Đánh giá tác dụng kháng viêm, chống oxy hóa *in vitro* của bài thuốc Đương quy niêm thống thang

Hứa Hoàng Oanh*, Nguyễn Thị Kim Thoa

Khoa Y học Cổ truyền, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, 217 Hồng Bàng, phường Chợ Lớn, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/11/2025; ngày chuyển phản biện 20/11/2025; ngày nhận phản biện 18/12/2025; ngày chấp nhận đăng 26/12/2025

Tóm tắt:

Mục tiêu: Bài thuốc Đương quy niêm thống thang (ĐQNTT) ở Việt Nam được sử dụng để chữa chứng Cước khí nhưng chưa có nghiên cứu khoa học về bài thuốc này. Nghiên cứu này nhằm mục đích khảo sát tác dụng kháng viêm, chống oxy hóa *in vitro* của công thức bài thuốc này. Phương pháp nghiên cứu: Cao chiết nước toàn phần của bài thuốc ĐQNTT được đánh giá các chỉ tiêu cao chiết theo Dược điển Việt Nam V (DĐVN V) và khảo sát tác dụng chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH. Khả năng kháng viêm của cao chiết được đánh giá thông qua hiệu quả ức chế sản sinh nitric oxide (NO) ở đại thực bào RAW 264.7 được kích thích bằng lipopolysaccharide. Kết quả: Cao ĐQNTT đạt tiêu chuẩn cao đặc theo DĐVN V. Cao thuốc thể hiện khả năng chống oxy hóa và ức chế NO, với giá trị IC_{50} lần lượt là 68,29±4,51 và 92,13±1,56 µg/ml. Kết luận: Bài thuốc ĐQNTT theo công thức nghiệm phương ở Việt Nam có khả năng chống oxy hóa và kháng viêm trong nghiên cứu *in vitro*, có tiềm năng hỗ trợ điều trị các triệu chứng liên quan đến chứng Cước khí trong y học cổ truyền.

Từ khóa: **chống oxy hóa, Đương quy niêm thống thang, *in vitro*, kháng viêm.**

Chỉ số phân loại: **1.6, 3.4, 3.5**

Evaluation of the *in vitro* anti-inflammatory and antioxidant effects of the herbal formula Danggui Niantong Tang

Hoang Oanh Hua*, Thi Kim Thoa Nguyen

Faculty of Traditional Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, 217 Hong Bang Street, Cho Lon Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 18 November 2025; revised 18 December 2025; accepted 26 December 2025

Abstract:

Objective: The traditional herbal formula Danggui Niantong Tang is used for the treatment of *Cuoc khi* syndrome in Vietnam; however, no scientific studies have been conducted on this prescription. This study aimed to investigate the *in vitro* anti-inflammatory and antioxidant activities of this formula. Methods: The total aqueous extract of Danggui Niantong Tang was evaluated for extract quality parameters in accordance with the Vietnamese Pharmacopoeia V and assessed for antioxidant activity using the DPPH assay. The anti-inflammatory activity was assessed by measuring the inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. Results: The Danggui Niantong Tang extract met the requirements for condensed extract according to the Vietnamese Pharmacopoeia V. The extract exhibited antioxidant activity and NO-inhibitory effects, with IC_{50} values of 68.29±4.51 and 92.13±1.56 µg/ml, respectively. Conclusion: The Danggui Niantong Tang formula, prepared according to the traditional Vietnamese prescription, demonstrated *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities, supporting its relevance in the treatment of symptoms associated with *Cuoc khi* syndrome in traditional Vietnamese medicine.

Keywords: **anti-inflammatory, antioxidant, Danggui niantong tang, *in vitro*.**

Classification numbers: **1.6, 3.4, 3.5**

**Tác giả liên hệ: Email: hhoanh@ump.edu.vn*

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, với sự phát triển kinh tế và những thay đổi trong lối sống, tỷ lệ mắc bệnh gút trên toàn cầu đang có xu hướng gia tăng [1]. Các báo cáo gần đây về tỷ lệ hiện mắc và tỷ lệ mắc mới bệnh gút dao động khá lớn tùy thuộc vào dân số được nghiên cứu và phương pháp nghiên cứu được sử dụng, nhưng nhìn chung nằm trong khoảng tỷ lệ hiện mắc từ <1 đến 6,8% và tỷ lệ mắc mới từ 0,58 đến 2,89 trên 1.000 người/năm [1].

Bệnh gút là một dạng viêm khớp do sự lắng đọng mạn tính của các tinh thể monosodium urate (MSU) [2, 3]. Điều kiện cơ bản dẫn đến bệnh gút là tăng axit uric máu [2, 3]. Trên thực tế, hầu như tất cả bệnh nhân gút đều có tình trạng tăng axit uric máu [2, 3]. Tuy nhiên, chỉ khoảng 20% những người bị tăng axit uric máu thực sự phát triển thành bệnh gút [2]. Khi bệnh gút xảy ra, bệnh thường tái phát, dẫn đến phá hủy xương và có thể gây biến dạng khớp [2, 3]. Hơn nữa, gút còn làm tăng nguy cơ mắc các bệnh mạn tính khác, gây ra gánh nặng kinh tế xã hội, thể chất, và tâm lý cho bệnh nhân [2, 3].

Bệnh gút có liên quan mật thiết đến quá trình viêm và tiến triển của bệnh có mối quan hệ chặt chẽ với phản ứng viêm và miễn dịch [2]. Các nghiên cứu lâm sàng hiện tại đã chỉ ra khả năng ngăn ngừa sự tiến triển từ tăng axit uric máu sang gút thông qua liệu pháp hạ urate hoặc điều trị kháng viêm lâu dài [2].

Các cơn gút cấp tính chủ yếu liên quan đến đại thực bào và bạch cầu trung tính [2]. Về mặt cơ chế, các tinh thể MSU tương tác với các đại thực bào cư trú để kích hoạt thể viêm NLRP3. Quá trình này kích hoạt caspase 1, dẫn đến việc xử lý và sản xuất interleukin-1β (IL-1β) hoạt tính sinh học. Tín hiệu IL-1β sau đó kích thích sản xuất và giải phóng các chất trung gian tiền viêm, thu hút bạch cầu trung tính đến khoang khớp, từ đó làm tăng cường phản ứng viêm tại khớp [2].

Trong điều trị gút hiện nay thường phối hợp thuốc hạ axit uric máu như allopurinol, febuxostat với các thuốc kháng viêm không steroid (NSAID), có thể có thêm thuốc giảm đau tổng hợp [2]. Tuy nhiên, các nhóm thuốc này tiềm ẩn nhiều nguy cơ gây hại trên đường tiêu hóa, tim mạch, gan thận khi điều trị lâu dài. Ngoài ra, việc phối hợp nhiều loại thuốc trên người bệnh để điều trị triệu chứng đơn lẻ không thể giải quyết toàn diện các vấn đề của bệnh gút mang tính hệ thống như mất cân bằng nội tiết, rối loạn chuyển hóa [4].

Vì vậy, việc tìm ra liệu pháp đem lại hiệu quả điều trị và an toàn cho người bệnh là rất cần thiết, đặc biệt trên các đối tượng có nguy cơ cao với tác dụng phụ của thuốc hóa dược gây ra. Thuốc y học cổ truyền từ lâu đã được sử dụng trên lâm sàng trong điều trị bệnh gút, trong đó bài thuốc cổ phương ĐQNTT đã được sử dụng và nghiên cứu *in vivo* và lâm sàng ở Trung Quốc trong điều trị tăng AU máu và viêm khớp gút [2]. Các nghiên cứu *in vivo* cho thấy, bài thuốc có tác dụng kháng viêm, giảm đau và hạ AU máu trên chuột gây mô hình viêm khớp gút cấp [2, 5]. Nghiên cứu của S. Peng và cs (2023) [6] cho thấy hiệu quả và an toàn của việc kết hợp bài thuốc ĐQNTT với thuốc hóa dược trong điều trị người bệnh viêm khớp gút giúp làm giảm AU máu, CRP, ESR, cytokine viêm, không ảnh hưởng đến chức năng thận. Tại Việt Nam, bài thuốc ĐQNTT được sử dụng và gia giảm theo kinh nghiệm trong điều trị chứng Cước khí, mà chứng này cũng thuộc phạm trù bệnh gút của y học hiện đại [7]. Tuy nhiên, bài thuốc này vẫn chưa được nghiên cứu ở nước ta. Do đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm làm rõ một phần cơ chế của bài thuốc có liên quan đến tác dụng kháng viêm, chống oxy hóa *in vitro*, từ đó góp phần chứng minh hiệu quả của bài thuốc y học cổ truyền bằng y học chứng cứ rõ ràng hơn.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Bài thuốc ĐQNTT gồm 15 vị thuốc với hàm lượng của từng vị thuốc cụ thể được thể hiện trong bảng 1 [7]. Các vị thuốc này trong nghiên cứu được cung cấp bởi Viện Y Dược học dân tộc TP. Hồ Chí Minh và Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh - Cơ sở 3.

Bảng 1. Công thức của bài thuốc Đương quy niêm thống thang [7].

STT	Vị thuốc	Tên khoa học	Khối lượng
1	Đương quy	*Radix angelicae sinensis*	8 g
2	Thương truật	*Rhizoma atractylodis*	8 g
3	Hoàng cầm	*Radix scutellariae*	20 g
4	Bạch truật	*Rhizoma atractylodis macrocephalae*	12 g
5	Nhân sâm	*Rhizoma At radix ginseng*	8 g
6	Khổ sâm	*Folium et ramulus crotonis tonkinensis*	8 g
7	Thăng ma	*Rhizoma cimicifugae*	8 g
8	Cát căn	*Radix puerariae thomsonii*	8 g
9	Phòng phong	*Radix saposhnikoviae divaricatae*	12 g
10	Tri mẫu	*Rhizoma anemarrhenae*	12 g
11	Trạch tả	*Rhizoma alismatis*	12 g
12	Trư linh	*Polyporus*	12 g
13	Cam thảo	*Radix et rhizoma glycyrrhizae*	20 g
14	Nhân trần	*Herba adenosmatis caerulei*	20 g
15	Khương hoạt	*Rhizoma et radix notopterygii*	20 g
Tổng cộng			**188 g**

2.2. Nguyên vật liệu, hóa chất và thuốc thử

- Dòng tế bào đại thực bào RAW 264.7 có nguồn gốc từ chuột được cung cấp bởi Giáo sư Jeong Hyung-Lee, Đại học Quốc gia Kangwon, Gangwondo, Hàn Quốc.

- Lipopolysaccharide (LPS) (*Escherichia coli* 0111-B4; Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ).

- Môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Gibco, Invitrogen, Hoa Kỳ).

- Huyết thanh bào thai bò (FBS) (Gibco, Invitrogen, Hoa Kỳ).

- DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), axit ascorbic (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ).

- Dung môi dimethyl sulfoxide (DMSO) 5% (Trung Quốc), KH_2PO_4, HCl...

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp chiết cao đặc ĐQNTT bằng phương pháp sắc thuốc thang: Dược liệu của bài thuốc ĐQNTT sẽ được tiến hành sắc với nước hai lần (tỷ lệ dung môi (ml): dược liệu (g) là 10:1) ở 80-100°C trong 60 phút theo phương pháp sắc thuốc thang truyền thống theo DĐVN V (phụ lục 1.23) [8]. Dịch chiết thu được sau khi sắc hai lần sẽ gộp lại, tiến hành lọc và cô cách thủy để thu được cao đặc Đương quy niêm thống thang. Thực hiện khảo sát một số tiêu chuẩn chất lượng cao theo DĐVN V [8] bao gồm các chỉ tiêu cảm quan (màu sắc, mùi vị, thể chất cao), độ ẩm, tro toàn phần, và định lượng flavonoid toàn phần.

Thử tác dụng chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH: Phương pháp đo khả năng chống oxy hóa của mẫu thử qua phản ứng với gốc tự do DPPH, giúp xác định khả năng chống oxy hóa của các hợp chất. Quy trình thực hiện được tiến hành theo các bước sau [9]:

Chuẩn bị dung dịch DPPH: Pha dung dịch DPPH 0,1 mM trong dung môi methanol. Dung dịch này có màu tím đặc trưng.

Chuẩn bị mẫu thử: Chuẩn bị các mẫu thử (stock=20 mg/ml) và pha loãng với dung môi DMSO.

Tiến hành đo khả năng chống oxy hóa: Lấy 20 µl mỗi mẫu thử vào giếng trong đĩa 96 giếng (mỗi mẫu lặp lại 3 lần), rồi thêm 180 µl dung dịch DPPH 0,1 mM vào. Ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng 20 phút. Đo độ hấp thụ (Abs) tại bước sóng 517 nm. Tính phần trăm khả năng chống oxy hóa của mẫu thử dựa trên công thức sau: $HTCO\% = [(OD_C - OD_T)/OD_C] \times 100$, trong đó: OD_C là mật độ quang của chứng; OD_T là mật độ quang của mẫu thử.

Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình của ba lần đo khác nhau. Axit ascorbic (Merck, Đức) được sử dụng làm đối chứng dương.

Khảo sát tác dụng chống viêm NO in vitro: Thử nghiệm được tiến hành qua các bước sau đây [10]:

- Nuôi cấy tế bào: Tế bào RAW 264.7 được nuôi trong môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Gibco, Invitrogen, Hoa Kỳ), bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò (FBS) (Gibco, Invitrogen, Hoa Kỳ), 100 U/ml penicillin và 100 µg/ml streptomycin (Gibco, Invitrogen, Hoa Kỳ). Quá trình nuôi cấy được thực hiện trong tủ ấm ở 37°C với môi trường ẩm có chứa 5% CO_2.

- Thử nghiệm khả năng sống của tế bào: Ảnh hưởng của cao chiết lên sự tăng sinh và độc tính tế bào được đánh giá bằng phép thử MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (Sigma, St. Louis,

MO, Hoa Kỳ). Dung dịch MTT được thêm vào mỗi giếng chứa 100 µl dịch nổi còn lại, sau đó được ủ trong điều kiện ẩm. Sau 3-4 giờ, các tinh thể formazan màu tím xanh được hình thành và hòa tan trong isopropanol. Độ hấp thụ được đo tại bước sóng 570 nm bằng máy đọc vi đĩa SpectraMax® iD5 (Molecular Devices, Hoa Kỳ). Cardamonin được sử dụng làm chứng dương do đã được chứng minh là hợp chất flavonoid có khả năng ức chế NO mạnh trên mô hình tế bào RAW 264.7 [11].

- Xác định mức độ nitric oxide (NO): Tế bào RAW 264.7 được cho vào đĩa 96 giếng với mật độ $2,5\times10^4$ tế bào/ml và ủ trong 24 giờ. Sau đó, tế bào được xử lý với các nồng độ khác nhau của cao chiết và kích hoạt bằng 1 µg/ml lipopolysaccharide (LPS) (*Escherichia coli* 0111: B4; Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ) trong 24 giờ tiếp theo. Sau khi ủ, 100 µl dịch nổi được chuyển sang một đĩa 96 giếng khác để xác định nồng độ nitric oxide bằng phép thử Griess. Độ hấp thụ được đo tại bước sóng 540 nm bằng máy đọc vi đĩa SpectraMax® iD5 (Molecular Devices, Hoa Kỳ), và nồng độ NO được tính dựa trên đường chuẩn sodium nitrite ($NaNO_2$). Phần 100 µl môi trường còn lại chứa tế bào được sử dụng để đánh giá độc tính tế bào. Chứng dương được sử dụng là cardamonin.

Xử lý số liệu: Kết quả được trình bày dưới dạng M±SD, trong đó M là giá trị trung bình và SD là độ lệch chuẩn. Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm Microsoft Excel.

3. Kết quả

3.1. Đánh giá một số chỉ tiêu của cao chiết

Sau khi chiết xuất và cô đặc cao chiết, cao ĐQNTT thu được đem đánh giá các chỉ tiêu theo DĐVN V thu được các kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của cao Đương quy niêm thống thang.

STT	Chỉ tiêu	Kết quả
1	Cảm quan	Cao có màu nâu sẫm, đồng nhất, mùi thơm dược liệu
2	Hiệu suất chiết cao (%)	19,89±2,44
3	Độ ẩm (%)	13,23±0,57
4	Tro toàn phần (%)	5,60±0,01
5	Hàm lượng flavonoid toàn phần (%)	4,31±0,31

Như vậy, cao ĐQNTT đạt tiêu chuẩn cao đặc theo tiêu chuẩn DĐVN V ở các chỉ tiêu cảm quan, độ ẩm, tro toàn phần [8]. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao là 4,31±0,31%.

3.2. Đánh giá khả năng chống oxy hóa của cao Đương quy niêm thống thang bằng phương pháp DPPH

Khả năng chống oxy hóa bằng DPPH của cao ĐQNTT với axit ascorbic là đối chứng dương được xác định với kết quả thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH của các mẫu thử.

STT	Mẫu	Phương trình; R^2	IC_{50} (µg/ml)
1	Cao ĐQNTT	y=0,5950x+9,36; R^2=0,9976	68,29±4,51
2	Axit ascorbic	y=8,0061x+10,18; R^2=0,9798	4,97±0,16

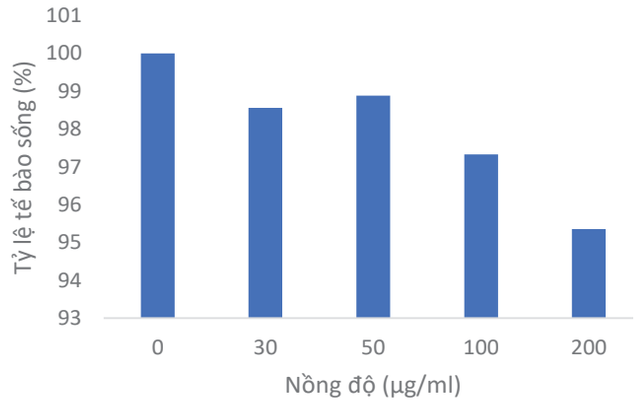
Từ phương trình hồi quy không tuyến tính, xác định giá trị IC_{50} bằng phần mềm GraphPad Prism. Giá trị IC_{50} của cao ĐQNTT là 68,29±4,51 µg/ml và của axit ascorbic là 4,97±0,16 µg/ml. Kết quả này cho thấy, cao ĐQNTT có khả năng dập gốc tự do DPPH.

3.3. Đánh giá tác dụng ức chế NO in vitro của cao Đương quy niêm thống thang

Biểu đồ trong hình 1 trình bày ảnh hưởng của cao chiết ĐQNTT lên khả năng sống của tế bào RAW 264.7 trong điều kiện nuôi cấy bình thường. Kết quả ở hình 1 cho thấy, ở các nồng độ ≤100 µg/ml, tỷ lệ sống của tế bào vẫn duy trì trên 95%, mặc dù tại các nồng độ 50 và 100 µg/ml ghi nhận sự giảm nhẹ nhưng có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng ($p<0,05$). Tuy nhiên, mức giảm này không vượt quá ngưỡng độc tính sinh học thường được chấp nhận (≥80% tế bào sống), cho thấy cao chiết chưa gây độc tế bào rõ rệt trong khoảng nồng độ này. Ngược lại, tại nồng độ 200 µg/ml, tỷ lệ sống của tế bào giảm rõ rệt hơn, cho thấy khả năng xuất hiện tác dụng độc tế bào khi tăng nồng độ cao chiết.

Trên cơ sở đó, các nồng độ ≤100 µg/ml được xem là khoảng nồng độ tương đối an toàn, phù hợp để đánh giá hoạt tính sinh học kháng viêm thông qua ức chế tổng hợp nitric oxide (NO). Nồng độ 200 µg/ml được đưa vào

khảo sát nhằm đánh giá xu hướng phụ thuộc liều, nhưng kết quả tại nồng độ này cần được đánh giá thận trọng do ảnh hưởng nhất định lên khả năng sống của tế bào.



Hình 1. Ảnh hưởng của cao chiết Đương quy niêm thống thang lên khả năng sống của tế bào RAW 264.7 trong môi trường nuôi cấy bình thường.

Trong mô hình viêm tế bào RAW 264.7 được kích thích bằng LPS, cao chiết ĐQNTT thể hiện tác dụng ức chế sự sinh tổng hợp NO theo kiểu phụ thuộc nồng độ (bảng 4). Ở các nồng độ từ 12,5-50 µg/ml, mức ức chế NO còn thấp (12,50-33,97%) và không khác biệt rõ rệt so với nhóm chứng chỉ có LPS. Tuy nhiên, từ nồng độ 100 µg/ml, cao chiết cho thấy khả năng ức chế NO tăng rõ rệt (58,97%), trong khi tỷ lệ sống của tế bào vẫn duy trì ở mức cao (>95%), chứng tỏ hiệu quả ức chế NO chủ yếu liên quan đến hoạt tính sinh học kháng viêm, không phải do giảm số lượng tế bào sống.

Bảng 4. Kết quả dải nồng độ hoạt tính kháng viêm của các mẫu thử (khả năng ức chế NO).

Mẫu	Nồng độ (µg/ml)	Ức chế NO (%)	Tế bào sống (%)
Cao chiết ĐQNTT	12,5	12,50	98,12
	25	22,28	97,23
	50	33,97	98,88
	100	58,97	97,66
	200	91,85	95,35
Cardamonin	3	22,21	99,88
	10	84,23	95,34

Tại nồng độ 200 µg/ml, cao chiết đạt tỷ lệ ức chế NO cao nhất (91,85%), tuy nhiên do tỷ lệ sống của tế bào bắt đầu giảm, nên nồng độ này được xem là giới hạn trên, chỉ dùng để minh họa xu hướng phụ thuộc liều. Dựa trên đường cong hồi quy phi tuyến tính, giá trị IC_{50} ức chế NO của cao chiết ĐQNTT được xác định là 92,13±1,56 µg/ml.

Dựa trên hoạt tính ức chế (I%) và nồng độ khảo sát, tiến hành vẽ đường cong phi tuyến tính và tính được giá trị IC_{50} ức chế sự sinh tổng hợp NO của cao chiết ĐQNTT ở nồng độ 92,13±1,56 µg/ml và giá trị IC_{50} ức chế NO của cardamonin được ước tính là 4,95±0,07 µg/ml. Cao chiết ĐQNTT không gây độc tế bào RAW 264.7 ở nồng độ dưới 200 µg/ml.

4. Bàn luận

Bài thuốc ĐQNTT (còn được gọi là Niêm thống thang) bao gồm 15 vị thuốc (bảng 1); với công năng là dưỡng huyết, hoạt huyết thông kinh lạc, khu phong, thanh nhiệt, trừ thấp. Bài thuốc xuất xứ từ tác phẩm "Lan thất bí tàng" của Lý Đông Viên, dùng để chữa chứng thấp nhiệt sinh bệnh: Người bệnh vai lưng nặng nề, các khớp xương toàn thân đau nhức, trong ngực bức bách khó chịu vì không được thông lợi [12]. Công thức nghiệm phương tại Việt Nam sử dụng trong nghiên cứu này có thành phần thay đổi một ít so với bài thuốc gốc của Lý Đông Viên và được dùng để chữa chứng Cước khí [7].

Trong nghiên cứu này, cao chiết ĐQNTT theo công thức nghiệm phương ở Việt Nam có hàm lượng flavonoid toàn phần là 4,31±0,31%, thấp hơn flavonoid toàn phần trong dịch chiết methanol của Bạch truật là 4,9780±0,5427% [13] và dịch chiết nước của Hoàng cầm là 22,19% [14]. Sự khác biệt hàm lượng flavonoid giữa các dịch chiết có thể do dung môi và phương pháp chiết, có thể ảnh hưởng đến thành phần flavonoid, ngoài ra khi kết hợp các dược liệu để tạo nên bài thuốc thang thì tỷ lệ các thành phần hóa thực vật có thể thay đổi.

Khả năng chống oxy hóa *in vitro* của bài thuốc ĐQNTT trong nghiên cứu này thể hiện qua giá trị IC_{50} của cao ĐQNTT là 68,29±4,51 µg/ml. Hiện nay vẫn chưa có công bố về kết quả ức chế gốc tự do của bài thuốc ĐQNTT *in vitro* nhưng các vị thuốc trong bài thuốc đều được chứng minh có khả năng chống oxy hóa như Đương quy [15], Hoàng cầm [16], Nhân sâm [17]... Trong một nghiên cứu về hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH và ABTS của các phân đoạn dịch chiết từ rễ Đương quy giảm dần theo

thứ tự: Phân đoạn phenol > phân đoạn ethyl acetat > phân đoạn ether dầu hóa > phân đoạn ethanol tuyệt đối > phân đoạn nước ≈ phân đoạn ethanol 95% với giá trị IC_{50} dao động từ 0,055 đến 0,66 mg/ml [15]. Nghiên cứu của O.S. Kim và cs (2015) [16] cho thấy, dịch chiết nước từ rễ Hoàng cầm cũng thể hiện khả năng chống oxy hóa ở nồng độ trung hòa 50% gốc tự do DPPH (RC_{50}) là 63,07 µg/ml [16].

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy, bài thuốc ĐQNTT có tác dụng kháng viêm NO *in vitro* qua giá trị IC_{50} là 92,13±1,56 µg/ml. Trong một nghiên cứu gần đây trên mô hình in 3D để đánh giá thuốc sắc ĐQNTT trong viêm khớp bằng in riêng biệt các tế bào sụn (ATDC5) và các tế bào tạo xương (MC3T3-E1) [18], kết quả cho thấy, thuốc sắc ĐQNTT đã thể hiện tác dụng chống viêm thông qua việc giảm biểu hiện của các yếu tố gây viêm (IL-1β, IL-6, TNF-α và iNOS) theo nồng độ. Đồng thời, ĐQNTT còn tăng biểu hiện của các gen chức năng (như Aggrecan, COLII, Sox9) trong tế bào ATDC5 và tăng cường biểu hiện của các gen chức năng quan trọng liên quan đến sự hình thành xương (như ALP, Runx2, COLI, OCN, OPN và BMP-2) trong tế bào MC3T3-E1 [18]. Ngoài ra, ĐQNTT cũng đã được chứng minh làm giảm biểu hiện mRNA của các dấu ấn tiền viêm và xơ hóa (TNF-α, IL-1β, IL-6, α-SMA, Col3a1 và TGF-β) trên tế bào sợi hoạt dịch cảm ứng bởi TGF-β. Hơn nữa, phương pháp phân tích KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) cùng với kết quả kiểm chứng trên chuột đã cho thấy, ĐQNTT ức chế quá trình xơ hóa màng hoạt dịch thông qua con đường tín hiệu PI3K/AKT [19].

Hầu hết các vị thuốc trong bài thuốc cho thấy, vai trò kháng viêm thông qua nhiều cơ chế khác nhau đã được chứng minh trong các nghiên cứu trước đây như: Đương quy, Hoàng cầm [20], Bạch truật [21]... Trong nghiên cứu này, cao chiết bài thuốc ĐQNTT thể hiện khả năng ức chế sự sinh tổng hợp nitric oxide (NO) trên mô hình đại thực bào RAW 264.7 được kích thích bằng lipopolysaccharide (LPS) theo kiểu phụ thuộc nồng độ. Đáng chú ý, giá trị IC_{50} ức chế NO của cao chiết được xác định là 92,13±1,56 µg/ml, tương ứng với khoảng nồng độ mà tỉ lệ sống của tế bào vẫn duy trì trên 95%, cho thấy hiệu quả ức chế NO quan sát được không phải là hệ quả của độc tính tế bào mà phản ánh hoạt tính sinh học kháng viêm thực sự. Ở các nồng độ thấp hơn (12,5-50 µg/ml), mức ức chế NO còn hạn chế (<35%), trong khi từ nồng độ 100 µg/ml trở lên, hiệu quả ức chế NO tăng rõ rệt, phù hợp với xu hướng phụ thuộc liều được ghi nhận trong bảng 4.

Xét về hoạt tính sinh học, flavonoid được xem là nhóm hoạt chất giữ vai trò trung tâm và chi phối trong tác dụng kháng viêm thông qua ức chế NO của bài thuốc ĐQNTT. Nghiên cứu *in silico* của Y. Liu và cs (2022) [22] đã xác định flavonoid là các thành phần hoạt tính cốt lõi của bài thuốc, với các hợp chất tiêu biểu như quercetin, kaempferol, luteolin, baicalein và formononetin. Các flavonoid này cho thấy mức độ liên kết cao với các đích phân tử then chốt liên quan trực tiếp đến phản ứng viêm và quá trình sinh tổng hợp NO, bao gồm NOS2 (iNOS), TNF-α, IL-1β, IL-6 và COX-2 [22-26]. Đặc biệt, các phân tích gắn kết phân tử (molecular docking) cho thấy flavonoid có ái lực liên kết mạnh với các protein trong các con đường tín hiệu NF-κB, MAPK và PI3K/AKT là những con đường đóng vai trò quyết định trong điều hòa biểu hiện iNOS [22]. Điều này phù hợp với kết quả thực nghiệm của nghiên cứu hiện tại, trong đó IC_{50} NO của cao ĐQNTT nằm trong khoảng nồng độ thường được ghi nhận đối với các flavonoid có hoạt tính kháng viêm trên mô hình RAW 264.7 và đạt được trong điều kiện không gây độc tế bào. Các flavonoid tiêu biểu trong bài thuốc bao gồm: quercetin là một flavonoid tự nhiên, có thể làm giảm viêm và chống oxy hóa [23, 24]; kaempferol là một flavonoid chống oxy hóa và kháng viêm mạnh và nhiều nghiên cứu đã xác nhận vai trò của hợp chất này trong việc ức chế các con đường gây viêm cũng như điều hòa stress oxy hóa [25]; formononetin cũng là một isoflavone có hoạt tính sinh học, có tác dụng chống viêm, chống oxy hóa [26]; baicalein có thể điều chỉnh hoạt động của tế bào miễn dịch Th1 và Th2, giảm nồng độ IL-1β, IL-6, TNF-α, ức chế COX-2 do đó làm giảm viêm [27]. Vì vậy, nghiên cứu này đã chọn cardamonin làm chứng dương do đây là hợp chất flavonoid đã được chứng minh có khả năng ức chế NO mạnh trên mô hình tế bào RAW 264.7 thông qua ức chế biểu hiện iNOS và các cytokine tiền viêm [11]. Trong nghiên cứu này, cardamonin được khảo sát ở hai nồng độ 3 và 10 µg/ml, cho thấy khả năng ức chế NO lần lượt là 22,21 và 84,23%, với giá trị IC_{50} là 4,95±0,07 µg/ml, trong khi không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sống của tế bào.

Bên cạnh flavonoid, các hợp chất saponin, đặc biệt là saponin từ Nhân sâm (*Panax ginseng*), đã được chứng minh có khả năng ức chế NO và giảm biểu hiện iNOS trong mô hình RAW 264.7 kích thích LPS thông qua điều hòa NF-κB và MAPK [28, 29]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này cho thấy, saponin thường thể hiện hiệu quả rõ rệt ở nồng độ thấp hơn nhưng với số lượng đích tác động hạn chế hơn so với flavonoid. Phù hợp với phân tích dược lý mạng của Y. Liu và cs (2022) [22], saponin trong bài thuốc ĐQNTT được xem là nhóm hoạt chất hỗ trợ do liều lượng Nhân sâm sử dụng trong bài thuốc chỉ 8 g so với tổng trọng lượng của bài thuốc là 188 g. Như vậy, các hợp chất saponin góp phần tăng cường và ổn định hiệu quả kháng viêm tổng thể, hơn là đóng vai trò quyết định đối với mức ức chế NO quan sát được tại giá trị IC_{50} của cao chiết.

Tương tự, nhóm hợp chất coumarin, có trong một số vị thuốc của bài thuốc như Đương quy (*Angelica sinensis*) và Khương hoạt (*Notopterygium incisum*), cũng đã được báo cáo có khả năng ức chế NO thông qua giảm biểu hiện iNOS và điều hòa các con đường tín hiệu viêm. Glabralactone từ Đương quy cho thấy khả năng ức chế NO trong mô hình RAW 264.7 mà không gây độc tế bào [30], trong khi các đơn chất coumarin phân lập từ Khương hoạt như methylnotopterol và isobergapten có giá trị IC_{50} ức chế NO lần lượt là 12,7 và 10,2 μM [31]. Tuy nhiên, xét trong bài thuốc ĐQNTT gồm 15 vị thuốc và liều lượng của Đương quy và Khương hoạt được sử dụng lần lượt là 8 và 20 g thì các hợp chất coumarin đóng vai trò bổ trợ và hiệp đồng, góp phần tăng cường hiệu quả kháng viêm chung nhưng không phải là nhóm hoạt chất cốt lõi ức chế NO của cao chiết.

Tổng hợp các bằng chứng từ kết quả thực nghiệm và dữ liệu y văn cho thấy, tác dụng ức chế NO *in vitro* của cao ĐQNTT trong nghiên cứu này chủ yếu phản ánh vai trò chi phối của flavonoid, trong khi saponin và coumarin tham gia theo cơ chế hiệp đồng, góp phần tạo nên hiệu quả kháng viêm đa thành phần - đa đích tác động, đặc trưng cho bài thuốc y học cổ truyền. Cách tiếp cận này giúp giải thích hợp lý giá trị IC_{50} thu được, đồng thời đảm bảo tính nhất quán giữa dữ liệu độc tính tế bào, hiệu quả sinh học và cơ chế tác dụng của bài thuốc. Tuy nhiên, các tác dụng này vẫn cần được khảo sát trên thử nghiệm *in vivo* nhằm đánh giá đầy đủ hơn ý nghĩa sinh học và giá trị ứng dụng của bài thuốc này.

5. Kết luận

Cao chiết toàn phần từ nước sắc của bài thuốc ĐQNTT được sử dụng ở Việt Nam thể hiện khả năng chống oxy hóa và kháng viêm *in vitro*. Kết quả nghiên cứu này bước đầu cung cấp bằng chứng khoa học cho tác dụng của bài thuốc ĐQNTT trong điều trị chứng "Cước khí" trong y học cổ truyền ở nước ta.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh theo Hợp đồng số 244/2024/HĐ-ĐHYD ngày 22/8/2024. Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M. Dehlin, L. Jacobsson, E. Roddy, et al. (2020), "Global epidemiology of gout: Prevalence, incidence, treatment patterns, and risk factors", *Nature Reviews Rheumatology*, **16(7)**, pp.380-390, DOI: 10.1038/s41584-020-0441-1.

[2] S. Yang, H. Liu, X.M. Fang, et al. (2024), "Signaling pathways in uric acid homeostasis and gout: From pathogenesis to therapeutic interventions", *International Immunopharmacology*, **132**, DOI: 10.1016/j.intimp.2024.111932.

[3] G. Nuki, P.A. Simkin (2006), "A concise history of gout and hyperuricemia and their treatment", *Arthritis Research & Therapy*, **8**(Suppl 1), DOI: 10.1186/ar1906.

[4] V.P. Dao (2018), *Clinical Pharmacology*, Medical Publishing House, 696pp (in Vietnamese).

[5] S. Chen, C. Wang, C. Wu, et al. (2021), "Efficacy and mechanism of action of Danggui Niantong Decoction against acute gouty arthritis in a mouse model: An experimental study", *Chinese General Practice*, **24(24)**, pp.3116-3121, DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.00.455.

[6] S. Peng, J. Tian, L. Jin, et al. (2023), "Efficacy and safety of Danggui Niantong Decoction in patients with gout: A systematic review and meta-analysis", *Frontiers in Pharmacology*, **14**, DOI: 10.3389/fphar.2023.1168863.

[7] N. Thao (2016), "Prevention and treatment of gout", *Suc Khoe & Doi Song Newspaper*, https://suckhoedoisong.vn/phong-va-chua-benh-thap-cuoc-khi-169111432.htm, accessed 4 July 2024 (in Vietnamese).

[8] Ministry of Health of Vietnam (2017), *Vietnamese Pharmacopoeia V*, Medical Publishing House, pp.PL.32, PL.203-204 (in Vietnamese).

[9] National Institute of Medicinal Materials (2006), *Methods for Studying Pharmacological Effects of Herbal Medicines*, Science and Technics Publishing House, pp.278-292 (in Vietnamese).

[10] S.B. Kim, O.H. Kang, J.H. Keum, et al. (2012), "Anti-inflammatory effects of Danggui Liuhuang Decoction in RAW 264.7 cells", *Chinese Journal of Integrative Medicine*, DOI: 10.1007/s11655-012-1237-1.

[11] S. James, J.S. Aparna, A. Babu, et al. (2021), "Cardamonin attenuates experimental colitis and associated colorectal cancer", *Biomolecules*, **11(5)**, DOI: 10.3390/biom11050661.

[12] D.Y. Li (2008), *Lan Shi Bi Cang*, Phuong Dong Publishing House, 200pp (in Vietnamese).

[13] S.H. Choi, S.J. Kim (2014), "Inhibition of inducible nitric oxide synthase and osteoclastic differentiation by *Atractylodis Rhizoma* alba extract", *Pharmacognosy Mag.*, **10(Suppl 3)**, pp.S494-S500, DOI: 10.4103/0973-1296.139780.

[14] X. Yan, Y. Zhang, Y. Peng, et al. (2022), "The water extract of *Radix scutellariae*, its total flavonoids and baicalin inhibited CYP7A1 expression and improved metabolic disorders in T2DM mice", *Journal of Ethnopharmacology*, **293**, DOI: 10.1016/j.jep.2022.115238.

[15] X. Li, X. Wu, L. Huang (2009), "Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of *Radix angelicae sinensis* (Danggui)", *Molecules*, **14(12)**, pp.5349-5361, DOI: 10.3390/molecules14125349.

[16] O.S. Kim, C.S. Seo, Y. Kim, et al. (2015), "Extracts of *Scutellariae Radix* inhibit low-density lipoprotein oxidation and the lipopolysaccharide-included macrophage inflammatory response", *Molecular Medicine Reports*, **12(1)**, pp.1335-1341, DOI: 10.3892/mmr.2015.3502.

[17] S.I. Chung, M.Y. Kang, S.C. Lee (2016), "*In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of aged ginseng (Panax ginseng)", *Preventive Nutrition and Food Science*, **21(1)**, pp.24-30, DOI: 10.3746/pnf.2016.21.1.24.

[18] Z. Liang, Y. Han, T. Chen, et al. (2024), "Application of 3D bioprinting technology apply to assessing Danggui Niantongtang decoctions in arthritis", *Chinese Medicine*, **19**, DOI: 10.1186/s13020-024-00948-4.

[19] Q. Liao, S. Wu, X. Li, et al. (2025), "Danggui niantong decoction attenuates synovial fibrosis through regulating PI3K/AKT signaling pathway", *Journal of Ethnopharmacology*, **342**, DOI: 10.1016/j.jep.2025.119381.

[20] S.M. Jung, H.R. Schumacher, H. Kim, et al. (2007), "Reduction of urate crystal-induced inflammation by root extracts from traditional oriental medicinal plants: Elevation of prostaglandin D2 levels", *Arthritis Research & Therapy*, **9(R64)**, DOI: 10.1186/ar2222.

[21] X. Qian, Y. Jiang, Y. Luo, et al. (2023), "The anti-hyperuricemia and anti-inflammatory effects of *Atractylodes macrocephala* in hyperuricemia and gouty arthritis rat models", *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, **26(5)**, pp.950-964, DOI: 10.2174/1386207325666220603101540.

[22] Y. Liu, D. Luo, B. Xu (2022), "The combination of molecular docking and network pharmacology reveals the molecular mechanism of Danggui Niantong Decoction in treating gout", *Medicine*, **101(47)**, DOI: 10.1097/MD.0000000000031535.

[23] S. Tumova, Y. Shi, I.M. Carr, et al. (2021), "Effects of quercetin and metabolites on uric acid biosynthesis and consequences for gene expression in the endothelium", *Free Radical Biology & Medicine*, **162**, pp.191-201, DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.017.

[24] K.W. Ruiz-Miyazawa, L. Staurengo-Ferrari, S.S. Mizokami, et al. (2017), "Quercetin inhibits gout arthritis in mice: Induction of an opioid-dependent regulation of inflammasome", *Inflammopharmacology*, **25(Suppl 1)**, DOI: 10.1007/s10787-017-0356-x.

[25] S.S. Khafaji (2023), "Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-reprotoxic effects of kaempferol and vitamin E on lead acetate-induced testicular toxicity in male rats", *Open Veterinary Journal*, **13(12)**, pp.1683-1695, DOI: 10.5455/OVJ.2023.v13.i12.17.

[26] L. Yi, J. Cui, W. Wang, et al. (2020), "Formononetin attenuates airway inflammation and oxidative stress in murine allergic asthma", *Frontiers in Pharmacology*, **11**, DOI: 10.3389/fphar.2020.533841.

[27] Y. Yuan, W. Men, X. Shan, et al. (2020), "Baicalein exerts neuroprotective effects against ischaemic/reperfusion injury via alteration of NF-κB, LOX and AMPK/Nrf2 pathways", *Inflammopharmacology*, **28(5)**, pp.1327-1341, DOI: 10.1007/s10787-020-00714-6.

[28] K.J. Jang, S.H. Choi, G.J. Yu, et al. (2016), "Anti-inflammatory potential of total saponins derived from the roots of *Panax ginseng* in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 macrophages", *Experimental and Therapeutic Medicine*, **11(3)**, pp.1109-1115, DOI: 10.3892/etm.2015.2965.

[29] G.J. Yu, I.W. Choi, G.Y. Kim, et al. (2015), "Anti-inflammatory potential of saponins derived from cultured wild ginseng roots in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages", *International Journal of Molecular Medicine*, **35(6)**, pp.1690-1698, DOI: 10.3892/ijmm.2015.2165.

[30] T.J. Choi, J. Song, H.J. Park, et al. (2022), "Anti-inflammatory activity of glabralactone, a coumarin compound from *Angelica sinensis*, via suppression of TRIF-dependent IRF-3 signaling and NF-κB pathways", *Mediators of Inflammation*, **2022**, DOI: 10.1155/2022/5985255.

[31] X. Zheng, Y. Chen, X. Ma, et al. (2018), "Nitric oxide inhibitory coumarins from the roots and rhizomes of *Notopterygium incisum*", *Fitoterapia*, **131**, pp.65-72, DOI: 10.1016/j.fitote.2018.10.002.