

ISSN 1859 - 4735



TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 4 - TẬP 31

8/2026

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

3B Quang Trung, phường Cửa Nam, thành phố Hà Nội - Việt Nam
TEL: (+84-24) 38247058 FAX: (+84-24) 39348740
Email: tapchiduoclieu@nimm.org.vn; tapchiduoclieu@gmail.com

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU (Bản in và Bản điện tử)

BAN BIÊN TẬP (Nhiệm kỳ 2025-2030)

(Kèm theo Quyết định số 666/QĐ-VDL ngày 24/4/2025 của Viện trưởng Viện Dược liệu)

TỔNG BIÊN TẬP **PGS.TS. Đỗ Thị Hà**

I. Tiểu ban Dược liệu - Dược học cổ truyền

- **PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi - Trưởng Ban**
- PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong - Ủy viên
- GS.TS. Nguyễn Minh Đức - Ủy viên
- GS.TS. Trần Công Luận - Ủy viên
- GS.TS. Won Keun Oh - Ủy viên
- PGS.TS. Trần Hùng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu - Ủy viên
- PGS.TS. Phương Thiện Thương - Ủy viên
- PGS.TS. Phan Minh Giang - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Việt Dũng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng - Ủy viên
- TS. Trần Minh Ngọc - Ủy viên
- TS. Nguyễn Văn Tài - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Đình Chi - Ủy viên
- TS. Nguyễn Tuấn Hiệp - Ủy viên.

II. Tiểu ban Dược lý - Dược lâm sàng

- **PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng - Trưởng Ban**
- PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương - Ủy viên
- GS.TS. William R. Folk - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thùy Dương - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Văn Minh - Ủy viên
- TS. Trần Thị Hiền - Ủy viên.

III. Tiểu ban Nông Sinh

- **TS. Nguyễn Văn Khiêm - Trưởng Ban**
- TS. Phan Thúy Hiền - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Văn Tập - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thanh Huyền - Ủy viên
- GS.TS. Trần Thế Bách - Ủy viên.

IV. Tiểu ban Thư ký - Trị sự

- **PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Trưởng Ban**
- TS. Lê Thị Xoan - Thư ký chuyên môn
- CN. Nguyễn Thị Minh Lộc - Thư ký trị sự.

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
257	Thành phần hóa học của cây bồ công anh thấp thu hái tại Việt Nam- Trần Huyền Trang, Đỗ Hoàng Anh, Lê Hồng Văn Anh, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thị Hằng, Vũ Thị Diệp, Nguyễn Trà My, Lê Nguyễn Thành, Đỗ Thị Hà	257	Chemical Constituents from <i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg. Collected in Vietnam- Tran Huyen Trang, Do Hoang Anh, Le Hong Van Anh, Nguyen Thi Thu, Nguyen Thi Hang, Vu Thi Diep, Nguyen Tra My, Le Nguyen Thanh, Do Thi Ha
265	Linalool-3,7-oxid- β -D-glucopyranosid và các flavonoid từ cúc hoa vàng - Nguyễn Thị Duyên, Trần Thị Tuyết, Bùi Khắc Hiếu, Nguyễn Thị Huế, Bùi Hồng Cường, Lưu Phương Anh, Phạm Văn Công	265	Linalool-3,7-Oxide- β -D-Glucopyranoside and Flavonoids from <i>Chrysanthemum indicum</i> L.- Nguyen Thi Duyen, Tran Thi Tuyet, Bui Khac Hieu, Nguyen Thi Hue, Bui Hong Cuong, Luu Phuong Anh, Pham Van Cong
270	Phân lập, tinh chế và thiết lập chất chuẩn 5,7-dimethoxyflavon từ thân rễ ngải đen - Nguyễn Văn Bình, Hoàng Thị Thanh Thảo, Lê Quang Thảo, Đỗ Thị Hà, Đoàn Cao Sơn	270	Isolation, Purification and Establishment of 5,7-Dimethoxyflavone as a Reference Standard from <i>Kaempferia parviflora</i> Wall. ex Baker- Nguyen Van Binh, Hoang Thi Thanh Thao, Le Quang Thao, Do Thi Ha, Doan Cao Son
281	Nghiên cứu xây dựng phương pháp định lượng đồng thời acteosid và isoacteosid trong rễ bạch đồng nữ bằng phương pháp HPLC-DAD - Nguyễn Đình Quân, Nguyễn Lâm Hồng	281	Simultaneous Determination of Acteoside and Isoacteoside in the Roots of <i>Clerodendrum chinense</i> var. <i>simplex</i> by HPLC-DAD - Nguyen Dinh Quan, Nguyen Lam Hong
288	Phát triển phương pháp định lượng 16 acid amin trong củ khoai mỡ tím bằng HILIC-MS/MS - Cao Công Khánh, Nguyễn Quang Hùng, Nguyễn Văn Khoa, Mạc Thị Thanh Hoa, Trần Thị Xuân Lộc, Lê Thị Hồng Hào, Nguyễn Thị Kiều Anh	288	Development of a Method for the Quantification of 16 Amino Acids in Purple Yam (<i>Dioscorea alata</i> L.) Tubers Using HILIC-MS/MS - Cao Cong Khanh, Nguyen Quang Hung, Nguyen Van Khoa, Mac Thi Thanh Hoa, Tran Thi Xuan Loc, Le Thi Hong Hao, Nguyen Thi Kieu Anh
298	Tối ưu hóa quy trình chiết xuất polyphenol và flavonoid từ lá hồng bằng phương pháp xử lý enzym kết hợp chiết nước - Lê Minh Khuong, Lê Hoàng Vũ, Huỳnh Hồng Nha Uyên, Nguyễn Thị Tố Uyên, Trần Thị Hoài Linh, Trịnh Thị Diệp	298	Optimization of the Extraction Process of Polyphenols and Flavonoids from Persimmon Leaves (<i>Diospyros kaki</i> Thunb.) by Enzyme Pretreatment Combined with Alkaline Aqueous Extraction - Le Minh Khuong, Le Hoang Vu, Huynh Hong Nha Uyen, Nguyen Thi To Uyen, Tran Thi Hoai Linh, Trinh Thi Diep
306	Sàng lọc một số cao chiết dược liệu dựa trên khả năng tăng sinh tế bào nhũ bì nang tóc người (hPDCs) và hoạt tính chống oxy hóa <i>in vitro</i> - Phạm Minh Hiếu, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Phạm Anh Tùng, Phí Đình Uy, Đinh Thị Minh, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Huế, Nghiêm Tiến Chung, Vũ Xuân Bách, Lê Nguyễn Lâm Tùng	306	Screening of some Medicinal Plant Extracts with Hair Growth-Promoting Potential Based on Human Dermal Papilla Cell Proliferation and <i>in vitro</i> Antioxidant Activities - Pham Minh Hieu, Pham Thi Nguyet Hang, Pham Anh Tung, Phi Dinh Uy, Dinh Thi Minh, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Thi Hue, Nghiem Tien Chung, Vu Xuan Bach, La Nguyen Lam Tung
314	Đánh giá sàng lọc hoạt tính ức chế xanthin oxidase <i>in vitro</i> của một số cao chiết dược liệu - Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Huế, Lê Thị Xoa, Nguyễn Văn Hiệp, Phí Đình Uy, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Phạm Thị Nguyệt Hằng	314	Screening the Anti-Xanthine Oxidase Activities <i>in vitro</i> of some Herbal Extracts - Nguyen Thi Phuong, Nguyen Thi Hue, Le Thi Xoa, Nguyen Van Hiep, Phi Dinh Uy, Nguyen Thi Minh Nguyet, Pham Thi Nguyet Hang
324	Nghiên cứu đánh giá một số hoạt tính liên quan đến mụn trứng cá và chống viêm tại chỗ của các kim tiền trên mô hình thực nghiệm - Đinh Thị Minh, Lê Thị Kim Ngân, Đinh Thị Huyền Trang, Phạm Minh Hiếu, Võ Trần Ngọc Duyên, Nguyễn Ngọc Thanh, Lê Thị Xoa, Phạm Thị Nguyệt Hằng	324	Study on the Anti-Acne and Topical Anti-Inflammatory Effects of <i>Calendula officinalis</i> L. in Experimental Models - Dinh Thi Minh, Le Thi Kim Ngan, Dinh Thi Huyen Trang, Pham Minh Hieu, Vo Tran Ngoc Duyen, Nguyen Ngoc Thanh, Le Thi Xoa, Pham Thi Nguyet Hang
331	Hoạt tính chống oxy hóa và kháng viêm <i>in vitro</i> của lá trà và mối liên quan với hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần - Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Đông Nhi, Võ Thành Nhân, Lê Hồ Ngọc Trân, Lý Hải Triều	331	<i>In vitro</i> Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels Leaves and Correlation with Total Polyphenol and Flavonoid Contents - Nguyen Thi Thu Huong, Nguyen Dong Nhi, Vo Thanh Nhan, Le Ho Ngoc Tran, Ly Hai Trieu
342	Nghiên cứu bào chế hệ tiểu phân nano rutin bằng phương pháp nghiền bi - Hoàng Thị Diệu Hằng, Đào Anh Hoàng, Nguyễn Ngọc Chiến, Nguyễn Thị Sen, Lương Thị Lan, Luyện Bích Phương, Vũ Trường Duy, Trịnh Thị Khánh	342	Formulation and Evaluation of Rutin Nanoparticles Using the Ball Milling Method - Hoang Thi Dieu Hang, Dao Anh Hoang, Nguyen Ngoc Chien, Nguyen Thi Sen, Luong Thi Lan, Luyen Bích Phuong, Vu Truong Duy, Trinh Thi Khanh
351	Bổ sung loài kinh quốc Guguin có giá trị làm thuốc cho khu hệ thực vật Việt Nam - Phạm Ngọc Khánh, Nguyễn Văn Hiếu, Hoàng Diệu Linh	351	An Addition of the Medicinal Species <i>Colquhounia seguinii</i> Vanhot. to the Flora of Vietnam - Pham Ngoc Khanh, Nguyen Van Hieu, Hoang Dieu Linh

HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA VÀ KHÁNG VIÊM *IN VITRO* CỦA LÁ TRÂM VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI HÀM LƯỢNG POLYPHENOL VÀ FLAVONOID TOÀN PHẦN

Nguyễn Thị Thu Hương¹, Nguyễn Đông Nhi¹, Võ Thành Nhân¹, Lê Hồ Ngọc Trân¹,
Lý Hải Triều^{2,*}

¹Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng;

²Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu

*Email: lhtrieu12csh@gmail.com

Nhận bài: 05/5/2026

Chấp nhận đăng: 16/7/2026

Tóm tắt

Nghiên cứu này khảo sát tiềm năng chống oxy hóa và kháng viêm của các cao chiết từ lá trâm (*Syzygium cumini*) được chiết xuất bằng các dung môi khác nhau bao gồm cao ethanol 96%, 70%, 45% và cao nước. Kết quả cho thấy cao ethanol 45% có hàm lượng polyphenol tổng cao nhất (408,81 mg GAE/g), trong khi cao ethanol 96% có hàm lượng flavonoid tổng cao nhất (44,24 mg QE/g). Các cao chiết đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh. Cụ thể, khả năng bắt gốc tự do DPPH của các cao tương đương nhau (IC_{50} từ 9,18-11,03 μ g/mL). Cao ethanol 45% thể hiện ưu thế trong thực nghiệm ABTS (IC_{50} = 6,51 μ g/mL) và năng lực khử sắt (EC_{50} = 31,35 μ g/mL), trong khi cao ethanol 70% có khả năng ức chế peroxy hóa lipid mạnh nhất (IC_{50} = 0,50 μ g/mL). Hơn nữa, kết quả phân tích cho thấy hàm lượng polyphenol liên quan chặt chẽ đến hoạt tính chống oxy hóa trong các thực nghiệm ABTS, năng lực khử và ức chế peroxy hóa lipid thông qua phân tích tương quan Pearson (r = -0,65 đến -0,74) và Spearman (ρ = -0,67 đến -0,73). Mặt khác, các cao ethanol 96%, 70%, 45% và cao nước đều thể hiện hoạt tính kháng viêm thông qua khả năng ức chế sự sản sinh nitric oxid trên tế bào RAW264.7 được kích thích bởi lipopolysaccharid với IC_{50} lần lượt là 27,52 μ g/mL; 15,86 μ g/mL; 14,18 μ g/mL và 13,36 μ g/mL. Kết quả nghiên cứu này cho thấy lá trâm (*S. cumini*) là nguồn giàu hợp chất phenolic có tiềm năng chống oxy hóa và kháng viêm.

Từ khóa: *Syzygium cumini*; Polyphenol; Chống oxy hóa; Kháng viêm; Phân tích tương quan Pearson; Phân tích tương quan Spearman.

Summary

In vitro Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of *Syzygium cumini* (L.) Skeels Leaves and Correlation with Total Polyphenol and Flavonoid Contents

This study investigated the antioxidant and anti-inflammatory potential of extracts from Java plum leaves (*Syzygium cumini*) obtained using various solvents, including 96%, 70%, 45% ethanol, and water. The results showed that the 45% ethanol extract contained the highest total polyphenol content (408.81 mg GAE/g), while the 96% ethanol extract exhibited the highest total flavonoid content (44.24 mg QE/g). All extracts demonstrated strong antioxidant activities. Specifically, the DPPH radical scavenging capacities were comparable across all extracts (IC_{50} ranging from 9.18-11.03 μ g/mL). The 45% ethanol extract showed superior activity in the ABTS assay (IC_{50} = 6.51 μ g/mL) and ferric reducing power (EC_{50} = 31.35 μ g/mL), whereas the 70% ethanol extract was most effective in inhibiting lipid peroxidation (IC_{50} = 0.50 μ g/mL). Furthermore, statistical analysis revealed that polyphenol content was closely correlated with antioxidant activity in ABTS, reducing power, and lipid peroxidation assays, as evidenced by Pearson (r = -0.65 to -0.74) and Spearman (ρ = -0.67 to -0.73) correlation coefficients. Additionally, the 96%, 70%, 45% ethanol, and aqueous extracts all exhibited anti-inflammatory activity by inhibiting nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells, with IC_{50} values of 27.52, 15.86, 14.18, and 13.36 μ g/mL, respectively. These findings suggest that *S. cumini* leaves are a rich source of phenolic compounds with significant antioxidant and anti-inflammatory potential.

Keywords: *Syzygium cumini*; Polyphenols; Antioxidant; Anti-inflammation; Pearson correlation analysis; Spearman correlation analysis.

1. Đặt vấn đề

Stress oxy hóa và viêm là hai quá trình sinh học có mối liên hệ mật thiết, đóng vai trò trung tâm trong sự khởi phát và tiến triển của nhiều bệnh lý mạn tính như tim mạch, đái tháo đường và ung thư. Sự tích lũy quá mức các loại oxy phản ứng (ROS) và nitơ phản ứng (RNS) không chỉ gây tổn thương trực tiếp lên các đại phân tử sinh học (lipid, protein, acid nucleic) mà còn kích hoạt các con đường tín hiệu gây viêm như NF- κ B. Ngược lại, quá trình viêm lại làm trầm trọng thêm tình trạng stress oxy hóa, tạo nên một vòng xoắn bệnh lý thúc đẩy tổn

thương mô kéo dài [1],[2]. Do đó, việc tìm kiếm các dược liệu hoặc hoạt chất tự nhiên có khả năng can thiệp đồng thời vào cả hai quá trình này đang là xu hướng quan trọng trong hỗ trợ điều trị hoặc dự phòng nhiều bệnh lý mạn tính.

Cây trâm (*Syzygium cumini* (L.) Skeels, họ Myrtaceae) là một dược liệu phân bố ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới với lịch sử sử dụng lâu đời. Các nghiên cứu hóa thực vật cho thấy cây trâm chứa hàm lượng cao các hợp chất phenolic và flavonoid, có vai trò quan trọng cho các tác dụng sinh học của cây như chống oxy hóa, kháng viêm,

kháng khuẩn, điều hòa đường huyết, bảo vệ dạ dày và bảo vệ gan [3],[4]. Trong khi các nghiên cứu trước đây tập trung chủ yếu vào quả – nguồn cung cấp anthocyanin dồi dào [5],[6] – thì lá trà cũng đang được chứng minh như một nguồn nguyên liệu tiềm năng giàu polyphenol và flavonoid với khả năng chống oxy hóa và kháng viêm đáng kể [7],[8],[9],[10]. Tuy nhiên, hiệu quả chiết tách các hợp chất này phụ thuộc rất lớn vào độ phân cực của dung môi và hiện vẫn thiếu các nghiên cứu hệ thống so sánh ảnh hưởng của các hệ dung môi khác nhau đến hoạt tính sinh học của lá trà tại Việt Nam. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của dung môi chiết đến thành phần hóa thực vật, hoạt tính chống oxy hóa và kháng viêm *in vitro*, đồng thời xác định mối tương quan giữa chúng để tìm ra hệ dung môi tối ưu cho việc chiết xuất lá trà cho định hướng phát triển dược phẩm hoặc thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu thực vật

Lá trà được thu hái vào tháng 9 năm 2025 tại xã Tân Nhuận Đông, tỉnh Đồng Tháp, Việt Nam và được định danh bởi Cao Ngọc Giang, Phòng Tài nguyên và Phát triển Dược liệu, Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh. Loài cây này được xác định tên khoa học là *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Mã số TBDD-26030601). Lá được rửa bằng nước cất để loại bỏ các tạp chất bám trên bề mặt. Sau đó, mẫu được phơi khô, xay thành bột (qua rây 250) và bảo quản trong túi kín cho nghiên cứu. Bột nguyên liệu khô được xác định độ ẩm, tro toàn phần, tro không tan trong acid clohydric theo Dược điển Việt Nam V [11].

2.2. Hóa chất, thuốc thử

Acid 2-thiobarbituric và dexamethason được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (USA); butylated hydroxytoluen (BHT) từ Himedi (Ấn Độ); thuốc thử Griess (Invitrogen) được cung cấp bởi Thermo Fisher Scientific (Mỹ); acid ascorbic (vitamin C), acid gallic, quercetin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), lipopolysaccharid (LPS), thuốc thử Folin-Ciocalteu, methanol (98% v/v), nhôm clorid ($AlCl_3$) và dimethyl sulfoxid (DMSO) từ Merck (Đức); môi trường RPMI 1640, huyết thanh thai bò (Fetal Bovine Serum - FBS) và hỗn hợp kháng sinh-kháng nấm từ Gibco (Mỹ). Các hóa

chất và dung môi khác đều đạt độ tinh khiết phân tích.

2.3. Chiết xuất dược liệu

Bột nguyên liệu khô (độ ẩm < 13%) được chiết riêng biệt với ethanol ở các nồng độ 45%, 70% và 96% bằng phương pháp ngâm kiệt với tỷ lệ dược liệu: dung môi là 1:15 (g/mL) ở nhiệt độ phòng và tốc độ rút dịch chiết 2 mL/phút. Mỗi nồng độ ethanol được thực hiện trên một mẻ chiết riêng, mỗi mẻ sử dụng 100 g bột dược liệu khô. Các dịch chiết thu được cô quay dưới áp suất giảm ở 50°C, sau đó tiếp tục cô trên bếp cách thủy ở 60°C để thu được các cao chiết ethanol tương ứng.

Đối với cao nước, một mẻ chiết riêng được thực hiện từ 100 g bột dược liệu khô bằng cách đun sôi với nước theo tỷ lệ dược liệu: dung môi là 1:15 (g/mL) trong 60 phút, lặp lại 3 lần. Sau mỗi lần chiết, dịch chiết được gạn, lọc và cô trên bếp cách thủy để thu được cao chiết nước.

Các cao chiết sau khi cô đặc (đạt tiêu chuẩn cao đặc theo quy định của Dược điển Việt Nam V) được bảo quản ở nhiệt độ 2–8°C, tránh ánh sáng cho đến khi sử dụng.

2.4. Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật

Sự hiện diện của các nhóm hợp chất hóa thực vật chính trong các dịch chiết diethyl ether, ethanol và nước được xác định bằng các phản ứng hóa học đặc trưng theo phương pháp phân tích hóa thực vật của Ciulei cải tiến [12].

2.5. Định lượng polyphenol tổng (TPC) bằng phương pháp Folin-Ciocalteu

Hỗn hợp phản ứng có chứa 5 μ L mẫu thử, 165 μ L nước cất và 10 μ L thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều. Hỗn hợp được ủ 5 phút ở nhiệt độ phòng trong tối. Sau đó, 30 μ L Na_2CO_3 20% được thêm vào hỗn hợp và tiếp tục ủ 2 giờ ở nhiệt độ phòng trong tối. Hỗn hợp được đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm bằng máy đọc đĩa (Biotek, Mỹ) [13]. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng polyphenol tổng được tính dựa theo phương trình đường chuẩn acid gallic ($y = 0,001268x - 0,026813$, $R^2 = 0,9967$) và được biểu thị bằng đương lượng acid gallic (GAE)/1 gam trọng lượng khô của mẫu.

2.6. Định lượng flavonoid toàn phần (TFC) bằng phương pháp tạo màu với $AlCl_3$

Thực nghiệm thực hiện dựa trên mô tả trước đó [13] với một vài điều chỉnh nhỏ. Hỗn hợp phản ứng có chứa 50 μ L mẫu thử, 100 μ L nước cất và 50 μ L $AlCl_3$ 2%, lắc đều. Hỗn hợp được ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng trong tối. Sau đó, hỗn hợp được đo độ hấp thụ ở bước sóng 430 nm bằng máy đọc đĩa

(Biotek, Mỹ). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng flavonoid toàn phần được tính dựa theo phương trình đường chuẩn quercetin ($y = 0,003517x - 0,02549$, $R^2 = 0,9901$) và được biểu thị bằng đương lượng quercetin (QE)/1 gam trọng lượng khô của mẫu.

2.7. Phương pháp đánh giá hoạt tính chống oxy hóa

2.7.1. Thực nghiệm bắt gốc tự do DPPH:

Hỗn hợp phản ứng bao gồm 25 μ L cao chiết từ lá trà ở các nồng độ khác nhau, 150 μ L methanol và 25 μ L DPPH 0,6 mM pha trong methanol. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó, độ hấp thụ của hỗn hợp sau phản ứng được đo ở bước sóng 515 nm bằng máy đọc đĩa (Biotek, Mỹ). Methanol được sử dụng làm mẫu trắng và acid ascorbic được sử dụng làm chứng dương [14]. Thực nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.7.2. Thực nghiệm bắt gốc tự do ABTS:

Hỗn hợp phản ứng bao gồm 5 μ L cao chiết từ lá trà ở các nồng độ khác nhau được trộn với 145 μ L dung dịch ABTS 7 mM (độ hấp thụ đạt khoảng 0,70 tại bước sóng 734 nm). Sau 6 phút ở nhiệt độ phòng, độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng được đo tại bước sóng 734 nm bằng máy đọc đĩa. Acid ascorbic được sử dụng làm chứng dương [14]. Thực nghiệm được lặp lại 3 lần.

Phần trăm bắt gốc tự do DPPH hoặc ABTS được tính theo công thức: % bắt gốc tự do = $[(A_c - A_{0c}) - (A_t - A_{0t}) / (A_c - A_{0c})] \times 100$. Trong đó, A_c , A_{0c} , A_t và A_{0t} lần lượt là độ hấp thụ của mẫu chứng (có dung dịch DPPH hoặc ABTS và không có cao chiết), mẫu trắng (không có dung dịch DPPH hoặc ABTS và không có cao chiết), mẫu thử (có dung dịch DPPH hoặc ABTS và có cao chiết) và mẫu trắng thử (không có dung dịch DPPH hoặc ABTS và có cao chiết).

Giá trị IC_{50} , tức là nồng độ của cao chiết từ lá trà tạo ra 50% hoạt tính bắt gốc tự do, được xác định từ đường cong đáp ứng liều-log (trục X) và phần trăm (trục Y) bằng phần mềm GraphPad Prism (phiên bản 8.0.2, Inc., La Jolla, CA, USA).

2.7.3. Thực nghiệm đánh giá năng lực khử (Reducing Power, RP):

Hỗn hợp phản ứng bao gồm 40 μ L cao chiết từ lá trà ở các nồng độ khác nhau được ủ với 100 μ L đệm natri phosphat 200 mM (pH 6,6) và 100 μ L kali ferricyanid 1% ở 50°C trong 30 phút, 100 μ L acid trichloroacetic 10% được thêm vào và ly tâm ở 3000 vòng/phút trong 10 phút. Tiếp đến, 100 μ L phần dung dịch nổi được trộn với lượng nước cất tương đương và 20 μ L sắt clorid 0,1%. Độ hấp

thụ được đo tại bước sóng 700 nm bằng máy đọc đĩa (Biotek, Mỹ). Hoạt tính khử được phân tích thông qua độ hấp thụ và giá trị EC_{50} . Độ hấp thụ càng thấp, hoạt tính khử của mẫu càng yếu. Giá trị EC_{50} là nồng độ chất chống oxy hóa hiệu quả đạt được độ hấp thụ 0,5, được tính từ phương trình thể hiện mối tương quan giữa nồng độ mẫu và độ hấp thụ [15]. Acid ascorbic được sử dụng làm chứng dương. Thực nghiệm được lặp lại ba lần.

2.7.4. Thực nghiệm TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) khảo sát hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid:

Thực nghiệm được thực hiện trên dịch đồng thể não chuột dựa trên mô tả trước đó [15] với một vài điều chỉnh nhỏ. Chuột nhắt trắng đực *Swiss albino* trưởng thành, khỏe mạnh, 5–6 tuần tuổi, trọng lượng 25 ± 2 g/con, được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi trong lồng nhựa kích thước $33 \times 21 \times 15$ cm, trong phòng nuôi động vật thử nghiệm với nhiệt độ $25 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm $65 \pm 5\%$ và chu kỳ chiếu sáng 12 giờ/ngày, từ 6 giờ sáng đến 6 giờ tối.

Sau thời gian nuôi thích nghi, chuột được xử lý theo quy trình đạo đức trong nghiên cứu động vật. Não chuột được nhanh chóng tách ra, rửa bằng dung dịch đệm phosphat (PBS) lạnh để loại máu và tạp mô, thấm khô nhẹ, cân khối lượng và đồng thể hóa với PBS theo tỷ lệ 1:10 (w/v). Quá trình chuẩn bị dịch đồng thể được thực hiện trong điều kiện lạnh ($0-5^\circ\text{C}$). Dịch đồng thể não sau khi chuẩn bị được sử dụng ngay cho thử nghiệm TBARS.

Hỗn hợp phản ứng bao gồm: 50 μ L dịch đồng thể não chuột trong dung dịch đệm phosphat (PBS) (Não: PBS = 1: 10 (w/v)) được trộn với 10 μ L các cao chiết ở các nồng độ khác nhau và 140 μ L PBS. Hỗn hợp được ủ ở 37°C trong 45 phút. Sau đó, phản ứng được dừng lại bằng 100 μ L acid trichloroacetic 10%. Tiến hành ly tâm ở 10.000 vòng/phút bằng máy ly tâm (Eppendorf, Đức) trong 10 phút. Sau đó, hỗn hợp phản ứng gồm 200 μ L phần dịch nổi được trộn với 100 μ L acid thiobarbituric 0,8% và được ủ ở 100°C (block ổn nhiệt) trong 30 phút. Độ hấp thụ được đo tại bước sóng 532 nm bằng máy đọc đĩa (Biotek, Mỹ). Butylated hydroxytoluen được sử dụng làm chứng dương. Thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần.

Phần trăm ức chế quá trình peroxid hóa lipid và giá trị IC_{50} được tính tương tự như thực nghiệm bắt gốc tự do ở trên với A_c , A_{0c} , A_t và A_{0t} lần lượt là độ hấp thụ của mẫu chứng (có dịch đồng nhất não và không có cao chiết), mẫu trắng (không có dịch đồng nhất não và không có cao chiết), mẫu thử (có dịch đồng nhất não và có cao chiết) và mẫu trắng thử (không có dịch đồng nhất não và có cao chiết).

2.8. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng viêm

2.8.1. Nuôi cấy tế bào:

Dòng tế bào RAW264.7 (ATCC, TIB-71, BSL 2) có đặc điểm tương tự bạch cầu đơn nhân/đại thực bào được nuôi cấy trong bình nuôi T25 ở 37°C trong môi trường RPMI 1640 có bổ sung 10% (v/v) huyết thanh bò thai (FBS) và 1% (v/v) kháng sinh – kháng nấm trong tủ nuôi cấy ở 37°C, 5% CO₂.

2.8.2. Đánh giá khả năng sống của tế bào bằng thực nghiệm MTT:

Tế bào được gieo vào đĩa 96 giếng với mật độ 5×10^4 tế bào/giếng (100 μ L) và ủ ở 37°C, 5% CO₂ trong 24 giờ. Sau đó, 100 μ L môi trường đối chứng hoặc môi trường chứa các nồng độ khác nhau của cao chiết (3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 và 200 μ g/mL) được thêm vào giếng, sau đó được tiếp tục ủ ở 37°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, môi trường nuôi được loại bỏ và 100 μ L dung dịch MTT (0,5 mg/mL) được thêm vào mỗi giếng, sau đó ủ ở 37°C trong 4 giờ. Tiếp theo, loại bỏ dung dịch trong giếng và thêm 100 μ L DMSO để hòa tan các tinh thể formazan được tạo thành. Độ hấp thụ (Ab) được đo bằng máy đọc đĩa ở bước sóng 570 nm và 630 nm (Biotek, Mỹ) [16]. Tỷ lệ tế bào sống trong mẫu chứng không được xử lý mẫu thử được chuẩn hoá 100%. Các phép đo được lặp lại 3 lần.

Phần trăm tế bào sống được tính theo công thức: % tế bào sống = $[(Ab \text{ tế bào được xử lý với mẫu thử} - Ab \text{ chứng trắng}) / (Ab \text{ tế bào không được xử lý với mẫu thử} - Ab \text{ chứng trắng})] \times 100$.

2.8.3. Đánh giá khả năng ức chế sản sinh oxid nitric (NO):

Tế bào RAW264.7 được gieo vào đĩa 96 giếng với mật độ 5×10^4 tế bào/giếng (100 μ L) và được ủ ở 37°C trong tủ ủ 5% CO₂ trong 24 giờ. Sau đó, tế bào được xử lý với 50 μ L dung dịch mẫu ở các nồng độ không gây độc tế bào (6,25; 12,5; 25 và 50 μ g/mL) và 50 μ L LPS ở nồng độ 1 μ g/mL. Sau 24

giờ ủ, hàm lượng NO trong môi trường nuôi cấy tế bào được xác định bằng thuốc thử Griess. Tóm tắt, 100 μ L môi trường nuôi cấy được trộn với 100 μ L thuốc thử Griess, sau đó được ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút [17]. Độ hấp thụ được đo tại bước sóng 540 nm bằng máy đọc đĩa (Biotek, Hoa Kỳ). Dexamethason (50 μ g/mL) được sử dụng làm chứng dương. Nồng độ NO được tính toán dựa trên đường chuẩn nitrit ($y = 0,0147x + 0,1171$; $R^2 = 0,9999$), trong đó x là nồng độ NO (μ M), y là độ hấp thụ ở bước sóng 540 nm.

Phần trăm ức chế sản sinh NO (%) của mẫu thử được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = \frac{[(NO \text{ Tế bào được xử lý với mẫu thử} - NO_{LPS(+)}) / (NO \text{ Tế bào không được xử lý với mẫu thử} - NO_{LPS(+)})] \times 100.}$$

2.9. Phân tích thống kê:

Các kết quả được biểu thị bằng giá trị trung bình $\pm$ SD (Standard deviation – độ lệch chuẩn) của 3 lần thí nghiệm lặp lại trên cùng một mẫu cao chiết. Thu thập số liệu bằng phần mềm MS Excel 2016, xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One – Way ANOVA, sau đó phép kiểm hậu nghiệm Tukey được sử dụng để so sánh giữa các cặp nhóm. Giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Phân tích tương quan giữa các thành phần hóa thực vật và hoạt tính chống oxy hóa được thực hiện dựa trên hệ số tương quan Pearson (r), Spearman (ρ) và hệ số xác định (R^2). Đối với phân tích tương quan, dữ liệu được xử lý trên giá trị của 4 cao chiết khảo sát theo 4 dung môi chiết ($n = 4$), gồm cao nước, cao ethanol 45%, cao ethanol 70% và cao ethanol 96%. Kết quả thực nghiệm được xem là có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95% khi $p < 0,05$ so với nhóm đối chứng tương ứng, sử dụng phần mềm GraphPad Prism 8.0.2 (Mỹ).

3. Kết quả

3.1. Thành phần hóa thực vật của lá trà

Bảng 1. Thành phần hóa thực vật của lá trà

Nhóm hợp chất	Dịch chiết			Kết luận
	Dịch chiết ether	Dịch chiết ethanol	Dịch chiết nước	
Carotenoid	+	NT	NT	+
Triterpenoid tự do	+	NT	NT	+
Anthraquinon (aglycon, glycosid)	+	+	NT	+
Flavonoid	NT	+	+	+
Anthocyanosid	NT	+	-	+
Proanthocyanidin	NT	+	-	+
Tannin	NT	+	+	+
Saponin	NT	+	NT	+

Chữ viết tắt: +: có; -: không; NT: không thực hiện.

Kết quả định tính cho thấy lá trà chứa nhiều nhóm hợp chất khác nhau, gồm carotenoid, antraglycosid, antranoid dạng aglycon, triterpenoid

tự do, flavonoid, anthocyanosid, proanthocyanidin, tannin và saponin.

3.2. Hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần

Bảng 2. Hiệu suất chiết, hàm lượng polyphenol (TPC) và flavonoid toàn phần (TFC) của các cao chiết lá trà

Cao chiết	Hiệu suất chiết (%)	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)
Nước	35,85	337,51 ± 39,64 ^{ab}	16,25 ± 5,12 ^b
Ethanol 45%	34,82	408,81 ± 30,10 ^a	24,36 ± 1,74 ^b
Ethanol 70%	18,34	360,28 ± 55,01 ^{ab}	25,95 ± 6,11 ^b
Ethanol 96%	11,63	296,17 ± 15,02 ^b	44,15 ± 6,10 ^a

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) theo phép kiểm Tukey. Hàm lượng polyphenol (TPC) và flavonoid toàn phần (TFC).

Hiệu suất chiết, hàm lượng polyphenol (TPC) và flavonoid toàn phần (TFC) của các cao chiết lá trà được trình bày trong Bảng 2. Hiệu suất chiết dao động từ 11,63 – 35,85% và giảm dần theo thứ tự: cao nước > cao ethanol 45% > cao ethanol 70% > cao ethanol 96%.

Dung môi chiết ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng polyphenol tổng của các cao chiết lá trà. Cao ethanol 45% có hàm lượng polyphenol toàn phần cao nhất, trong khi cao ethanol 96% cho giá trị thấp

nhất. Phân tích thống kê cho thấy TPC của cao ethanol 45% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với cao ethanol 96% ($p < 0,05$), trong khi cao ethanol 70% và cao nước không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hai cao chiết này.

Đối với flavonoid toàn phần, cao ethanol 96% có TFC cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các cao chiết còn lại, trong khi cao nước cho giá trị thấp nhất.

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết

Bảng 3. Giá trị IC₅₀/EC₅₀ hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết lá trà

Mẫu thử	IC ₅₀ (μg/mL)			EC ₅₀ (μg/mL)
	DPPH	ABTS	TBARS	RP
Cao chiết nước	9,18 ± 0,31 ^a	7,80 ± 0,14 ^c	1,03 ± 0,04 ^c	36,08 ± 2,11 ^b
Cao chiết ethanol 45%	10,78 ± 0,49 ^a	6,51 ± 3,10 ^b	0,76 ± 0,06 ^b	31,35 ± 1,59 ^b
Cao chiết ethanol 70%	9,70 ± 0,84 ^a	8,81 ± 0,33 ^d	0,50 ± 0,008 ^a	31,47 ± 2,74 ^b
Cao chiết ethanol 96%	11,03 ± 1,01 ^a	11,92 ± 0,33 ^c	2,14 ± 0,04 ^d	47,66 ± 1,75 ^c
Acid ascorbic	3,14 ± 0,65 ^b	5,15 ± 0,38 ^a	2,65 ± 0,05 ^c	17,55 ± 3,25 ^a

Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) theo phép kiểm Tukey.

Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết lá trà được trình bày trong Bảng 3.

Ở thực nghiệm DPPH, các cao chiết cho giá trị IC₅₀ trong khoảng 9,18–11,03 μg/mL. Hoạt tính bắt gốc tự do có xu hướng giảm theo thứ tự: cao nước > cao ethanol 70% > cao ethanol 45% > cao ethanol 96%. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa các cao chiết không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Ở thực nghiệm ABTS, giá trị IC₅₀ của các cao chiết dao động trong khoảng 6,51–11,92 μg/mL. Hoạt tính dập tắt gốc tự do ABTS có xu hướng giảm theo thứ tự: cao ethanol 45% > cao nước > cao ethanol 70% > cao ethanol 96%.

Đối với khả năng ức chế peroxy hóa lipid, giá trị IC₅₀ của các cao chiết dao động trong khoảng 0,50–2,14 μg/mL. Thứ tự hoạt tính giảm dần được ghi nhận là: cao ethanol 70% > cao ethanol 45% > cao nước > cao ethanol 96%. So với các cao chiết, BHT cho hoạt tính yếu hơn, với IC₅₀ là 2,65 ± 0,05 μg/mL.

Trong thực nghiệm đánh giá năng lực khử, giá trị EC₅₀ của các cao chiết dao động trong khoảng 31,35–47,66 μg/mL. Hoạt tính khử có xu hướng giảm theo thứ tự: cao ethanol 45% > cao ethanol 70% > cao nước > cao ethanol 96%.

3.4. Tương quan giữa hàm lượng các nhóm chất và hoạt tính chống oxy hóa

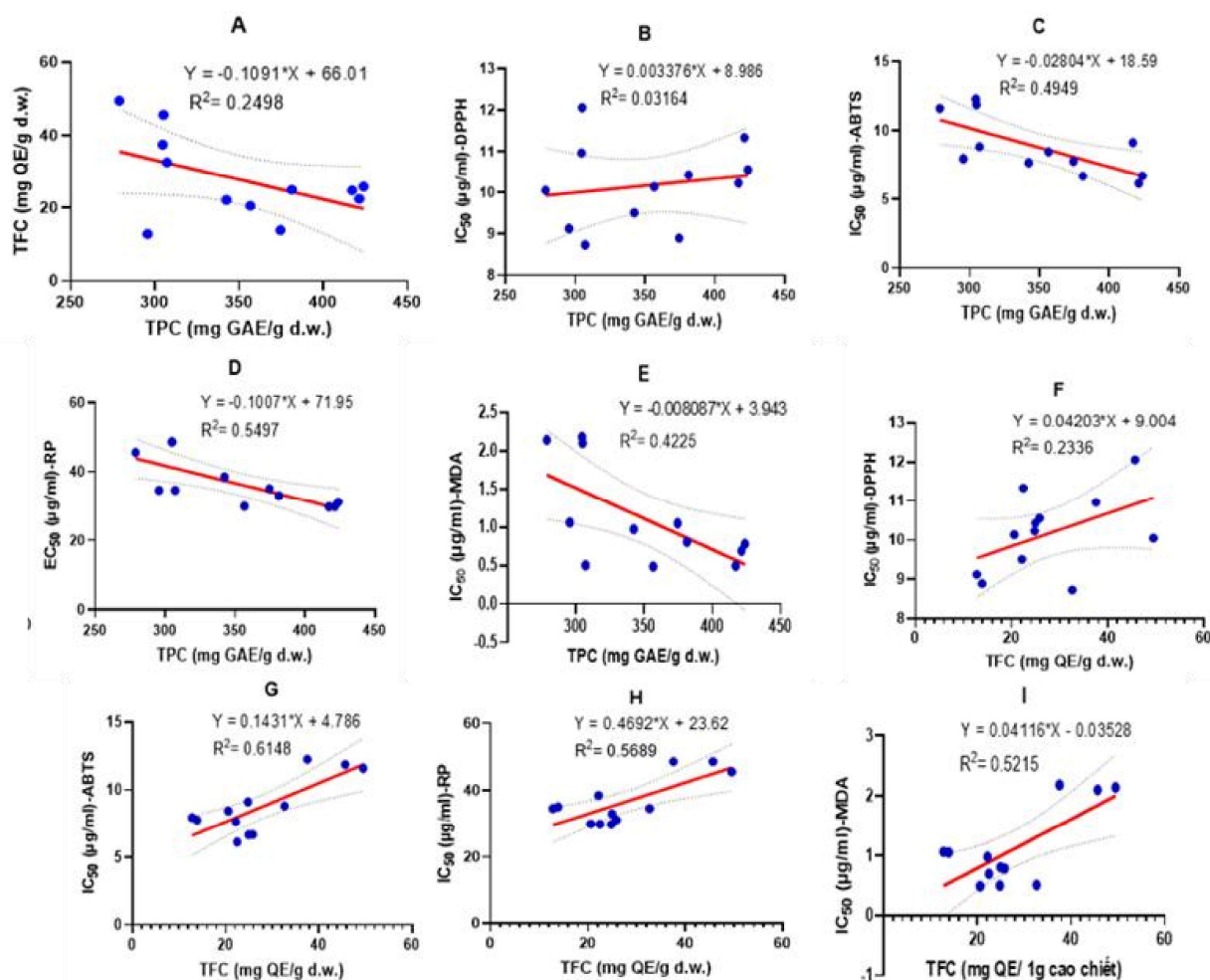
Phân tích tương quan Pearson cho thấy hàm lượng polyphenol tổng (TPC), flavonoid toàn phần (TFC) có mối liên hệ khác nhau với các giá trị IC₅₀ hoặc EC₅₀ hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết lá trà. TPC tương quan nghịch có ý nghĩa thống kê với IC₅₀ ABTS ($r = -0,70$; $p = 0,011$), EC₅₀ RP ($r = -0,74$; $p = 0,006$) và IC₅₀ TBARS ($r = -0,65$; $p = 0,022$), nhưng không tương quan có ý nghĩa với IC₅₀ DPPH ($r = 0,18$; $p = 0,580$). Trong khi đó, TFC tương quan thuận có ý nghĩa với IC₅₀ ABTS ($r = 0,78$; $p = 0,003$), EC₅₀ RP ($r = 0,75$; $p = 0,005$) và IC₅₀ TBARS ($r = 0,72$; $p = 0,008$), còn mối liên hệ với IC₅₀ DPPH không đạt ý nghĩa thống kê ($r = 0,48$; $p = 0,111$).

Phân tích tương quan thứ hạng Spearman cho kết quả nhìn chung phù hợp với hệ số Pearson đối với TPC. Cụ thể, TPC tương quan nghịch có ý nghĩa thống kê với IC_{50} ABTS ($\rho = -0,68$; $p = 0,019$), EC_{50} RP ($\rho = -0,73$; $p = 0,009$) và IC_{50} TBARS ($\rho = -0,67$; $p = 0,020$), trong khi tương quan với IC_{50} DPPH không có ý nghĩa thống kê ($\rho = 0,28$; $p = 0,379$). Đối với TFC, các hệ số tương quan Spearman với IC_{50} DPPH, IC_{50} ABTS, EC_{50} RP và IC_{50} TBARS lần lượt là 0,42; 0,53; 0,48 và 0,36, tuy nhiên đều không đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

TPC và TFC có xu hướng tương quan nghịch mức trung bình theo hệ số Pearson ($r = -0,50$; $p = 0,098$) và yếu theo hệ số Spearman ($\rho = -0,27$; $p = 0,391$), nhưng đều không có ý nghĩa thống kê. Đối

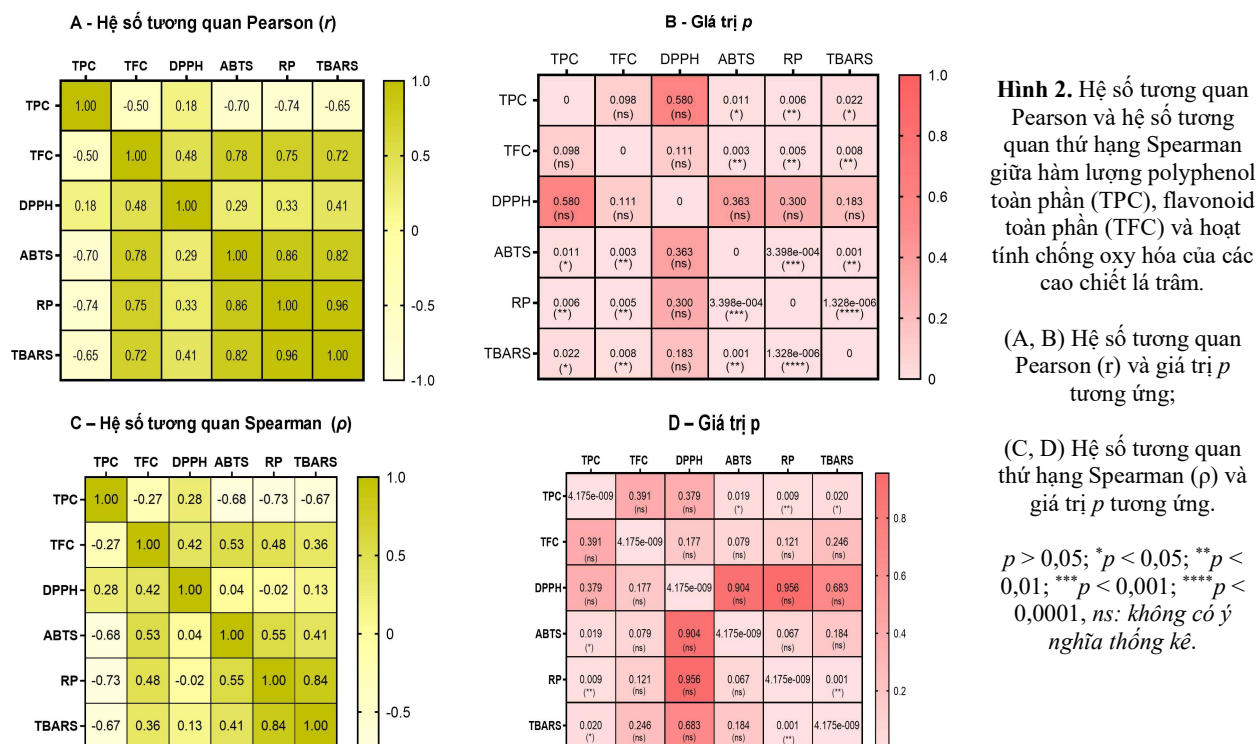
với mỗi liên hệ giữa các thực nghiệm hoạt tính, phân tích Pearson cho thấy IC_{50} ABTS tương quan thuận có ý nghĩa thống kê với EC_{50} RP ($r = 0,86$; $p < 0,001$) và IC_{50} TBARS ($r = 0,82$; $p = 0,001$), đồng thời EC_{50} RP tương quan thuận rất mạnh với IC_{50} TBARS ($r = 0,96$; $p < 0,001$). Theo phân tích Spearman, tương quan giữa EC_{50} RP và IC_{50} TBARS vẫn được duy trì ở mức mạnh và có ý nghĩa thống kê ($\rho = 0,84$; $p = 0,001$), trong khi các mối liên hệ còn lại giữa các thực nghiệm DPPH, ABTS và RP không đạt ý nghĩa thống kê.

Nhìn chung, phân tích hệ số tương quan Pearson và Spearman đều cho thấy TPC có mối liên hệ rõ hơn với hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết lá trà, đặc biệt ở các thực nghiệm ABTS, RP và TBARS.



Hình 1. Phương trình hồi quy tuyến tính giữa hàm lượng polyphenol toàn phần (TPC), flavonoid toàn phần (TFC) và hoạt tính chống oxy hóa (giá trị IC_{50} hoặc EC_{50}) của các cao chiết lá trà.

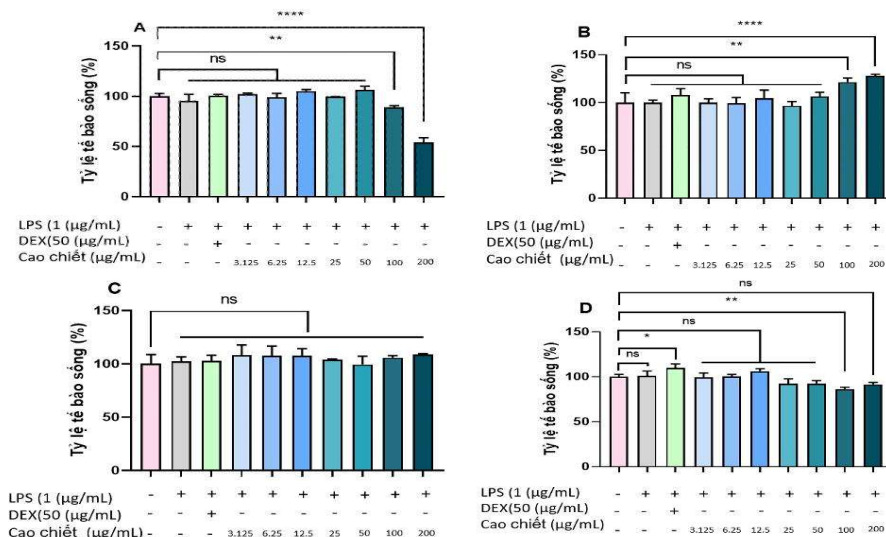
(A) Tương quan giữa hàm lượng polyphenol toàn phần (TPC) và flavonoid toàn phần (TFC); (B, C, D, E) Tương quan giữa hàm lượng polyphenol toàn phần (TPC) và giá trị IC_{50} hoặc EC_{50} của thực nghiệm DPPH, ABTS, năng lực khử (RP) và ức chế peroxy hóa lipid (TBARS); (F, G, H, I) Tương quan giữa hàm lượng flavonoid toàn phần (TFC) và giá trị IC_{50} hoặc EC_{50} của thực nghiệm DPPH, ABTS, RP và TBARS.



3.5. Hoạt tính kháng viêm của các cao chiết lá trà

Hình 3 trình bày ảnh hưởng của các cao chiết lên khả năng sống của tế bào RAW264.7. Kết quả thực nghiệm MTT cho thấy LPS trong điều kiện thí nghiệm không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sống của tế bào. Nhìn chung, cao nước, cao ethanol 70% và 96% của lá trà đều có tác động đến khả năng sống của tế bào ở nồng độ cao (100-200 µg/mL) với tỷ lệ tế bào sống tương ứng lần lượt là

86,21-91,42%; 121,41-127,88% và 89,19-54,24%. Ở nồng độ thấp (3,125-50 µg/mL), kết quả ghi nhận tỷ lệ tế bào sống không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng. Ngược lại, cao lá ethanol 45% không gây thay đổi có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tế bào sống ở các nồng độ khảo sát. Do đó, khoảng nồng độ 3,125-50 µg/mL được lựa chọn để tiếp tục đánh giá hoạt tính kháng viêm trong thử nghiệm ức chế sản sinh NO.

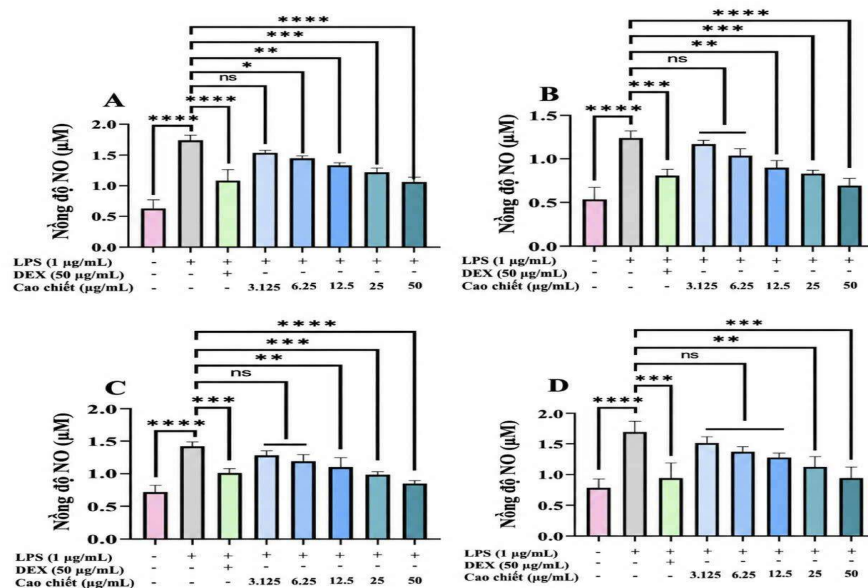


Hình 3. Ảnh hưởng của các cao chiết từ lá trà lên khả năng sống của tế bào RAW264.7. (A) Cao chiết ethanol 96%; (B) Cao chiết ethanol 70%; (C) Cao chiết ethanol 45% và (D) Cao chiết nước. $^{ns}p > 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

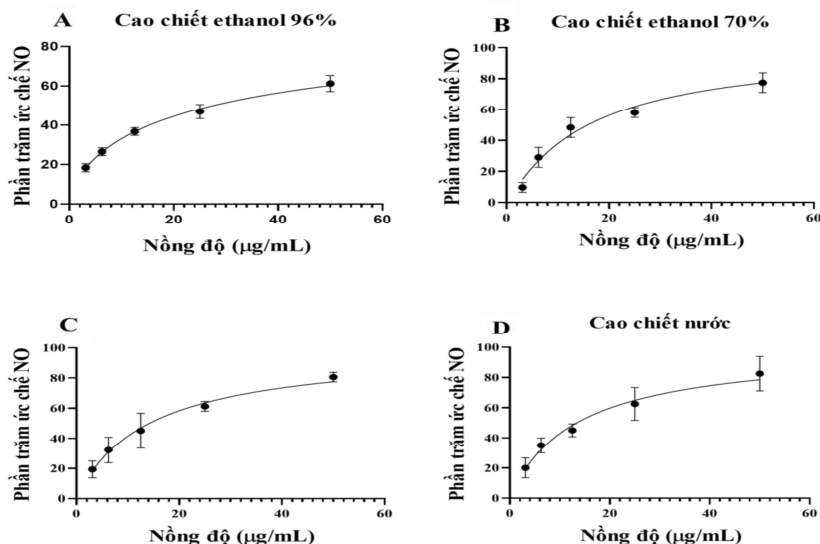
Kết quả ở Hình 4 cho thấy nhóm tế bào RAW264.7 được kích thích bằng LPS có nồng độ NO tăng rõ rệt so với nhóm LPS (-), xác nhận sự cảm ứng đáp ứng viêm trong điều kiện thí nghiệm. Khi xử lý với các cao chiết lá trà ở khoảng nồng độ không gây độc tế bào, nồng độ NO trong môi trường nuôi cấy có xu hướng giảm so với nhóm LPS (+), với mức giảm rõ hơn ở các nồng độ cao. Xu hướng này được ghi nhận ở cả bốn cao chiết khảo sát, bao gồm cao ethanol 96%, ethanol 70%, ethanol 45% và cao nước.

Trên cơ sở dữ liệu phần trăm ức chế NO, đường cong đáp ứng nồng độ được xây dựng để xác định

giá trị IC_{50} của từng cao chiết, như trình bày ở Hình 5. Giá trị IC_{50} của cao ethanol 96%, cao ethanol 70%, cao ethanol 45% và cao nước lần lượt là 27,52 $\mu\text{g/mL}$ (95% CI = 23,04-34,00 $\mu\text{g/mL}$), 15,86 $\mu\text{g/mL}$ (95% CI = 12,52-20,35 $\mu\text{g/mL}$), 14,18 $\mu\text{g/mL}$ (95% CI = 10,38-19,49 $\mu\text{g/mL}$) và 13,36 $\mu\text{g/mL}$ (95% CI = 9,28-19,26 $\mu\text{g/mL}$). So với các cao chiết, chứng dương dexamethason thể hiện hoạt tính mạnh hơn với IC_{50} là 6,25 $\mu\text{g/mL}$. Như vậy, hoạt tính ức chế NO của các cao chiết giảm dần theo thứ tự: cao nước > cao ethanol 45% > cao ethanol 70% > cao ethanol 96%.



Hình 4. Tác động của các cao chiết từ lá trà lên nồng độ nitric oxid ở tế bào RAW264.7 kích thích bởi LPS. (A) Cao chiết ethanol 96%; (B) Cao chiết ethanol 70%; (C) Cao chiết ethanol 45%; (D) Cao chiết nước. $^{ns}p > 0,05$; $^*p < 0,05$; $^{**}p < 0,01$; $^{***}p < 0,001$; $^{****}p < 0,0001$.



Hình 5. Phần trăm ức chế sản sinh NO của các cao chiết từ lá trà trên tế bào RAW264.7 kích thích bởi LPS.

4. Bàn luận

Kết quả định tính sơ bộ cho thấy lá trà tương đồng với các công bố trước đây về thành phần hóa thực vật của *S. cumini* [3],[4],[10], trong đó có sự hiện diện của một số nhóm hợp chất như carotenoid, anthraquinon, triterpenoid tự do, flavonoid, anthocyanosid, proanthocyanidin, tannin và saponin. Kết quả nghiên cứu cho thấy dung môi chiết có thể ảnh hưởng đến hiệu suất chiết và khả năng thu hồi các nhóm hợp chất từ lá trà. Cao ethanol 45% cho hàm lượng polyphenol tổng cao nhất, trong khi cao ethanol 96% cho giá trị thấp nhất, cho thấy các hợp chất phenolic chủ yếu trong lá trà có xu hướng được thu hồi tốt hơn trong môi trường có độ phân cực trung bình đến cao. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Ruan và cs. (2008) [9], trong đó các phân đoạn phân cực hơn của lá trà chứa hàm lượng hợp chất phenolic có hoạt tính sinh học cao hơn. Tuy nhiên, hàm lượng flavonoid toàn phần được ghi nhận cao nhất ở cao ethanol 96%, gợi ý rằng một số flavonoid trong lá trà có thể ít phân cực hơn so với các hợp chất phenolic khác như acid phenolic hoặc tannin. Các dung môi có độ phân cực trung bình thuận lợi hơn cho việc chiết các hợp chất phenolic, trong khi ethanol nồng độ cao phù hợp hơn cho việc chiết xuất flavonoid [18],[19]. Xu hướng này phù hợp với các nghiên cứu trước đây trên cây trà [20], trong đó các cao giàu polyphenol thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn.

Các cao chiết đều thể hiện hoạt tính bắt gốc tự do với giá trị IC_{50} DPPH dao động từ 9,18 đến 11,03 $\mu\text{g/mL}$ và IC_{50} ABTS từ 6,51 đến 11,92 $\mu\text{g/mL}$, cho thấy các cao chiết có hoạt tính bắt gốc tự do mạnh đến rất mạnh [21]. Cụ thể, ở thực nghiệm DPPH, cao nước và cao ethanol 70% cho thấy hoạt tính nổi trội, trong khi cao ethanol 45% và ethanol 96% vẫn duy trì hoạt tính mạnh. Ở thực nghiệm ABTS, cao ethanol 45% thể hiện hoạt tính mạnh nhất, tiếp theo là cao nước và cao ethanol 70% và cao ethanol 96%. Sự khác biệt giữa các thực nghiệm TBARS và năng lực khử cho thấy cao ethanol 70% thể hiện hiệu quả ức chế peroxy hóa lipid mạnh nhất, trong khi cao ethanol 45% cho năng lực khử mạnh nhất. Xu hướng này nhìn chung phù hợp với các nghiên cứu trước đây trên lá trà. Ahmed và cs. (2019) cũng cho thấy cao methanol lá trà giàu phenolic và flavonoid có tiềm năng chống oxy hóa đáng kể [10]. Kết quả báo cáo gần đây cho thấy hệ dung môi hydroethanolic cho hiệu quả thu hồi hợp chất phenolic và hoạt tính sinh học tốt hơn ethanol tuyệt đối [22], cho thấy hệ dung

môi ethanol 45% (hỗn hợp ethanol – nước) tạo ra độ phân cực phù hợp, thuận lợi hơn cho việc làm giàu các hợp chất phenolic có hoạt tính, đóng góp quan trọng hơn vào hoạt tính chống oxy hóa của lá trà.

Kết quả phân tích tương quan trong nghiên cứu này cho thấy hàm lượng polyphenol là chỉ dấu hóa học phản ánh tốt hơn tiềm năng chống oxy hóa của các cao chiết lá trà so với flavonoid. Hàm lượng polyphenol thể hiện sự nhất quán giữa cả hai phương pháp phân tích Pearson và Spearman đối với kết quả của các thực nghiệm ABTS, RP và TBARS (r và ρ đều dao động từ -0,65 đến -0,74). TPC tương quan nghịch từ trung bình đến mạnh [23],[24], có ý nghĩa thống kê với IC_{50} ABTS, EC_{50} RP và IC_{50} TBARS trong cả phân tích Pearson và Spearman, cho thấy khi hàm lượng polyphenol tăng thì nồng độ cao chiết cần thiết để đạt cùng mức đáp ứng chống oxy hóa giảm xuống, đồng nghĩa với hoạt tính mạnh hơn. Kết quả này phù hợp với báo cáo của Ruan và cs., trong đó hoạt tính chống oxy hóa của các phân đoạn lá có mối liên hệ tuyến tính đáng kể với hàm lượng phenolic, các hợp chất như catechin và acid ferulic được xem là những thành phần góp phần quan trọng vào tác dụng này [9]. Ngược lại, hàm lượng flavonoid tổng trong nghiên cứu hiện tại chỉ cho thấy xu hướng tương quan ở phân tích Pearson, nhưng không còn ý nghĩa thống kê trong Spearman. Sự mâu thuẫn này gợi ý rằng mối quan hệ giữa TFC và hoạt tính có thể bị ảnh hưởng bởi các nhóm chất khác trong cao chiết. Hơn nữa, mối tương quan thuận giữa TFC với các giá trị IC_{50}/EC_{50} còn gợi ý rằng hàm lượng flavonoid cao không nhất thiết đi kèm với hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn. Mặc dù TFC cao ở một số cao chiết (như cao chiết ethanol 96%), nhưng lại không tỷ lệ thuận với hoạt tính chống oxy hóa. Điều này có thể được giải thích bởi việc hoạt tính chống oxy hóa của lá trà không phụ thuộc vào flavonoid đơn thuần mà còn chịu ảnh hưởng bởi các nhóm phenolic khác như tannin hoặc acid phenolic. Nhận định này cũng phù hợp với nghiên cứu của Ahmed và cs., trong đó cao methanol lá *S. cumini* chứa đồng thời các hợp chất phenolic và flavonoid và cho thấy tiềm năng chống oxy hóa đáng kể, cho thấy polyphenol là yếu tố quan trọng đối với hoạt tính sinh học của lá [10]. Bên cạnh đó, việc IC_{50} DPPH không tương quan có ý nghĩa với cả TPC và TFC, trong khi IC_{50} ABTS, RP và IC_{50} TBARS lại liên hệ rõ hơn với TPC, cho thấy các thực nghiệm này phản ánh những cơ chế chống oxy hóa khác nhau; trong đó, các thực

nghiệm RP và TBARS có thể liên quan chặt hơn đến khả năng cho electron và bảo vệ ức chế peroxy hóa lipid chống tổn thương oxy hóa. Kết quả phân tích tương quan cho thấy các hợp chất polyphenol có thể đóng vai trò quan trọng trong hoạt tính chống oxy hóa của lá trà, đặc biệt là khả năng bảo vệ thông qua cơ chế ức chế peroxy hóa lipid. Ngược lại, hàm lượng flavonoid không cho thấy đóng góp tích cực vào hoạt tính chống oxy hóa trong các thực nghiệm khảo sát. Việc kết quả của các thực nghiệm ABTS, RP và TBARS tương quan chặt chẽ với nhau củng cố giả thuyết rằng các cao chiết lá trà hoạt động theo cơ chế trao đổi electron rất mạnh mẽ. Khả năng khử sắt (RP) có thể là cơ chế chủ đạo giúp lá trà bảo vệ chống peroxy hóa lipid. Việc TPC không tương quan với kết quả DPPH ($p = 0,580$) có thể do cơ chế bắt gốc tự do của DPPH chọn lọc hơn, hoặc do các hợp chất polyphenol trong lá trà phản ứng nhạy hơn với cơ chế trao đổi electron (SET) trong thực nghiệm ABTS và RP. Tổng hợp lại, kết quả gợi ý rằng polyphenol trong lá trà có vai trò nổi bật hơn đối với khả năng cho electron và ức chế peroxy hóa lipid, hơn là đối với cơ chế bắt gốc tự do DPPH.

Mô hình tế bào RAW264.7 kích thích bằng LPS được sử dụng phổ biến để sàng lọc sơ bộ hoạt tính kháng viêm *in vitro* thông qua các chỉ dấu trung gian viêm, trong đó sự tích lũy NO trong môi trường nuôi cấy thường được dùng như một chỉ dấu phản ánh mức độ hoạt hóa viêm của đại thực bào [25]. Trong nghiên cứu này, các cao chiết lá trà đều làm giảm sự sản sinh NO trong khoảng nồng độ không gây độc tế bào. Giá trị IC_{50} cho thấy hoạt tính ức chế NO khác nhau giữa các cao chiết. Cao nước thể hiện hoạt tính mạnh nhất với IC_{50} là 13,36 $\mu\text{g/mL}$, tiếp theo là cao ethanol 45% (14,18 $\mu\text{g/mL}$), cao ethanol 70% (15,86 $\mu\text{g/mL}$) và cao ethanol 96% (27,52 $\mu\text{g/mL}$). Xu hướng này gợi ý rằng các hợp chất có độ phân cực cao đến trung bình trong lá trà có thể đóng vai trò đáng kể trong khả năng làm giảm sự tích lũy NO trên mô hình RAW264.7 kích thích bằng LPS. Sự khác biệt về hoạt tính giữa các cao chiết có thể liên quan đến thành phần hóa học được thu nhận trong từng cao. Các nghiên cứu cho thấy hiệu quả chiết xuất polyphenol phụ thuộc đáng kể vào hệ dung môi, trong đó hỗn hợp dung môi nước - ethanol thường thuận lợi cho việc thu nhận các hợp chất phenolic phân cực hoặc bán phân cực [18],[19]. Đối với *S. cumini*, các công bố trước đây cũng ghi nhận loài

này chứa nhiều nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol, flavonoid, tannin, acid phenolic [3],[4],[10]. Do đó, hoạt tính mạnh hơn của cao nước, cao ethanol 45% và cao ethanol 70% có thể liên quan đến khả năng thu nhận tốt hơn các hợp chất phenolic phân cực, flavonoid glycosid hoặc tannin. Ngược lại, cao ethanol 96% có hàm lượng flavonoid toàn phần cao nhất nhưng lại có IC_{50} ức chế NO cao nhất, cho thấy TFC chưa đủ để giải thích hoạt tính kháng viêm *in vitro*. Kết quả này gợi ý rằng hoạt tính ức chế NO có thể phụ thuộc vào tổng phenolic và sự phối hợp giữa nhiều nhóm hợp chất trong cao chiết. Kết quả này phù hợp với các dữ liệu đã công bố về hoạt tính kháng viêm của *S. cumini* [8],[26]. Mặc dù các nghiên cứu này sử dụng bộ phận khác của cây, kết quả đó vẫn cho thấy *S. cumini* có khả năng điều hòa đáp ứng viêm trong các thực nghiệm *in vitro*. Ở mức độ cơ chế, các hợp chất polyphenol có thể liên quan đến điều hòa đáp ứng viêm thông qua ảnh hưởng lên stress oxy hóa, sự tạo thành NO và hoạt động của các enzym nitric oxid synthase [28].

Nhìn chung, cao nước và cao ethanol 45% là hai mẫu có hoạt tính ức chế NO nổi bật hơn. Các nghiên cứu tiếp theo cần đánh giá thêm các chỉ dấu như iNOS, COX-2, TNF- α , IL-6 và các đường tín hiệu NF- κ B/MAPK, đồng thời kết hợp phân tích thành phần bằng HPLC hoặc LC-MS để làm rõ hơn mối liên quan giữa thành phần hóa học và hoạt tính ức chế NO của lá trà.

5. Kết luận

Lá trà (*Syzygium cumini*) là nguồn dược liệu tiềm năng giàu hợp chất phenolic với hoạt tính chống oxy hóa và kháng viêm đáng chú ý. Cao chiết ethanol 45% và cao nước có hàm lượng polyphenol và các tác dụng sinh học tốt hơn. Hoạt tính chống oxy hóa và kháng viêm của lá trà có mối liên hệ mật thiết với hàm lượng polyphenol tổng. Kết quả này cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho việc lựa chọn dung môi chiết xuất hoạt chất từ lá trà có tác dụng chống oxy hóa và kháng viêm. Các nghiên cứu chuyên sâu về phân lập hoạt chất và thử nghiệm *in vivo* là cần thiết để làm rõ tác dụng của dược liệu này.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự hỗ trợ kinh phí từ Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng với mã số đề tài GVTC19.60. Nhóm nghiên cứu cũng xin chân thành cảm ơn Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu đã hỗ trợ, tạo điều kiện phòng thí nghiệm và chuyên môn để thực hiện nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Reddy V. P. (2023), Oxidative stress in health and disease, *Biomedicines*, 11(11), 2925.
2. Zuo L., Prather E. R., Stetskiy 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, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4472.
3. Ayyanar M., Subash-Babu P. (2012), *Syzygium cumini* (L.) Skeels: a review of its phytochemical constituents and traditional uses, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), 240-246.
4. Qamar M., Akhtar S., Ismail T., Wahid M., Abbas M. W., Mubarak M. S., Yuan Y., Barnard R. T., Ziora Z. M., Esatbeyoglu T. (2022), Phytochemical profile, biological properties, and food applications of the medicinal plant *Syzygium cumini*, *Foods*, 11(3), 378.
5. Lý Hải Triều, Nguyễn Lê Tuyên, Lâm Bích Thảo, Nguyễn Hoàng Dũng, Phùng Thị Thu Hương, Nguyễn Thái Biêng, Lê Văn Minh (2019), Khảo sát thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của cao chiết hạt trám mốc (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), *Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 23(4), 268-276.
6. Kaur D., Yousuf B., Qadri O. S. (2024), *Syzygium cumini* anthocyanins: recent advances in biological activities, extraction, stability, characterisation and utilisation in food systems, *Food Production, Processing and Nutrition*, 6, 34.
7. Aqil F., Gupta A., Munagala R., Jeyabalan J., Kausar H., Sharma R. J., Singh I. P., Gupta R. C. (2012), Antioxidant and antiproliferative activities of anthocyanin/ellagitannin-enriched extracts from *Syzygium cumini* L. (Jamun, the Indian Blackberry), *Nutrition and Cancer*, 64(3), 428-438.
8. Qamar M., Akhtar S., Ismail T., Yuan Y., Ahmad N., Tawab A., Ismail A., Barnard R. T., Cooper M. A., Blaskovich M. A. T., Ziora Z. M. (2021), *Syzygium cumini* (L.) Skeels fruit extracts: *in vitro* and *in vivo* anti-inflammatory properties, *Journal of Ethnopharmacology*, 271, 113805.
9. Ruan Z. P., Zhang L. L., Lin Y. M. (2008), Evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium cumini* leaves, *Molecules*, 13(10), 2545-2556.
10. Ahmed R., Tariq M., Hussain M., Andleeb A., Masoud M. S., Ali I., Mraiche F., Hasan A. (2019), Phenolic contents-based assessment of therapeutic potential of *Syzygium cumini* leaves extract, *Plos One*, 14(8), e0221318.
11. Bộ Y tế (2018), Dược điển Việt Nam V, Nhà xuất Bản Y học, Hà Nội.
12. Trần Hùng (2015), *Giáo trình phương pháp nghiên cứu dược liệu*, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.
13. Lefahal M., Zaabat N., Ayad R., Makhloufi E. H., Djarri L., Benahmed M., Laouer H., Nieto G., Akkal S. (2018), *In Vitro* assessment of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and photoprotective activities of crude methanolic extract of aerial parts of *Capnophyllum peregrinum* (L.) Lange (Apiaceae) growing in Algeria, *Medicines*, 5(2), 26.
14. Tran T. T. L., Ly H. T., Le T. K. O., Le V. M. (2024), Anti-hyperglycemic effect of herbal formula of *Moringa oleifera*, *Vernonia amygdalina* and *Centella asiatica* extracts in streptozotocin-induced hyperglycemic mice, *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 11, 100428.
15. Kızıl G., Kızıl M., Yavuz M., Emen S., Hakimoğlu F. (2008), Antioxidant activities of ethanol extracts of *Hypericum triquetrifolium* and *Hypericum scabroides*, *Pharmaceutical Biology*, 46(4), 231-242.
16. Denizot F., Lang R. (1986), Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability, *Journal of Immunological Methods*, 89(2), 271-277.
17. Suriyaprom S., Srisai P., Intachaisri V., Kaewkod T., Pekkoh J., Desvaux M., Tragoolpua Y. (2023), Antioxidant and anti-inflammatory activity on LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells of white mulberry (*Morus alba* L.) leaf extracts, *Molecules*, 28(11), 4395.
18. Dai J., Mumper R. J. (2010), Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties, *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
19. Kaczorová D., Karalija E., Dahija S., Bešta-Gajević R., Parić A., Čavar Zeljković S. (2021), Influence of extraction solvent on the phenolic profile and bioactivity of two *Achillea* Species, *Molecules*, 26(6), 1601.
20. Chagas V. T., de Sousa Coelho R. M. R., Gaspar R. S., da Silva S. A., Mastrogiovanni M., de Jesus Mendonça C., de Sousa Ribeiro M. N., de Andrade Paes A. M., Trostchansky A. (2018), Protective effects of a polyphenol-rich extract from *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaf on oxidative stress-induced diabetic rats, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 5386079.
21. Phongpaichit S., Nikom J., Rungjindamai N., Sakayaroj J., Hutadilok-Towatana N., Rukachaisirikul V., Kirtikara K. (2007), Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51(3), 517-525.
22. da Rosa A. C. S., Hoscheid J., Garcia V. A. d. S., de Oliveira Santos Junior O., da Silva C. (2024), Phytochemical extract from *Syzygium cumini* Leaf: Maximization of compound extraction, chemical characterization, antidiabetic and antibacterial activity, and cell viability, *Processes*, 12(10), 2270.
23. Schober P., Boer C., Schwarte L. A. (2018), Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation, *Anesthesia & Analgesia*, 126(5), 1763-1768.
24. Devaraj S., Paulraj S. (2015), An efficient feature subset selection algorithm for classification of multidimensional dataset, *The Scientific World Journal*, 2015, 1-9.
25. Facchin B. M., Dos Reis G. O., Vieira G. N., Mohr E. T. B., da Rosa J. S., Kretzer I. F., Demarchi I. G., Dalmarco E. M. (2022), Inflammatory biomarkers on an LPS-induced RAW 264.7 cell model: a systematic review and meta-analysis, *Inflammation Research*, 71(7-8), 741-758.
26. Syama H. P., Sithara T., Lekshmy Krishnan S., Jayamurthy P. (2018), *Syzygium cumini* seed attenuates LPS induced inflammatory response in murine macrophage cell line RAW264.7 through NF- κ B translocation, *Journal of Functional Foods*, 44, 218-226.
27. Mueller M., Janngeon K., Puttipan R., Unger F. M., Viemstein H., Okonogi S. (2015), Anti-inflammatory, antibacterial, and antioxidant activities of Thai medicinal plants, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(11), 123-128.
28. Serreli G., Deiana M. (2023), Role of dietary polyphenols in the activity and expression of nitric oxide synthases: A review, *Antioxidants* (Basel), 12(1), 147.