress in Cobalt chloride subjected H9C2 cells, *Vietnam Journal of Physiology*. 2022;25(3):1-7. <https://doi.org/10.54928/vjop.v25i3.48>
5. **Wenzhi Tong, Xiangxiu Chen, Xu Song, Yaqin Chen, Renyong Jia et al (2020)**, “Resveratrol inhibits LPS-induced inflammation through suppressing the signaling cascades of TLR4-NF-κB/MAPKs/IRF3, *Experimental*, <https://doi.org/10.3892/etm.2019>
6. **Cao, Y.; Chen, J.; Ren, G.; Zhang, Y.; Tan, X.; Yang, L (2019)**, Punicalagin Prevents Inflammation in LPS- Induced RAW264.7 Macrophages by Inhibiting FoxO3a/Autophagy Signaling Pathway, *Nutrients* 2019, 11(11), 2794; <https://doi.org/10.3390/nu11112794>
7. **Sharma, J.N., Al-Omran, A. & Parvathy, S.S. (2007)**, Role of nitric oxide in inflammatory diseases”. *Inflammopharmacol* 15, 252–259. <https://doi.org/10.1007/s10787-007-0013-x>
8. **Yuan Cao, Jihua Chen, Guofeng Ren, Yahui Zhang, Xiuying Tan and Lina Yang (2019)** Punicalagin Prevents Inflammation in LPS- Induced RAW264.7 Macrophages by Inhibiting FoxO3a/Autophagy Signaling Pathway,

- Nutrients 2019, 11(11), 2794; <https://doi.org/10.3390/nu11112794>
9. **ExperKang, Z., Zhonga, Y., Wu, T. et al (2021)**, Ginsenoside from ginseng: a promising treatment for inflammatory bowel disease, *Pharmacol. Rep* 73, 700–711. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00213>
10. **Sang Yun Han, Juewon Kim, Eunji Kim, Su Hwan Kim, Dae Bang Seo, Jong-Hoon Kim, Song Seok Shin, Jae Youl Cho (2018)**, AKT-targeted anti-inflammatory activity of Panax ginseng calyx ethanolic extract, *Journal of Ginseng Research*, Volume 42, Issue 4, 496-503, <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.06.003>
11. **Vũ Thị Thu, Ngô Thị Hải Yến, Phạm Thị Bích (2021)** Nghiên cứu tác dụng của cao sâm việt nam (*panax vietnamensis*) đối với tế bào cơ tim h9c2 trong mô hình thiếu oxy-tái cung cấp oxy in vitro. *Tạp chí Sinh lý học Việt Nam* 25(1), 3/2021.
12. **Xu Honglin, Liu Min, Chen Guanghong, Wu Yuting, Xie Lingpeng et al (2022)**, Inflammatory Effects of Ginsenoside Rb3 in LPS-Induced Macrophages Through Direct Inhibition of TLR4 Signaling Pathway, *Front. Pharmacol.* 24 <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.714554>

SUMMARY**ANTIINFLAMATION EFFECT OF *PANAX VIETNAMENSIS* EXTRACTS ON RAW 264.7 CELLS**

**Pham Thi Bich¹, Ngo Thi Hai yen¹, Pham Trong Kha¹,
Bui Thi Huong², Vu Thi Thu¹**

¹Faculty of Biology, VNU University of Science

²Institute of Tropical Medicine, Joint Vietnam-Russia Tropical Science and
Technology Research Center

Panax vietnamensis (SVN) is a precious and endemic medicinal plant of Vietnam. SVN has been reported to have immune-boosting, antioxidant, and anti-cancer effects. However, the effect of this ginseng on inflammatory lesions has not been elucidated yet. This study was conducted to evaluate the anti-inflammatory activity of the aqueous and butanol extracts of SVN on LPS-stimulated RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were cultured under either normal environmental conditions or treated with LPS. The extracts of SVN was added prior to LPS treatment. At the end of the experimental period, cell viability, nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) indexes were determined by using CCK-8, Griess Reagent and CM- H₂DCFDA kit. The obtained results showed that the butanol extract (50 and 100 µg/ml) markedly increased the cell survival rate of RAW 264.7 cells under LPS treatment. The LPS-stimulated RAW 264.7 cells supplemented with butanol extract had a significant reduction in NO and ROS compared to the non-supplemented cell group. However, the aqueous extract of SVN did not show these activities. The findings provide preliminary evidence that the butanol extract of SVN has a protective effect on RAW 264.7 cells via reducing inflammatory mediators, such as NO and ROS.

Keywords: Vietnamese ginseng, RAW 264.7, LPS, nitric oxide.