

## Khảo sát khả năng ức chế stress oxy hóa và chống viêm của các cao chiết phân đoạn từ lá cây *Vernonia amygdalina*

### Investigation of inhibitory potential against oxidative stress and inflammation of the fractionated extracts from *Vernonia amygdalina* leaves

Trần Gia Bửu<sup>1\*</sup>, Đỗ Bích Hằng<sup>1</sup>, Phan Trịnh Yên Bình<sup>1</sup>, Trương Hoàng Thái<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Tôn Đức Thắng, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ, Email: trangiabuu@tdtu.edu.vn

#### THÔNG TIN

DOI:10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.20.1.3775.2025

Ngày nhận: 05/10/2024

Ngày nhận lại: 26/11/2024

Duyệt đăng: 20/12/2024

#### Từ khóa:

cao ethyl acetate; chống viêm;  
Lá Đắng; ức chế stress oxy hóa;  
*Vernonia amygdalina*

#### Keywords:

ethyl acetate extract; anti-inflammatory effect; Bitter Leaf; inhibition of oxidative stress; *Vernonia amygdalina*

#### TÓM TẮT

Lá đắng (*Vernonia amygdalina*) là một loài cây dược liệu thường dùng trong nền y học cổ truyền. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học cung cấp cơ sở khoa học cho tác dụng hỗ trợ sức khỏe của loài cây này, như hoạt tính chống stress oxy hóa và kháng viêm, vẫn còn hạn chế. Trong nghiên cứu này, cao chiết methanol và những phân đoạn của nó (nước, ethyl acetate, chloroform, n-hexane) từ lá *V. amygdalina* được tạo ra bằng phương pháp tách phân đoạn. Hàm lượng phenolic tổng số, khả năng ức chế stress oxy hóa và kháng viêm *in vitro* và trên mô hình chuột của các phân đoạn này được khảo sát. Kết quả chỉ ra rằng cao ethyl acetate (LĐE) thể hiện hàm lượng phenolic tổng số cao nhất và hoạt tính ức chế stress oxy hóa, chống viêm tốt nhất. Cụ thể là, LĐE thể hiện khả năng bắt gốc tự do DPPH mạnh (khoảng 56.91%) và giá trị kháng oxy hóa tổng cao đạt 389.06mg AAE/g. Tỷ lệ ức chế biến tính protein của LĐE đạt 83.37% và độ phù nề chân chuột sau 04 giờ tiêm carragenane ở nhóm xử lý với LĐE giảm 30.54% so với nhóm chuột đối chứng âm. Kết quả nghiên cứu trên đã chứng minh tác dụng hỗ trợ sức khỏe từ những cao chiết phân đoạn *V. amygdalina* cũng như gợi ý về khả năng phát triển thành các loại dược phẩm hỗ trợ điều trị các bệnh lý liên quan stress oxy hóa và viêm.

#### ABSTRACT

Bitter leaf (*Vernonia amygdalina*) is a commonly used remedy in Vietnamese traditional medicine. However, the number of bioactivity studies providing the scientific basis for its health-beneficial effects, such as inhibitory effects against oxidative stress and inflammation, is still limited. This study produced crude (methanol) and fractionated extracts (n-hexane, chloroform, ethyl acetate, aqueous) from *V. amygdalina* leaves via solvent partitioning. The extracts' total phenolic compound contents and anti-oxidant and anti-inflammatory effects *in vitro* and mouse models have been investigated. The results revealed that the ethyl acetate extract (LĐE) had significant phenolic compounds and exhibited the best anti-oxidant and anti-inflammatory activities. In

brief, LDE possessed a strong DPPH free radical scavenging capacity of about 56.91% and a high value of total anti-oxidant capacity (389.06mg AAE/g). The protein inhibitory percentage of LDE reached 83.37%, and the paw edema after 04 hours after carrageenan injection of the LDE-treated group decreased 30.54% versus that of the control mice. These findings prove the health-beneficial effects of *V. amygdalina* extracts and their potential to develop new medicines for treating inflammation and oxidative stress-associated diseases.

## 1. Giới thiệu

Viêm là một phản ứng phòng vệ của cơ thể nhằm làm lành vết thương hoặc loại trừ các mầm bệnh, thông qua việc sản xuất các phân tử hóa học nhằm kích hoạt phản ứng miễn dịch. Thông thường, phản ứng viêm cũng kết thúc khi tổn thương được chữa lành hoặc mầm bệnh đã được loại bỏ. Tuy nhiên, đôi khi quá trình viêm kéo dài vài tháng hay vài năm (viêm mạn tính) sẽ dẫn đến đau đớn, mất chức năng tại vùng tổn thương hoặc các bệnh lý khác như bệnh tự miễn, gan nhiễm mỡ, đái tháo đường, ung thư, ... (Furman & ctg., 2019). Mặt khác, trong quá trình viêm kéo dài và không được kiểm soát, các tế bào miễn dịch tạo ra các gốc oxy hoạt động và dẫn đến tình trạng stress oxy hóa. Các gốc oxy hoạt động này lại làm phản ứng viêm trầm trọng thêm qua việc hoạt hóa con đường tín hiệu gây viêm trong tế bào, điển hình là hoạt hóa con đường NF- $\kappa$ B (Ramos-González & ctg., 2024). Hiện nay, thuốc kháng viêm được chia là hai nhóm chính là nhóm thuốc kháng viêm không steroid và nhóm glucocorticoid. Việc sử dụng lâu dài cả hai loại thuốc trên đều gây ra những phản ứng phụ gây hại sức khỏe người bệnh. Các hợp chất kháng viêm mới có nguồn gốc từ thực vật có nhiều tiềm năng ứng dụng (resveratrol, capsaicin, quercetin, EGCG, curcumin) cũng được nghiên cứu với kỳ vọng thay thế các hợp chất tổng hợp trong tương lai (Fürst & Zündorf, 2014).

Cây Lá Đắng (*Vernonia amygdalina*) là một loài cây bụi nhỏ thuộc họ Cúc (Asteraceae), đây vốn là loài cây bản địa ở Châu Phi. Hiện nay cây Lá Đắng được trồng phổ biến ở vùng khí hậu nhiệt đới, như Châu Phi và Châu Á (Nguyen & ctg., 2020). Lá cây Lá Đắng thường dùng thực phẩm (canh lá đắng) hoặc chế biến thành một loại thức uống bổ tỳ vị (Degu & ctg., 2024). Một số kinh nghiệm dân gian sử dụng cây Lá Đắng để chữa trị táo bón, rối loạn đường tiêu hóa, chữa bệnh do nhiễm khuẩn hoặc ký sinh trùng, sốt rét, hen phế quản, bệnh lý rối loạn mỡ máu (Degu & ctg., 2024; Nguyen & ctg., 2020; Phan & Tran, 2021). Tuy nhiên, các công bố khoa học chuyên sâu về tác dụng hỗ trợ sức khỏe và thành phần hoạt chất của cây Lá Đắng chỉ mới được quan tâm nghiên cứu gần đây.

Theo Edo và cộng sự (2023), cây Lá Đắng có chứa các hoạt chất sinh học như alkaloids, flavonoids, hợp chất phenolic, tannins, saponins, steroids, cyanogenic glycosides, lignans, oxalate, xanthonones, anthraquinones. Sự hiện diện của các hoạt chất này góp phần làm rõ cơ chế của những tác dụng hỗ trợ sức khỏe của cây Lá Đắng. Trong một nghiên cứu gần đây, cao chiết từ cây Lá Đắng thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa, chống ung thư mạnh (Phan & Tran, 2021). Đặc biệt là, vernonioside V, một hợp chất được phân lập từ cây Lá Đắng, có khả năng giảm tiết các cytokine gây viêm và giảm gốc superoxide (Nguyen & ctg., 2021). Các nghiên cứu trên đã tạo tiền đề để khảo sát hoạt tính ức chế stress oxy hóa và kháng viêm của cao phân đoạn từ lá cây Lá Đắng trồng ở Việt Nam.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Thu thập mẫu lá và tách chiết tạo cao phân đoạn

Mẫu lá cây Lá Đắng (*Vernonia amygdalina*) được thu nhận tại tỉnh Tiền Giang vào tháng 12/2020. Sau khi thu nhận, mẫu cây Lá Đắng được định danh bởi Tiến sĩ Vũ Huỳnh Kim Long, Khoa Dược, Trường Đại Học Tôn Đức Thắng, bằng phương pháp so sánh hình thái với mẫu chuẩn. Mẫu lá tươi được phơi khô và xay nhỏ, ngâm trong methanol (với tỷ lệ 01kg lá:02L methanol) trong 02 ngày. Sau đó, dịch lọc được thu nhận qua lọc bằng giấy Whatman, quá trình chiết như trên được lặp lại 02 lần. Sau đó, dung môi được loại bỏ khỏi dịch chiết bằng máy cô quay chân không tạo thành cao chiết tổng của cây Lá Đắng (LDM). Một phần cao chiết methanol được hòa lại vào nước tiến hành lắc và chiết lỏng-lỏng lần lượt với n-hexane, chloroform, ethyl acetate, nước tạo thành các dịch chiết phân đoạn tương ứng. Dung môi của các dịch chiết được loại bỏ bằng máy cô quay chân không và thu nhận các cao phân đoạn n-hexane (LDH), chloroform (LDC), ethyl acetate (LDE), nước (LDN).

### 2.2. Đánh giá hàm lượng phenolic

Thử nghiệm đánh giá phenolic tổng được thực hiện dựa trên phương pháp Folin Ciocalteu. Dung dịch mẫu các cao chiết (2.4mL) được trộn với 300 $\mu$ L thuốc thử Folin-Ciocalteu (pha tỷ lệ  $\frac{1}{4}$  trong nước) trong 03 phút. Sau đó, 300 $\mu$ L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% (w/v) được thêm vào. Mẫu được đặt ở nhiệt độ phòng trong 30 phút (tránh ánh sáng). Sau đó, mẫu được đo độ hấp thụ ở bước sóng 760nm. Hàm lượng polyphenol tổng số được tính toán từ đường chuẩn gallic acid (Sigma Aldrich, Mỹ) và được thể hiện dưới dạng milligram đương lượng gallic acid (mg GAE)/g cao chiết.

### 2.3. Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của các cao phân đoạn cây Lá Đắng

#### Khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH

Mẫu cao LDH, LDC, LDE, LDN, LDM được pha thành nồng độ 100  $\mu$ g/mL. Mẫu được trộn với dung dịch DPPH 0.1mM (theo tỷ lệ 1:3). Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đặt ở nhiệt độ phòng trong 0.5 giờ và mẫu được đo độ hấp thụ ở bước sóng 517nm. Khả năng bắt gốc tự do DPPH được tính dựa theo công thức:

$$\%I = (1 - A_{\text{mẫu thử}}/A_{\text{đôi chứng}}) \times 100\% \quad (1)$$

#### Khả năng kháng oxy hóa tổng bằng phương pháp phosphomolydenum

Mẫu (0.3mL) được trộn với dung dịch thuốc thử amonium molybdate (2.7mL). Mẫu được đun nóng (90°C) trong 1.5 giờ. Dịch nổi được tách bằng cách ly tâm 05 phút ở tốc độ 5,000 vòng/phút và đem đi đo độ hấp thụ ở 695nm. Khả năng kháng oxy hóa tổng được xác định dựa trên đường chuẩn ascorbic acid và được trình bày dưới dạng milligram đương lượng ascorbic acid (mg AAE) trên gram cao chiết.

### 2.4. Đánh giá hoạt tính ức chế biến tính protein

Khả năng ức chế biến tính protein (UCBTP) được xác định dựa trên phương pháp của Tran và cộng sự (2024). Cụ thể là, 0.2mL BSA 1%, 0.6mL PBS và 0.2mL cao chiết (LDH, LDC, LDE, LDN, LDM, 03 mg/mL) được trộn vào nhau. Mẫu được đun cách thủy (70°C) trong 0.25 giờ. Độ hấp thụ ở bước sóng 660nm của mẫu được xác định và tỷ lệ UCBTP được tính như sau:

$$\%I = (1 - A_{\text{mẫu thử}}/A_{\text{đôi chứng}}) \times 100\% \quad (2)$$

## 2.5. Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vivo* của cao phân đoạn

Chuột nhắt trắng (giống Swiss albino, cái), có trọng lượng 20 - 25g, 08 - 10 tuần tuổi, được cung cấp bởi Viện Pauster Thành phố Hồ Chí Minh và được cho thích nghi trong 01 tuần. Chuột được chia thành 05 con/chuồng, điều kiện chiếu sáng: 12 giờ sáng và 12 giờ tối, chuột được cho ăn thức ăn thương mại (Anifood, Viện Vắc Xin Và Sinh Phẩm Y Tế Nha Trang) và uống nước cất tự do. Các cao chiết LĐH, LĐC, LĐE, LĐN, LĐM được hòa tan bằng DMSO và bổ sung nước cất pha tiêm để nồng độ cuối của DMSO đạt 5%. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 07 nhóm (05 con/nhóm) khác nhau: 05 nhóm xử lý với cao chiết (LĐH, LĐC, LĐE, LĐN, LĐM được tiêm ở nồng độ 20mg cao chiết/kg thể trọng), 01 nhóm chuột xử lý với diclofenac (10 mg/kg thể trọng, chứng dương), 01 nhóm đối chứng (DMSO 5%, tiêm màng bụng). Một tiếng sau khi xử lý với cao chiết, chứng dương hoặc đối chứng, dung dịch carrageenan 1% (40 $\mu$ L) được tiêm vào chân chuột. Thể tích chân chuột được đo ở thời điểm bắt đầu thí nghiệm và sau mỗi 01 giờ (trong 05 giờ) bằng máy đo thể tích digital plethysmometer (LE7500, Havard Apparatus, Hoa Kỳ). Công thức tính tỷ lệ phù nề chân chuột (Pham & ctg., 2021):

$$\%I = (V_{ls} - V_{bd})/V_{bd} \times 100\% \quad (3)$$

với  $V_{ls}$  là thể tích chân của chuột ở các thời điểm đo sau khi gây phù nề,  $V_{bd}$  là thể tích chân ban đầu của chuột ở thời điểm bắt đầu thí nghiệm.

## 2.6. Xử lý thống kê

Dữ liệu được thể hiện ở dạng giá trị trung bình của các lần lặp lại và độ lệch chuẩn (SD). Phân tích One-Way ANOVA (hoặc Two-Way ANOVA) và Fisher Least Significant Difference Test được sử dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm, với giá trị  $p < 0.05$ .

## 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

### 3.1. Hiệu suất phân đoạn và hàm lượng polyphenol của các cao chiết

Sau quá trình tách chiết, ta thu được các cao chiết sau: cao phân đoạn LĐH, LĐC, LĐE, LĐN và cao tổng (LĐM) với khối lượng được thể hiện trong Bảng 1. Trong đó, phân đoạn chloroform có hiệu suất chiết cao nhất (40.1%), và sau đó lần lượt là các phân đoạn n-hexane (32.2%), cao nước (16.6%), cao ethyl acetate (11.1%). Nhìn chung, các phân đoạn phân cực trung bình và cao có hàm lượng phenolic cao hơn các phân đoạn phân cực thấp. Bên cạnh đó, khi so sánh với cao tổng LĐM, giá trị phenolic tổng của các cao LĐE, LĐC, LĐN đều cao hơn. Trong khi đó, cao n-hexane LĐH lại có giá trị phenolic thấp hơn hàm lượng phenolic của cao tổng LĐM ( $22.22 \pm 2.80$  và  $37.21 \pm 3.62$  mg GAE/g;  $p < 0.0001$ ). Đáng chú ý là, cao phân đoạn LĐE có giá trị phenolic cao gấp 3.97 lần giá trị của cao tổng LĐM. Điều đó gợi ý rằng cao phân đoạn ethyl acetate là dung môi phù hợp để tách chiết hợp chất phenolic từ mẫu lá cây Lá Đắng. Kết quả này khá tương đồng với kết quả của các công bố trước đó thể hiện cao ethyl acetate hiệu quả trong việc tách các hợp chất phenolic (da Silva & ctg., 2013). Bản chất dung môi ethyl acetate là chất phân cực và có khả năng hòa tan tốt các hợp chất phenolic trong thực vật nên cao chiết ethyl acetate có lượng phenolic cao nhất trong các cao chiết (Babbar & ctg., 2014).

**Bảng 1***Khối Lượng và Hàm Lượng Phenolic của các Cao LĐH, LĐC, LĐE, LĐN, LĐM*

Mẫu	Khối lượng	Tỉ lệ khối lượng so với cao tổng	Hàm lượng phenolic (mgGAE/g cao chiết)
LĐM	6.14g		37.21 ± 3.62
LĐH	1.98g	32.2%	22.22 ± 2.80 <sup>****</sup>
LĐC	2.46g	40.1%	60.81 ± 3.80 <sup>****</sup>
LĐE	0.68g	11.1%	147.77 ± 3.82 <sup>****</sup>
LĐN	1.02g	16.6%	47.13 ± 0.76 <sup>****</sup>

*Ghi chú:* <sup>\*\*\*\*</sup>  $p < 0.0001$ , <sup>\*\*\*</sup>  $p < 0.001$ , <sup>\*\*</sup>  $p < 0.01$ , <sup>\*</sup>  $p < 0.05$  khác biệt với cao tổng; ns: không có khác biệt thống kê với cao tổng. LĐM: cao tổng methanol; LĐH: cao n-hexane; LĐC: cao chloroform; LĐE: cao ethyl acetate; LĐN: cao nước. Dữ liệu được thể hiện ở dạng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD)

*Nguồn:* Kết quả phân tích của nhóm tác giả

### 3.2. Hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết từ cây Lá Đắng

Trong số các cao phân đoạn, cao phân đoạn LĐE có khả năng bắt gốc tự do DPPH tốt nhất (gấp 4.8 lần cao tổng) và tỷ lệ bắt gốc DPPH của LĐN cũng nổi bật hơn cao tổng ( $18.32 \pm 3.05\%$  và  $11.83 \pm 1.83\%$ ,  $p < 0.05$ ). Ngược lại, tỷ lệ bắt gốc DPPH của hai cao phân đoạn LĐH và LĐC đều không khác biệt với giá trị của cao tổng LĐM (Bảng 2). Thêm vào đó, khả năng kháng oxy hóa tổng của cao LĐE cũng là cao nhất trong 05 cao chiết, theo sau lần lượt là LĐC > LĐM và LĐH > LĐN. Đáng chú ý là, hai cao chiết LĐE và LĐC là hai cao chiết có hàm lượng phenolic cao và cũng là hai cao chiết có khả năng kháng oxy hóa tổng mạnh mẽ. Hợp chất phenolic là nhóm chất thể hiện hoạt tính ức chế stress oxy hóa hiệu quả do chúng có khả năng cho hydrogen tự do hoặc electron (Mathew & ctg., 2015). Từ đó, cao phân đoạn LĐE và LĐC có nhiều hợp chất phenolic nên khả năng bắt gốc tự do của nó cũng tốt nhất (Stagos, 2019). Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết methanol và cao nước *V. amygdalina* đã được ghi nhận trước đây (Anyasor & ctg., 2010). Do đó, nghiên cứu này góp phần chứng minh khả năng ức chế stress oxy hóa mạnh mẽ của hợp chất tự nhiên cây Lá Đắng và gợi ý nghiên cứu sâu hơn các hoạt tính liên quan stress oxy hóa như kháng viêm và khả năng ức chế biến tính protein (UCBTP).

**Bảng 2***Khả Năng Ức Chế Stress Oxy Hóa của Cao Lá Đắng*

Mẫu	Kháng oxy hóa tổng (mgAAE/g cao chiết)	Khả năng bắt gốc tự do DPPH (%)
LĐM	151.95 ± 3.83	11.83 ± 1.83
LĐH	147.55 ± 7.63 <sup>ns</sup>	10.38 ± 4.06 <sup>ns</sup>
LĐC	203.52 ± 3.33 <sup>****</sup>	15.20 ± 3.34 <sup>ns</sup>
LĐE	389.06 ± 2.88 <sup>****</sup>	56.91 ± 6.25 <sup>****</sup>
LĐN	122.70 ± 7.09 <sup>****</sup>	18.32 ± 3.05 <sup>*</sup>

*Ghi chú:* <sup>\*\*\*\*</sup>  $p < 0.0001$ , <sup>\*\*\*</sup>  $p < 0.001$ , <sup>\*\*</sup>  $p < 0.01$ , <sup>\*</sup>  $p < 0.05$  khác biệt với cao tổng; ns: không có khác biệt thống kê với cao tổng. Dữ liệu được thể hiện ở dạng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD)

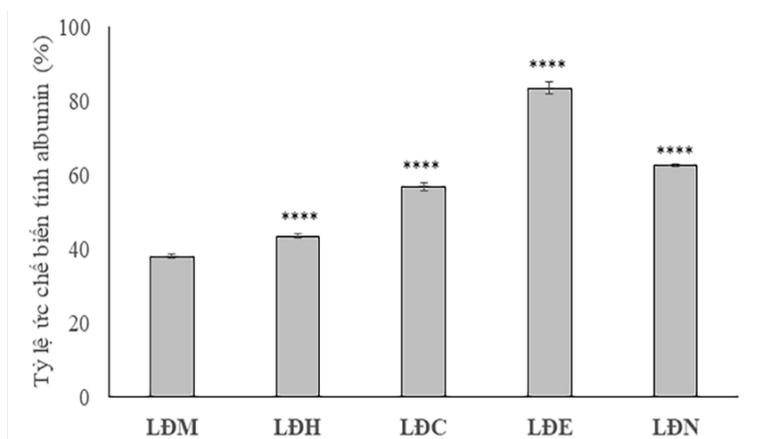
*Nguồn:* Kết quả phân tích của nhóm tác giả

### 3.3. Hoạt tính ức chế biến tính albumin của các cao chiết Lá Đẳng

Sự biến tính của protein có liên quan với sự hình thành kháng nguyên trong các bệnh lý liên quan phản ứng viêm và là một dấu chỉ cho bệnh viêm khớp và phản ứng viêm (Dharmadeva & ctg., 2018; Ruiz-Ruiz & ctg., 2017). Do đó, khả năng ức chế biến tính protein (UCBTP) được xem là một dấu chỉ để gợi ý về hoạt tính kháng viêm *in vitro* của cao chiết. Do đó, nhiều nghiên cứu đã sử dụng thử nghiệm ức chế biến tính albumin, một loại protein có nhiều trong huyết tương (chiếm khoảng 60% protein tổng số trong huyết thanh), để dự đoán và sàng lọc hoạt tính kháng viêm của cao chiết (Francis, 2010; Shaw & ctg., 2018; Williams & ctg., 2008). Theo Williams và cộng sự (2008), albumin khi bị đun nóng và biến tính sẽ hình thành các kháng nguyên liên quan phản ứng quá mẫn loại III và các bệnh lý viêm như bệnh lupus ban đỏ hệ thống, viêm khớp dạng thấp, viêm cầu thận, bệnh huyết thanh (serum sickness). Do đó, phương pháp thử nghiệm ức chế biến tính albumin thường sử dụng để sàng lọc khả năng kháng viêm của hợp chất tự nhiên chống lại các bệnh lý về viêm. Trong nghiên cứu này, cao LĐE có tỷ lệ UCBTP cao nhất với tỷ lệ ức chế đạt  $83.37 \pm 1.76\%$  (03 mg/mL), sau đó là LĐN, LĐC, LĐH, LĐM, dao động trong khoảng 62.39 - 37.89%. Đặc biệt là, tỷ lệ ức chế biến tính albumin tương quan thuận với giá trị bắt gốc DPPH của cao chiết. Theo Adachi và cộng sự (2009), stress oxy hóa không chỉ làm suy yếu phản ứng sốc nhiệt (heat shock response) của tế bào và ngăn cản quá trình hồi tính của những protein bị biến tính do nhiệt. Do đó, hoạt tính bắt gốc tự do của cao chiết hỗ trợ và ngăn cản sự biến tính albumin. Ngoài ra, dữ liệu trên cũng tạo tiền đề để tiếp tục khảo sát tiềm năng ức chế viêm *in vivo* của cao chiết.

#### Hình 1

Tỷ Lệ Ức Chế Biến Tính Protein của các Mẫu Cao LĐH, LĐC, LĐE, LĐN, LĐM



Ghi chú: \*\*\*\*  $p < 0.0001$  khác biệt với cao tổng (LĐM). Dữ liệu được thể hiện ở dạng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD)

Nguồn: Kết quả phân tích của nhóm tác giả

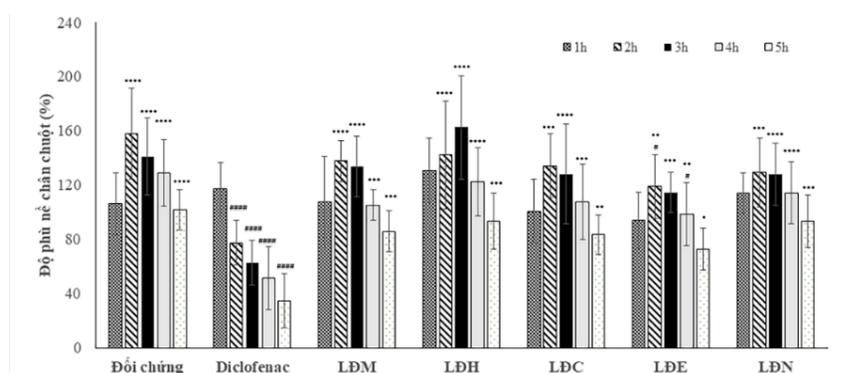
### 3.4. Hoạt tính kháng viêm *in vivo* của cao Lá Đẳng

Sau khi tiêm dung dịch carrageenan 1% vào chân chuột, tất cả chuột ở các lô thí nghiệm đều xuất hiện hiện tượng phù nề sau 01 tiếng (Hình 2). Điều này cho thấy thí nghiệm gây viêm cấp tính và phù nề chân chuột đã thành công. Ở nhóm chuột đối chứng, độ phù nề chân chuột có sự tăng rõ rệt ở thời điểm 02 giờ và 03 giờ sau khi tiêm, sau đó độ phù nề dần phục hồi. Ngược lại, ở nhóm chuột được xử lý với diclofenac (chứng dương), chân chuột có xu hướng giảm từ 02 giờ sau khi tiêm carrageenan và sự giảm độ phù nề chân chuột này khác biệt rõ rệt với nhóm đối chứng ở cùng thời điểm ( $p < 0.0001$ ) và tiếp tục giảm đến khi kết thúc thí nghiệm ở thời điểm 05 giờ (Hình 3). Kết quả trên đã tái xác nhận hiệu quả kháng viêm của thuốc thương mại (diclofenac). Cả 05 cao chiết được khảo sát trong nghiên cứu này đều có sự khác biệt thống kê

với nhóm điều trị bằng diclofenac ở cùng thời điểm (Hình 2). Điều này là do các cao chiết là hỗn hợp nhiều chất nên hoạt tính kháng viêm của cao chiết sẽ không bằng hoạt chất tinh khiết. Tuy nhiên, trong 05 cao khảo sát, chỉ duy nhất nhóm chuột được tiêm màng bụng LDE có sự khác biệt về độ phù nề chân với nhóm đối chứng ở các thời điểm 02 giờ và 04 giờ sau khi tiêm carrageenan. Cụ thể là, độ phù nề chân chuột tiêm LDE giảm khoảng 30.54% so với nhóm chuột đối chứng ở thời điểm sau khi tiêm carrageenan 04 tiếng (với giá trị đo được lần lượt là  $98.46 \pm 23.43\%$  và  $129.00 \pm 24.60\%$  ( $p < 0.05$ ). Ngược lại, độ phù nề chân ở nhóm chuột xử lý với các cao chiết LDM, LDH, LDC, LDN đều không khác biệt với nhóm đối chứng ở thời điểm 04 tiếng sau tiêm (Hình 2). Kết quả trên thể hiện khả năng ức chế viêm trên chuột ở cao LDE là nổi bật nhất trong 05 cao khảo sát. Ở thời điểm 05 giờ sau khi tiêm, độ phù nề chân chuột của các cao LDE, LDC, LDM, LDH, LDN dao động từ 72.76 đến 93.33%. Điều đó cho thấy, không có cao chiết nào thể hiện hiệu quả tương đương so với chứng dương diclofenac (34.67%) (Hình 3). Mặc dù các cao chiết đều có sự khác biệt với nhóm xử lý với chứng dương, nhưng nhóm được tiêm LDE có xu hướng tiến gần với giá trị của nhóm chứng dương và có ít sự khác biệt thống kê hơn hẳn các nhóm khác (Hình 2). Điều này cho thấy khả năng kháng viêm *in vivo* mạnh của cao chiết ethyl acetate. Các chất kháng oxy hóa điều hòa các nhân tố phiên mã liên quan phản ứng viêm, kìm hãm hoạt động của các cytokine tiền viêm, các con đường tín hiệu và enzyme liên quan phản ứng viêm (Mucha & ctg., 2021). Thêm vào đó, hợp chất phenolic có khả năng điều hòa sự sản xuất những phân tử tín hiệu điều khiển quá trình viêm như nitric oxide, arachidonic acid, leukotriene, prostaglandin, và tác động lên các con đường tín hiệu tế bào liên quan phản ứng viêm, như tác động hệ thống enzyme tyrosine và serine threonine protein kinase (Hussain & ctg., 2016). Do đó, cao chiết ethyl acetate có hàm lượng hợp chất phenolic, khả năng bắt gốc tự do DPPH, và khả năng kháng oxy hóa tổng cao nhất thể hiện hoạt tính kháng viêm trên chuột tốt. Mặt khác, nghiên cứu này hỗ trợ chứng minh hoạt tính sinh học, đặc biệt là khả năng kháng viêm *in vivo* của các cao chiết *V. amygdalina*. Trong nghiên cứu trước, cao chiết methanol *V. amygdalina* đã thể hiện hoạt tính kháng viêm tốt trên chuột với độ giảm phù chân chuột 41.4 - 68.6% ở nồng độ 50 - 200 mg/kg sau 04h tiêm carrageenan (Onasanwo & ctg., 2017). Tương tự, kết quả của chúng tôi cũng cho thấy phân đoạn LDE giảm độ phù nề chân chuột nhưng với tỷ lệ thấp hơn. Sự khác biệt này có thể là do thử nghiệm trước đó sử dụng chuột cống Wistar (Wistar rat) với liều lượng cao chiết cao hơn (50 - 200 mg/kg), trong khi đó, nghiên cứu này sử dụng chuột nhắt trắng Swiss với liều 20mg cao chiết/kg thể trọng.

## Hình 2

Đồ Thị Thể Hiện Độ Phù Nề Chân Chuột của các Mẫu LDH, LDC, LDE, LDN, LDM



Ghi chú: \*\*\*\* $p < 0.0001$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$  khác biệt với chứng dương (diclofenac) ở cùng thời điểm. ##### $p < 0.0001$ , # $p < 0.05$  khác biệt với đối chứng ở cùng thời điểm. Phân tích Two-Way ANOVA và Fisher Least Significant Difference Test được sử dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm, với giá trị  $p < 0.05$ . Dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD)

Nguồn: Kết quả phân tích của nhóm tác giả

### Hình 3

Ảnh Chụp Đại Diện Độ Phù Nề Chân Chuột của các Nhóm Chuột Thử Nghiệm sau khi Tiêm Carrageenan 05 Tiếng



Ghi chú: LĐM: cao tổng methanol; LĐH: cao n-hexane; LĐC: cao chloroform; LĐE: cao ethyl acetate; LĐN: cao nước

Nguồn: Kết quả phân tích của nhóm tác giả

### 4. Kết luận

Nghiên cứu này đã thể hiện cao ethyl acetate từ lá của cây Lá Đắng có hàm lượng hợp chất phenolic cao và khả năng chống stress oxy hoá cao nhất thông qua các thử nghiệm đánh giá khả năng bắt gốc tự do DPPH và khả năng oxy hoá tổng. Đồng thời, cao ethyl acetate thể hiện khả năng ức chế biến tính albumin tốt và hoạt tính kháng viêm tốt trên chuột thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu trên tạo tiền đề để phát triển các nghiên cứu sâu hơn về tinh sạch các hoạt chất chính có trong cao chiết từ lá cây Lá Đắng và cơ chế phân tử của hoạt tính kháng viêm và chống stress oxy hóa của các hoạt chất đó. Đồng thời, các thử nghiệm chuyên sâu về tính sinh khả dụng, tính hiệu lực và nồng độ tối ưu của các cao chiết, hoạt chất trong *in vivo* cần được tiến hành nhằm phát triển các sản phẩm từ cây Lá Đắng. Nghiên cứu này mở ra hướng ứng dụng tiềm năng của cây Lá Đắng trong ngành công nghiệp dược, dưới dạng thực phẩm chức năng, dược phẩm, hợp chất tự nhiên, hỗ trợ các bệnh lý liên quan stress oxy hóa và viêm.

### Tài liệu tham khảo

- Adachi, M., Liu, Y., Fujii, K., Calderwood, S. K., Nakai, A., Imai, K., & Shinomura, Y. (2009). Oxidative stress impairs the heat stress response and delays unfolded protein recovery. *PLoS One*, 4(11), Article e7719. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007719>
- Anyasor, S. N., Ogunwenmo, K. O., Ogunnowo, A. A., & Alao-Sanni, O. (2010). Comparative antioxidant, phytochemical and proximate analysis of aqueous and methanolic extracts of *Vernonia amygdalina* and *Talinum triangulare*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(3), 259-264.
- Babbar, N., Oberoi, H. S., Sandhu, S. K., & Bhargav, V. K. (2014). Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of anti-oxidants. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2568-2575. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0754-4>

- da Silva, J. B., Temponi, V. dosS., Gasparetto, C. M., Fabri, R. L., Aragão, D. M., Pinto, N. deC., Ribeiro, A., Scio, E., Del-Vechio-Vieira, G., de Sousa, O. V., & Alves, M. S. (2013). *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae): A promising source of anti-oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, Article 698018. <https://doi.org/10.1155/2013/698018>
- Degu, S., Meresa, A., Animaw, Z., Jegnie, M., Asfaw, A., & Tegegn, G. (2024). *Vernonia amygdalina*: A comprehensive review of the nutritional makeup, traditional medicinal use, and pharmacology of isolated phytochemicals and compounds. *Frontiers in Natural Products*, 3, Article 1347855. <https://doi.org/10.3389/fntpr.2024.1347855>
- Dharmadeva, S., Galgamuwa, L. S., Prasadinie, C., & Kumarasinghe, N. (2018). *In vitro* anti-inflammatory activity of *Ficus racemosa* L. bark using albumin denaturation method. *Ayu*, 39(4), 239-242. [https://doi.org/10.4103/ayu.AYU\\_27\\_18](https://doi.org/10.4103/ayu.AYU_27_18)
- Edo, G. I., Samuel, P. O., Jikah, A. N., Onoharigho, F. O., Idu, L. I., Obasohan, P., Opiti, A. R., Electric, J., Ikpekor, V. O., Otunuya, C. F., Ugbuwe, E., Ongulu, J., Ijide, M., Nwaose, I. D., Ajakaye, S. R., & Owigho, J. E. (2023). Biological and bioactive components of bitter leaf (*Vernonia amygdalina* leaf): Insight on health and nutritional benefits. A review. *Food Chemistry Advances*, 3, Article 100488. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100488>
- Francis G. L. (2010). Albumin and mammalian cell culture: Implications for biotechnology applications. *Cytotechnology*, 62(1), 1-16. <https://doi.org/10.1007/s10616-010-9263-3>
- Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., Ferrucci, L., Gilroy, D. W., Fasano, A., Miller, G. W., Miller, A. H., Mantovani, A., Weyand, C. M., Barzilai, N., Goronzy, J. J., Rando, T. A., Effros, R. B., Lucia, A., Kleinstreuer, N., & Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature Medicine*, 25(12), 1822-1832. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
- Fürst, R., & Zündorf, I. (2014). Plant-derived anti-inflammatory compounds: Hopes and disappointments regarding the translation of preclinical knowledge into clinical progress. *Mediators of Inflammation*, 2014, Article 146832. <https://doi.org/10.1155/2014/146832>
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016). Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, Article 7432797. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>
- Mathew, S., Abraham, T. E., & Zakaria, Z. A. (2015). Reactivity of phenolic compounds towards free radicals under in vitro conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5790-5798. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1704-0>
- Mucha, P., Skoczyńska, A., Małecka, M., Hikisz, P., & Budzisz, E. (2021). Overview of the anti-oxidant and anti-inflammatory activities of selected plant compounds and their metal ions complexes. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(16), Article 4886. <https://doi.org/10.3390/molecules26164886>
- Nguyen, N. H., Nguyen, T. M., Little, P. J., Do, T. A., Tran, T. P., Vo, N. X., & Do, H. B. (2020). Vernolide-A and vernodaline: Sesquiterpene lactones with cytotoxicity against cancer. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology: Official Organ of The International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 39(4), 299-308. <https://doi.org/10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2020034066>

- Nguyen, T. T. X., Dang, L. D., Ngo, Q. V., Trinh, C. T., Trinh, N. Q., Do, D. T., & Thanh, T. T. T. (2021). Anti-inflammatory activity of a new compound from *Vernonia amygdalina*. *Natural Product Research*, 35(23), 5160-5165. <https://doi.org/14786419.2020.1788556>
- Onasanwo, S. A., Oyebanjo, O. T., Ajayi, A. M., & Olubori, M. A. (2017). Anti-nociceptive and anti-inflammatory potentials of *Vernonia amygdalina* leaf extract via reductions of leucocyte migration and lipid peroxidation. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(2), 192-198. <https://doi.org/10.5455/jice.20170330010610>
- Pham, T. V., Hoang, T. H. N., Nguyen, H. T., Nguyen, H. M., Huynh, T. C., Vu, Y. T., Do, T. A., Nguyen, N. H., & Do, H. B. (2021). Anti-inflammatory and antimicrobial activities of compounds isolated from *Distichochlamys benenica*. *BioMed Research International*, 2021(1), Article 6624347. <https://doi.org/10.1155/2021/6624347>
- Phan, N. T. T., & Tran, T. T. (2021). Investigation of the bioactivities of extracts from *Vernonia amygdalina* Del. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 947(1), Article 012040. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/947/1/012040>
- Ramos-González, E. J., Bitzer-Quintero, O. K., Ortiz, G., Hernández-Cruz, J. J., & Ramírez-Jirano, L. J. (2024). Relationship between inflammation and oxidative stress and its effect on multiple sclerosis. *Neurologia*, 39(3), 292-301. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2021.10.010>
- Ruiz-Ruiz, J. C., Matus-Basto, A. J., Acereto-Escoffié, P., & Segura-Campos, M. R. (2017). Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* honey. *Food and Agricultural Immunology*, 28(6), 1424-1437. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1347148>
- Shaw, Y., Williams, L., Green, C., Rodney, S., & Smith, A. (2018). In-vitro evaluation of the anti-inflammatory potential of selected Jamaican plant extracts using the bovine serum albumin protein denaturation assay. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 47(1), 145-153.
- Stagos D. (2019). Anti-oxidant activity of polyphenolic plant extracts. *Anti-oxidants (Basel, Switzerland)*, 9(1), Article 19. <https://doi.org/10.3390/antiox9010019>
- Tran, B. G., Pham, T. V., Le, A. T., Nguyen, N. H., Vo, H. N. H., & Do, H. B. (2024). Chemical composition and the anti-inflammatory effect of volatile compounds from *Anaxagorea luzonensis* A. Gray. *Zeitschrift fur Naturforschung. C. Journal of Biosciences*, 79(9/10), 329-336. <https://doi.org/10.1515/znc-2023-0177>
- Williams, L. A., O'Connar, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J. A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H., & Kraus, W. (2008). The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *The West Indian Medical Journal*, 57(4), 327-331.

