

KHẢO SÁT MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC *IN VITRO* CỦA MẪU TRÀ THẢO DƯỢC TUỆ TĨNH

Phạm Thị Anh[✉], Vũ Đức Lợi, Bùi Thị Hào
Trương Anh Tuấn, Triệu Thị Gấm

Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

Trà Thảo Dược Tuệ Tĩnh là sản phẩm trà túi lọc được bào chế từ các dược liệu truyền thống gồm nấm lim xanh (*Ganoderma lucidum*), nhân trần (*Adenosma caeruleum*), kim ngân (*Lonicera japonica*), hoa nhài (*Jasminum sambac*), nụ vối (*Cleistocalyx operculatus*) và cam thảo (*Glycyrrhiza uralensis*). Nghiên cứu này nhằm sàng lọc một số hoạt tính sinh học *in vitro* của Trà Thảo Dược Tuệ Tĩnh. Hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá bằng phép thử DPPH; hoạt tính chống viêm được khảo sát trên dòng đại thực bào RAW264.7 kích thích bằng lipopolysaccharid (LPS) thông qua khả năng ức chế tạo nitric oxid (NO) và giảm biểu hiện các cytokin tiền viêm IL-1 β và IL-6; tác dụng bảo vệ tế bào gan được đánh giá trên mô hình tế bào HepG2 gây độc bởi CCl₄. Kết quả cho thấy Trà Thảo Dược Tuệ Tĩnh có khả năng chống oxy hóa đáng kể ($SC_{50} = 54,58 \pm 3,32 \mu\text{g/mL}$), ức chế tạo NO theo phụ thuộc nồng độ ($IC_{50} = 59,52 \pm 2,17 \mu\text{g/mL}$), làm giảm nồng độ IL-1 β và IL-6, đồng thời thể hiện tác dụng bảo vệ tế bào gan ($EC_{50} = 56,93 \pm 4,71 \mu\text{g/mL}$). Các dữ liệu này cho thấy tiềm năng chống oxy hóa, chống viêm và bảo vệ gan của sản phẩm, tạo cơ sở khoa học ban đầu cho các nghiên cứu tiếp theo trên mô hình *in vivo*.

Từ khóa: Trà thảo dược, chống oxy hóa, DPPH, chống viêm, nitric oxid, IL-1 β , IL-6, HepG2, CCl₄.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Stress oxy hóa và viêm mạn tính là hai cơ chế bệnh sinh trung tâm, tham gia vào quá trình khởi phát và tiến triển của nhiều bệnh lý mạn tính (thoái hóa, tim mạch, rối loạn chuyển hóa, ung thư). Sự mất cân bằng giữa quá trình tạo các loại oxy/nitơ phản ứng (ROS/RNS) và hệ thống chống oxy hóa nội sinh dẫn đến tích lũy ROS/RNS, gây peroxy hóa lipid màng, biến đổi protein và tổn thương DNA; đồng thời hoạt hóa các đường truyền tín hiệu tiền viêm và duy trì “vòng xoắn” oxy hóa - viêm.¹

Trong đáp ứng viêm, đại thực bào là tế bào hiệu ứng quan trọng thông qua phóng thích các chất trung gian như nitric oxide (NO) và các cytokin tiền viêm (điển hình IL-1 β , IL-6).

NO có vai trò sinh lý trong điều hòa miễn dịch; tuy nhiên khi được tạo ra quá mức (đặc biệt dưới kích thích LPS) có thể góp phần gây tổn thương mô và khuếch đại đáp ứng viêm. Vì vậy, các tác nhân có khả năng đồng thời làm giảm stress oxy hóa và điều hòa các dấu ấn viêm (NO/cytokin) được xem là hướng tiếp cận tiềm năng trong nghiên cứu dự phòng và hỗ trợ điều trị.²

Trong những năm gần đây, các chế phẩm thảo dược đường uống được sử dụng rộng rãi dưới dạng sản phẩm hỗ trợ sức khỏe. Mẫu trà thảo dược Tuệ Tĩnh là công thức phối hợp gồm nấm lim xanh (*Ganoderma lucidum*), nhân trần (*Adenosma caeruleum*), kim ngân (*Lonicera japonica*), hoa nhài (*Jasminum sambac*), nụ vối (*Cleistocalyx operculatus*) và cam thảo (*Glycyrrhiza uralensis*). Nhiều dược liệu trong công thức đã được ghi nhận chứa các nhóm chất có hoạt tính sinh học liên quan đến điều

Tác giả liên hệ: Phạm Thị Anh

Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

Email: phamanhydhct2025@gmail.com

Ngày nhận: 30/12/2025

Ngày được chấp nhận: 14/01/2026

hòa stress oxy hóa và đáp ứng viêm (ví dụ triterpenoid/polysaccharid của *Ganoderma*, polyphenol/flavonoid của *Lonicera*, hợp chất của cam thảo, và polyphenol của nụ vối), gợi ý tiềm năng tác động lên trục ROS/RNS-NO-cytokin.³⁻⁵

Tuy nhiên, để định hướng phát triển sản phẩm dựa trên bằng chứng, cần có dữ liệu sàng lọc ban đầu từ các mô hình *in vitro* chuẩn hóa nhằm (i) định lượng mức độ hoạt tính, (ii) lựa chọn chỉ dấu sinh học phù hợp, và (iii) làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về thành phần, cơ chế tác dụng và đánh giá *in vivo*. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát một số hoạt tính sinh học *in vitro* của mẫu trà thảo dược TT, bao gồm: (1) chống oxy hóa bằng phép thử DPPH; (2) chống viêm trên dòng RAW264.7 kích thích LPS thông qua ức chế tạo NO và giảm IL-1 β /IL-6; và (3) bảo vệ tế bào gan trên mô hình HepG2 gây độc bởi CCl₄.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Mẫu nghiên cứu: Trà thảo dược Tuệ Tĩnh được bào chế dưới dạng trà túi lọc dạng bột, từ các dược liệu gồm nhân trần 6,7%, kim ngân hoa 13,3%, hoa nhài 33,3%, nấm lim xanh 13,3%, cam thảo bắc 13,4% và nụ vối 20% với tổng khối lượng 3,0 g cho mỗi túi lọc. Mẫu nghiên cứu sau khi bào chế hoàn chỉnh đã được kiểm nghiệm các chỉ tiêu an toàn thực phẩm bao gồm kim loại nặng, vi sinh vật. Kết quả kiểm nghiệm cho thấy các chỉ tiêu đều đạt yêu cầu an toàn theo giới hạn cho phép.

Mẫu thử sử dụng trong các thí nghiệm sinh học *in vitro* là cao chiết của sản phẩm Trà Thảo Dược Tuệ Tĩnh thu được, bằng phương pháp đun hồi lưu ở nhiệt độ 100°C với dung môi nước trong 60 phút theo tỷ lệ 3g bột trà được chiết với 100ml nước. Dịch chiết được cô cách thủy dưới áp suất giảm đến gần khô, sau đó sấy đến khối

lượng không đổi để thu cao chiết toàn phần (TT) sau đó được bảo quản ở 4°C và hòa tan lại trong dung môi thích hợp để pha thành các nồng độ khảo sát trong các thí nghiệm *in vitro*.

Dòng tế bào: RAW264.7 (ATCC® TIB-71™, ATCC, USA) và HepG2 (ATCC® HB-8065™ hoặc nguồn tương đương).

Hoá chất: DPPH, L-ascorbic acid, LPS (*E. coli*), MTT, DMSO (Sigma-Aldrich, USA); thuốc thử Griess (Sigma-Aldrich); kit ELISA mouse IL-1 β và IL-6 (Mabtech, Sweden).

Thiết bị: Đĩa 96 giếng (Corning, USA); tủ ấm CO₂ (Thermo Fisher Scientific, USA); máy đọc microplate (BioTek, USA).

Thiết bị: đĩa 96 giếng, tủ ấm CO₂ (37°C, 5% CO₂), máy đọc microplat.

2. Phương pháp

Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa bằng DPPH

Mẫu thử TT được pha dung dịch gốc trong methanol và pha loãng thành các nồng độ khảo sát (0,8; 4; 20; 100 μ g/mL). Dung dịch DPPH 0,25mM được pha trong methanol. Trên đĩa 96 giếng, hút 100 μ L dung dịch mẫu và bổ sung 100 μ L DPPH (tỷ lệ 1:1). Sau 30 phút ở nhiệt độ phòng, đo độ hấp thụ ở 517nm. Khả năng trung hòa gốc tự do của mẫu được tính theo công thức:

$$\%SA = \frac{(OD_{\text{đối chứng}} - OD_{\text{mẫu thử}}) \times 100}{OD_{\text{đối chứng}}}$$

SC₅₀ (nồng độ trung hòa 50% gốc DPPH) được xác định bằng phần mềm TableCurve 2Dv4.

L-ascorbic acid được dùng làm đối chứng tham khảo.⁶

Đánh giá hoạt tính chống viêm trên RAW264.7

Tế bào RAW264.7 được nuôi cấy trong DMEM bổ sung 10% FBS và 1% kháng sinh.

Tế bào được gieo vào đĩa 96 giếng ở mật độ 2×10^5 tế bào/giếng và ủ 24 giờ. Sau đó thay bằng DMEM không FBS trong 3 giờ. Mẫu thử TT được ủ tiền xử lý 2 giờ trước khi kích thích bằng LPS (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) trong 24 giờ. Định lượng NO (nitrit) bằng thuốc thử Griess: chuyển 100 μL dịch nuôi cấy sang đĩa mới, thêm 100 μL thuốc thử Griess (50 μL sulfanilamide 1% trong H_3PO_4 5% và 50 μL NED 0,1%), ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng, đo OD tại 540nm.

Tỷ lệ ức chế NO được tính theo:

$$\% \text{ ức chế NO} = (\text{ODchứng (+)} - \text{ODmẫu thử}) / (\text{ODchứng (+)} - \text{ODchứng (-)}) \times 100\%$$

IC_{50} được tính bằng hồi quy phi tuyến trên Excel.

Định lượng IL-1 β và IL-6: thực hiện theo phương pháp ELISA sandwich theo hướng dẫn nhà sản xuất; đọc OD ở bước sóng 450 nm và suy ra nồng độ từ đường chuẩn.²

Đánh giá hoạt tính bảo vệ tế bào gan trên HepG2

Tế bào HepG2 được nuôi trong môi trường DMEM bổ sung 10% FBS trong điều kiện 37°C,

5% CO_2 . Tế bào được gieo vào đĩa 96 giếng ở mật độ 3×10^4 tế bào/giếng và ủ 24 giờ. Mẫu TT được đưa vào các giếng ở các nồng độ khác nhau (0,8; 4; 20; 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) với sự có mặt của CCl_4 40 mM và ủ 2 giờ. Khả năng sống sót của tế bào được đánh giá bằng MTT (50 μL , 1 mg/mL, ủ 4 giờ; hòa tan formazan bằng DMSO; đọc OD tại 540 nm). Hiệu quả bảo vệ được tính theo:

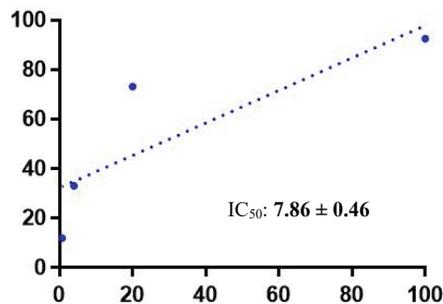
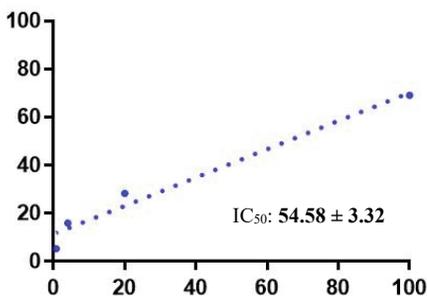
$$\% \text{ bảo vệ} = [(\text{OD}_{\text{mẫu} + \text{CCl}_4} - \text{OD}_{+\text{CCl}_4}) / (\text{OD}_{-\text{CCl}_4} - \text{OD}_{+\text{CCl}_4})] \times 100.$$

Giá trị EC_{50} được xác định bằng TableCurve 2Dv4. Quercetin được sử dụng làm đối chứng tham khảo.⁷

Xử lý số liệu

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn (TB \pm SD). Các phép thử được thực hiện lặp lại theo quy trình phòng thí nghiệm (n = 3); Các giá trị $\text{IC}_{50}/\text{SC}_{50}/\text{EC}_{50}$ được ước tính bằng hồi quy phi tuyến theo phần mềm tương ứng. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$

III. KẾT QUẢ



(A) Mẫ thử TT (B) Acid ascorbic

Biểu đồ 1. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của mẫu thử TT và acid ascorbic

Hình ảnh ở Biểu đồ 1 cho thấy khả năng ức chế DPPH của mẫu thử TT và acid ascorbic tăng dần theo nồng độ khảo sát. Ở nồng độ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mẫu thử TT đạt hiệu quả ức chế cao nhất là 69,07%, trong khi acid ascorbic đạt 92,49%. Giá

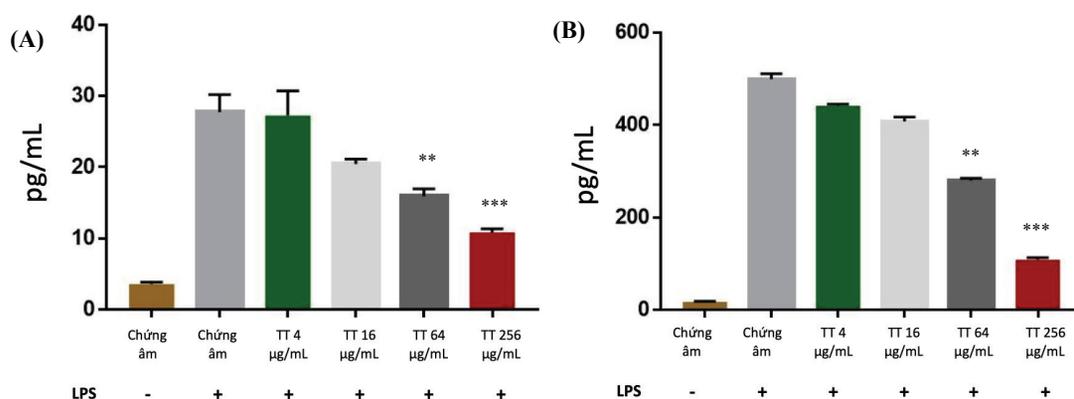
trị IC_{50} của hai mẫu lần lượt là $54,58 \pm 3,32$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ và $7,86 \pm 0,46$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kết quả này cho thấy cả hai mẫu đều có khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH, tuy nhiên hiệu lực của L- acid ascorbic cao gấp khoảng 7 lần so với mẫu thử TT.

Bảng 1. Khả năng ức chế giải phóng NO của mẫu thử TT

Mẫu	IC ₅₀ (µg/mL)	% Tế bào sống sót tại nồng độ 256 µg/mL
Mẫu thử TT	59,52 ± 2,17	92,09 ± 2,06
Indomethacin	32,54 ± 2,01	95,98 ± 3,44

Bảng 1 cho thấy mẫu thử TT có khả năng ức chế giải phóng NO với giá trị IC₅₀ là 59,52 ± 2,17 µg/mL, thấp hơn so với đối chứng dương là indomethacin (32,54 ± 2,01 µg/mL). Ở nồng

độ 256 µg/mL, tỷ lệ tế bào sống sót sau khi tiếp xúc với mẫu thử vẫn đạt 92,09 ± 2,06 %, cho thấy mẫu thử an toàn trên dòng tế bào RAW264.7.



Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của mẫu thử TT lên khả năng giải phóng IL-1β (A) và IL-6 (B) của mẫu TT trên tế bào RAW264.7.

p* < 0,01; *p* < 0,01 so với lô chứng âm LPS (+)

Tác dụng của mẫu thử TT lên sự giải phóng cytokin (IL-1β và IL-6) gây viêm được đánh giá thông qua thử nghiệm ELISA. Kết quả được thể hiện ở Biểu đồ 2 cho thấy, tại 4 nồng độ nghiên cứu là 4,16, 64, 256 µg/mL, lượng cytokin giải

phóng ra giảm dần khi tăng nồng độ mẫu thử. Tuy nhiên chỉ tại nồng độ 64 và 256 µg/mL mới giảm lượng IL-1β và IL-6 có ý nghĩa thống kê so với mẫu chứng có mặt LPS (+) (*p* < 0,01 và *p* < 0,001).

Bảng 2. Hiệu quả bảo vệ tế bào HepG2 của mẫu thử TT trước độc tính CCl₄

Nồng độ (µg/mL)	% bảo vệ (TB)	SD	Đối chứng (Quercetin)
100	84,53	5,17	92,27 ± 4,01
20	21,16	2,03	34,10 ± 2,05
4	9,26	0,96	17,16 ± 1,35
0,8	6,92	0,71	6,05 ± 0,45
EC ₅₀ (µg/mL)	56,93 ± 4,71		36,33 ± 3,40

Bảng 2 cho thấy mẫu thử TT có tác dụng bảo vệ tế bào HepG2 trước độc tính CCl_4 theo xu hướng phụ thuộc nồng độ. Ở 100 $\mu\text{g/mL}$, mẫu thử TT đạt $84,53 \pm 5,17\%$ bảo vệ, tiệm cận nhưng thấp hơn đối chứng dương quercetin ($92,27 \pm 4,01\%$). Khi giảm nồng độ xuống 20 và 4 $\mu\text{g/mL}$, hiệu quả của mẫu thử TT giảm còn $21,16 \pm 2,03\%$ và $9,26 \pm 0,96\%$, nhìn chung thấp hơn quercetin ở các mức tương ứng. Ở 0,8 $\mu\text{g/mL}$, mẫu thử TT chỉ còn $6,92 \pm 0,71\%$, gần mức nền và tương đương quercetin ($6,05 \pm 0,45\%$). Giá trị EC_{50} của TT ($56,93 \pm 4,71 \mu\text{g/mL}$) cao hơn quercetin ($36,33 \pm 3,40 \mu\text{g/mL}$), cho thấy mẫu thử TT kém mạnh hơn đối chứng nhưng vẫn thể hiện tiềm năng bảo vệ tế bào gan *in vitro*.

IV. BÀN LUẬN

Stress oxy hóa đóng vai trò nền tảng trong cơ chế bệnh sinh của nhiều rối loạn mạn tính; do đó, sàng lọc tiềm năng chống oxy hóa của chế phẩm thảo dược là bước khởi đầu cần thiết để định hướng nghiên cứu thành phần - cơ chế và phát triển sản phẩm. Trong nghiên cứu này, khả năng bắt giữ gốc tự do được đánh giá bằng phép thử DPPH, một phương pháp hóa học kinh điển sử dụng gốc 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•). Nguyên lý của phép thử dựa trên sự suy giảm hấp thụ đặc trưng của DPPH•, chỉ số SC_{50} (nồng độ gây trung hòa 50% gốc DPPH•) được sử dụng để so sánh hiệu lực giữa các mẫu.⁶ Kết quả tại Biểu đồ 1 cho thấy mẫu thử TT ức chế DPPH theo xu hướng phụ thuộc nồng độ, đạt hiệu quả trung hòa tối đa 69,07% ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$, và có $\text{SC}_{50} = 54,58 \pm 3,32 \mu\text{g/mL}$. Theo một số phân loại, khoảng $\text{SC}_{50}/\text{IC}_{50}$ 50 - 100 $\mu\text{g/mL}$ được xem là mức hoạt tính chống oxy hóa “mạnh”, trong khi giá trị càng thấp phản ánh hiệu lực càng cao.⁸ Mẫu thử-TT gồm một số loại thảo dược kết hợp với nhau, trong số đó, kim ngân đã được tổng hợp hệ thống như một dược liệu

- thực phẩm có hàm lượng đa dạng các acid hữu cơ và flavonoid, đồng thời thể hiện hoạt tính chống oxy hóa đáng kể trong nhiều mô hình *in vitro*, bao gồm DPPH; các dữ liệu tổng hợp này củng cố khả năng đóng góp của nhóm polyphenol từ kim ngân vào hiệu lực bắt gốc tự do quan sát được của mẫu thử TT.⁸ Ngoài ra, các nghiên cứu trên nụ vối/hoa nụ (*Cleistocalyx operculatus*) cho thấy dịch chiết ethanol và methanol từ nụ hoa có IC_{50} DPPH lần lượt nằm trong khoảng 25 - 30 $\mu\text{g/mL}$, trong khi dịch chiết nước khoảng 40 $\mu\text{g/mL}$. Các giá trị này nằm trong cùng bậc cường độ với SC_{50} của mẫu thử TT và cho thấy nụ vối - vốn giàu phenolic và flavonoid - là nguồn đóng góp quan trọng vào hoạt tính bắt gốc tự do của công thức.⁹ Ngoài ra, các khảo sát gần đây về nụ vối (*Syzygium nervosum*) cũng ghi nhận dịch chiết ethanol có IC_{50} DPPH khoảng 0,07 mg/mL (tương đương 70 $\mu\text{g/mL}$) và dịch chiết nước khoảng 0,11 mg/mL, cho thấy mức hoạt tính phù hợp với mẫu thử TT.⁹

Đại thực bào là tế bào hiệu ứng quan trọng trong đáp ứng viêm bẩm sinh. Khi được hoạt hóa bởi các tín hiệu gây viêm như lipopolysaccharid (LPS) từ vi khuẩn Gram âm, đại thực bào tăng biểu hiện các gen tiền viêm và giải phóng các chất trung gian, trong đó nitric oxid (NO) là một dấu ấn thường được sử dụng để sàng lọc tác nhân chống viêm *in vitro*. NO được tạo ra chủ yếu nhờ enzym nitric oxide synthase cảm ứng (iNOS); ở nồng độ sinh lý, NO tham gia điều hòa miễn dịch, song khi sản sinh quá mức có thể góp phần gây tổn thương mô và duy trì tình trạng viêm. Vì vậy, ức chế NO trong mô hình RAW264.7 kích thích LPS được xem là một hướng tiếp cận thực nghiệm phù hợp để nhận diện các hoạt chất/chiết xuất có tiềm năng chống viêm.^{2,3}

Trong nghiên cứu này, mẫu thử TT ức chế sự tạo NO theo hướng phụ thuộc nồng độ, với $\text{IC}_{50} = 59,52 \pm 2,17 \mu\text{g/mL}$, thấp hơn về hiệu lực

so với đối chứng dương indomethacin ($IC_{50} = 32,54 \pm 2,01 \mu\text{g/mL}$). Dù vậy, mẫu thử TT vẫn cho thấy tác dụng sinh học rõ rệt trên trục NO trong khi không ghi nhận độc tính đáng kể ở nồng độ khảo sát: tỷ lệ tế bào sống sót tại $256 \mu\text{g/mL}$ đạt $92,09 \pm 2,06\%$. Ngưỡng sống của tế bào $> 90\%$ được xem là điều kiện chấp nhận về hiệu quả ức chế NO không bị ảnh hưởng bởi độc tính tế bào, do đó kết quả của mẫu thử TT gợi ý tác dụng chống viêm thực sự thay vì do giảm số lượng tế bào.¹⁰ Về cơ chế, LPS hoạt hóa thụ thể TLR4 và các đường dẫn truyền tín hiệu như NF- κ B/MAPK, tăng phiên mã iNOS và tích lũy nitrit (NO_2^-) trong dịch nuôi cấy. Phép thử Griess được sử dụng rộng rãi để định lượng nitrit như một sản phẩm bền vững của NO, qua đó phản ánh gián tiếp mức NO được tạo ra trong hệ thống nuôi cấy. Do đó, các tác nhân làm giảm nồng độ nitrit trong mô hình này thường được diễn giải là có khả năng ức chế hoạt tính hoặc biểu hiện iNOS, hoặc can thiệp các tín hiệu hoạt hóa tiền viêm.^{2,3} Kết quả ức chế NO của mẫu thử TT được xem là hợp lý khi đã có một số các nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra nhiều thành phần trong công thức có khả năng ức chế NO/iNOS trên RAW264.7 kích thích LPS. Ví dụ nghiên cứu về *Ganoderma lucidum* cho thấy polysaccharid và triterpenoid có thể làm giảm NO và điều hòa biểu hiện iNOS trong RAW264.7.¹¹ Tương tự, Kim ngân (*Lonicera japonica*) - một dược liệu truyền thống - đã được ghi nhận có tác dụng chống viêm thông qua giảm sản sinh NO và điều hòa cytokin trên mô hình đại thực bào.¹⁰ Cam thảo (*Glycyrrhiza spp.*), đặc biệt các chalcone/flavonoid như isoliquiritigenin, đã được chứng minh có tác dụng ức chế biểu hiện iNOS và COX-2 thông qua ức chế NF- κ B, đồng thời làm giảm NO trong RAW264.7.⁴ Đối với nhóm "vối" (*Cleistocalyx operculatus*), tinh dầu và cao chiết/hoạt chất cũng đã được báo cáo có tiềm năng chống viêm *in vitro* và *in vivo*, bao gồm ức chế các chất trung gian viêm và NO.⁵ Ngoài

ra, các iridoid được phân lập từ *Adenosma caeruleum* cho thấy có hoạt tính ức chế NO trên RAW264.7, gợi ý rằng nhân trần có thể đóng góp thêm vào tác dụng chung của công thức.¹²

Bên cạnh NO, các cytokin tiền viêm là những chỉ dấu then chốt phản ánh mức độ hoạt hóa đại thực bào và cường độ đáp ứng viêm. Trong đó, IL-1 β thuộc họ IL-1 đóng vai trò trung tâm trong khởi phát và khuếch đại viêm, góp phần hoạt hóa tế bào miễn dịch, tăng tính thấm thành mạch và thúc đẩy tổn thương mô khi sản sinh quá mức.¹³ IL-6 là cytokin có tính đa hiệu, tham gia điều hòa pha cấp, biệt hóa lympho bào và cân bằng miễn dịch; tuy nhiên, sự tăng kéo dài của IL-6 được xem là một cơ chế quan trọng liên quan viêm mạn và tiến triển nhiều bệnh lý mạn tính. Do đó, định lượng IL-1 β và IL-6 trong dịch nuôi cấy RAW264.7 sau kích thích LPS là một cách tiếp cận phù hợp để đánh giá khả năng điều hòa đáp ứng viêm của mẫu thử ở mức "mạng lưới cytokin".¹⁸ Trong mô hình RAW264.7 kích thích LPS, tín hiệu viêm được khởi phát chủ yếu qua TLR4, hoạt hóa các đường truyền tín hiệu như NF- κ B/MAPK và thúc đẩy biểu hiện nhiều gen tiền viêm, bao gồm iNOS và các cytokin (IL-1 β , IL-6, TNF- α). Ở giai đoạn này, NO và cytokin thường có quan hệ tương hỗ: NO/RNS có thể làm biến đổi protein và khuếch đại viêm, trong khi IL-1 β /IL-6 tham gia điều phối dòng thác cytokine và duy trì hoạt hóa đại thực bào. Vì vậy, kết hợp đánh giá NO và cytokin giúp tăng độ tin cậy khi suy luận về tiềm năng chống viêm của mẫu thử *in vitro*.¹³

Kết quả ELISA trong nghiên cứu hiện tại cho thấy mẫu TT làm giảm nồng độ IL-1 β và IL-6 theo xu hướng phụ thuộc nồng độ. Mẫu thử TT chỉ đạt ý nghĩa thống kê ở các nồng độ trung-cao là kết quả thường gặp trong sàng lọc hỗn hợp thảo dược, do (i) hàm lượng hoạt chất sinh học trong mẫu có thể thấp ở nồng độ nhỏ; (ii) tín hiệu cytokine có biến thiên sinh học lớn; và (iii) điều hòa IL-1 β /IL-6 chịu tác động

đồng thời của “priming” qua NF- κ B và các cơ chế hậu phiên mã/hậu dịch mã (đặc biệt đối với IL-1 β liên quan inflammasome). Một số dược liệu trong công thức bào chế đã được báo cáo có khả năng ức chế các cytokin tiền viêm trên mô hình đại thực bào. Ví dụ, chiết xuất kim ngân (*Lonicera japonica*) đã được ghi nhận ức chế đáp ứng viêm do LPS trên RAW264.7 và làm giảm các chất trung gian viêm.¹⁴ Cam thảo (*Glycyrrhiza uralensis*) với hoạt chất đại diện isoliquiritigenin có bằng chứng ức chế sản sinh cytokin tiền viêm (trong đó có IL-1 β và IL-6) thông qua ức chế TLR4/NF- κ B và/hoặc điều hòa NLRP3 inflammasome.⁴ Bên cạnh đó, tinh dầu nụ vối (*Cleistocalyx operculatus*) đã được chứng minh có thể ức chế quá trình bài tiết TNF- α và IL-1 β , đồng thời ức chế hoạt hóa NF- κ B trên RAW264.7 kích thích LPS.¹⁵ Các tổng quan về *Syzygium nervosum* cũng ghi nhận tiềm năng chống viêm của các thành phần/chiết xuất thông qua điều hòa cytokin tiền viêm, bao gồm IL-1 β và IL-6.¹⁶

Gan là cơ quan trung tâm của chuyển hóa và thải độc, do đó dễ bị tổn thương trước các tác nhân gây stress oxy hóa và độc chất ngoại sinh. Trong thực hành nghiên cứu tiền lâm sàng, carbon tetrachloride (CCl₄) là một độc chất kinh điển thường được sử dụng để mô phỏng tổn thương gan liên quan gốc tự do. CCl₄ được chuyển hóa bởi hệ cytochrome P450 (đặc biệt CYP2E1) tạo gốc trichloromethyl (CCl₃•) và trichloromethyl peroxy (CCl₃OO•), từ đó khởi phát quá trình peroxy hóa lipid, rối loạn chức năng ty thể, tổn thương màng tế bào và dẫn đến hoại tử/apoptosis. Vì vậy, đánh giá khả năng “bảo vệ tế bào” trước độc tính CCl₄ là một hướng tiếp cận phù hợp để sàng lọc tiềm năng bảo vệ gan của các chế phẩm thảo dược ở giai đoạn *in vitro*.⁷

Trong nghiên cứu này, tác dụng bảo vệ gan của mẫu TT được khảo sát trên dòng tế bào

HepG2 - một mô hình tế bào gan người được sử dụng rộng rãi trong đánh giá độc tính và sàng lọc tác nhân bảo vệ gan. Mức độ bảo vệ được lượng hóa gián tiếp thông qua khả năng duy trì sống còn tế bào sau khi gây độc bằng CCl₄, sử dụng phép thử MTT và tính % bảo vệ/EC₅₀. Cách tiếp cận này đã được áp dụng trong một số nghiên cứu đánh giá tác nhân bảo vệ gan chống lại tổn thương do CCl₄ trên HepG2, trong đó % bảo vệ và EC₅₀ giúp so sánh hiệu lực giữa mẫu thử và đối chứng dương.⁷

Kết quả Bảng 2 cho thấy mẫu TT có hiệu quả bảo vệ HepG2 theo xu hướng phụ thuộc nồng độ với giá trị EC₅₀ của TT là 56,93 ± 4,71 μ g/mL, đã thể hiện tiềm năng bảo vệ tế bào gan *in vitro*.

Xu hướng trên phù hợp với cơ chế độc tính CCl₄ chủ yếu thông qua gốc tự do và peroxy hóa lipid - một quá trình có thể được làm giảm bởi các hợp chất có năng lực chống oxy hóa/khử gốc tự do hoặc tăng cường hệ thống chống oxy hóa nội sinh (GSH, SOD, CAT). Các dữ liệu thực nghiệm cho thấy peroxy hóa lipid là một mắt xích quan trọng liên quan tổn thương ty thể sớm trong mô hình CCl₄. Đối chứng dương quercetin được lựa chọn là hợp lý vì quercetin là flavonoid có đặc tính chống oxy hóa rõ rệt và đã được báo cáo có khả năng bảo vệ tế bào gan trước một số tác nhân gây stress oxy hóa. Đặc biệt, trong mô hình HepG2 gây độc bởi CCl₄, các nghiên cứu đã ghi nhận “phân đoạn giàu quercetin” hoặc quercetin có thể làm giảm độc tính và cải thiện chỉ dấu tổn thương/oxy hóa, củng cố vai trò của quercetin như một đối chứng chuẩn trong phép thử này. Nấm Lim xanh và cam thảo là các thành phần có trong mẫu thử TT đã có những nghiên cứu chỉ ra tiềm năng bảo vệ gan trong mô hình tổn thương do CCl₄. Ví dụ, polysaccharid từ *Ganoderma lucidum* đã được báo cáo có tác dụng bảo vệ gan trước tổn thương do CCl₄ trên mô hình

động vật thực nghiệm, liên quan giảm stress oxy hóa và cải thiện tổn thương mô. Đối với cam thảo, các nghiên cứu đã mô tả tác dụng chống oxy hóa-bảo vệ gan trong mô hình CCl_4 , đồng thời cũng đã sàng lọc các hợp chất bảo vệ gan từ cam thảo trên mô hình tổn thương HepG2 do CCl_4 .¹⁷⁻²⁰

Những bằng chứng này gợi ý rằng hiệu quả bảo vệ gan của mẫu thử TT có thể là kết quả của hiệu ứng cộng gộp/hiệp đồng giữa các thành phần, thông qua phối hợp cơ chế chống oxy hóa và điều hòa viêm.

V. KẾT LUẬN

Mẫu Trà Thảo Dược Tuệ Tĩnh thể hiện hoạt tính chống oxy hóa ($\text{SC}_{50} = 54,58 \pm 3,32 \mu\text{g/mL}$), chống viêm trên RAW264.7 kích thích LPS (IC_{50} ức chế NO = $59,52 \pm 2,17 \mu\text{g/mL}$; đồng thời giảm IL-1 β và IL-6), và bảo vệ tế bào gan HepG2 trước độc tính CCl_4 ($\text{EC}_{50} = 56,93 \pm 4,71 \mu\text{g/mL}$). Kết quả cung cấp bằng chứng sàng lọc ban đầu và định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm làm rõ cơ chế và tiềm năng ứng dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Marques RV, Sestito SE, Bourgaud F, Miguel S, Cailotto F, Reboul P, et al. Anti-inflammatory activity of bryophytes extracts in LPS-stimulated RAW264.7 murine macrophages. *Molecules*. 2022; 27(6): 1940. doi:10.3390/molecules27061940.
2. Sun J, Zhang X, Broderick M, Fein H. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. *Sensors*. 2003; 3(8): 276-284. doi:10.3390/s30800276.
3. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*. 2001; 5(1): 62-71. doi:10.1006/niox.2000.0319.
4. Kim JY, et al. Isoliquiritigenin isolated from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* inhibits LPS-induced iNOS and COX-2 expression via attenuation of NF- κ B in RAW 264.7 macrophages. *Eur J Pharmacol*. 2008; 584: 175-184. doi:10.1016/j.ejphar.2008.01.032.
5. Pham GN, Nguyen C, et al. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Syzygium nervosum*: A review. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2020; 2020: 8263670. doi:10.1155/2020/8263670.
6. Abramovič H, Grobin B, Poklar Ulrich N, Cigić B. Relevance and Standardization of *In Vitro* Antioxidant Assays: ABTS, DPPH, and Folin-Ciocalteu. *Journal of Chemistry*. 2018;1-9.
7. González LT, et al. In vitro assessment of hepatoprotective agents against damage induced by acetaminophen and carbon tetrachloride in HepG2 cells. *BMC Complement Altern Med*. 2017; 17: 39. doi:10.1186/s12906-016-1506-1.
8. Zheng S, Liu S, Hou A, Wang S, Na Y, Hu J, Jiang H, Yang L. Systematic review of *Lonicerae Japonicae Flos*: A significant food and traditional Chinese medicine. *Frontiers in Pharmacology*. 2022; 13: 1013992. doi:10.3389/fphar.2022.1013992.
9. Thanh DT, Oanh VK, Nguyen HC, Ngan LTM, Hieu TT. Phytochemical composition, antioxidant, antibacterial, and enzyme inhibitory activities of organic extracts from flower buds of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr. et Perry. *BioTechnology (Pozn)*. 2024; 105(2): 137-147. doi:10.5114/bta.2024.139753.
10. Lin HW, Lee YJ, Yang DJ, Hsieh MC, Chen CC, Hsu WL, Chang YY, Liu CW. Anti-inflammatory effects of *Flos Lonicerae Japonicae* water extract are regulated by the STAT/NF- κ B pathway and HO-1 expression

in virus-infected RAW264.7 cells. *Int J Med Sci.* 2021; 18(11): 2285-2293. doi:10.7150/ijms.56198.

11. Yang HS, Kim M, Kim HJ, et al. Anti-inflammatory effects of *Ganoderma lucidum* water extracts in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Food Sci Biotechnol.* 2015. doi:10.1007/s10068-015-0022-2.

12. Hanh TTH, et al. Iridoids from the aerial parts of *Adenosma caeruleum* with their nitric oxide inhibitory effects. *J Mol Struct.* 2024; 1299: 137149. doi:10.1016/j.molstruc.2023.137149.

13. Brattin WJ, Glende EA Jr, Recknagel RO. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J Free Radic Biol Med.* 1985; 1(1): 27-38.

14. Kwon SH, et al. *Lonicera japonica* Thunb. extract inhibits lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages. *Journal of Medicinal Food.* 2015; 18(10): 1117-1126. PMID: PMC4492671. doi:10.1089/jmf.2014.3346.

15. Dung NT, Bajpai VK, Yoon JI, Kang SC. Anti-inflammatory effects of essential oil isolated from the buds of *Cleistocalyx*

operculatus (Roxb.) Merr and Perry. *Food Chem Toxicol.* 2009; 47(2): 449-453. doi:10.1016/j.fct.2008.11.033.

16. Giang NP, et al. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Syzygium nervosum*: A review. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2020; 2020: 8263670.

17. Vijayakumar K, et al. *Psidium guajava* leaf extracts and their quercetin protect against CCl₄-induced cytotoxicity in HepG2 cell lines. *J Ayurveda Integr Med.* 2019; 10(3): 168-176. PMID: 31391723.

18. Susilo RJK, et al. Hepatoprotective effect of crude polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum* against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Vet World.* 2019; 12(12): 1987-1995.

19. Ahmad MF, et al. *Ganoderma lucidum*: Novel insight into hepatoprotective potential with mechanisms of action. *Nutrients.* 2023; 15(8): 1874. doi:10.3390/nu15081874.

20. Huo HZ, et al. Hepatoprotective and antioxidant effects of licorice extract against CCl₄-induced liver injury. *Int J Mol Sci.* 2011; 12(10): 6529-6543. doi:10.3390/ijms12106529.

Summary

ASSESSMENT OF SELECTED *IN VITRO* BIOLOGICAL ACTIVITIES OF TUE TINH HERBAL TEA SAMPLE

Tue Tinh Herbal Tea is a tea-bag product formulated from traditional herbs medicinal, including *Ganoderma lucidum*, *Adenosma caeruleum*, *Lonicera japonica*, *Jasminum sambac*, *Cleistocalyx operculatus*, and *Glycyrrhiza uralensis*. This study aimed to screen selected *in vitro* biological activities of the aqueous extract of Tue Tinh Herbal Tea. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH radical scavenging assay. Anti-inflammatory activity was investigated in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophages by assessing nitric oxide (NO) production and the levels of pro-inflammatory cytokines interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6). Hepatoprotective activity was assessed in carbon tetrachloride (CCl₄)-induced HepG2 cells using the MTT assay. The results demonstrated that this product exhibited notable antioxidant activity (SC₅₀ = 54.58 \pm 3.32 μ g/mL), dose-dependent inhibition of NO production (IC₅₀ = 59.52 \pm 2.17 μ g/mL), and reduced levels of IL-1 β and IL-6. Moreover, Tue Tinh Herbal Tea showed protective effects against CCl₄-induced hepatotoxicity with an EC₅₀ value of 56.93 \pm 4.71 μ g/mL. These findings suggest that Tuệ Tinh herbal tea possesses antioxidant, anti-inflammatory, and hepatoprotective potential *in vitro*, providing preliminary scientific evidence to support further mechanistic and *in vivo* investigations.

Keywords: Herbal tea, antioxidant, DPPH, anti-inflammatory, nitric oxide, IL-1 β , IL-6, HepG2, CCl₄.