

INVESTIGATION OF THE ANTI-ANGIOGENESIS AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF POLAR EXTRACTS FROM *Paederia foetida* L. LEAVES

Ha Thi Kim Quy*, Pham Khanh Nguyen Huan, Huynh Thanh Nam

College of Natural Sciences – Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 09/10/2023	Cancer is a common illness with a high mortality rate that tends to spread quickly during the past 20 years. Cancer patients and those undergoing treatment are more likely to get bacteria infections than the general population. Inhibiting angiogenesis has emerged as one of the most effective cancer therapeutic approaches. This work aims to explore the antibacterial activity of various polar extracts of <i>Paederia foetida</i> L. leaves and the angiogenesis inhibitory activity utilizing the Chorioallantoic membrane (CAM) model. The findings of this investigation show that in the <i>ex-ovo</i> CAM model, the 50% EtOH extract exhibited a significant angiogenesis inhibitory effect and good action against <i>Listeria innocua</i> and <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar Enteritidis. In order to strengthen the evidence for the biological activity under investigation, the chemical compositions of these polar extracts have also been qualitative and quantitative.
Revised: 14/11/2023	
Published: 15/11/2023	
KEYWORDS	
Anti-angiogenesis	
CAM assay	
Antibacterial	
Polar extracts	
<i>Paederia foetida</i> L. leaves	

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH ỨC CHẾ HÌNH THÀNH MẠCH MÁU VÀ KHÁNG KHUẨN CỦA CAO CHIẾT PHÂN CỰC TỪ LÁ MƠ LÔNG (*Paederia foetida* L.)

Hà Thị Kim Quy*, Phạm Khánh Nguyên Huan, Huỳnh Thanh Nam

Khoa Khoa học Tự nhiên - Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 09/10/2023	Ung thư là một căn bệnh nguy hiểm có tỷ lệ tử vong cao và tăng rất nhanh trong vòng 20 năm qua. Các bệnh nhân ung thư thường có nguy cơ mắc phải các bệnh nhiễm trùng cao hơn so với người bình thường. Liệu pháp ức chế hình thành mạch máu đã và đang trở thành một trong những hướng nghiên cứu điều trị ung thư đầy hứa hẹn. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm khảo sát hoạt tính ức chế hình thành mạch máu sử dụng mô hình màng Chorioallantoic (CAM) và hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết phân cực từ lá Mơ lông (<i>Paederia foetida</i> L.). Kết quả cho thấy cao chiết EtOH 50% thể hiện hoạt tính ức chế mạnh sự hình thành mạch máu trên mô hình <i>ex-ovo</i> CAM và đối với các dòng vi khuẩn <i>Listeria innocua</i> và <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar Enteritidis. Ngoài ra, thành phần hoá học của các cao chiết phân cực cũng được định tính và định lượng, góp phần tăng thêm tính thuyết phục cho hoạt tính sinh học khảo sát.
Ngày hoàn thiện: 14/11/2023	
Ngày đăng: 15/11/2023	
TỪ KHÓA	
Ức chế hình thành mạch máu	
Mô hình CAM	
Kháng khuẩn	
Cao chiết phân cực	
Lá Mơ lông	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8951>

* Corresponding author. Email: htkquy@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Ung thư đã và đang trở thành gánh nặng rất lớn tại các quốc gia trên thế giới, đặc biệt là các nước nghèo và đang phát triển. Theo khảo sát của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), ung thư là nguyên nhân gây tử vong thứ hai chỉ sau các bệnh lý về tim mạch [1]. Tại Việt Nam, số lượng bệnh nhân mắc các bệnh ung thư ngày càng gia tăng, đòi hỏi sự quan tâm đặc biệt của toàn xã hội. Phác đồ điều trị ung thư hiện nay chủ yếu sử dụng hóa trị, xạ trị rất phức tạp. Tuy nhiên các phương pháp này thường kèm theo các tác dụng phụ ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng cuộc sống của người bệnh. Bên cạnh đó, bệnh nhân phải chi trả khoản kinh phí rất lớn dành cho điều trị bệnh ung thư [2]. Để khắc phục những vấn đề này thì xu hướng gần đây trong liệu pháp hỗ trợ điều trị và phòng chống ung thư là sử dụng các sản phẩm từ thảo dược ít gây tác dụng phụ đối với người bệnh.

Nghiên cứu về các liệu pháp cắt nguồn cung cấp dinh dưỡng cho các tế bào khối u, bằng cách ngăn chặn sự hình thành và phát triển các mạch máu mới xung quanh khối u đã và đang được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Một trong số các mô hình được đề xuất là thử nghiệm dựa trên màng đệm của phôi gia cầm Chorioallantoic (CAM) [3]. Mô hình thí nghiệm theo dõi và nghiên cứu sự hình thành mạch máu và ức chế hình thành mạch máu nhờ vào mật độ mạch máu dày đặc trên bề mặt của màng trứng. Mô hình CAM có nhiều ưu điểm như: (i) mật độ mạch máu của CAM cao sẽ thúc đẩy hiệu quả của việc ghép tế bào khối u; (ii) khả năng tái tạo cao; (iii) đơn giản và tiết kiệm chi phí [4]. Với những ưu điểm vượt trội này, mô hình thử nghiệm CAM đã và đang được các nhà khoa học tiếp tục nghiên cứu và ứng dụng trong những năm gần đây với những sự cải tiến vượt bậc về phương pháp cũng như kỹ thuật nuôi cấy.

Bên cạnh đó, một trong những vấn đề nan giải của những bệnh nhân bị ung thư hoặc đang điều trị ung thư thường có nguy cơ mắc phải nhiễm trùng cao hơn so với người bình thường do suy giảm hệ thống miễn dịch của cơ thể. Các tác nhân gây nhiễm trùng phổ biến nhất đối với bệnh nhân ung thư là virus, vi khuẩn hoặc nấm. Hơn nữa, nhiễm trùng cũng có thể làm cho ung thư trở nên khó điều trị hơn [5]. Do đó, việc sử dụng các loại dược liệu hoặc thực phẩm chức năng ngăn ngừa nhiễm, tăng cường sức đề kháng, đồng thời hỗ trợ điều trị, hạn chế sự tiến triển của ung thư là hướng tiếp cận mới và phù hợp trong thời đại ngày nay.

Qua quá trình sàng lọc các loài thực vật được phổ biến của khu vực Đồng bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL), lá Mơ lông được chọn như là vật liệu tiềm năng cho nghiên cứu này. Mơ lông có tên khoa học là *Paederia foetida* L., thuộc họ Cà phê (Rubiaceae), phân bố rộng rãi ở khắp Việt Nam do thích nghi và phát triển tốt với mọi điều kiện khí hậu và đất đai. Theo dân gian, loài Mơ lông có tác dụng làm vị thuốc chữa trị hiệu quả một số bệnh thông thường như tiêu thực, giải độc, đau dạ dày, giảm ho, kích thích lưu thông máu và giảm đau. Theo các nghiên cứu đã công bố về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học, lá Mơ lông có tiềm năng kháng khuẩn, kháng nấm và kháng oxy hóa khá mạnh,...; đồng thời thành phần hoá học chính là các hợp chất thuộc nhóm alkaloid, phenolic, tannin, iridoid và tinh dầu [6]-[8]. Tuy nhiên, đến thời điểm nghiên cứu này được tiến hành, còn rất ít công bố trên các tạp chí khoa học uy tín trong nước về hoạt tính ức chế hình thành mạch máu kết hợp với kháng khuẩn của cao chiết phân cực từ lá Mơ lông. Vì vậy, kế thừa các kết quả nghiên cứu đã công bố của thế giới và trong nước, công trình nghiên cứu hoạt tính ức chế hình thành mạch máu và kháng khuẩn của cao chiết phân cực của lá Mơ lông (*P. foetida*) được thực hiện nhằm mục đích đóng góp một phần kết quả vào lĩnh vực nghiên cứu về khả năng điều trị ung thư kết hợp với hoạt tính kháng khuẩn của thảo dược ở ĐBSCL nói riêng và của đất nước nói chung.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Điều chế cao chiết phân cực lá Mơ lông

Lá Mơ lông tươi được thu hái trên địa bàn thành phố Cần Thơ. Sau đó, loại bỏ phần lá úa hỏng, rửa sạch, để ráo, phơi khô và xay nhuyễn thu được bột nguyên liệu. Bột nguyên liệu được

đo độ ẩm bằng cân sấy ẩm tự động. Bột nguyên liệu được phân chia thành 6 phần có khối lượng bằng nhau (20 g). Các mẫu bột này được cho vào các túi vải, buộc kín và ngâm chiết trong các hệ dung môi, bao gồm: dung môi nước có pH lần lượt là 4-5, 6-7, 8-9 và dung môi ethanol lần lượt là 50%, 25%, 10%, trong thời gian 3 giờ có sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Dịch chiết được loại bỏ hoàn toàn dung môi bằng phương pháp cô quay và đông khô chân không. Các sản phẩm cao thô được cân, tính hiệu suất chiết xuất và lưu trữ ở điều kiện 4°C để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

2.2. Khảo sát khả năng ức chế hình thành mạch máu theo mô hình Ex-ovo CAM

Trứng gia cầm đã thụ tinh được kiểm tra bằng đèn soi trứng. Trứng được ấp ở điều kiện 37°C bằng máy ấp trứng tự động và đảm bảo độ ẩm thích hợp khoảng 60%. Sau thời gian 5-7 ngày ấp, bề mặt trứng được làm sạch bằng ethanol 70° để tránh trứng bị nhiễm khuẩn khi tiến hành thí nghiệm [4]. Tiến hành mở vỏ trứng bằng kẹp vô trùng và ghi nhận lại hình ảnh lúc đầu của màng CAM. Giấy lọc đã khử trùng (đường kính 3 mm) được đặt lên những mạch máu đã được xác định trước đó. Mẫu cao chiết hoặc đối chứng (đối chứng dương - acid retinoic; đối chứng âm - 5,0% DMSO) được nhỏ lên giấy lọc. Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện vô trùng. Trứng được bọc bằng parafilm và ấp với điều kiện như trên. Sau 6 giờ ấp, các mạch máu được quan sát, chụp ảnh và phân tích kết quả.

2.3. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp so màu của chất chỉ thị màu resazurin

Các chủng vi khuẩn được nuôi trên đĩa thạch dinh dưỡng tryptone soya agar (TSA), ở điều kiện hiếu khí, ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, các dòng vi khuẩn được tiến hành nuôi lỏng trong môi trường tryptone soya broth (TSB) và pha loãng để đạt được mật số khoảng 10^7 CFU/mL sử dụng cho các thí nghiệm tiếp. Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn được thực hiện trên đĩa 96 giếng: cho các cao chiết hoặc đối chứng dương đã được pha loãng ở các nồng độ khác nhau vào các giếng, thêm 10 µL dung dịch resazurin 0,03% và 30 µL môi trường dinh dưỡng để đảm bảo vi khuẩn có đủ dinh dưỡng để phát triển. Cuối cùng thêm 10 µL dịch vi khuẩn và ủ ở điều kiện nhiệt độ 37°C. Quan sát sự thay đổi màu của các giếng, cụ thể khi trong dung dịch có đồng thời resazurin và vi khuẩn, resazurin sẽ bị biến đổi từ màu xanh của hợp chất resazurin sang màu hồng đặc trưng của sản phẩm hợp chất resorufin được tạo thành do resazurin bị khử trong quá trình hô hấp của vi khuẩn [9].

2.4. Định tính một số nhóm hợp chất tự nhiên

Thực hiện định tính các nhóm hợp chất tự nhiên bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM) và các phản ứng với thuốc thử hóa học thích hợp [10].

Phương pháp sắc ký lớp mỏng: Tiến hành chấm một lượng bằng nhau (20 µL) các cao chiết có nồng độ tương đương nhau là 5,0 mg/mL lên bản SKLM. Tiến hành giải ly bản SKLM trong hệ dung môi isoamyl alcohol : MeOH : H₂O : acid formic tỉ lệ lần lượt là 35 : 40 : 25 : 1 giọt. Bản SKLM được soi dưới ánh đèn UV bước sóng 254 và 365 nm. Sau đó, chúng được hiện hình bằng dung dịch hiện màu vanillin-H₂SO₄ và dung dịch hiện màu FeCl₃-MeOH. **Định tính tannin:** cho 100 µL cao chiết nồng độ 5,0 mg/mL vào 1,0 mL dung dịch gelatin 1% + NaCl 10%, lắc nhẹ. Hiện tượng quan sát được nếu cho tua bông chứng tỏ có sự hiện diện của tannin trong mẫu thử nghiệm. **Định tính flavonoid:** cho 100 µL cao chiết nồng độ 5,0 mg/mL vào 500 µL dung dịch Pb(CH₃COO)₂ 10%, lắc nhẹ. Hiện tượng quan sát được nếu cho tua vàng nhạt chứng tỏ có sự hiện diện của flavonoid trong mẫu thử nghiệm. **Định tính phenol:** cho 100 µL cao chiết nồng độ 5,0 mg/mL vào 500 µL dung dịch nước có chứa 2-3 giọt FeCl₃ 5,0%. Hiện tượng quan sát được nếu cho tua màu xanh đen chứng tỏ có sự hiện diện của phenolic trong mẫu thử nghiệm. **Định tính alkaloid:** cho 100 µL cao chiết nồng độ 5,0 mg/mL vào 500 µL dung dịch nước có chứa 2-3 giọt thuốc thử Wagner. Hiện tượng quan sát được nếu cho tua màu nâu đỏ chứng tỏ có sự hiện diện của alkaloid trong mẫu thử nghiệm.

2.5. Định lượng phenolic tổng

Quy trình thử nghiệm với chất chuẩn acid gallic: cho vào các ống nghiệm thủy tinh tối màu hỗn hợp bao gồm acid gallic và ethanol 40% với thể tích phù hợp để trong mỗi ống chứa 400 μL dung dịch acid gallic với dãy nồng độ cuối cùng đạt được lần lượt là 20, 40, 60, 80, 100, 120 $\mu\text{g/mL}$, hoặc các cao chiết phân cực của lá Mơ lông với nồng độ cuối cố định là 1,0 mg/mL . Thêm tiếp vào mỗi ống nghiệm 400 μL dung dịch thuốc thử Folin-Ciocalteu 0,5 N và lắc mạnh. Sau đó tiếp tục thêm 3,2 mL dung dịch đệm Na_2CO_3 5%, lắc đều và ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 750 nm. Xây dựng đường chuẩn của acid gallic và tính toán hàm lượng phenolic tổng của các cao chiết bằng phần mềm phân tích thống kê Minitab.

2.6. Phân tích thống kê

Kết quả của nghiên cứu này được tiến hành phân tích thống kê ANOVA sử dụng thuật toán theo phương pháp Turkey dựa trên nền tảng của phần mềm thống kê Minitab.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Hiệu suất điều chế cao chiết

Bột nguyên liệu có độ ẩm trung bình là 10,88% được tiến hành chiết xuất sử dụng các loại dung môi khác nhau (dung môi nước có pH lần lượt là 4-5, 6-7, 8-9 và dung môi ethanol lần lượt là 50%, 25%, 10%) thu được hiệu suất chiết xuất trong khoảng từ 14-23%. Như được trình bày trong Bảng 1, cao chiết nước pH 4-5 cho hiệu suất chiết cao nhất (23,75%), trong khi đó cao chiết ethanol từ 10-50% cho hiệu suất chiết thấp hơn với giá trị trung bình từ 14-17%.

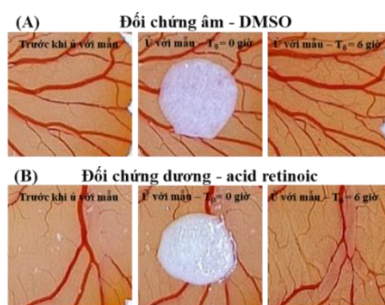
Bảng 1. Hiệu suất điều chế cao chiết phân cực từ lá Mơ lông

Cao chiết	Khối lượng cao chiết (g)	Hiệu suất (%)
Cao chiết nước pH 4-5	4,75	23,75
Cao chiết nước pH 6-7	4,43	22,15
Cao chiết nước pH 8-9	4,56	22,80
Cao chiết EtOH 50%	3,31	16,55
Cao chiết EtOH 25%	2,87	14,35
Cao chiết EtOH 10%	3,54	17,70

3.2. Đánh giá hoạt tính ức chế hình thành mạch máu của các cao chiết

3.2.1. Khảo sát mô hình ức chế hình thành mạch máu ex-ovo CAM với acid retinoic

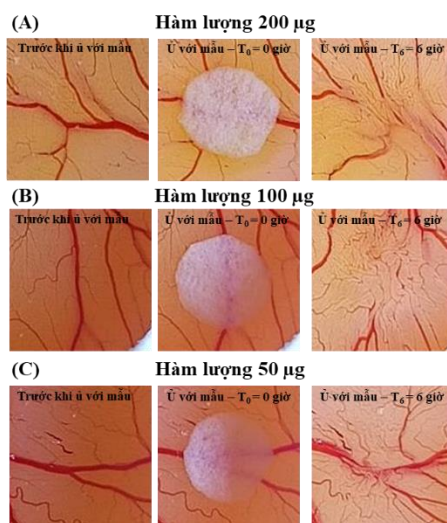
Mô hình thí nghiệm trên màng CAM được tiến hành kiểm tra tính phù hợp của phép thử thông qua hoạt chất acid retinoic có hoạt tính ức chế hình thành mạch máu đã được công bố [3], [4]. Như được trình bày trong Hình 1, kết quả khảo sát khả năng ức chế hình thành mạch máu của đối chứng dương acid retinoic với hàm lượng 50 μg thể hiện hoạt tính ức chế mạnh sự hình thành mạch máu, trong khi đối chứng âm là dung dịch DMSO không thể hiện hoạt tính này. Từ kết quả thu được có thể kết luận rằng, mô hình thử nghiệm ex-ovo CAM ứng dụng trong đánh giá khả năng ức chế hình thành mạch máu trên trứng gia cầm đã thụ tinh theo phương pháp được sử dụng trong nghiên cứu này là có tính ổn định, phù hợp để tiếp tục thực hiện khảo sát với các cao chiết phân cực của lá Mơ lông.



Hình 1. Khả năng ức chế hình thành mạch máu của (A): đối chứng âm (DMSO) và (B): đối chứng dương (acid retinoic, hàm lượng thử nghiệm là 50 μg)

3.2.2. Khảo sát khả năng ức chế hình thành mạch máu của các cao chiết

Dựa trên các kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế hình thành mạch máu của các cao chiết ở hàm lượng khảo sát là 200 μg , cao chiết EtOH 50% thể hiện hoạt tính mạnh, trong khi cao chiết EtOH 25%, 10% và cao chiết nước pH 8-9 thể hiện hoạt tính yếu. Từ kết quả sàng lọc này, cao chiết EtOH 50% được tiếp tục tiến hành khảo sát chi tiết ở các hàm lượng khác nhau (200-50 μg). Như được thể hiện trong Hình 2, cao chiết EtOH 50% có tiềm năng ức chế hình thành mạch máu theo mô hình phụ thuộc vào hàm lượng. Cụ thể, ở hàm lượng 200-100 μg của cao chiết, các mạch máu đã hoàn toàn bị ức chế; trong khi ở hàm lượng 50 μg của cao chiết, các mạch máu bị ức chế một phần và thể hiện hoạt tính tương đương với đối chứng dương (acid retinoic). Kết quả này đã khẳng định chắc chắn rằng cao chiết phân cực EtOH 50% có tiềm năng rất lớn ứng dụng trong mô hình điều trị, hoặc hỗ trợ phòng chống ung thư thông qua hoạt tính ức chế hình thành mạch máu.



Hình 2. Khả năng ức chế hình thành mạch máu của cao chiết EtOH 50% ở các điều kiện hàm lượng thử nghiệm từ 200-50 μg

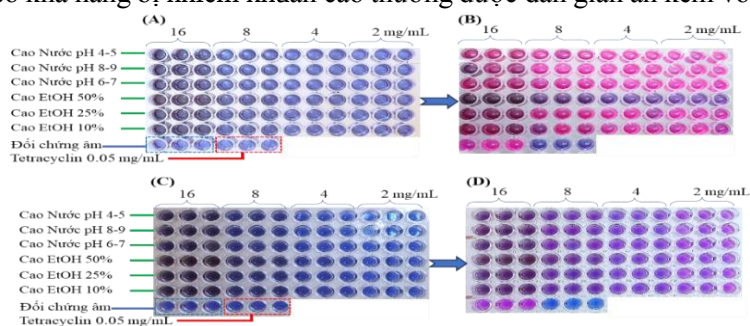
3.2.3. Hoạt tính ức chế sự phát triển một số dòng vi khuẩn của các cao chiết

Hoạt tính ức chế sự phát triển của một số vi khuẩn gây bệnh phổ biến hiện nay như *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* serotype O157:H7 và *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Enteritidis được xác định bằng phương pháp sử dụng chất chỉ thị màu resazurin để đánh giá sự hiện diện của vi khuẩn dựa trên sự đổi màu của chất chỉ thị. Thực hiện khảo sát với các cao chiết ở các nồng độ khác nhau, quan sát sự thay đổi màu, các cao chiết có

khả năng ức chế vi khuẩn sẽ không làm đổi màu hoặc làm thay đổi màu rất ít của resazurin khi được đối chiếu với các đối chứng và ghi nhận kết quả [9].

Kết quả cho thấy, cao chiết EtOH 50% thể hiện hoạt tính rất ấn tượng và vẫn duy trì được khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *L. innocua* ở nồng độ thấp nhất của dãy khảo sát từ 16-2,0 mg/mL (Hình 3A và B). *L. innocua* là vi khuẩn gram dương, hiếu khí và thường xuyên có trong các nguồn thực phẩm không đảm bảo vệ sinh gây ra ngộ độc thực phẩm nguy hiểm. Kết quả này góp phần minh chứng vai trò thể hiện tác dụng trên hai đích mục tiêu của cao chiết EtOH 50%, bao gồm ức chế mạnh mẽ sự hình thành mạch máu, đồng thời tăng cường sức đề kháng của cơ thể bệnh nhân ung thư chống lại các vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm, điều này sẽ góp phần nâng cao hiệu quả điều trị và phòng chống bệnh ung thư.

Bên cạnh đó, kết quả của nghiên cứu này cho thấy tất cả các cao chiết phân cực từ lá Mơ lông đều thể hiện hoạt tính khá yếu khi tiến hành khảo sát dựa vào dãy nồng độ từ 16-2,0 mg/mL đối với dòng vi khuẩn *Salmonella* Enteritidis. Hình 3C và D cho thấy ở khoảng nồng độ khảo sát 4,0-2,0 mg/mL của các cao chiết, màu xanh (resazurin) dần dần chuyển sang màu hồng (resorufin), điều này chứng tỏ rằng khoảng nồng độ thích hợp để ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Salmonella* Enteritidis của cao chiết phân cực là từ 16,0-4,0 mg/mL. Vi khuẩn *Salmonella* Enteritidis là trực khuẩn gram âm, sinh sống và gây bệnh trong đường ruột. Việc bệnh nhân ăn phải thực phẩm hoặc uống nước bị nhiễm dòng vi khuẩn này có thể dẫn đến viêm dạ dày ruột hoặc đôi khi nhiễm trùng máu. Chính vì vậy, kết quả của nghiên cứu này cũng chứng minh rằng tất cả các cao chiết phân cực đều thể hiện ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Salmonella* Enteritidis và điều này giải thích lý do vì sao các món ăn có khả năng bị nhiễm khuẩn cao thường được dân gian ăn kèm với lá Mơ lông.



Hình 3. Hoạt tính ức chế sự phát triển vi khuẩn *L. innocua* (A, B) và *Salmonella* Enteritidis (C, D) của các cao chiết phân cực từ lá Mơ lông. A, C: trước khi được ủ. B, D: sau khi vi khuẩn được ủ 6 giờ

Ngoài ra, nghiên cứu này cũng tiến hành khảo sát khả năng ức chế sự phát triển của các cao chiết phân cực đối với các dòng vi khuẩn *S. aureus*, *E. coli* serotype O157:H7. Tuy nhiên, kết quả khảo sát cho thấy các cao chiết phân cực thể hiện hoạt tính rất yếu đối với các dòng vi khuẩn này.

3.3. Định tính và định lượng một số nhóm hợp chất tự nhiên

3.3.1. Kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên của cao chiết

Kết quả thực hiện SKLM và hiện hình bằng thuốc thử vanillin-acid sulfuric cho thấy các vết giải ly của các cao chiết có vết màu vàng và đỏ thể hiện sự hiện diện lần lượt của các hợp chất flavonoid và phenolic có trong tất cả các mẫu cao chiết. Bản SKLM được hiện hình bằng thuốc thử $\text{FeCl}_3\text{-MeOH}$ cho thấy các vết màu xanh dương đến đen đặc trưng cũng góp phần khẳng định sự hiện diện của các hợp chất phenolic ở tất cả các mẫu cao chiết. Đặc biệt, khi tiến hành soi bản SKLM dưới ánh đèn UV 356 nm, hợp chất chlorophyll cho màu đặc trưng phản quang màu đỏ và chỉ có trong cao EtOH 50% [10].

Kết quả khảo sát định tính trong ống nghiệm bằng một số thuốc thử được trình bày trong Bảng 2 cho thấy sự hiện diện của nhóm hợp chất flavonoid và phenolic ở tất cả các cao chiết phân cực của lá Mơ lông. Ngoài ra, kết quả cũng ghi nhận sự có mặt của alkaloid trong cao chiết

nước pH 4-5 và cao chiết ethanol 50%, điều này là do dung môi nước với tính acid có khả năng phản ứng tạo thành ion muối của các alkaloid để các hợp chất này dễ tan hơn trong nước, và dung môi ethanol 50% có độ phân cực phù hợp với các hợp chất nhóm này.

Bảng 2. Định tính một số thành phần hoá học của cao chiết

Cao chiết	Phenolic	Flavonoid	Tannin	Alkaloid
Cao chiết nước pH 4-5	+	+	—	+
Cao chiết nước pH 6-7	+	+	—	—
Cao chiết nước pH 8-9	+	+	—	—
Cao chiết EtOH 50%	+	+	—	+
Cao chiết EtOH 25%	+	+	—	—
Cao chiết EtOH 10%	+	+	—	—

3.3.2. Kết quả định lượng phenolic toàn phần của cao chiết

Từ các kết quả khảo sát định tính cho thấy tất cả các mẫu cao chiết phân cực của lá Mơ lông đều chứa nhóm hợp chất tự nhiên là phenolic. Do đó, các thí nghiệm xác định hàm lượng của nhóm hợp chất tự nhiên này bằng phương pháp sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu được tiến hành. Kết quả xây dựng đường chuẩn định lượng phenolic toàn phần theo chất chuẩn acid gallic là $y = 0,0101x + 1,8074$ với giá trị $R^2 = 0,995$. Dựa vào phương trình đường chuẩn thiết lập được, hàm lượng phenolic tổng được đề xuất như trong Bảng 3. Kết quả cho thấy cao EtOH 50% chiếm hàm lượng phenolic tổng cao nhất, trong khi đó cao chiết EtOH 10% và cao chiết nước pH 4-5 chứa hàm lượng phenolic thấp nhất.

Bảng 3. Định lượng hàm lượng phenolic toàn phần của các cao chiết

Cao chiết	Hàm lượng phenolic tổng (mg GA/g cao)
Cao chiết nước pH 4-5	36,254±2,104 ^{cd}
Cao chiết nước pH 6-7	41,446±1,792 ^{abc}
Cao chiết nước pH 8-9	39,320±0,951 ^{bcd}
Cao chiết EtOH 50%	48,670±4,902 ^a
Cao chiết EtOH 25%	46,135±1,582 ^{ab}
Cao chiết EtOH 10%	32,720±3,941 ^d

Ghi chú: GA: acid gallic; các chữ cái a,b,c,d biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05.

Từ các kết quả khảo sát hoạt tính ức chế sự hình thành mạch máu và hoạt tính kháng khuẩn nhận thấy cao chiết EtOH 50% thể hiện hoạt tính rất tốt và hoàn toàn khác biệt so với các cao chiết khác. Bên cạnh đó, khi so sánh thành phần hoá học giữa cao chiết EtOH 50% và 25% lại có sự tương đồng khá lớn khi cả hai cao chiết đều chứa các nhóm hợp chất quan trọng như phenolic, flavonoid và alkaloid. Đáng chú ý, một điểm khác biệt chính giữa cao chiết EtOH 50% và các cao chiết khác là sự hiện diện các hợp chất thuộc nhóm chlorophyll. Từ các lập luận trên, chúng tôi dự đoán sự khác biệt trong hoạt tính của cao chiết EtOH 50% là do tác dụng hiệp đồng của nhóm hợp chất chlorophyll với các thành phần hoá học khác (phenolic, flavonoid và alkaloid). Điều này cũng phù hợp với một số nghiên cứu đã được công bố về hoạt tính sinh học của nhóm hợp chất chlorophyll và các dẫn xuất của chúng đến khả năng kháng khuẩn, kháng nấm, gây độc cho tế bào ung thư và nhiều lợi ích to lớn khác đã được ứng dụng trong y học [11], [12].

4. Kết luận

Nghiên cứu này là một trong những công trình đầu tiên tại Việt Nam công bố về hoạt tính sinh học của các cao chiết phân cực từ lá Mơ lông có khả năng ức chế hình thành mạch máu và ức chế một số dòng vi khuẩn gây hại như *Listeria innocua* và *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Enteritidis*. Từ các kết quả của nghiên cứu này, chúng tôi đề xuất tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về thành phần hoá học của cao chiết EtOH 50% và tiến hành khảo sát *in vivo* cho hoạt tính chống ung thư và tăng cường sức đề kháng đối với các dòng vi khuẩn gây hại.

Lời cảm ơn

Cảm ơn Trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ một số điều kiện để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] L. R. Teras, C. E. DeSantis, J. R. Cerhan, L. M. Morton, A. Jemal, and C. R. Flowers, "2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes," *CA: A cancer journal for clinicians*, vol. 66, no. 6, pp. 443-459, 2016.
- [2] T. H. Nguyen and T. D. Le, "Status of cancer in Vietnam: A comparison with other Southeast Asian nations," (in Vietnamese), *DTU journal of Science and Technology*, vol. 01, no. 32, pp. 03-09, 2019.
- [3] D. Ribatti, "The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) assay," *Reproductive toxicology*, vol. 70, pp. 97-101, 2017.
- [4] A. Maugeri, G. E. Lombardo, M. Navarra, S. Cirimi, and A. Rapisarda, "The chorioallantoic membrane: A novel approach to extrapolate data from a well-established method," *Journal of Applied Toxicology*, vol. 42, no. 6, pp. 995-1003, 2022.
- [5] Y. Kanjanapan and D. Yip, "Characteristics and risk factors for microbial infections during cancer immune checkpoint therapy," *Cancer Medicine*, vol. 9, no. 23, pp. 9027-9035, 2020.
- [6] H. Osman, A. A. Isa, N. M. Rahim, and N. M. Bakhir, "Antioxidant activity and phenolic content of *Paederia foetida* and *Syzygium aqueum*," *Molecules*, vol. 14, no. 3, pp. 970-978, 2009.
- [7] J. A. Priyanto, M. E. Prastya, G. S. Sinarawadi, W. Datu'salamah, T. Y. Avelina, A. I. A. Yanuar, E. Azizah, Z. P. Tachrim, and T. Mozef, "The antibacterial and antibiofilm potential of *Paederia foetida* Linn. leaves extract," *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, vol. 12, no. 10, pp. 117-124, 2022.
- [8] C. Khushbu, P. Anar, P. Mayuree, M. Carol, S. Roshni, and A. Subodh, "*Paederia foetida* Linn. As a potential medicinal plant: A Review," *Journal of Pharmacy Research*, vol. 3, no. 12, pp. 3135-3137, 2010.
- [9] E. Travnickova, P. Mikula, J. Oprsal, M. Bohacova, L. Kubac, D. Kimmer, J. Soukupova, and M. Bittner, "Resazurin assay for assessment of antimicrobial properties of electrospun nanofiber filtration membranes," *AMB Express*, vol. 9, no. 1, pp. 1-11, 2019.
- [10] P. E. Wall, *Thin-layer chromatography: a modern practical approach*, Royal Society of Chemistry, 2007.
- [11] M. A. Grin, N. V. Suvorov, and A. F. Mironov, "Natural chlorins as a promising platform for creating targeted theranostics in oncology," *Mendeleev Communications*, vol. 30, no. 4, pp. 406-418, 2020.
- [12] K. Al-Tameemi, R. Nassour, and A. Hamad, "The medical importance of chlorophylls and their derivatives," *SEA Journal of Islamic Finance*, vol. 8, pp. 4-8, 2022.