

KHẢO SÁT CƠ CHẾ KHÁNG VIÊM CỦA CAO CHIẾT ETHANOL CÚC CHỈ THIÊN MỀM (*Elephantopus mollis*) TRÊN MÔ HÌNH ĐẠI THỰC BÀO RAW264.7

Nguyễn Quốc Châu Thanh^{1*}, Phạm Duy Toàn¹, Nguyễn Trọng Tuấn¹ và Đặng Huỳnh Giao²

¹Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Quốc Châu Thanh (email: ngcthanh@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 15/05/2022

Ngày nhận bài sửa: 02/06/2022

Ngày duyệt đăng: 16/07/2022

Title:

Investigation of anti-inflammatory mechanism from *Elephantopus mollis* ethanol extract using RAW264.7 macrophages

Từ khóa:

Cúc chỉ thiên mềm, kháng viêm, NF- κ B, Nrf2, stress oxy hóa

Keywords:

Anti-inflammatory, *Elephantopus mollis*, NF- κ B, Nrf2, oxidative stress

ABSTRACT

Elephantopus mollis, a medicinal plant widely recognized in traditional medicine, was used to treat many inflammatory diseases. However, only a few studies have investigated its effects on the inflammatory response. In the present study, we evaluated the anti-inflammatory activities of *E. mollis* ethanol extract in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophages. Pre-treatment with the extract significantly attenuated the production of inflammatory mediators such as nitric oxide and the expression of pro-inflammatory cytokines. Moreover, *E. mollis* ethanol extract treatment suppressed activation of the nuclear factor-kappa B pathway (NF- κ B) by inhibiting nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha (*I κ B α*) degradation. In addition to suppressing inflammatory factors, the extract also activated the nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme-oxygenase-1 pathway (Nrf2/HO-1), which prevented oxidative stress. Taken together, we propose that *E. mollis* ethanol extract has pharmacological activity and may be useful for the development of an alternative therapeutic agent to alleviate oxidative stress and inflammation diseases.

TÓM TẮT

Cúc chỉ thiên mềm (*Elephantopus mollis*) là một loại thảo dược dân gian được sử dụng để điều trị các bệnh viêm khác nhau. Tuy nhiên, chỉ có một số ít nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của nó đến quá trình đáp ứng viêm. Trong nghiên cứu này, cơ chế kháng viêm của cao chiết ethanol Cúc chỉ thiên mềm sử dụng mô hình đại thực bào RAW264.7 kích thích bởi lipopolysaccharide (LPS) được khảo sát. Điều trị với cao chiết giảm đáng kể các sản phẩm trung gian trong quá trình viêm như nitric oxide (NO) và biểu hiện của các cytokine tiền viêm. Hơn thế nữa, cao chiết ngăn cản sự kích hoạt con đường tín hiệu nuclear factor-kappa B (NF- κ B) thông qua ức chế sự suy biến nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha (*I κ B α*). Ngoài ra, cao chiết cũng kích hoạt con đường tín hiệu nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme-oxygenase-1 (Nrf2/HO-1) góp phần ngăn chặn stress oxy hóa. Trong nghiên cứu này, Cúc chỉ thiên mềm được sử dụng như một tác nhân trị liệu trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh do stress oxy hóa và viêm.

1. GIỚI THIỆU

Hệ thống miễn dịch giữ vai trò quan trọng trong việc bảo vệ cơ thể người trước tác động tấn công của mầm 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, bao gồm các phản ứng sinh học phức tạp góp phần duy trì cân bằng nội môi trong cơ thể người. Quá trình viêm mãn tính có thể dẫn đến các loại bệnh nghiêm trọng như: viêm khớp dạng thấp, viêm gan mãn tính, xơ phổi và ung thư (Scriver et al., 2011). Trong các nghiên cứu về viêm nhiễm, hình thức hoạt động của hệ miễn dịch được quan tâm, bởi chúng được vận hành xuyên suốt một cách liên tục dưới dạng các tế bào biệt hóa ở các mô, cơ quan chuyên biệt thể hiện chức năng riêng biệt của chúng. Trong đó, đại thực bào (điển hình cho sự biệt hóa từ các bạch cầu đơn nhân) không chỉ thực hiện thanh lọc thông qua quá trình thực bào mà còn kiểm soát quá trình hình thành mạch và tái cấu trúc ma trận ngoại bào (extracellular matrix), các giai đoạn của quá trình viêm, phục hồi cũng như tái tạo bệnh lý. Nhiều mô hình sàng lọc các hợp chất chống viêm đã và đang được các nhà khoa học sử dụng để nghiên cứu, khảo sát đánh giá các cơ chế sinh học phân tử tiềm năng. Đáng chú ý, các đại thực bào (đặc biệt là dòng đại thực bào nuôi cấy RAW264.7) đáp ứng viêm thông qua việc sản xuất quá mức các chất trung gian gây viêm như nitric oxide (NO), gốc tự do (ROS), cytokine tiền viêm tumor necrosis factor- α (TNF- α) và interleukin (IL-6, IL-1 β ,...). Như vậy, sự biểu hiện sản phẩm NO và cytokine tiền viêm có thể phản ánh mức độ của quá trình viêm, làm tiền đề để đánh giá tác động của các tác nhân dược lý trong việc hỗ trợ điều trị các hội chứng liên quan đến viêm. Lipopolysaccharide (LPS), một loại nội độc tố được tìm thấy ở vách của các vi khuẩn Gram âm, được sử dụng rộng rãi trong tạo mô hình viêm trong tế bào nuôi cấy hay trên mô hình động vật, có thể kích hoạt các con đường tín hiệu quan trọng điều hòa các phản ứng viêm như nuclear factor-kappa B (NF- κ B) và nuclear factor-erythroid-2-related factor/heme oxygenase-1 (Nrf2/HO-1).

Trong khi các loại thuốc kháng viêm steroid (glucocorticoid-GC) và không steroid (NSAIDs) đang được sử dụng nhưng mang lại các tác dụng phụ không mong muốn, thì các loại thảo dược có nguồn gốc tự nhiên được đề xuất như một giải pháp an toàn, hiệu quả trong việc hỗ trợ điều trị bệnh. Cúc chi thiên mèm (*Elephantopus mollis*) được sử dụng nhiều trong các bài thuốc dân gian để điều trị các bệnh về viêm. Bên cạnh đó, các

hoạt động dược lý khác như chống oxy hóa, chống bệnh ký sinh trùng leishmaniasis, kháng nguyên sinh, kháng khuẩn, chống đái tháo đường, kích thích tái tạo xương và hoạt động bảo vệ gan đã được báo cáo trong nhiều bài báo nghiên cứu khác nhau (Mesa et al., 2021). Tuy nhiên, những bằng chứng khoa học về hiệu quả của nó ở cấp độ cơ chế tác động trực tiếp hoặc gián tiếp đến hoạt động kháng viêm vẫn chưa được làm rõ. Trong nghiên cứu ngày, Cúc chi thiên mèm (*Elephantopus mollis*) được đánh giá và giải thích cơ chế kháng viêm trên mô hình đại thực bào RAW264.7 với kích thích LPS. Qua đó, việc sử dụng Cúc chi thiên mèm được nghiên cứu, đề xuất như một thảo dược tiềm năng để phát triển các loại thuốc kháng viêm thay thế tân dược trên thị trường.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Toàn thân Cúc chi thiên mèm được thu hái tại Cần Thơ. Mẫu được rửa sạch, loại bỏ phần rễ, phơi khô tự nhiên và xay thành bột. Mẫu bột khô được ngâm chiết nhiều lần với cồn 96° ở nhiệt độ phòng, sau đó dịch chiết được cô quay và đông cô dưới áp suất thấp để thu được cao chiết. Cao chiết Cúc chi thiên mèm (Em) được trữ ở nhiệt độ 4°C cho đến khi sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo. Mẫu thí nghiệm được định danh và lưu trữ tại Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ với mã số Em01.2018-CT02.

2.2. Đánh giá khả năng gây độc tế bào

Tế bào RAW 264.7 (ATCC TIB 71) được cung cấp bởi Viện Kỹ thuật công nghệ Kyoto, Nhật Bản. Tế bào RAW 264.7 được nuôi với môi trường Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; FUJIFILM-Wako, Nhật Bản) có bổ sung 10% huyết thanh thai bò (FBS) và 1% penicillin-streptomycin (PS) trong tủ nuôi cấy tế bào (nhiệt độ 37°C; độ ẩm 5% CO₂). Cao chiết được hòa tan trong 5% (v/v) Dimethyl sulfoxide (DMSO) và được pha loãng với DMEM theo nồng độ khảo sát (0, 50, 100, 200, 400 và 800 μ g/mL). Tế bào được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng với mật độ 2×10^6 tế bào/giếng và ủ 24 giờ trong cùng điều kiện thí nghiệm. Sau đó, tế bào được ủ với sự hiện diện của LPS hoặc không có LPS 1 μ g/mL trong thời gian 18 giờ.

Khả năng sống của tế bào được đánh giá bằng Cell Counting Kit-8 (CCK-8; Dojindo Molecular Technologies Inc., Mỹ). Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 450 nM.

2.3. Đánh giá khả năng ức chế NO

Tế bào được nuôi cấy trong đĩa 8 giếng với mật độ 2×10^6 tế bào/giếng được ủ trong thời gian 24 giờ

với cùng điều kiện ở Mục 2.2. Tiếp đó, tế bào được bổ sung các nồng độ khác nhau của cao chiết ethanol Cúc chỉ thiên mềm trong thời gian 24 giờ. Sau đó, tế bào được rửa với dung dịch đệm phosphate (PBS) và kích thích với LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ trong thời gian 18 giờ. Lượng NO sinh ra được định lượng bằng thuốc thử Griess (FUJIFILM-Wako, Nhật Bản) dựa trên phương trình đường chuẩn theo nồng độ của NaNO_2 . Mật độ quang được đo ở bước sóng 540 nM sau khi ủ trong thời gian 10 phút, ở nhiệt độ phòng. N-Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME; FUJIFILM-Wako, Nhật Bản) 100 μM được dùng làm đối chứng dương.

2.4. Đánh giá khả năng ức chế TNF- α bằng ELISA Kit

Tế bào được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng với mật độ 2×10^6 tế bào/giếng với cùng điều kiện ở Mục 2.3. Hàm lượng protein TNF- α được khảo sát bằng TNF- α ELISA Ready-SET-Go Kit (eBiosciences, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà cung cấp. Mật độ quang được đo ở bước sóng 450/570 nM. Nồng độ TNF- α được định lượng dựa theo hướng dẫn của bộ Kit.

2.5. Đánh giá khả năng ức chế cytokine bằng qRT-PCR

Tế bào được nuôi cấy với mật độ 2×10^6 tế bào/giếng dưới sự hiện diện của cao chiết ở các nồng độ khác nhau trong đĩa 24 giếng và ủ trong thời gian 24 giờ. Sau đó, tế bào được rửa với PBS và kích thích với LPS trong thời gian 18 giờ. Tiếp theo, tế bào được rửa với PBS, thêm 1 mL Trizol (Invitrogen; Mỹ) và được giữ ở nhiệt độ -80°C cho đến khi phân tích. Tổng lượng RNA được ly trích và tinh sạch sử dụng Qiagen RNeasy Kit (Qiagen, Đức). Sau đó, DNA bổ sung (cDNA) được tổng hợp bằng cách sử dụng Transcriptor Universal cDNA Master Mix (Roche, Đức) và SimpliAmp Thermal Cycler (Life Technologies, Singapore) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Định lượng phản ứng PCR sử dụng FastStart Essential DNA Green Master Mix (Roche, Mannheim, Đức) và Light-Cycler 96 (Roche, Đức). Đoạn môi được thiết kế như sau: (*IL-6*) 5'-GCTACCAAACCTGGATATAATCAGGA-3', 5'-CCAGGTAGCTATGGTACTCCAGAA-3'; (*IL-1 β*) 5'-AGTTGACGGACCCCAAAG-3', 5'-AGCTGGATGCTCTCATCAGG-3'; (*β -actin*) 5'-GGAGGGGGTTGAGGTGTT-3', 5'-GTGTGCACTTTTATTGGTCTCAA-3'.

2.6. Nhuộm hóa mô miễn dịch

Tế bào được nuôi cấy với mật độ 2×10^6 tế bào/giếng trong đĩa 8 giếng (Thermo Fisher

Scientific, Nunc™ Lab-Tek® Chamber Slides, Mỹ) với cùng điều kiện thí nghiệm ở Mục 2.3. Sau đó, tế bào được rửa với PBS và thêm vào dung dịch paraformaldehyde phosphate 4% (FUJIFILM-Wako, Nhật Bản), ủ trong thời gian 15 phút, ở nhiệt độ phòng và được rửa lại 3 lần với PBS có bổ sung 3% FBS. Thí nghiệm được lặp lại tương tự lần lượt với dung dịch PBS được bổ sung 2% Triton-X, ủ trong thời gian 5 phút. Sau đó, mẫu được bổ sung dung dịch FBS 3% với 0,5% Tween 20, ủ trong thời gian 1 giờ, ở nhiệt độ phòng và lần lượt nhuộm các kháng thể khảo sát. Sự chuyển dịch hạt nhân của p65, Nrf2 được xác định nhuộm với kháng thể anti-NF- κB p65, anti-Nrf2 và kháng thể phù hợp bắt màu Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 594 (Invitrogen, Mỹ). Định vị nhân tế bào được nhuộm với 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI; Invitrogen, Mỹ). Mẫu được chụp dưới kính hiển vi điện tử huỳnh quang Fluoview FV10i (Olympus, Nhật Bản).

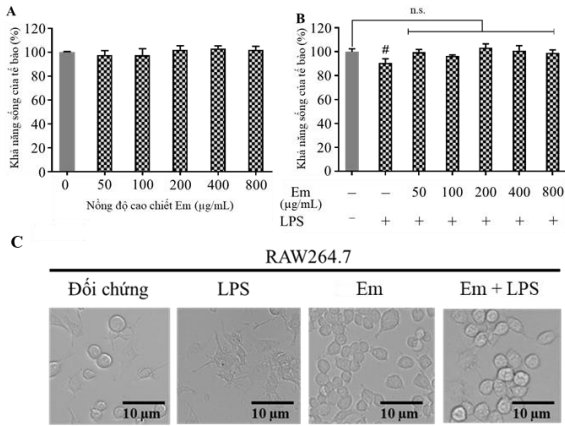
2.7. Thống kê

Kết quả được phân tích định lượng bằng phần mềm Image J (National Institute of Health, Mỹ), MetaMorph software (Molecular Devices, Mỹ) và xử lý bằng Prism 8.0 (Graphpad, Mỹ). Mỗi thí nghiệm được lặp lại ít nhất ba lần. Nghiên cứu sử dụng hàm thống kê Student's *t*-test và one-way ANOVA. Giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của cao chiết đến sự sống tế bào

Đánh giá ảnh hưởng của cao chiết Cúc chỉ thiên mềm được tiến hành khảo sát ở các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy ở nồng độ cao chiết tối ưu không gây độc trong điều kiện khảo sát là 0 – 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Hình 1A). Tế bào được kích thích với LPS làm giảm khả năng sống so với mẫu đối chứng nhưng không khác biệt khi được điều trị với cao chiết (Hình 1B). Bên cạnh đó, hình dạng của đại thực bào có sự thay đổi khi được kích thích với LPS. Điều này được đề cập trong các nghiên cứu trước, LPS kích hoạt kiểu hình của đại thực bào như trạng thái viêm và dẫn đến chết tế bào theo chu trình (apoptosis) (Dai et al., 2019). Tuy nhiên, hình dạng của tế bào được bảo vệ hoặc phục hồi khi được điều trị với cao chiết (Hình 1C). Như vậy, cao chiết Cúc chỉ thiên mềm thể hiện khả năng bảo vệ tế bào trước khả năng gây độc của kích thích viêm LPS.



Hình 1. Ảnh hưởng của cao chiết Cúc chi thiên mền đến sự sống và hình thái tế bào RAW264.7

(A) Khả năng sống của tế bào được điều trị với các nồng độ khác nhau của cao chiết. (B) Khả năng sống của tế bào được điều trị với nồng độ thích hợp của cao chiết và kích thích với LPS. (C) Hình thái tế bào được ghi nhận dưới kính hiển vi trong cùng điều kiện thí nghiệm (Es – 800 µg/mL).

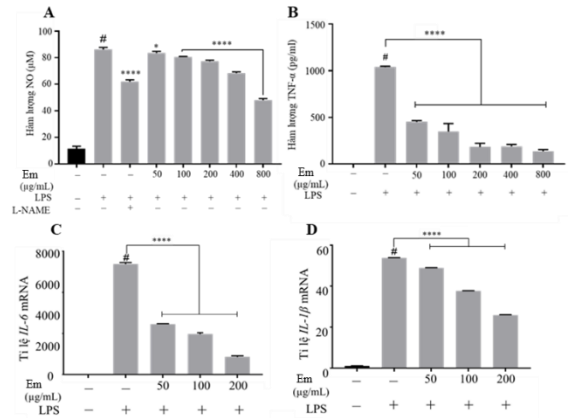
Ghi chú: # $p < 0,05$, tế bào được nuôi trong điều kiện bình thường; n. s.: không khác biệt.

3.2. Ức chế sản sinh NO và các cytokine tiền viêm

Đánh giá khả năng ức chế của cao chiết Cúc chi thiên mền đến quá trình viêm gây ra bởi kích thích LPS, sản phẩm NO sinh ra và các cytokine tiền viêm được tiến hành khảo sát. Thông qua tác động kích thích của LPS, tế bào đáp ứng lại kích thích này bằng cách điều hòa miễn dịch và sản sinh NO, phóng thích các gốc tự do (Ruhée et al., 2019). Như vậy, NO là một tín hiệu giữ vai trò quan trọng trong đáp ứng viêm của hệ miễn dịch (Sharma et al., 2007). Kết quả cho thấy, tăng dần nồng độ cao chiết đã ức chế đáng kể sự sản sinh các sản phẩm NO bởi kích thích LPS (Hình 2A). Như đã biết, yếu tố hoại tử TNF- α là một tín hiệu quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến biểu hiện của quá trình viêm (Kany et al., 2019). Vì vậy, hàm lượng TNF- α khảo sát giảm rõ rệt khi được điều trị với cao chiết chứng tỏ tiềm năng ức chế viêm của cao chiết Cúc chi thiên mền làm cơ sở trong các đánh giá tiếp theo (Hình 2B).

Để đánh giá chi tiết cơ chế ảnh hưởng của cao chiết Cúc chi thiên mền ở cấp độ sinh học phân tử, các nồng độ 50 – 200 µg/mL đã được chọn để khảo sát. Kết quả qRT-PCR cho thấy sự biểu hiện của các gen *IL-6*, *IL-1 β* được tăng lên rõ rệt khi được kích thích với LPS nhưng giảm đáng kể khi có sự hiện diện của cao chiết (Hình 2C, D). Đáng chú ý, *IL-1 β*

là một trong những biểu hiện gen quan trọng được tìm thấy ở các hội chứng ung thư (Baker et al., 2019). Như vậy, kết quả trên đã bước đầu đánh giá tổng quan khả năng kháng viêm của Cúc chi thiên mền thông qua sự ức chế trực tiếp đến các cytokine và sản phẩm sinh ra trong quá trình viêm.



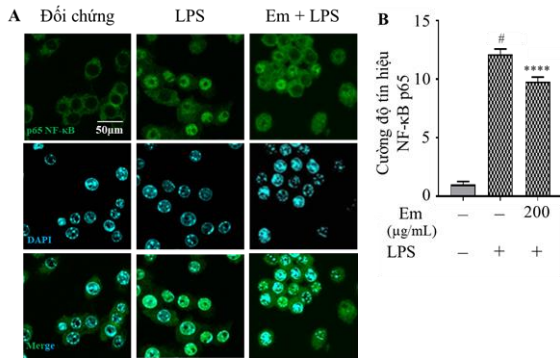
Hình 2. Khả năng ức chế của cao chiết Cúc chi thiên mền đến NO và cytokine tiền viêm

(A) Hàm lượng NO sinh ra trong môi trường nuôi cấy. (B) Hàm lượng TNF- α (ELISA). (C) Tỷ lệ *IL-6* mRNA (qRT-PCR). (D) Tỷ lệ *IL-1 β* mRNA (qRT-PCR).

Ghi chú: # $p < 0,05$ (so với tế bào được nuôi trong điều kiện bình thường); **** $p < 0,0001$ (so với tế bào được kích thích với LPS); n. s.: không khác biệt.

3.3. Khả năng ức chế của cao chiết Cúc chi thiên mền đến con đường tín hiệu NF- κ B

NF- κ B là một trong những con đường tín hiệu quan trọng trong phản ứng viêm được kích hoạt bởi các tác nhân kích thích. Ở trạng thái bình thường, NF- κ B tồn tại ngoài tế bào chất ở dạng phức hợp dị thể (heterodimer) liên kết của hai tiểu đơn vị p65, p50 và được điều chỉnh bởi sự suy giảm của yếu tố hạt nhân tăng cường gen polypeptide trong ức chế tế bào B (I κ B α) (Liu et al., 2017). Khi đại thực bào được kích thích bởi LPS, I κ B α bị phosphoryl hóa, phổ biến hóa và thoái hóa protein. Tiểu đơn vị p65 sau đó trải qua quá trình phosphoryl hóa và di chuyển vào nhân, nơi nó liên kết với trình tự DNA cụ thể và kích hoạt quá trình phiên mã của các gen. Như mong đợi, sự dịch chuyển vào nhân của p65 ghi nhận qua kết quả nhuộm miễn dịch đối với mẫu được kích thích bởi LPS và bị ngăn chặn khi điều trị với cao chiết (Hình 3A, B). Như vậy, cao chiết Cúc chi thiên mền thể hiện khả năng kháng viêm thông qua ức chế sự kích hoạt con đường tín hiệu NF- κ B bởi tác nhân kích thích LPS.



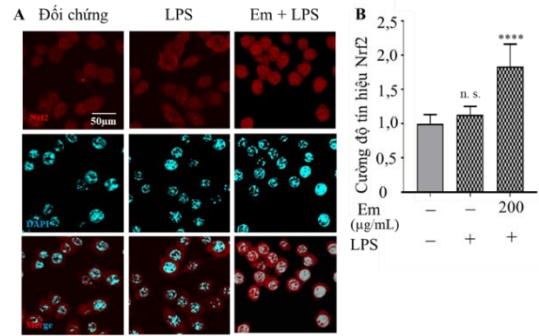
Hình 3. Ảnh hưởng của cao chiết Cúc chỉ thiên mềm đến sự dịch chuyển vào nhân của NF-κB p65

(A) Tín hiệu nhuộm hóa mô miễn dịch NF-κB p65 ghi nhận trong nhân (Em – 200 μg/mL; Alexa488). (B) Cường độ tín hiệu protein NF-κB p65 được ghi nhận sau khi nhuộm. (n = 36)

Ghi chú: # $p < 0,05$ (so với tế bào được nuôi trong điều kiện bình thường); **** $p < 0,0001$ (so với tế bào được kích thích với LPS).

3.4. Ảnh hưởng của Cúc chỉ thiên mềm đến con đường tín hiệu Nrf2/HO-1

Kích thích LPS gây ra căng thẳng oxy hóa (stress oxy hóa) nội bào cũng dẫn đến sự biểu hiện quá mức của các phản ứng viêm (Zuo et al., 2019). Do đó, sự ảnh hưởng của cao chiết đối với con đường tín hiệu có liên quan đến khả năng chống oxy hóa (Nrf2/HO-1) được tiến hành khảo sát. Như đã được đề cập trong các nghiên cứu trước, Nrf2/HO-1 đóng vai trò thiết yếu trong hệ thống chống oxy hóa nội bào (Loboda et al., 2016). Ở điều kiện bình thường, Nrf2 tồn tại ở dạng bất hoạt trong tế bào chất thông qua tương tác với Kelch-like encoded in human (ECH)-associated protein (Keap1), một cảm biến của quá trình oxy hóa. Để chống lại stress oxy hóa nội bào, Nrf2 phân tách khỏi Keap1 và di chuyển vào nhân, đồng thời kích hoạt enzym chống oxy hóa như HO-1 (Yao et al., 2019). Như dự đoán, sự dịch chuyển vào nhân của Nrf2 được chứng minh qua kết quả nhuộm miễn dịch (Hình 4A, B). Kết quả nghiên cứu tương đồng với báo cáo của Chim-Kei Chan cùng các cộng sự đã cho thấy hoạt động chống viêm thần kinh từ cao chiết ethyl acetate của lá Cúc chỉ thiên (*E. scaber*) sử dụng mô hình tế bào miễn dịch BV-2 thông qua sự ức chế p38 thuộc MAPK và làm giảm đáng kể các gốc tự do gây stress oxy hóa liên quan đến phản ứng viêm khi kích hoạt Nrf2/HO-1 (Chan et al., 2017). Vì vậy, kết quả này góp phần đánh giá khả năng kháng viêm của cao chiết Cúc chỉ thiên mềm thông qua hoạt động chống oxy hóa liên quan đến con đường tín hiệu Nrf2/HO-1.



Hình 4. Ảnh hưởng của cao chiết Cúc chỉ thiên mềm đến sự dịch chuyển vào nhân của Nrf2

(A) Tín hiệu nhuộm hóa mô miễn dịch Nrf2 ghi nhận trong nhân (Em – 200 μg/mL; Alexa594). (B) Cường độ tín hiệu protein Nrf2 được ghi nhận sau khi nhuộm miễn dịch. (n = 36)

Ghi chú: # $p < 0,05$ (so với tế bào được nuôi trong điều kiện bình thường); **** $p < 0,0001$ (so với tế bào được kích thích với LPS).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chứng minh khả năng kháng viêm của cao chiết Cúc chỉ thiên mềm thông qua mô hình đại thực bào RAW264.7 được kích thích bởi LPS. Kết quả này đã làm rõ sự ảnh hưởng của cao chiết đến cơ chế kích hoạt đáp ứng viêm qua con đường tín hiệu NF-κB thông qua sự chuyển vị hạt nhân p65. Hơn thế nữa, hiệu quả chống stress oxy hóa liên quan đến quá trình viêm cũng được ghi nhận qua con đường tín hiệu Nrf2/HO-1. Mặt khác, các nghiên cứu gần đây thuộc nhóm nghiên cứu Đặng Thị Phương Thảo cùng các cộng sự đã phân lập các dược chất từ cao chiết ethyl acetate Cúc chỉ thiên mềm và đánh giá cơ chế chống lại ung thư dạ dày, ung thư phổi rất tiềm năng để phát triển một loại thuốc mới (Tam et al., 2021). Vì vậy, thành phần hợp chất chính như polyphenol hay flavonoid đề xuất khả năng chống oxy hóa và tác động chính đến các quá trình đáp ứng hệ miễn của cơ thể cần được tiếp tục nghiên cứu sâu rộng ở nhiều hướng nghiên cứu, cấp độ khác nhau.

Kết quả nghiên cứu cơ chế kháng viêm của cao chiết ethanol Cúc chỉ thiên mềm ở cấp độ sinh học phân tử góp phần đánh giá hiệu quả dược lý của Cúc chỉ thiên mềm đến các bệnh liên quan đến quá trình viêm. Tóm lại, kết quả này làm cơ sở giải thích ở góc độ khoa học cho việc sử dụng Cúc chỉ thiên mềm như một loại thảo dược dân gian trong việc hỗ trợ điều trị các loại bệnh khác nhau liên quan đến viêm. Hơn thế nữa, nghiên cứu cũng một phần cho thấy tiềm năng các hoạt chất chính có thể sử dụng

đề phát triển một loại thuốc điều trị ung thư và các sản phẩm hỗ trợ tăng cường hệ miễn dịch mới an toàn, hiệu quả mà không gây ra tác dụng phụ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baker, K. J., Houston, A., & Brint, E. (2019). IL-1 family members in cancer; two sides to every story. *Front. Immunol.*, 10, 1197. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01197>
- Chan, C. K., Tan, L. T. H., Andy, S. N., Kamarudin, M.N.A., Goh, B.H., & Kadir, H.A., (2017). Anti-neuroinflammatory activity of *Elephantopus scaber* L. via activation of Nrf2/HO-1 signaling and inhibition of p38 MAPK pathway in LPS-induced microglia BV-2 cells. *Front. Pharmacol.* 8, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00397>
- Dai, B., Wei, D., Zheng, N. N., Chi, Z. H., Xin, N., Ma, T. X., Zheng, L. Y., Sumi, R., & Sun, L. (2019). *Coccomyxa gloeobotrydiformis* polysaccharide inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophages. *Cell. Physiol. Biochem.* 51, 2523–2535. <https://doi.org/10.1159/000495922>
- Kany, S., Vollrath, J. T., & Relja, B. (2019). Cytokines in inflammatory disease. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1–31. <https://doi.org/10.3390/ijms20236008>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2, 17023 <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Loboda, A., Damulewicz, M., Pyza, E., Jozkowicz, A., & Dulak, J. (2016). Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism. *Cell. Mol. Life Sci.* 73, 3221–3247. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2223-0>
- Mesa, S. R., & Efendi, M. R., (2021). Pharmacological activity of *Elephantopus mollis* Kunth: A review. *Journal of Basic and Applied Pharmacology*, 1(1), 72-87.
- Ruhee, R. T., Ma, S., & Suzuki, K., (2019). Sulforaphane protects cells against lipopolysaccharide-stimulated inflammation in murine macrophages. *Antioxidants*, 8, 1–14. <https://doi.org/10.3390/antiox8120577>
- Scrive, R., Vasile, M., Bartosiewicz, I., & Valesini, G., (2011). Inflammation as “common soil” of the multifactorial diseases. *Autoimmun. Rev.* 10, 369–374. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2010.12.006>
- Sharma, J.N., Al-Omran, A., & Parvathy, S. S., (2007). Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*, 15, 252–259. <https://doi.org/10.1007/s10787-007-0013-x>
- Tam, T. D. T., Ngoc, T. T. B., Nga, N. T. H., Trinh, N. T. M., Thuoc, T. L., & Thao, D. T. P. (2021). Ethyl acetate extract of *Elephantopus mollis* Kunth induces apoptosis in human gastric cancer cells. *BMC Complement. Med. Ther.* 21, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03444-6>
- Yao, Y. Da, Shen, X. Y., Machado, J., Luo, J. F., Dai, Y., Lio, C. K., Yu, Y., Xie, Y., Luo, P., Liu, J.X., Yao, X. S., Liu, Z. Q., & Zhou, H. (2019). Nardochinoid B inhibited the activation of RAW264.7 macrophages stimulated by lipopolysaccharide through activating the Nrf2/HO-1 pathway. *Molecules*, 24(13), 2482. <https://doi.org/10.3390/molecules24132482>
- Zuo, L., Prather, E. R., Stetskiv, M., Garrison, D. E., Meade, J. R., Peace, T. I., & Zhou, T. (2019). Inflammaging and oxidative stress in human diseases: From molecular mechanisms to novel treatments. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(18), 4472. <https://doi.org/10.3390/ijms20184472>

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu nhận được sự hỗ trợ bởi GS. Kaeko Kamei, Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản.