

Đánh giá tính kích ứng da, làm lành vết thương trên mô hình chuột nhắt của phân đoạn ethyl acetat từ dây khai (*Coptosapelta flavescens* Korth., Rubiaceae)

Nguyễn Thị Bạch Tuyết^{1*}, Nguyễn Nhựt Trường¹, Hoàng Thị Phương Liên¹

(1) Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu thực hiện nhằm đánh giá tính kích ứng da, làm lành vết thương in vivo của phân đoạn ethyl acetat (EA) từ dịch chiết nước Dây khai (*Coptosapelta flavescens* Korth., Rubiaceae). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Phân đoạn EA được đánh giá tính kích ứng da thỏ in vivo theo hướng dẫn OECD 404. Hoạt tính kháng khuẩn, làm lành vết thương trên da chuột được thực hiện dựa trên mô hình rạch da của McRipley và Whitney có hiệu chỉnh. **Kết quả:** Phân đoạn EA không gây ra tác động kích ứng tại chỗ trên da thỏ. Ở mô hình chuột nhắt, sau khi chuột được điều trị bằng phân đoạn EA ở nồng độ 0,256%; 0,512% và 1,024%, tỷ lệ làm lành vết thương cao hơn đáng kể so với chứng bệnh trong suốt thử nghiệm và tốt hơn so với thuốc đối chứng povidon ioid 10%. **Kết luận:** Nghiên cứu đã cung cấp cơ sở khoa học để phát triển các sản phẩm từ Dây khai trong hỗ trợ điều trị bệnh lý nhiễm trùng da - mô mềm hoặc nước rửa vết thương.

Từ khóa: dây khai, phân đoạn ethyl acetat, tỷ lệ làm lành vết thương, kích ứng da, povidon ioid.

Evaluation of skin irritation, wound healing effect on mouse model of ethyl acetate fraction from *Coptosapelta flavescens* Korth., Rubiaceae

Nguyen Thi Bach Tuyet^{1*}, Nguyen Nhut Truong¹, Hoang Thi Phuong Lien¹

(1) Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

Abstract

Objectives: The study was conducted to evaluate acute skin irritation and wound healing effect in vivo of the ethyl acetate fraction (EA) from *Coptosapelta flavescens*. **Materials and methods:** The EA fraction was evaluated for rabbit skin irritation in vivo according to OECD 404 guideline. Their antibacterial and wound-healing activities on mouse was performed based on McRipley and Whitney's model with adjustment. **Results:** EA fraction did not irritate in rabbit skin. In the model of Swiss albino mice, after application of this product at three different concentrations of 0.256%; 0.512% and 1.024%, the wound healing was significantly higher than that of the control throughout the experiment. This effect could be better than that of povidon iod drug control. **Conclusion:** Research results provide scientific basis for the clinical application of this product to develop products to support the treatment of skin-soft tissue infections.

Keywords: *Coptosapelta flavescens*, ethyl acetate fraction, wound healing, skin irritation, povidon iod.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Với dân số gần 99 triệu người, Việt Nam là một trong những quốc gia có tỷ lệ đề kháng kháng sinh ngày càng gia tăng và đáng báo động bởi việc sử dụng kháng sinh không hợp lý trong chăm sóc sức khỏe, trong nuôi trồng thủy sản, chăn nuôi. Do đó, tìm ra nguồn kháng sinh mới là nhiệm vụ cấp thiết luôn được đặt ra cho các nhà khoa học hiện nay. Bên cạnh việc nghiên cứu và phát triển các thuốc có nguồn gốc hóa học thì các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đang ngày càng được quan tâm và chú

trọng. Cao khai hay còn gọi là cao khô từ Dây khai (*Coptosapelta flavescens* Korth Rubiaceae) được sản xuất từ tỉnh Ninh Thuận, được đồng bào Re sử dụng lâu đời trong việc rửa vết thương phần mềm, hạn chế nhiễm trùng, mau lên da non [1,2]. Năm 2014, Wipapan K. và cộng sự đã chứng minh dịch chiết acetone của rễ *C. flavences* có khả năng kháng khuẩn trên tụ cầu vàng nhạy cảm methicillin (MSSA) và tụ cầu vàng đề kháng methicillin (MRSA) [3]. Năm 2023, nghiên cứu Nguyễn Thị Bạch Tuyết và Nguyễn Nhựt Trường đã chứng minh phân đoạn

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Bạch Tuyết. Email: ntb TUYET@ntt.edu.vn

Ngày nhận bài: 29/6/2024; Ngày đồng ý đăng: 10/9/2024; Ngày xuất bản: 25/9/2024

DOI: 10.34071/jmp.2024.5.10

ethyl acetat (EA) có khả năng kháng tốt trên cả Gram dương, Gram âm và vi nấm *Candida albicans*. Đặc biệt, phân đoạn EA kháng tốt nhất trên *S. aureus* - tác nhân thường được phân lập trong các ổ nhiễm trùng da, mô mềm với giá trị MIC đạt 0,512 mg/mL và đường kính vùng ức chế là 22,67 mm [4]. Từ đó, nghiên cứu tiếp tục thực hiện đánh giá tính kích ứng da, làm lành vết thương *in vivo* của phân đoạn EA trên mô hình rách da chuột nhắt trắng và cấy vi khuẩn *S. aureus*.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Mẫu thử: phân đoạn EA được cung cấp từ nghiên cứu của Nguyễn Thị Bạch Tuyết và Nguyễn Nhật Trường [4].

Vi sinh vật thử nghiệm: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 được cung cấp bởi Bộ môn Vi sinh - Ký sinh trùng, Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành.

2.2. Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng: đực, 5 - 6 tuần tuổi, chủng *Swiss albino*, trọng lượng khoảng từ 18 - 22g.

Thỏ trắng: đực, trưởng thành, khỏe mạnh, cân nặng không dưới 2kg.

Chuột và thỏ được cung cấp bởi Viện Vaccin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang.

2.3. Hóa chất và thiết bị

- Hóa chất: Ethyl acetat, Chloroform, PEG 400, DMSO, Tween 80, Povidine 10%, Propofol (Presofol) 1%, NaCl 0,9%, chỉ khâu Black Silk 3/0 và các hóa chất thường quy khác trong phòng thí nghiệm.

- Thiết bị: cân phân tích Kern ALS 22-4N, cân kỹ thuật Satorius CP 4202S, máy vortex VX - 200, micropipet 1 - 10 μ L, 100 - 1000 μ L, máy đo quang phổ UV-Vis, tủ cấy vô trùng, nồi hấp Autoclave, tủ sấy, dao mổ, thước kẹp, kim tiêm 1 mL, gạc y tế.

- Môi trường nuôi cấy *S. aureus*: môi trường Mueller-Hinton Agar (MHA); Môi trường Tryptone Soya Broth (TSB).

- Môi trường, dụng cụ dùng trong thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn được hấp diệt khuẩn ở 121°C trong 20 phút trước khi sử dụng.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị mẫu thử:

Nghiên cứu đã xác định nồng độ tối thiểu ức chế vi sinh vật (MIC) của phân đoạn EA đối với một số vi khuẩn như *S. aureus*, *MRSA*, *S. pyogenes* là 0,512 mg/mL [4]. Từ kết quả này, nghiên cứu tiến hành xây dựng 3 công thức thử nghiệm của phân đoạn EA với các nồng độ 5, 10 và 20 lần giá trị MIC để đánh giá tính kích ứng da và tác động kháng khuẩn, làm lành vết thương *in vivo*. Công thức được trình bày như bảng 1.

Bảng 1. Công thức dung dịch thử nghiệm

Thành phần	Công thức 1 (X_1)	Công thức 2 (X_2)	Công thức 3 (X_3)
Phân đoạn EA (g)	0,256 g	0,512 g	1,024
DMSO	10 mL	10 mL	10 mL
PEG 400	20 mL	20 mL	20 mL
Tween 80	5 mL	5 mL	5 mL
Nước cất	vừa đủ 100 mL	vừa đủ 100 mL	vừa đủ 100 mL

2.5. Tính kích ứng da trên thỏ của phân đoạn EA

Tiến hành thử nghiệm trên thỏ theo Hướng dẫn của OECD 404 và Quyết định số 3113/1999/QĐ-BYT [5,6]. 24 giờ trước thử nghiệm, làm sạch lông thỏ ở vùng lưng đều về hai bên cột sống một khoảng đủ rộng để đặt các mẫu thử và đối chứng (khoảng 10 cm - 15 cm). Mỗi mẫu được thử trên 3 thỏ. Trên mỗi thỏ, đánh dấu 6 ô vuông 2,5 $\times$ 2,5 cm. Vùng da mỗi ô vuông đặt 0,5 ml lần lượt các mẫu X_1 , X_2 , X_3 , chloroform, tá dược (DMSO, PEG 400, Tween 80), NaCl 0,9% (sinh lý) được thấm lên miếng gạc trong 4 giờ. Cố định miếng gạc bằng băng dính không gây kích ứng trong 4 giờ. Sau đó, bỏ gạc và băng dính, làm sạch vùng da ở mỗi ô vuông bằng NaCl 0,9%. Vị

trí đặt các mẫu thử được thay đổi luân phiên giữa các thỏ. Quan sát và ghi điểm phản ứng trên mỗi ô vuông ở các thời điểm sau 1 giờ, sau 24 giờ, sau 48 giờ và sau 72 giờ sau khi làm sạch mẫu thử. Tiến hành đánh giá vùng da dựa vào sự tạo vảy và ban đỏ: không ban đỏ (0), ban đỏ rất nhẹ (1), ban đỏ nhận thấy rõ (2), ban đỏ vừa phải đến nặng (3), ban đỏ nghiêm trọng đến tạo thành vảy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ (4); và thang điểm mức độ gây phù nề: không phù nề (0), phù nề rất nhẹ (1), phù nề nhận thấy rõ (2), phù nề vừa phải (3), phù nề nghiêm trọng (4). Tổng số điểm kích ứng tối đa có thể là 8 điểm, được trình bày ở Bảng 2 [6].

Bảng 2. Đánh giá tác động kích ứng dựa vào điểm kích ứng [6]

Tổng điểm	Kết luận
0 - 0,5	Kích ứng không đáng kể
> 0,5 - 2	Kích ứng nhẹ
2 - 5	Kích ứng vừa phải
> 5 - 8	Kích ứng nghiêm trọng

2.6. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, làm lành vết thương của phân đoạn ethyl acetat *in vivo*

Hoạt tính kháng khuẩn, làm lành vết thương của cao ethyl acetat được thực hiện theo phương pháp nhiễm khuẩn vết thương phẫu thuật (SSIs) dựa trên mô hình rách da của McRipley và Whitney [7] và nghiên cứu của Đỗ Thị Hồng Tươi và cs (2020) [8].

Chuẩn bị dịch vi khuẩn: *S. aureus* sau khi được hoạt hoá trong môi trường TSB (1:5) và phân lập trên môi trường MHA ở 37°C trong 24 giờ, được phân tán trong nước muối sinh lý bổ sung 0,05% tween 80 để đạt nồng độ 10^{10} CFU/mL.

Chuột nhắt được chia làm 6 lô (8 chuột/lô): Lô 1 (sinh lý): không gây nhiễm khuẩn, lô 2 (chứng bệnh): điều trị bằng tá dược; lô 3 (đối chứng): điều trị bằng Povidon iod 10%; lô 4,5,6: điều trị lần lượt các chế phẩm X_1 , X_2 , X_3 .

Vào ngày 0, chuột được cạo sạch lông ở vùng lưng để dễ quan sát, tránh trầy xước. Ngày 1, chuột từ lô 2 tới lô 6 tiến hành gây mê bằng dung dịch propofol 0,5% bằng cách tiêm tĩnh mạch với liều duy nhất 0,2 ml/chuột. Sau khi chuột bị mất phản xạ đau,

tiến hành khử trùng với cồn 70% và dùng kéo phẫu thuật cắt vết thương dài khoảng 2 cm, mở rộng đến vùng hạ bì. Tiến hành cấy 20 μ L huyền dịch vi khuẩn *S. aureus* đã chuẩn bị trước (khoảng mật độ 10^8 CFU/mL) vào vết thương và dùng chỉ Black Silk 3/0 để khâu vết mổ như Hình 1. Sau đó, các lô chuột lần lượt được bôi thuốc tương ứng NaCl 0,9%; tá dược, povidon iod 10%, X_1 , X_2 , X_3 mỗi ngày 2 lần, mỗi lần 50 μ L trong 7 ngày liên tục.

Thông số theo dõi:

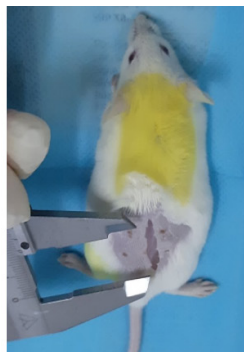
- Nhiễm khuẩn tiến triển là sự phát triển của ổ viêm, có thể được theo dõi bằng cách đo lường kích thước tổn thương hàng ngày. Đánh giá chiều dài vết thương (chiều dài vết khâu chưa liền 2 mép hoàn toàn), tỷ lệ làm lành vết thương của chuột.

- Ngày cuối thử nghiệm, tiến hành gây mê chuột CO_2 và lấy máu tim để xét nghiệm chỉ số bạch cầu. Tách lách, rửa sạch và ghi nhận trọng lượng. Ghi nhận chỉ số lách bằng tỷ lệ trọng lượng lách/trọng lượng cơ thể chuột (mg/g).

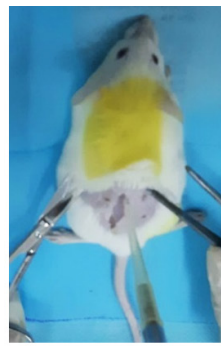
Tỷ lệ làm lành vết thương (%) = $100 - [(chiều\ dài\ vết\ khâu\ ngày\ n / chiều\ dài\ vết\ khâu\ ngày\ 0) * 100]$



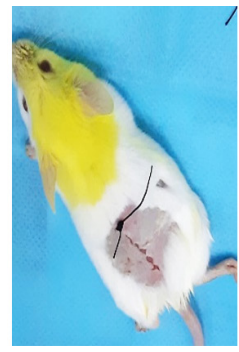
Gây mê



Tạo vết mổ



Cấy vi khuẩn



Khâu vết mổ

Hình 1. Quy trình tạo vết mổ trên vùng lưng chuột

2.7. Xử lý kết quả và thống kê

Kết quả được trình bày dưới định dạng giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn (Mean $\pm$ SEM). Dùng phép kiểm Mann-Whitney và phép kiểm Kruskal - Wallis để so sánh sự khác biệt giữa các lô thử nghiệm trên phần mềm SPSS 22.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ

3.1. Tính kích ứng da trên thỏ của phân đoạn EA

Đánh giá về sự thay đổi tình trạng da của các lô thử nghiệm được mô tả như sau:

Mẫu chứng sinh lý NaCl 0,9% không thể hiện tính kích ứng, không có dấu hiệu ban đỏ hay phù nề trong suốt quá trình thử nghiệm. Mẫu chloroform sau hiện

tượng phù nề, ban đỏ tại thời điểm 1 giờ sau khi làm sạch da và xuất hiện tạo vảy lúc tại thời điểm 24 giờ. Tình trạng ban đỏ và vảy nặng kéo dài đến 72 giờ thử nghiệm, đồng thời có sự giảm nhẹ của tình trạng phù nề với điểm kích ứng là 3,56 – xếp vào chất gây kích ứng vừa phải. Mẫu tá dược (DMSO, PEG 400, Tween 80): vùng da không có hiện tượng gì khác so

với vùng đặt mẫu sinh lý, da trơn nhẵn mịn, không đỏ, không phù nề với điểm kích ứng bằng 0. Điều này chứng tỏ rằng tá dược dùng để pha cao không gây kích ứng da, an toàn. Các mẫu thử X_1 , X_2 , X_3 với nồng độ tương ứng 5 MIC, 10 MIC, 20 MIC: không xuất hiện tình trạng ban đỏ hay phù nề trong suốt quá trình thử nghiệm với điểm kích ứng bằng 0.

Kết quả về tính kích ứng da được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Điểm kích ứng trên da của các lô thử nghiệm

Thời điểm	Sinh lý	Chloroform	Tá dược	X1	X2	X3
Sau 1 giờ	0	2,25	0	0	0	0
Sau 24 giờ	0	4,5	0	0	0	0
Sau 48 giờ	0	3,75	0	0	0	0
Sau 72 giờ	0	3,75	0	0	0	0
Trung bình	0	3,56	0	0	0	0

Từ kết quả trên đã chứng minh phân đoạn EA không gây kích ứng da (độc tính tại chỗ), đồng thời tá dược dùng để hòa tan cao cũng không gây kích ứng. Như vậy, phân đoạn EA từ dịch chiết nước Dây khai có thể sử dụng để bào chế các sản phẩm trị vết thương ngoài da.

3.2. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, làm lành vết thương của phân đoạn EA *in vivo*

Với hướng phát triển dạng bào chế dung dịch rửa vết thương nhiễm khuẩn ngoài da, đề tài tiến hành thử đánh giá tác động kháng khuẩn *in vivo* trên *S.aureus* – là một trong những vi khuẩn gây nhiễm

khẩn da thường gặp cũng như là vi khuẩn mà phân đoạn EA kháng tốt nhất [4].

Chuột sau khi bị rạch da và cấy khoảng 2×10^8 *S. aureus* có biểu hiện nóng, sốt. Sau 24 giờ, vết thương có xuất hiện mủ. Vết thương tiến triển và duy trì khoảng 8 ngày. Trong 3 ngày đầu, ổ viêm phát triển mạnh, kích thước vết thương hầu như chỉ giảm nhẹ. Sau ngày 4, kích thước vết thương ở các lô chăm sóc bằng povidon, X_1 , X_2 , X_3 bắt đầu giảm mạnh và lành vào ngày 8. Đến ngày 8, chuột ở các lô điều trị đã gần liền mép hoàn toàn nên thí nghiệm kết thúc. Tỷ lệ làm lành vết thương được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Tỷ lệ làm lành vết thương ở các lô thử nghiệm

Lô	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7	Ngày 8
Chứng bệnh	1,87 ± 1,04	1,87 ± 1,04	4,02 ± 1,22	10,09 ± 2,50	15,46 ± 2,81	28,63 ± 2,50	47,50 ± 3,18
Povidon iod	3,36 ± 1,02	8,11 ^{###} ± 2,63	12,84 ^{##} ± 2,54	21,79 ^{##} ± 2,13	30,49 ^{###} ± 1,40	45,41 ^{##} ± 5,07	75,12 [#] ± 9,51
X1 (EA 0,256%)	4,51 ± 0,99	7,64 ^{###} ± 0,84	13,85 ^{##} ± 2,73	27,39 ^{###} ± 1,77	42,28 ^{###} ± 8,33	91,98 ^{####} ± 8,02	100,00 ^{####} ± 0,00
X2 (EA 0,512%)	5,10 [#] ± 1,39	9,20 ^{###} ± 1,56	13,01 ^{###} ± 1,22	21,04 ^{##} ± 2,27	40,14 ^{##} ± 5,56	79,06 ^{####} ± 6,70	85,90 ^{###} ± 5,70
X3 (EA 1,024%)	6,84 [#] ± 1,56	10,66 ^{###} ± 2,30	15,58 ^{##} ± 2,19	35,62 ^{#####} ± 4,20	59,10 ^{#####} ± 6,26	94,81 ^{#####} ± 5,19	100,00 ^{####} ± 0,00

[#], ^{##}, ^{###} lần lượt tương ứng với giá trị $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$ so với chứng bệnh.

^{*}, ^{**} lần lượt tương ứng với giá trị $p < 0,05$; $p < 0,01$ so với povidon iod.

Sau 3 ngày điều trị, chuột được rửa vết thương bằng povidon, X_1 , X_2 , X_3 đã bắt đầu có tỷ lệ làm lành vết thương tăng cao đáng kể (khoảng 14%) so với chứng bệnh (4%) ($p < 0,05$), bề mặt vết thương đã khô và hiện tượng mưng mủ cũng giảm dần. Từ ngày 5 tới ngày 8, các lô chuột ở 4 lô điều trị đều

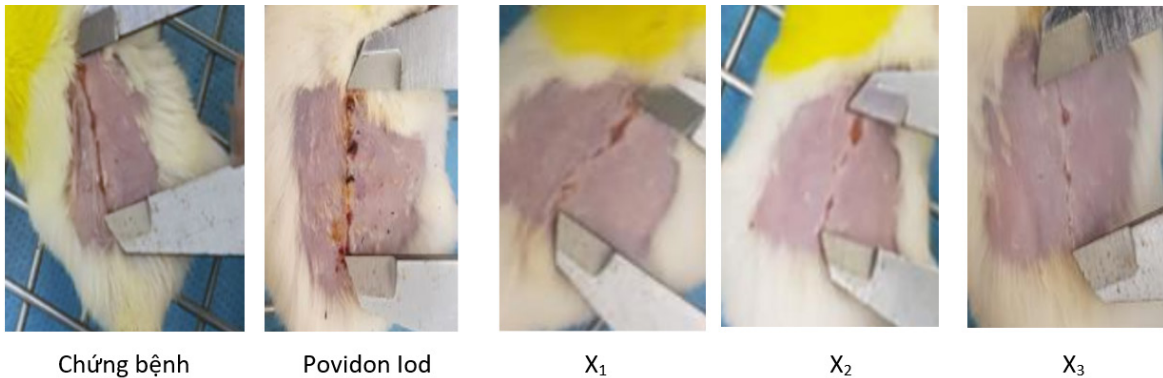
bắt đầu giảm mạnh khoảng 20% mỗi ngày. Và tới ngày 7, các lô điều trị bằng X_1 , X_2 , X_3 đều lành vết thương được khoảng 80 - 90% so với chứng bệnh (28,63%) ($p < 0,001$). Ngày 8, các lô X_1 , X_2 , X_3 đã lành hẳn so với chứng bệnh mới lành được khoảng 50%.

So sánh hiệu quả kháng khuẩn, làm lành vết

thương của X_1 , X_2 , X_3 và povidon iod

Từ bảng 4 cho thấy vết thương được điều trị bằng X_3 với nồng độ 1,024 % (g/mL) lành nhanh hơn so với X_1 , X_2 và đối chứng. Cụ thể như sau vào ngày 5, tỷ lệ lành vết thương ở X_3 là 35,62% so với X_1 (27,39%) và X_2 (21,04%) và đối chứng povidon (21,79%). Vào ngày 6, tỷ lệ lành vết thương ở X_3 là 59,10% so với X_1 (42,28%) và X_2 (40,14%) và đối chứng povidon (30,49%). Vào ngày 7 và ngày 8 thì các lô X_1 , X_2 , X_3 đã lành vết thương gần hết 100%. Riêng chỉ có povidon iod vào ngày cuối thử nghiệm mới lành được 75%. Điều này chứng tỏ chế phẩm rửa vết thương từ phân đoạn EA có tác dụng tốt hơn hẳn so với đối chứng povidon iod 10%. Ngoài ra, X_2 và X_3 thể hiện khả năng làm lành vết thương sớm hơn so với X_1 . Hơn nữa, X_2

và X_3 có tỷ lệ làm lành vết thương cao hơn chứng bệnh và khác biệt có ý nghĩa thống kê sau 1 ngày điều trị và liên tục cho tới cuối thử nghiệm. X_1 có tác dụng chậm hơn và có tỷ lệ làm lành vết thương khác biệt đáng kể so với chứng bệnh sau 2 ngày điều trị. Tuy nhiên, sau 5 ngày điều trị thì tỷ lệ làm lành vết thương ở cả 3 lô X_1 , X_2 , X_3 gần như tương đương nhau, khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Từ đó, để hạn chế các tác dụng không mong muốn cũng như cũng đảm bảo được hiệu quả kháng khuẩn thì nghiên cứu đề nghị sử dụng công thức X_1 với nồng độ 0,512% ở các thử nghiệm tiếp theo cũng như sử dụng liều này để tạo ra các sản phẩm điều trị nhiễm trùng ngoài da. Đại thể vết thương ở các lô thử nghiệm được trình bày ở Hình 2.



Hình 2. Quan sát đại thể vết thương vào ngày 5

Trọng lượng cơ thể chuột, lách, chỉ số lách, chỉ số bạch cầu được trình bày ở Bảng 5.

Về chỉ số lách: lô chứng bệnh có trọng lượng lách và chỉ số lách tăng khoảng 180%, khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô sinh lý. Điều này thể hiện tình trạng viêm trên vết thương, do lách tham gia vào hệ miễn dịch thông qua việc tạo nên tế bào lympho; nên khi xuất hiện tình trạng viêm thì lách sẽ tăng kích thước, to hơn.

Về chỉ số bạch cầu: số lượng bạch cầu của lô chứng bệnh tăng gần 2 lần so với lô sinh lý, khác nhau

có nghĩa thống kê ($p < 0,05$) phù hợp với tình trạng viêm của vết thương trên đại thể. Sau 7 ngày điều trị với Povidon iod, X_1 , X_2 , X_3 thì số lượng bạch cầu đều giảm so với lô chứng bệnh; ngoại trừ lô X_2 , nhưng sự khác nhau này khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tuy sự khác biệt không có ý nghĩa nhưng kết quả bước đầu cho thấy việc điều trị làm giảm tình trạng viêm. Như vậy, từ kết quả thu được cho thấy sản phẩm X_1 , X_2 , X_3 từ phân đoạn EA từ *C.flavescens* thể hiện tác dụng kháng viêm, làm lành vết thương trên da chuột nhất tương đương với povidon iod 10 %.

Bảng 5. Chỉ số lách và chỉ số bạch cầu của các lô thử nghiệm

Lô	Khối lượng chuột (g)	Trọng lượng lách (mg)	Chỉ số lách (mg/g)	Số lượng bạch cầu ($10^6/L$)
Sinh lý	26,90 $\pm$ 0,42	103,76 $\pm$ 7,58	3,86 $\pm$ 0,30	4,14 $\pm$ 0,30
Chứng bệnh	27,79 $\pm$ 1,06	195,01 ^{@@@} $\pm$ 17,84	6,99 ^{@@@} $\pm$ 0,55	7,30 ^{@@@} $\pm$ 0,62
Povidon iod	27,00 $\pm$ 1,58	145,96 [@] $\pm$ 14,59	5,48 [@] $\pm$ 0,56	6,56 ^{@@} $\pm$ 0,43
X_1	31,71 [@] $\pm$ 1,71	138,40 [#] $\pm$ 11,65	4,50 [#] $\pm$ 0,51	6,10 $\pm$ 0,64
X_2	30,85 $\pm$ 2,40	175,40 [@] $\pm$ 19,34	5,66 ^{@@} $\pm$ 0,48	7,55 ^{@@@} $\pm$ 0,63
X_3	28,15 $\pm$ 1,87	143,65 ^{##} $\pm$ 10,73	5,18 ^{##} $\pm$ 0,38	6,95 ^{@@@} $\pm$ 0,64

[@], ^{@@}, ^{@@@} lần lượt tương ứng với giá trị $p < 0,05$; $< 0,01$; $< 0,001$ so với lô sinh lý

[#] tương ứng với giá trị $p < 0,05$ so với lô chứng bệnh.

4. BÀN LUẬN

Năm 2023, nghiên cứu của Nguyễn Thị Bạch Tuyết và cs đã chứng minh phân đoạn EA từ Dây khai cho hiệu quả kháng khuẩn tốt nhất trên chủng *S.aureus* [4]. Với mong muốn bào chế các sản phẩm rửa vết thương ngoài da, nghiên cứu tiến hành đánh giá hiệu quả kháng khuẩn, làm lành vết thương *in vivo* trên *S.aureus* - một trong những vi khuẩn thường gặp trong nhiễm khuẩn da. Trên thế giới, các nhà khoa học xây dựng mô hình nhiễm khuẩn, làm lành vết thương ngoài da bằng cách rạch da lưng [7 - 9], hoặc tiêm dịch vi khuẩn dưới da [7], hoặc gây vết thương mài mòn da bằng giấy nhám [10]. Dựa trên cơ sở đó, nghiên cứu đã thực hiện gây mô hình bằng cách rạch da trên lưng chuột và cấy khoảng 2×10^8 vi khuẩn *S.aureus*. Sau 7 ngày điều trị bằng sản phẩm X_1 , X_2 , X_3 , tỷ lệ vết thương của 3 lô sản phẩm đạt được khoảng 80 - 90% so với chứng bệnh (28,63%) ($p < 0,001$). Kết quả trên cũng hoàn toàn tương tự với các báo cáo trên thế giới. Nghiên cứu của K. Wipapan và cs (2014) cho thấy dịch chiết acetone của rễ từ *C.flavescens* cho hoạt tính kháng khuẩn đối với MSSA và MRSA [3]. Ngoài ra, chỉ số bạch cầu và chỉ số lách ở lô chuột điều trị bằng bằng X_1 , X_2 , X_3 thấp hơn so với chứng bệnh, mặc dù khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Đỗ Thị Hồng Tươi

và cs (2020) về sự làm giảm chỉ số lách và bạch cầu ở sản phẩm Max Skin care I Free so với chứng bệnh [8]. Theo nghiên cứu của Phạm Trí Nhựt và cs, Cao Khai có sự hiện diện của các hợp chất saponin (35,79 μ g OAE/mg), flavonoid (5,94 μ g QE/mg), polyphenol (49,67 μ g GAE/mg) [11, 12]. Các nhà nghiên cứu đánh giá cao về khả năng chữa lành vết thương, chống viêm, tái tạo biểu mô của hợp chất flavonoid thông qua việc giảm giải phóng cytokin, NF κ B, ROS [13]. Hơn nữa, saponin có thể thúc đẩy quá trình tái tạo mạch máu và rút ngắn thời gian làm lành vết thương. Thông qua hoạt động chống oxy hoá, điều hoà miễn dịch, kìm khuẩn, polyphenol được chứng minh có hiệu quả kháng khuẩn, làm lành vết thương [14]. Từ đây chứng minh chế phẩm X_1 , X_2 , X_3 cho tác động kháng khuẩn, làm lành vết thương *in vivo*.

5. KẾT LUẬN

Sản phẩm rửa vết thương từ phân đoạn ethyl acetat gây kích ứng da không đáng kể trên thỏ và thể hiện tác động kháng khuẩn, kháng viêm, làm liền vết thương trên chuột nhắt trắng. Nghiên cứu bước đầu cho thấy sản phẩm thể hiện tốt hơn đối chứng povidon iod 10%. Các kết quả này tạo tiền đề để bào chế các sản phẩm ngoài da chăm sóc vết thương từ phân đoạn ethyl acetat của dịch chiết nước Dây khai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M.V.Vo et al, Medicinal plants used by the hre community in the Ba To district of central Vietnam. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 2014, 2(3): 64-71.
2. Trần Công Khánh, Dược liệu mang tên Dây khai, *Thuốc và sức khỏe*, 2009, số 383, tr.15.
3. K. Wipapan et al., Anthraquinone and Naptoquinone Derivatives from the Roots of *Coptosapelta flavescens*, *Natural Product Communication*, 2014, 9 (2):.219-220.
4. Nguyễn Thị Bạch Tuyết, Nguyễn Nhựt Trường, Khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật *in vitro* của phân đoạn Cao khai (*Coptosapelta flavescens* Korth., Rubiaceae), *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 2023, 228 (1), tr. 385-392.
5. OECD 404, Acute Dermal Irritation/Corrosion, *OECD guideline for the testing of chemicals, Section 4*, 2015.
6. Bộ Y tế, Quyết định số 3113/1/QĐ-BYT ngày 11/10/1999 ban hành tiêu chuẩn giới hạn vi khuẩn, nấm mốc trong mỹ phẩm và phương pháp thử kích ứng trên da, 1999.
7. D. Tianhong, Kharkwal Gitika B et al., Animal models of external traumatic wound infections, *Virulence*, 2011, 2(4): 296 – 315.
8. Đỗ Thị Hồng Tươi, Nguyễn Lê Thanh Tuyền và cs, Khảo sát tính kích ứng da và tác động làm lành vết thương của sản phẩm Max Skin care I FREE, *Tạp chí Y dược học*, 2020, tr. 66-70.
9. Lê Hoàng Duy Minh và cs, So sánh hiệu quả khả năng làm lành vết thương ở chuột Swiss bằng tế bào gốc trung mô từ mỡ và tế bào gốc đơn nhân từ mỡ, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 2020, 56(3), tr. 60-68.
10. B.D. Souza et al, "The use of sandpaper as a precision tool for dermabrasion in burn surgery", *Plastic & Reconstructive Surgery*, 116 (1), pp. 350 -351.
11. Phạm Trí Nhựt, "Nghiên cứu đánh giá thành phần hóa học, hoạt tính sinh học và tác dụng chăm sóc sức khỏe của sản phẩm "Cao Khai" sản xuất từ Dây khai (*Coptosapelta flavescens* korth.)", 2021, *Luận văn thạc sĩ hóa hữu cơ, Viện hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam*.
12. T.N. Pham et al, "Anti-arthritis activity and phytochemical composition of "Cao Khai" (Aqueous extracts of *Coptosapelta flavescens* Korth.)", *Heliyon*, 2022, 8(2), pp. e08933.
13. M.T.B.Carvalho et al, "Wound healing properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action", *Phytomedicine*, 2021, 90, pp. 153636.
14. M. Paszkiewicz et al, "The immunomodulatory role of plant polyphenols", *Postepy Hig Med Dosw*, 2012, 66, pp. 637–646.