

PHÂN LẬP MỘT SỐ FLAVONOID TỪ LOÀI VẪY ỐC (*Ficus pumila* L.) Ở VIỆT NAM, BẢO CHẾ VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM, CHỐNG OXY HOÁ *IN VITRO* CỦA VIÊN HOÀN MỀM TỪ DƯỢC LIỆU VẪY ỐC, THỔ PHỤC LINH, THẠCH THIỀM THỦ

Nguyễn Thị Thanh Mai^{1,*}, Lê Thế Hoài¹, Nguyễn Thị Hồng Hạnh²

¹Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

² Khoa Tài nguyên và Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: thanhmaint@hau.edu.vn

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, 3 hợp chất flavonoid 3',4',5,7-tetrahydroxyflavone, 3,4',5,7-tetrahydroxyflavone; 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone được tìm thấy trong dịch trích ly của loài Vẩy ốc (*Ficus pumila* L.). Đây là những hợp chất có khả năng chống ung thư, chống oxy hóa, chống viêm và kháng vi rút. Trên cơ sở đó, viên hoàn mềm thảo dược được bào chế từ dịch trích ly ethanol - nước của loài Vẩy ốc kết hợp với Thổ phục linh (*Smilax glabra* Roxb) và Thạch thiềm thủ (*Stephania dielsiana* Y. C. Wu) nhằm tăng cường hỗ trợ điều trị bệnh đau nhức xương khớp. Viên hoàn mềm có hoạt tính ức chế sinh NO trên tế bào RAW 264.7 với giá trị $IC_{50} = 31,18 \pm 2,86$ $\mu\text{g/mL}$ và khả năng ức chế gốc tự do DPPH với nồng độ $IC_{50} = 168,016$ $\mu\text{g/mL}$.

Từ khoá: Viên hoàn mềm, tế bào RAW 264.7, Vẩy ốc, Thổ phục linh, Thạch thiềm thủ.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh viêm khớp đang có xu hướng ngày càng gia tăng và bị trẻ hóa ở Việt Nam, khi tình trạng viêm không được điều trị có thể sẽ là nguyên nhân gây tàn phế suốt đời hoặc khởi phát nhiều bệnh ảnh hưởng đến các mô và cơ quan liên kết khác như da, mắt, tim, phổi... [1]

Việt Nam là một quốc gia giàu có về tài nguyên dược liệu, với hệ thực vật phong phú, đa dạng. Loài Vẩy ốc (hay còn gọi là Cây sộp, Trầu cổ...) có tên khoa học là *Ficus pumila* L., thuộc họ Dâu tằm (Moraceae). Cây và lá có vị chua, tính bình, không có độc; quả có vị ngọt, tính mát; rễ hơi đắng, tính bình [2]. Nhiều công trình nghiên cứu đã chỉ ra trong các bộ phận loài này từ thân, lá, cành, rễ, quả đều chứa nhiều hợp chất có tác dụng sinh học như: Phenolic axit, chlorogenic axit, caffeic axit, terpenoid và đặc biệt là sự có mặt của khoảng 40 flavonoid có nhiều hoạt tính sinh học quý, có tác dụng trong trị liệu như: Chống oxy hóa, chống

viêm, kháng khuẩn, chống khối u, hạ đường huyết và bảo vệ tim mạch..., đem lại nhiều lợi ích cho sức khỏe con người [3 - 6].

Loài Vẩy ốc cũng đã được áp dụng trong nhiều bài thuốc của Trung Quốc được lưu truyền: Tiêu viêm, trị tràng trĩ, mụn nhọt, các loại ghẻ ngứa, thanh nhiệt giải độc, phong thấp [5 - 7]. Tuy nhiên, việc áp dụng các phương pháp nghiên cứu khoa học trong y học cổ truyền và nghiên cứu phát triển chế phẩm thuốc cổ truyền từ loài Vẩy ốc vẫn chưa được quan tâm. Vì vậy, nghiên cứu này trình bày kết quả phân lập 3 hợp chất flavonoid có khả năng kháng viêm từ dịch chiết ethanol - nước của loài Vẩy ốc. Đồng thời, từ dịch chiết ethanol - nước loài Vẩy ốc, Thổ phục linh kết hợp cùng bột Thạch thiềm thủ tạo chế phẩm viên hoàn mềm với hy vọng góp phần hỗ trợ làm giảm sự gia tăng các cytokine gây viêm và các gốc oxy hoá tự do, những tác động góp phần vào thay đổi cân bằng nội môi trong các mô khác nhau của hệ thống cơ xương khớp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Thân, lá, rễ, loài Vẩy ốc; rễ loài Thổ phục linh; rễ loài Thạch thiềm thử được thu hái vào tháng 01/2024 tại huyện Trùng Khánh, tỉnh Cao Bằng. Các nguyên liệu được làm sạch, sấy khô, băm nhỏ, sấy chân không ở nhiệt độ 45°C đến khi hàm ẩm còn khoảng 10%. Mẫu được đưa qua máy nghiền búa có sàng 60 Mesh. Bảo quản trong túi kín.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Hóa chất, thiết bị

n-hexane (Trung Quốc, 99%), dichloromethane (Trung Quốc, 99%), ethyl acetate (Trung Quốc, 99%), H₂SO₄ (Trung Quốc, 98%), ethanol (Trung Quốc, 99%), môi trường nuôi cấy tế bào: DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) hoặc MEME (Minimum Essential Medium with Eagle salt), có bổ sung thêm L-glutamine, sodium pyruvate, NaHCO₃, penicillin/streptomycin, 10% FBS (Fetal Bovine Serum), trypsin - EDTA (0,05%). Silicagel 60: 0,04 - 0,06 mm (Merck), sắc ký bản mỏng silicagel 60 F254 (Merck), cột sắc ký. DMSO-d₆, NMR (600 MHz) Bruker Avance machine, kính hiển vi ngược (Axiovert 40 CFL); buồng đếm tế bào (Fisher, Hoa Kỳ); máy quang phổ (BioTek); tủ ấm CO₂, tủ lạnh sâu -80°C, bình nitơ lỏng, cân phân tích, máy đo pH và các dụng cụ thí nghiệm thông thường.

2.2.2. Phân lập và xác định cấu trúc 3 hợp chất flavonoid trong dịch chiết ethanol của Vẩy ốc

Lấy 5 kg mẫu bột Vẩy ốc, ngâm 3 lần bằng EtOH 70° ở nhiệt độ phòng, mỗi lần sử dụng 12 L EtOH và ngâm trong 24 giờ. Gộp các dịch chiết EtOH và cất loại dung môi đến khi còn 500 mL. Hòa dịch chiết cô đặc với nước cất theo tỷ lệ 1: 1, sau đó chiết lần lượt với *n*-hexane và EtOAc, mỗi dung môi chiết làm 3 lần, mỗi lần dùng 500 mL. Các dịch chiết của từng dung môi được gom chung và cất loại hoàn toàn dung môi thu được các cao chiết tương ứng là *n*-hexane và EtOAc (21,5 g) cùng lớp nước.

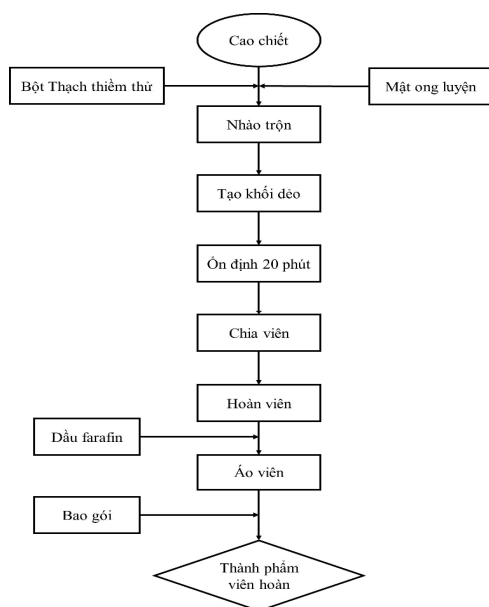
Cao chiết EtOAc (21,5 g) được phân tách trên cột Sephadex LH-20, rửa giải bằng MeOH thu được 3 phân đoạn H1 - H3. Lấy phân đoạn H2 (15,2

g) phân tách trên cột sắc ký silica gel dùng gradient dung môi *n*-hexane: EtOAc (98:2 - 0:100) để rửa giải thu được 8 phân đoạn từ H2.1-H2.8. Phân đoạn H2.4 (0,5 g) phân tách bằng cột silica gel, rửa giải gradient dung môi *n*-hexane: CH₂Cl₂ (1: 0 > 0: 1), thu 5 phân đoạn từ H2.4.1 - H2.4.5.

Rửa phân đoạn H2.4.2 (38 mg) bằng MeOH thu được hợp chất ME1 (6 mg). Phân đoạn H2.4.3 (175 mg) đem tinh chế với hệ dung môi *n*-hexane: EtOAc (9:1) trên cột silica gel để được 4 phân đoạn H2.4.3.1 - H2.4.3.4. Phân đoạn H2.4.3.2 (29 mg) tinh chế trên cột Sephadex LH-20 trong hệ dung môi MeOH:CH₂Cl₂ (9:1) thu được hợp chất ME2 (4 mg). Phân đoạn H2.4.3.3 (50 mg) được tinh chế với hệ dung môi *n*-hexane: EtOAc (9:1) trên cột sắc ký silica gel rồi thu được hợp chất ME3 (4,5 mg). Cấu trúc của các hợp chất ME1, ME2, ME3 được xác định bằng phương pháp phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR.

2.2.3. Bào chế viên hoàn mềm [8 - 10]

Viên hoàn được bào chế theo phương pháp chia viên. Nguyên tắc của phương pháp này là tạo khối dẻo từ dược chất và tá dược rồi chia tiếp thành viên có khối lượng quy định. Quy trình bào chế theo sơ đồ hình 1: 5.000 g bột Vẩy ốc được kết hợp với 1.000 g bột Thổ phục linh, trích ly bằng hệ dung môi ethanol - nước (3 giờ/1 lần ở 60°C, tỷ lệ 100/350 g dược liệu/mL dung môi chiết, quá trình chiết lặp lại 3 lần. Lọc bã, gộp chung dịch các lần chiết, cất loại bỏ dung môi bằng máy cô quay chân không, thu được cao chiết thành phẩm 1.203,6 g, hiệu suất chiết đạt khoảng 20% (tính trên khối lượng hỗn hợp nguyên liệu khô). Đông khô cao chiết bằng thiết bị Lyovapor L300 đến hàm ẩm khoảng 5%. Cân 100 g cao chiết đông khô, cho vào cối sứ trộn bột kép với bột Thạch thiềm thử đã tiệt khuẩn bằng phương pháp bức xạ ion hoá, tạo hỗn hợp đồng nhất, thêm 30 g mật ong luyện, trộn kỹ thành khối dẻo, sờ không dính tay, có độ ẩm thích hợp, để khối dẻo ổn định 20 phút, tiến hành dùng thanh lăn tạo đĩa viên, chia mỗi viên 6 g, lăn hoàn thiện viên thành hình cầu bằng bàn xoa, áo bằng dầu parafin, đóng gói đúng quy chế.



Hình 1. Quy trình bào chế viên hoàn

2.2.4. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu lý hóa, vi sinh của chế phẩm viên hoàn

- Xác định độ ẩm, độ đồng đều khối lượng theo Dược điển Việt Nam V [10].

- Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí theo TCVN 4884-1:2015 [11]; *E. coli* theo TCVN 7924-3:2017 [12]; *Salmonella* theo TCVN 10780-1:2017 [13].

- Xác định kim loại nặng (As, Pb, Hg, Cd) theo phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử.

- Xác định hàm lượng aflatoxin B1 và aflatoxin tổng theo TCVN 7596:2007 [14].

2.2.5. Phương pháp khảo sát hoạt tính kháng viem của chế phẩm [15 - 17]

Nuôi cấy tế bào *in vitro*: Dòng tế bào RAW264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần gồm: 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum - FBS (GIBCO). Tế bào được cấy chuyển sau 3 - 5 ngày với tỉ lệ 1: 3 và nuôi trong tủ ấm CO₂ ở điều kiện 37°C, 5% CO₂. Tế bào RAW264.7 được đưa vào đĩa 96 giếng ở nồng độ 2.10⁵ tb/giếng và nuôi trong tủ ấm ở 37°C và 5% CO₂ trong 24 giờ. Tiếp theo, môi trường nuôi cấy được loại bỏ, thay bằng môi trường DMEM không có FBS trong 3 giờ. Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2 giờ

trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (10 µg/mL) trong 24 giờ. Mẫu nghiên cứu được chuẩn bị ở dạng stock trong DMSO 100% trong ống Eppendorf với nồng độ gốc là 20 mg/mL. Sau đó, mẫu tiếp tục được pha loãng trong môi trường không có FBS đến các nồng độ 100 - 20 - 4 - 0,8 µg/mL.

Nitrite (NO₂⁻), được xem là chỉ thị cho việc tạo NO, được xác định nhờ bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, Hoa Kỳ). Cụ thể, 100 µL môi trường nuôi tế bào (ủ mẫu) được chuyển sang đĩa 96 mới và được thêm vào 100 µL Griess reagent: 50 µL của 1% (w/v) sulfanilamide trong 5% (v/v) phosphoric axit và 50 µL 0,1% (w/v) N-1-naphthyl ethylene diamine dihydrochloride pha trong nước. Hỗn hợp này được ủ tiếp ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và hàm lượng nitrite sẽ được đo bằng máy microplate reader ở bước sóng 540 nm. Môi trường DMEM không FBS được sử dụng như giếng trắng (blank). Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO₂ và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS). Khả năng ức chế sản sinh NO tương ứng của mẫu được xác định nhờ công thức: % ức chế = 100% - [hàm lượng NO_{Mẫu}/hàm lượng NO_{LPS}]*100.

Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

2.2.6. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa theo khả năng ức chế gốc tự do DPPH của chế phẩm

Hoạt tính chống oxy hóa thông qua xác định khả năng ức chế gốc tự do DPPH của chế phẩm viên hoàn mềm. Chuẩn bị các mẫu chế phẩm với nồng độ 0, 10, 25, 50, 100, 200 µg/mL. Hút vào mỗi ống nghiệm 1 mL dung dịch DPPH 0,1 nM và 0,25 mL mẫu chế phẩm. Lắc đều, đặt các ống nghiệm trong bóng tối, ở nhiệt độ phòng, trong 60 phút. Độ hấp thụ quang được đo ở bước sóng 517 nm bằng máy UV-VIS. Mẫu đối chứng là ascorbic axit. Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức: Phần trăm ức chế DPPH (%) = 100 x (Abs_s - Abs_c)/Abs_s.

Trong đó: Abs_s là độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết; Abs_c là độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa dịch chiết.

Xác định IC_{50} (nồng độ cần thiết để ức chế 50% DPPH) bằng cách lập đồ thị phần trăm ức chế DPPH theo nồng độ cao chiết và nội suy giá trị IC_{50} .

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập các flavonoid từ dịch chiết ethanol của loài Vẩy ốc

Flavonoid là nhóm hợp chất hóa học có trong nhiều loài thực vật bậc cao, được ví như những thợ sửa chữa sinh hóa của thiên nhiên, nhờ vào khả năng sửa chữa các phản ứng cơ thể chống lại các hợp chất khác trong các dị ứng nguyên, vi khuẩn và các chất sinh ung thư. Việc tìm kiếm các flavonoid quý trong loài Vẩy ốc đã góp phần giải mã cho sự hiệu quả trong những bài thuốc y học cổ truyền sử dụng Vẩy ốc trong điều trị các chứng đau nhức cơ thể, đau mỏi xương khớp, đau tay, viêm khớp dạng thấp, mụn nhọt, lở loét... [18]

Tinh thể ME1 thu được có màu vàng nhạt, nhiệt độ nóng chảy 276 - 279°C. Cấu trúc được phân tích bằng phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR, kết hợp với kết quả nghiên cứu của Yahia Z Tabazal và cs (2024) [19] có thể nhận định đó là hợp chất 3',4',5,7-tetrahydroxyflavone (luteolin). Trên phổ 1H -NMR (DMSO- d_6) xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của proton duy nhất của hợp phần dị vòng ở trạng thái singlet với độ chuyển dịch hoá học là 6,67 ppm (1H; s, H-3), các proton thuộc vòng A lần lượt là 6,19 ppm (1H; d; $J = 1,8$ Hz, H-6) và 6,45 ppm (1H; d; $J = 2,4$ Hz, H-8). Vòng B xuất hiện 3 tín hiệu cộng hưởng, trong đó độ chuyển dịch hoá học 6,9 ppm (1H, d, $J = 8,4$ Hz) thuộc về H-5' nằm ở vùng trường cao hơn đôi chút so với 2 proton H-2' (7,43, 1H, d, $J = 1,8$ Hz) và H-6' (7,43, 1H, d, $J = 2,4$ Hz). Hai proton phenolic trên vòng B gần với C-3' và C-4' xuất hiện ở dạng singlet có độ chuyển dịch hoá học lần lượt là 9,43 và 9,94 ppm. Trong khi proton gần với C-5 và C-7 của vòng A do ảnh hưởng bởi hiệu ứng Anisotropy nằm về vùng trường thấp hơn hẳn (12,98, s và 10,83 ppm, s). Đặc biệt, proton gần với C-5 bị ảnh hưởng đáng kể. Trên phổ ^{13}C -NMR, các tín hiệu cộng hưởng xuất hiện phù hợp với công thức dự đoán: δC :163,9 (C-

2); 103,7 (C-3); 181,7 (C-4); 157,3 (C-5); 98,9 (C-6); 164,2 (C-7); 93,9 (C-8); 161,5 (C-9); 102,9 (C-10); 119,0 (C-1'); 113,1 (C-2'); 149,7 (C-3'); 145,8 (C-4'); 116,1 (C-5'); 121,6 (C-6'). Luteolin là một flavonoid có tác dụng làm giảm hoạt động của các chất điều hòa sao chép các yếu tố gây viêm, giảm sản xuất các cytokine tiền viêm và các chất trung gian gây viêm, hạ uric máu. Bằng khả năng tương tác với nhiều vị trí phân tử mục tiêu ức chế hoạt động của một số enzyme kinase trong tế bào và ngăn chặn chu kỳ tế bào đem lại tác dụng chống ung thư của hợp chất này. Ngoài ra, nó có thể ức chế nhiều loại vi khuẩn và vi rút như: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, vi rút herpes simplex, vi rút bại liệt, vi rút Coxsackie B3... Luteolin cũng có tác dụng chống rối loạn chức năng ty thể của tế bào nội mô và chống oxy hoá như một chất khử [19].

Hợp chất ME2 (4 mg) thu được là tinh thể màu vàng nhạt, nhiệt độ nóng chảy 312 - 317°C. Phân tích dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR kết hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyen Cong Thuy Tram và cs (2016) [20] có thể khẳng định là 3,4',5,7-tetrahydroxyflavone (kaempferol). Trên phổ 1H -NMR xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng đặc trưng của flavonol: Hai tín hiệu H-6 và H-8 của vòng phenyl A chiếm giữ ở độ chuyển dịch hoá học 6,19 (1H, d, $J = 1,8$ Hz) và 6,43 (1H, d, $J = 2,4$ Hz). Hai proton phenolic định cư trên C-5 và C-7 có độ chuyển dịch nằm ở vùng trường thấp hơn cả là 12,47 ppm và 10,07 ppm ở dạng singlet. Hợp phần dị vòng lúc này chỉ xuất hiện duy nhất một tín hiệu của 1 proton thuộc nhóm OH có giá trị 10,75 ppm (1H, s). Vòng B các tín hiệu cộng hưởng của các proton trong vòng phenyl xuất hiện ở độ chuyển dịch hoá học: 8,04 ppm (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2', H-6'), 6,94 ppm (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3', H-5') cùng tín hiệu của proton phenolic ở 9,35 ppm đơn độc. Trên phổ ^{13}C -NMR cũng xuất hiện các tín hiệu cộng hưởng đặc thù, điển hình C-6 và C-8 luôn nằm ở trường cao hơn cả so với các nguyên tử carbon khác thuộc hệ vòng flavonoid 93,46 (d, C-8) và 98,19 (d, C-6). Các tín hiệu các - bon khác được biểu hiện: 146,8 (C-2); 135,6 (C-3); 175,9 (C-4); 160,7 (C-5); 163,9 (C-7); 156,2 (C-9); 103,0 (C-10); 121,6 (C-1'); 129,5 (C-2' và C-6'); 115,4 (C-3' và C-5'); 159,2 (C-4'). Kaempferol là hợp chất có tác dụng tăng tuần hoàn máu trong động mạch, tinh

mạch và mao mạch, dùng cho những người có biểu hiện lão suy, rối loạn trí nhớ, khả năng làm việc đầu óc sút kém, mất tập trung, hay cáu gắt, được chất còn có khả năng thu dọn gốc tự do và kích hoạt sự tăng sinh tế bào T và điều chỉnh việc sản xuất oxit nitric hoặc các loại oxy trong các tế bào đại thực bào do lipopolysaccharide gây ra [21].

Hợp chất ME3 (4,5 mg) thu được là tinh thể màu vàng nhạt, nhiệt độ nóng chảy ở 330 - 332°C. Dữ liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy: 6,22 (d, $J = 2,4\text{Hz}$, H-6), 6,44 (d, $J = 2,4$, H-8), 7,71 (d, $J = 2,4$, H-2'), 6,93 (d, $J = 8,4$, H-5'), 7,57 (dd, 8,7, $J = 2,1\text{Hz}$, H-6'). Các proton phenolic lần lượt xuất hiện ở những vùng trường thấp trong trạng thái siglet. Trong đó, proton gắn với C-5 là đặc biệt thấp hơn cả với độ chuyển dịch hoá học 12,53 ppm. Các proton còn lại: 10,86 (1H, s, H của nhóm OH gắn với C-7), 9,37 (1H, s, H của nhóm OH gắn với C-3'), 9,66 (1H, s, H của nhóm OH gắn với C-4'). Proton còn lại có độ chuyển dịch hoá học nằm ở 9,44 (s) thuộc về nhóm OH duy nhất của dị vòng. Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$, nhận thấy các tín hiệu như sau: $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz) δC : 147,8 (C-2); 136,7 (C-3); 176,8 (C-4); 150,3 (C-5); 98,8 (C-6); 161,9 (C-7); 94,0 (C-8); 157,4 (C-9); 103,9 (C-10); 123,2 (C-1'); 115,7 (C-2'); 146,2 (C-3'); 148,6 (C-4'); 116,2 (C-5'); 120,9 (C-6'). Như vậy, thông qua các dữ liệu phổ cùng so sánh với kết quả nghiên cứu của Mehari Endale và cs (2013) [22] có thể khẳng định hợp chất này là 3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone (quercetin), là một flavonoid xương sống của nhiều loại flavonoid khác. Hợp chất này có khả năng chống oxy hóa, giúp tích lũy vitamin C trong các tổ chức mô, chống viêm, ức chế sản xuất và phóng thích histamin cùng các chất trung gian khác, ức chế mạnh men aldose reductase ngăn cản tiến triển các biến chứng của đái tháo đường như: Đục thủy tinh thể, thương tổn thần kinh, ngăn chặn các triệu chứng lâm sàng của viêm khớp bằng cách ức chế giải phóng các cytokine gây viêm, giảm nồng độ cyclooxygenase và ngăn chặn sản sinh các đại thực bào và bạch cầu trung tính, cũng như sự tăng sinh tế bào hoạt dịch. Ngoài ra, chúng còn phá hủy thành tế bào của vi khuẩn và thay đổi tính thấm của tế bào, ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp

protein, giảm hoạt động của enzyme và ức chế tổng hợp axit nucleic [23, 24].

Từ việc sử dụng dịch chiết ethanol - nước của loài Vảy ốc, thông qua phương pháp sắc ký cột đã phân lập và xác định được sự có mặt của 3 dược chất quý có khả năng kháng viêm, điều này sẽ đem lại hiệu quả cho việc sử dụng các chế phẩm trong phòng và hỗ trợ điều trị bệnh.

3.2. Bào chế viên hoàn mềm

Bằng các phương pháp phân tích hiện đại, đã xác định sự có mặt của 3 dược chất là luteolin, kaempferol, quercetin trong mẫu Vảy ốc. Những dược chất này được minh chứng có khả năng kháng viêm, chống oxy hoá và nhiều tính năng khác. Chế phẩm viên hoàn mềm được bào chế trên cơ sở nguyên liệu Vảy ốc, kết hợp với Thổ phục linh và Thạch thiềm thử nhằm hỗ trợ điều trị bệnh viêm xương khớp. Sản phẩm thu được có màu nâu sáng, mùi thơm dược liệu, vị ngọt, đắng, dẻo, bóng.

Việc lựa chọn các vị thuốc kết hợp với nhau cần được nghiên cứu kỹ lưỡng, dựa trên thành phần và tương tác thuốc. Thuốc cổ truyền và thụ thể có lực liên kết tương đối lớn, sự tồn tại của lực liên kết này là cơ sở của quy kinh. Đau nhức xương khớp có nguyên nhân cốt lõi nằm ở tạng thận, can, tỳ và ba đường kinh là túc thái âm tỳ, túc quyết âm can, túc thiếu âm thận. Ba vị thuốc: Vảy ốc, Thổ phục linh, Thạch thiềm thử quy vào kinh tỳ, thận, can là phù hợp với quy tắc tương sinh mà không tương khắc, nhằm mục đích khác phục, hỗ trợ bệnh lý cơ xương khớp, giúp chỉ thống, thông kinh hoạt lạc, thanh hỏa bổ tinh tủy.

Mật ong luyện được sử dụng làm chất kết dính, điều vị, tạo viên dẻo. Trong quá trình sấy sẽ xuất hiện gradient nhiệt trong nguyên liệu. Nhiệt độ tăng cao tại vùng bề mặt nguyên liệu và giảm dần tại vùng tâm. Do vậy, cần điều chỉnh tăng giảm nhiệt độ hợp lý để tránh nứt vỡ viên hoặc viên hoàn mất nước nhiều trở nên khô cứng. Các chỉ tiêu hoá lý của chế phẩm đều đạt theo quy định của Dược điển Việt Nam V đối với viên hoàn mềm [10]. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân tích các chỉ tiêu hoá lý, vi sinh vật, kim loại nặng của viên hoàn mềm

Tên chỉ tiêu	ĐVT	Phương pháp	Kết quả	Giới hạn cho phép
Độ ẩm	%	Dược điển Việt Nam V [10]	15	$\leq 15\%$ ⁽¹⁾
Độ đồng đều khối lượng	g	Dược điển Việt Nam V [10]	$6 \pm 7\%$	$\pm 7\%$ ⁽¹⁾
Tổng số vi khuẩn hiếu khí	CFU/g	TCVN 4884-1:2015 [11]	$3,0 \times 10^1$	$5,10^4$ ⁽²⁾
<i>Escherichia coli</i>	CFU/g	TCVN 7924-3:2017 [12]	KPH (LOD = 10)	0 ⁽²⁾
<i>Salmonella</i>	CFU/g	TCVN 10780-1:2017 [13]	KPH (LOD = 10)	0 ⁽²⁾
Asen	mg/kg	TCVN 7601:2007 [25]	KPH (LOD = 0,1)	5 ⁽²⁾
Chì	mg/kg	TCVN 8126:2009 [26]	KPH (LOD = 0,1)	10 ⁽²⁾
Thủy ngân	mg/kg	TCVN 7604:2007 [27]	KPH (LOD = 0,01)	0,5 ⁽²⁾
Cadimi	mg/kg	TCVN 8126:2009 [26]	KPH (LOD = 0,01)	1 ⁽²⁾
Aflatoxin B1	$\mu\text{g/Kg}$	TCVN 7596:2007 [14]	1	5 ⁽³⁾
Aflatoxin B1B2G1G2	$\mu\text{g/Kg}$	TCVN 7596:2007 [14]	3	10 ⁽³⁾

Ghi chú: ⁽¹⁾: Giới hạn cho phép theo Dược điển Việt Nam V [10], ⁽²⁾: Giới hạn cho phép theo QCVN 20-1:2024/BYT [28], ⁽³⁾: Giới hạn cho phép theo QCVN 8-1:2011/BYT [29], KPH = Không phát hiện.

Hàm lượng vi sinh vật, kim loại nặng trong mẫu viên hoàn đạt tiêu chuẩn QCVN 20-1:2024/BYT [28]. Hàm lượng aflatoxin B1 và aflatoxin tổng đạt tiêu chuẩn QCVN 8-1:2011/BYT [29].

3.3. Khảo sát khả năng kháng viêm của chế phẩm viên hoàn mềm

Việc khảo sát khả năng kháng viêm của chế phẩm viên hoàn thông qua khảo sát ức chế hoạt tính kháng viêm trong tế bào macrohage Raw 264.7. Đây là một loại tế bào bạch cầu của hệ thống miễn dịch bẩm sinh. Chúng thực bào và tiêu hóa mầm bệnh giúp bảo vệ cơ thể khỏi bị nhiễm trùng và bị thương. Macrophage tham gia vào quá

trình viêm mãn tính bằng cách sản xuất ra nhiều chất trung gian gây viêm khác nhau như: Cytokine, chemokine, interferon, lysozyme, protease, yếu tố tăng trưởng, eicosanoids và nitric oxide. Trong số đó, NO được tạo ra quá mức bởi một trong những enzym gây viêm, iNOS, do đó dẫn đến nhiều bệnh khác nhau, bao gồm: Viêm khớp, bệnh đa xơ cứng, viêm đại tràng, bệnh vẩy nến, rối loạn thoái hoá thần kinh, phát triển khối u [15, 16]. Vì vậy, việc tìm ra các chất ức chế tăng sản sinh NO trên mô hình Macrophage là bước đầu của việc sàng lọc và đánh giá khoa học tiềm năng kháng viêm của mẫu nghiên cứu.

Bảng 2. Khả năng ức chế sản sinh NO của các mẫu nghiên cứu

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Mẫu viên hoàn				Dexamethasone			
	% ức chế NO		% tế bào sống		% ức chế NO		% tế bào sống	
	TB	SD	TB	SD	TB	SD	TB	SD
100	81,02	3,10	80,07	2,29	86,44	1,62	91,77	1,41
20	41,85	2,06	90,92	1,84	53,56	1,26	96,50	1,36
4	14,36	1,34			42,48	1,05		
0,8	1,49	0,15			32,77	0,84		
IC ₅₀	$31,18 \pm 2,86$		-		$13,29 \pm 1,37$		-	

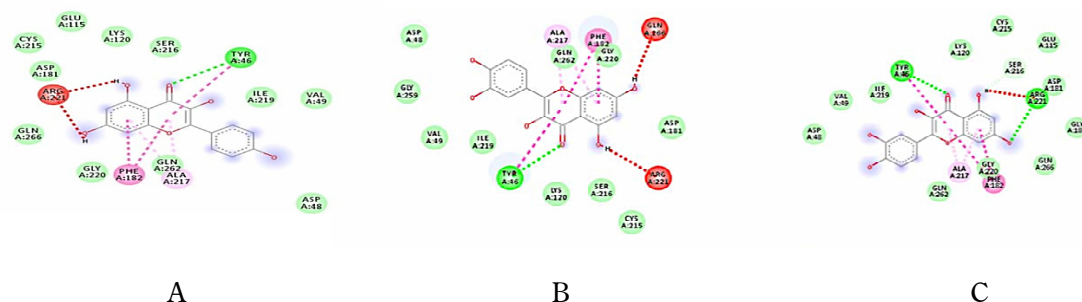
Ghi chú: TB: Giá trị trung bình, SD: Độ lệch chuẩn.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, mẫu viên hoàn đã thể hiện hoạt tính ức chế sinh NO với giá trị IC₅₀ = $31,18 \pm 2,86 \mu\text{g/mL}$ không yếu hơn nhiều so với

đối chứng dương là dexamethasone thử nghiệm ở dải nồng độ 100 - 20 - 4 - 0,8 $\mu\text{g/mL}$ và hoạt động ổn định trong thí nghiệm. Dexamethasone thuộc

nhóm corticosteroid, được dùng để điều trị nhiều chứng bệnh, trong đó có thấp khớp. Cơ chế chống viêm của dexamethasone có thể liên quan đến việc làm giảm giãn mạch và tính thấm của mao mạch, cũng như làm giảm sự di chuyển của bạch cầu đến các vị trí viêm. Hoạt chất liên kết với thụ thể glucocorticoid ức chế neutrophil apoptosis và demargination, ức chế phospholipase A2, làm giảm sự hình thành các dẫn xuất của arachidonic axit; ức chế Nuclear Factor-kappa B và các yếu tố phiên mã gây viêm khác và thúc đẩy các gen chống viêm như interleukin 10, yếu tố ức chế tổng hợp cytokine [30]. Với 3 flavonol, đã minh chứng được rằng, phân tử của chúng có khả năng liên kết với đích enzyme PTP1B và các phân tử đều có sự tương đồng với phối tử đồng tinh thể. Điều đó được thể hiện qua khả năng liên kết hydro với các axit amin TYR46, ARG221 hay liên kết π -alkyl với ALA217. Ngoài ra, cả 3 phân tử đều có tương tác π -

alkyl hay π - π với PHE182, đây có thể là lý do mức năng lượng của cả 3 chất đều thấp hơn so với phối tử đồng tinh thể. Khi được đánh giá tính giống thuốc thông qua quy tắc Lipinski thì cả 3 hợp chất đều thỏa mãn cả 5 tiêu chí về khối lượng phân tử, số nhóm cho liên kết hydro, số nhóm nhận liên kết hydro, hệ số phân bố octanol/nước và độ khúc xạ. Do vậy, luteolin, kaempferol, quercetin có tính giống thuốc rất cao. Khi khảo sát các thông số dược động học, khả năng hấp thu được phân tích dựa trên các thông số về tính thấm qua màng Caco-2 và khả năng hấp thu ở ruột người luteolin 81,13%, kaempferol 74,29%, quercetin 77,207%. Chúng không ức chế enzyme CYP3A4, CYP2D6, do đó khả năng chúng có chuyển hoá ở gan. Thải trừ thuốc qua thận, chúng không gây ra đột biến gen, không gây độc tính trên da và gan khi sử dụng vì khuẩn để kiểm tra sự gây đột biến ADN theo phương pháp AMES (Hình 2) [31, 32].



Hình 2. Sự tương tác của 3 phân tử: Kaempferol, quercetin, luteolin với PTP1B

Hơn nữa, với kaempferol các nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* về khả năng kháng viêm cho rằng, kaempferol ức chế hiệu quả quá trình sản xuất các chất trung gian gây viêm chính, bao gồm các cytokine và enzyme như COX-2 và iNOS, đồng thời nhắm mục tiêu vào các con đường stress oxy hóa như hoạt hóa Nrf2. Do vậy, kaempferol có tác dụng bảo vệ trong nhiều tình trạng viêm khác nhau như: Nhiễm trùng huyết, rối loạn thoái hóa thần kinh, bệnh tim mạch và các tình trạng tự miễn dịch, bằng cách điều chỉnh các con đường như NF- κ B, MAPK và STAT [32]. Tương tự, luteolin hoạt động với cơ chế được lý chính bắt nguồn từ việc điều chỉnh các yếu tố phiên mã như: STAT3, NF- κ B, AP-1. Quercetin cũng ức chế sản xuất các enzyme gây viêm như cyclooxygenase và lipoxygenase, hạn chế tình trạng viêm do lipopolysaccharide gây ra ở đại thực bào, thông

qua ức chế quá trình phosphoryl hóa enzyme phosphatidylinositol-3-Kinase, hạn chế sự kích hoạt các con đường truyền tín hiệu trong tế bào RAW 264.7. Qua đó cho thấy, tính kháng viêm của chế phẩm có liên quan nhiều đến sự có mặt của 3 dược chất luteolin, kaempferol, quercetin. Tuy nhiên, cũng còn có nhiều dược chất khác ẩn chứa trong chế phẩm chưa được kể đến, nhưng sự góp mặt của 3 hợp chất cùng kết quả khảo sát cũng đã góp phần minh chứng cho tác dụng ức chế sự sản sinh NO, một trong những nhân tố gây viêm của chế phẩm hoàn mề.

3.4. Khảo sát khả năng ức chế gốc tự do của chế phẩm viên hoàn mề

Để khảo sát khả năng bắt gốc tự do của chế phẩm viên hoàn, các thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần, chứng dương là ascorbic axit. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Khi tăng nồng độ từ 0 - 200 µg/mL, hoạt tính ức chế gốc tự do của mẫu viên hoàn tăng dần từ 0 - 55,318%. Dựa trên đồ thị mối liên hệ giữa % ức chế DPPH và nồng độ, xác định được giá trị IC_{50} = 168,016 µg/mL. Kết quả cho thấy, mẫu viên hoàn mềm được bào chế từ các dược liệu Vảy ốc, Thổ phục linh, Thạch thiềm thử có chứa các dược chất có hoạt tính sinh học quý, có khả năng bắt gốc tự do, chống oxy hóa, kháng viêm tốt, có tiềm năng sử dụng trong việc phòng và hỗ trợ điều trị bệnh.

Bảng 3. Tỷ lệ % ức chế gốc tự do của chế phẩm viên hoàn

STT	Nồng độ mẫu µg/mL	% ức chế gốc tự do DPPH, %	SD	Ghi chú
1	0	0,000	0,942	
2	10	5,956	1,453	
3	25	14,487	1,132	
4	50	18,489	2,491	
5	100	37,467	2,855	
6	200	55,318	4,119	
	168,016	IC_{50}	Mẫu viên hoàn	
	33,860		Ascorbic axit (đối chứng)	

Ghi chú: SD: Độ lệch chuẩn.

4. KẾT LUẬN

Ba hợp chất luteolin, kaemferol, quercetin tìm thấy trong dịch chiết ethanol - nước của loài Vảy ốc đã được xác định cấu trúc bằng phương pháp 1H -NMR và ^{13}C -NMR. Viên hoàn mềm thảo dược cũng đã được bào chế từ dịch trích ly ethanol - nước của loài Vảy ốc kết hợp với Thổ phục linh và bột Thạch thiềm thử nhằm tăng cường hỗ trợ điều trị bệnh đau nhức xương khớp. Viên hoàn mềm có các đặc tính hóa lý, chỉ tiêu vi sinh vật phù hợp với các tiêu chuẩn quy định. Viên hoàn có khả năng kháng viêm thông qua hoạt động ức chế sinh NO trên Tế bào RAW 264.7 với giá trị IC_{50} = 31,18 ± 2,86 µg/mL, khả năng ức chế gốc tự do DPPH với giá trị IC_{50} = 168,016 µg/mL.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội với đề tài mã số 19-2024-RD/HĐ-ĐHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Ngọc Lan (2015). *Bệnh học cơ xương khớp nội khoa*. Nxb Giáo dục.

2. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học.

3. Noronha, Natalia Maria, Grazielle Ribeiro, Simone Ribeiro Ingridy, Ribeiro, Marcos Jose Marques, Luiz Felipe, Luiz Felipe Leomil Coelho, Jorge Kleber Chavasco (2014). Phytochemical profile and antioxidant and antimicrobial activities of hydroethanolic extracts of *Ficus pumila*. *African Journal of Microbiology Research*, 8(28), 2665 - 2671.

4. JianJun Wu, Miaomiao Chen, Songshan Shi, Huijun Wang, Ning Li, Juan Su, Ruimin Liu, Zhenlin Huang, Hong Jin, Xueqing Ji, Shunchun Wang (2017). Hypoglycemic effect and mechanism of a pectic polysaccharide with hexenuronic acid from the fruits of *Ficus pumila* L. in C57BL/KsJdb/db mice. *Carbohydrate. Polymers*, 178, 209 - 220.

5. Christopher Larbie, DennisTorkornoo, Emmanuel Nyanor, Osei Asibey (2016). Evaluation of the hepatoprotective potential of hydroethanolic extract of *Ficus pumila* L. on CCl4-induced liver damage in rats. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 5(7), 217 - 225.

6. Suzuki, K., Gonda, K., Kishimoto, Y., Katsumoto, Y., Takenoshita, S (2021). Potential curing and beneficial effects of Ooitabi (*Ficus pumila* L.) on hypertension and dyslipidaemia in Okinawa. *Journal of Human nutrition and Dietetics: The official Journal of the British Dietetic Association*, 43(2), 398 - 401.

7. Parul Tripathi, Prashant Tripathi, Luv Kashyap, Vinod Singh (2007). The role of nitric oxide in inflammatory reactions. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51(3), 443 - 452.

8. Nguyễn Mạnh Tuyển (2021). *Dược lý dược cổ truyền*. Nxb Y học.

9. Võ Xuân Minh (2016). *Kỹ thuật bào chế và sinh dược học các dạng thuốc*. Nxb Y học.

10. Bộ Y tế (2023). *Dược điển Việt Nam V*. Nxb Y học.

11. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013). Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật – Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30 độ C bằng kỹ thuật đổ đĩa.

12. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 7924-3:2017 (ISO 16649-3:2015). Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng *Escherichia coli* dương tính *B-Glucuronidaza* – Phần 3: Phát hiện và kỹ thuật tính số có xác suất lớn nhất sử dụng 5-bromo-4-clo-3-indolyl β -D-glucuronid.
13. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10780-1:2017 (ISO 6579-1:2017). Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp phát hiện, định lượng và xác định typ huyết thanh của *Salmonella* - Phần 1: Phương pháp phát hiện *Salmonella* spp.
14. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7596:2007 (ISO 16050:2023). Thực phẩm - Xác định Aflatoxin B1 và hàm lượng tổng số Aflatoxin B1, B2, G1 và G2 trong ngũ cốc, các loại hạt và các sản phẩm của chúng – Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.
15. Po-Jung Tsai, Tzung-Hsun Tsai, Chun-Hsien Yu, Su-chen Ho (2007). Comparison of NO-scavenging and NO-suppressing activities of different herbal teas with those of green tea. *Food Chemistry*, 103(1), 181 - 187.
16. Natalia R. Bernardes, Marlon Hegdorne-Araújo, Isabela F. J. C. Borges, Fabricio M. Almeida, Eduardo P. Amaral, Elena B. Lasunskaja, Michelle F. Muzitano, Daniela B. Oliveira (2014). Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(6), 644 - 650.
17. Sarot Cheenpracha, Eun-Jung Park, Bahman Rostama, John M Pezzuto, Leng Chee Chang (2010). Inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS) - activated murine macrophage RAW 264.7 cells by the norsesterterpene peroxide, epimuqubilin A. *Marine drugs*, 8(3), 429 - 437.
18. E. Middleton Jr., C. Kandaswami (1992). Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochemical Pharmacology*, 43(6), 1167 - 1179.
19. Yahia Z Tabazal, Zuh-Kyung Seong, Young-Mi Kim, Walhan Alshaer (2024). Cytotoxicity of luteolin, a flavonoid compound isolated from *Anthemis palestina*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research January*, 23(1), 77 - 83.
20. Nguyen Cong Thuy Tram, Ninh The Son, Do Thi Thao, Nguyen Manh Cuong (2016). Kaempferol and kaempferol glycosides from *Phyllanthus acidus* leaves. *Vietnam Journal of Chemistry, International Edition*, 54(6), 790 - 793.
21. Kasi Pandima Devi, Dicson Sheeja Malar, Seyed Fazel Nabavi, Antoni Sureda, Jianbo Xiao, Seyed Mohammad Nabavi, Maria Daglia (2015). Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. *Pharmacological Research*, 99, 1 - 10.
22. Mehari Endale, Seung-Chun Park, Suk Kim, Seung-Hyung Kim, Yanyan Yang, Jae Youl Cho, Man Hee Rhee (2013). Quercetin disrupts tyrosine-phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase and myeloid differentiation factor-88 association and inhibits MAPK/AP-1 and IKK/NF-B-induced inflammatory mediators production in RAW 264.7 cells. *Immunobiology*, 218(12), 1452 - 1467.
23. K. M. Lee., Hwang, M. K., Lee, D. E., Lee, K. W., Lee, H. J (2010). Protective effect of quercetin against arsenite-induced COX-2 expression by targeting PI3K in rat liver epithelial cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(9), 5815 - 5820.
24. Hyun Pyo Kim, Kun Ho Son, Hyeun Wook Chang, Sam Sik Kang (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*, 96(3), 229 - 245.
25. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7601:2007. Thực phẩm - Xác định hàm lượng asen bằng phương pháp bạc dietyldithiocacamat.
26. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8126:2009. Thực phẩm - Xác định hàm lượng chì, cadimi, kẽm, đồng và sắt - Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sau khi đã phân hủy bằng vi sóng.
27. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 7604:2007. Thực phẩm - Xác định hàm lượng thủy ngân bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử không ngọn lửa.
28. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 20-1:2024/BYT về Giới hạn các chất ô nhiễm trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

29. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 8-1:2011/BYT về Giới hạn ô nhiễm độc tố vi nấm trong thực phẩm.

30. Tatiana Elizabeth Sánchez Herrera, *et al.* (2024). Kaempferol: Unveiling its anti-inflammatory properties for therapeutic innovation. *Cytokine*, 186, 156 - 166.

31. Bùi Thanh Tùng, Phan Hồng Minh, Nguyễn Như Sơn, Phạm Thế Hải (2020). Sàng lọc ảo các hợp chất có hoạt tính ức chế enzyme ACE2

nhằm điều trị bệnh COVID-19 bằng phương pháp docking phân tử. *Tạp chí Khoa học, Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học y dược*, 36(4), 1 - 11.

32. Denis Nchang Che, Byoung Ok Cho, Ji-Su Kim, Jae Young Shin, Hyun Ju Kang, Seon Il Jang (2020). Luteolin and apigenin attenuate LPS-Induced astrocyte activation and cytokine production by targeting MAPK, STAT3 and NF- κ B signaling pathways. *Pubmed: Inflammation*, 43(5), 1716 - 1728.

ISOLATION OF SOME FLAVONOIDS FROM *Ficus pumila* L. IN VIETNAM, PREPARATION AND EVALUATION OF *IN VITRO* ANTI - INFLAMMATORY, ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HERBAL PILLS FROM *Ficus pumila* L., *Smilax glabra* Roxb, *Stephania dielsiana* Y. C. Wu

Nguyen Thi Thanh Mai¹, Le The Hoai¹, Nguyen Thi Hong Hanh²

¹Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry

²Faculty of Natural Resources and Environment, Vietnam National University of Agriculture

Summary

In this study, three flavonoid compounds 3',4',5,7-tetrahydroxyflavone, 3,4',5,7-tetrahydroxyflavone; 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone were found in the ethanol extract of (*Ficus pumila* L.). They present a great diversity of biological activities observed *in vitro*, such as: Antioxidant effect, modulation of the enzymatic activity and inhibition of cellular proliferation anti-cancer, anti-inflammatory and antiviral properties. On that basis, herbal pills were prepared from the ethanol-water extract of (*Ficus pumila* L.). combined with *Smilax glabra* Roxb. and *Stephania dielsiana* Y. C. Wu to enhance the treatment for osteoarthritis pain. The herbal pills showed the potential of NO inhibition activity production in RAW 264.7 cell, with IC₅₀ values of 31.18 $\pm$ 2.86 μ g/mL and the IC₅₀ values of DPPH free radical scavenging capacity was 168.016 μ g/mL

Keywords: Herbal pills, RAW 264.7 cell, *Ficus pumila* L., *Smilax glabra* Roxb., *Stephania dielsiana* Y. C. Wu.

Ngày nhận bài: 25/02/2025

Ngày chuyển phản biện: 13/3/2025

Ngày thông qua phản biện: 20/3/2025

Ngày duyệt đăng: 31/3/2025