

HOẠT TÍNH CHỐNG OXI HÓA ĐẰNG SÂM (CODONOPSIS PILOSULA FRANCH.) SO SÁNH VỚI MỘT SỐ ĐƯỢC THẢO KHÁC VÀ AXIT ASCORBIC

Đến tòa soạn 17-5-2018

Nguyễn Thị Ngọc Ánh, Đào Thị Thu Thủy, Hoàng Văn Hà

Bộ môn Công nghệ Hóa học, khoa Hóa học, trường Đại học Khoa học Tự nhiên Hà Nội

SUMMARY

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CODONOPSIS PILOSULA FRANCH. IN COMPARISON WITH OTHER HERBS AND ASCORBIC ACID

Antioxidant activity is an importance factor for assessing the applicability of plant extracts in the food, functional foods and cosmetics sectors. Codonopsis pilosula Franch. is a traditional herb was extracted and freezing dry for storage, evaluation of their antioxidant activity Ampelopsis cantoniensis K.Koch, and Piper betle L. and comapre with extracts of Ampelopsis cantoniensis K.Koch, and Piper betle L. The antioxidant activity of these herbs were evaluated by total phenolic, total flavonoid, DPPH and ABTS^{•+} radical scavenging methods. Results showed that the total phenolics and flavonoids of Codonopsis pilosula Franch are smallest among three herbs. The DPPH radical scavenging activity of Ampelopsis cantoniensis is better than that of other herbs, and has the lowest EC₅₀ values. Ampelopsis cantoniensis K.Koch, and Piper betle L., also showed a high ABTS^{•+} radical cation scavenging activity and the activity of three herb extracts are in the same order as DPPH[•] radical scavenging activity. Expecially, Ampelopsis cantoniensis and Piper betle have a higher radical scvenging activity than ascorbic acid. Arcoding to the eastern medicine, Codonopsis pilosula Franch. is a medical for improving health, supporting digestive system, and circulatory system, however, the extract of this herb did not show noticeable antioxidant activities, it is recomnened to combind with a high antioxidant activity extract from other herbs for stablizing and protecting bioactive compounds.

Keywords: natural antioxidant, Ampelopsis cantoniensis K.Koch, Piper betle L., and Codonopsis pilosula Franch.), phenolic, flavonoid, radical scavenging

1. GIỚI THIỆU

Sự gia tăng quá mức các gốc tự do trong cơ thể có thể gây ra hiện tượng “stress oxy hóa” (oxidative stress) được cho là một trong những nguyên nhân chính gây ra các bệnh mãn tính và thoái hóa như xơ vữa động mạch, bệnh tim, thiếu máu cục bộ, ung thư, tiểu đường, bệnh thoái hóa thần kinh và lão hóa [3][4]. Các hợp chất chống oxy hóa có khả năng loại bỏ gốc tự do, giảm nguy cơ “stress oxy hóa”[5]. Đã có rất nhiều chất chống oxy hóa tổng hợp được sử

dụng, tuy nhiên chúng lại có nguy cơ độc tính cao, gây ra các tác dụng phụ như gây ung thư (BHT, BHA) [6]. Vì vậy càng ngày có nhiều người quan tâm đến việc tìm ra các chất chống oxy hóa có nguồn gốc từ tự nhiên, không gây tác dụng phụ và an toàn với sức khỏe con người.

Thực vật được con người biết đến là một nguồn chứa các chất chống oxy hóa tự nhiên tuyệt vời như: phenolic, flavonoid, tanin, quinine, carotenoid, tocopherol,... [7] Trong

đó cây thuốc dân gian từ lâu đã được con người quan tâm đến như một nguồn tài nguyên thực vật có giá trị thiết thực đối với con người trong việc phòng và chữa bệnh.

Cây Đắng sâm *Codonopsis javanica* (Blume) Hook. f. [1][2]; cây Trầu không *piper betle* L. (*piper siriboa* L.) [1] và cây Chè dây *Ampelopsis cantoniensis* (Hook. & Arn.) Planch [2] là ba loại cây thuốc và được thảo ở Việt Nam, được sử dụng như những vị thuốc chữa được rất nhiều bệnh và bồi bổ sức khỏe con người.

Các nghiên cứu đã được công bố cho thấy các chất có trong chiết xuất nước từ rễ Đắng sâm có tác dụng chống lại béo phì do fructose gây ra, sự tăng cao của Insulin trong máu và tác dụng điều trị của dịch chiết Đắng sâm là duy trì ổn định tình trạng chống oxy hóa trong gan chuột, bảo vệ gan trong cơ thể người [8],[9].

Theo kết quả nghiên cứu của PGS.TS. Phạm Thanh Kỳ và các cộng sự cho thấy về thành phần hóa học trong chè dây bao gồm: flavonoid (khá cao >18%), tannin (khá cao >11%), các acid hữu cơ, đường khử, phytosterol, không có saponin. Kết quả phân tích trên máy quang phổ phát xạ UCII-30 cho biết lá chè dây chứa các nguyên tố vi lượng Mn, Mg, Ca, Si, Al, Cu, Cr, Fe, Ag, Ti. Chè dây có tác dụng làm giảm độ acid của dịch vị, có tác dụng giảm đau, có tác dụng ức chế sự phát triển của một số chủng vi khuẩn, có tác dụng ức chế các ổ loét. Kết quả này góp phần giải thích việc sử dụng chè dây làm thuốc điều trị viêm loét dạ dày- hành tá tràng [10].

Một số nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra lá trầu không có chứa các hợp chất chống oxy hóa như phenolic, flavonoid [11][12][13]. Chiết xuất lá trầu không có tác dụng kháng khuẩn, sát trùng và hoạt động chống oxy hóa mạnh mẽ thể hiện qua hoạt động khử gốc DPPH, superoxit, hoạt động thu hồi gốc hydroxyl và ức chế quá trình peroxit lipid [14][15].

Tuy nhiên việc đánh giá và so sánh hoạt tính chống oxy hóa của ba loại dược liệu này hiện nay ở nước ta và trên thế giới vẫn còn rất hạn chế. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là

Xác định hoạt tính chống oxy hóa của rễ Đắng sâm để có góc nhìn khác về hoạt tính của thảo dược này từ đó có những giải pháp phối kết hợp với các cây dược liệu khác trong điều trị đông y và ứng dụng mới.

2. THỰC NGHIỆM

2.1 Hóa chất

Folin-ciocalteus Phenolreagenz Reactivodel fenol según, Germany; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Sigma-Aldrich, Chemie GmbH, 89552 Steiheim, Germany; 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) SIGMA Chemical Co. P.O. St. Louis. MO 63178, USA; axit galic, BHT; và một số hóa chất khác đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.

2.2 Tách chiết mẫu

Nguyên liệu thô ban đầu bao gồm cây chè dây đã được phơi khô cắt nhỏ, lá trầu không và rễ đắng sâm tươi được rửa sạch, sấy khô và cắt nhỏ.

Cả ba mẫu nguyên liệu được chuẩn bị bằng cách cho m (g) nguyên liệu được ngâm chiết trong thể tích V lít dung môi ethanol 90% trong thời gian 24h sau đó tiến hành lọc bằng giấy lọc băng xanh thu lấy dịch. Lặp lại việc ngâm chiết thêm 2 lần, gom dịch lọc trong 3 lần thu được dịch chiết. Dịch chiết được cô đặc bằng cách cô quay chân không sau đó tiến hành đông cô để lưu trữ và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa.

2.3 Xác định hoạt tính chống oxy hóa

Xác định tổng phenolic

Tổng phenolic chứa trong mẫu được xác định bằng phương pháp Folin Ciocalteu và một số hiệu chỉnh [16]. Cho 1,0 mL dịch chiết vào bình định mức 25 mL đã sẵn 9,0 mL nước cất. Thêm 1,0 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu (độ pha loãng 10 lần), lắc đều. Sau 5 phút, thêm 10,0 mL Na₂CO₃ 7%, định mức đến vạch bằng nước cất, để ở nhiệt độ phòng 90 phút sau đó đo quang ở bước sóng 570 nm. Tổng phenolic được tính bằng số mg gallic (GAE)/100g khối lượng khô.

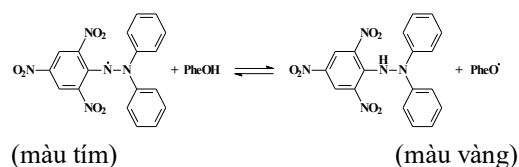
Xác định tổng flavonoid

Tổng flavonoid trong mẫu được xác định theo phương pháp tạo phức với muối nhôm. Sử dụng đường chuẩn Catechin. Cho 1,0 mL dịch chiết vào bình định mức 10,0 mL đã có sẵn 4,0 mL nước cất. Thêm 0,3 mL NaNO_2 5%. Sau 5 phút thêm 0,3 mL AlCl_3 10%, ở phút thứ 6 thêm 2,0 mL NaOH 1M. Định mức, lắc đều và đo quang ở 510 nm. Tổng flavonoid được xác định bằng số mg catechin quy đổi (CE)/100g khối lượng khô [16][17].

Khả năng bắt gốc tự do DPPH

Hiệu quả quét gốc tự do DPPH $^{\bullet}$ được xác định theo phương pháp của W. Brand-William cùng cộng sự, và P. Molyneux [18][19]. Dịch chiết (3ml) được trộn với 3ml dung dịch DPPH/ethanol (pha loãng bằng ethanol đến nồng độ sao cho giá trị đo quang nằm trong khoảng $0,9 \pm 0,1$). Phản ứng gốc DPPH và chất COXH được thể hiện qua % khử gốc tự do ở 517nm sau 80 phút phản ứng.

Cơ sở của phương pháp này dựa trên phản ứng của gốc tự do DPPH $^{\bullet}$ với chất chống oxy hóa PheOH:

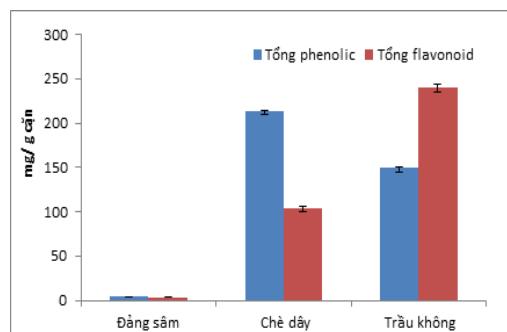


Khả năng bắt gốc tự do ABTS $^{+\bullet}$ [20]

Gốc tự do ABTS $^{+\bullet}$ được tạo ra bằng cách cho dung dịch ABTS 7mM phản ứng với $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2,45mM trong nước (1:1 theo v/v), bảo quản trong chai sẫm màu (tạo gốc tự do trước 12-16h). Cho vào ống nghiệm 0,5mL dịch chiết khác nhau với nồng độ đẳng sâm 2,00 g/L, chè dây 0,02 g/L, trà không 0,02 g/L và 4,5 mL dung dịch ABTS $^{+\bullet}$ và đo độ hấp thụ quang ở 734nm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, dữ liệu được xử lý trên phần mềm excel và kết quả lấy giá trị trung bình cộng trừ độ lệch chuẩn



Hình 1: Hàm lượng phenolic và flavonoid trong cặn chiết rễ Đẳng sâm, Chè dây, lá Trà không.

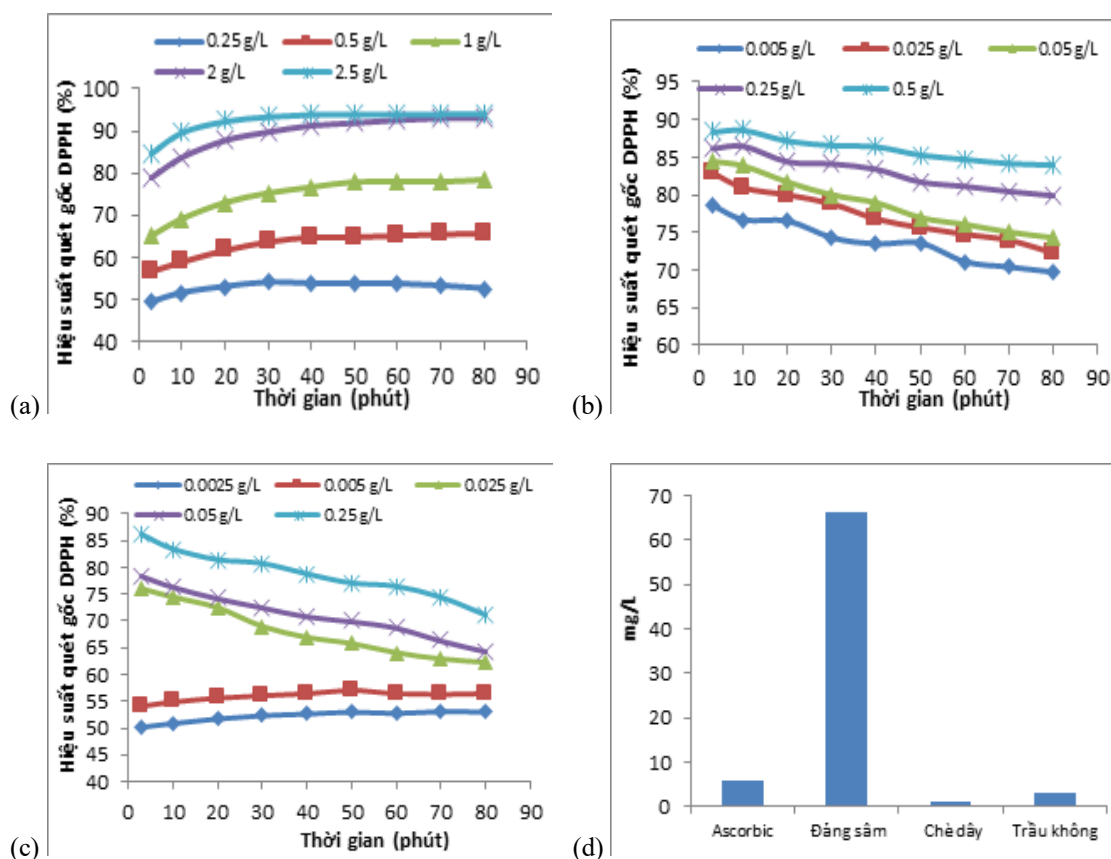
Từ kết quả thực nghiệm ở hình 1 cho thấy hàm lượng phenolic và flavonoid trong cặn chiết chè dây và lá trà không là rất lớn tương ứng là $213,3 \pm 0,9$; $239,7 \pm 4,6$ mg CE/ g cặn. Hàm lượng phenolic và flavonoid trong cặn chiết rễ Đẳng sâm rất nhỏ so với hai cặn chiết còn lại. Như vậy Chè dây và Trà không là hai nguồn được liệu chứa hàm lượng phenolic và flavonoid lớn.

Xác định hoạt tính chống oxy hóa thông qua hiệu suất bắt gốc tự do DPPH $^{\bullet}$ là phương pháp được sử dụng khá rộng rãi.

Hình 2a, 2b, 2c thể hiện hoạt tính quét gốc DPPH của các cặn chiết đẳng sâm, chè dây, trà không tương ứng. Kết quả cho thấy các cặn chiết ở các nồng độ thử nghiệm đều thể hiện hoạt tính quét gốc tự do DPPH khá tốt. Hiệu quả quét gốc của các cặn chiết càng lớn khi nồng độ cặn chiết tăng.

Đối với cặn chiết Đẳng sâm và lá trà không ở nồng độ thấp 2,5 và 5,0 mg/L, hiệu quả quét gốc DPPH tăng theo thời gian từ 3 đến 80 phút đối với mỗi nồng độ khảo sát: trong 30 phút đầu tiên hiệu quả quét gốc tăng nhanh và sau đó tăng chậm đến phút thứ 80 của khảo sát.

(a)



Hình 2d. Giá trị EC_{50}

Hình 2: Hoạt tính quét gốc DPPH^{*} của các cận chiết: rễ đẳng sâm (a), chè dây (b), lá trâu không (c) ở các nồng độ khác nhau theo thời gian và giá trị EC_{50} của các cận chiết và chất chống oxy hóa tiêu chuẩn ascorbic (d)

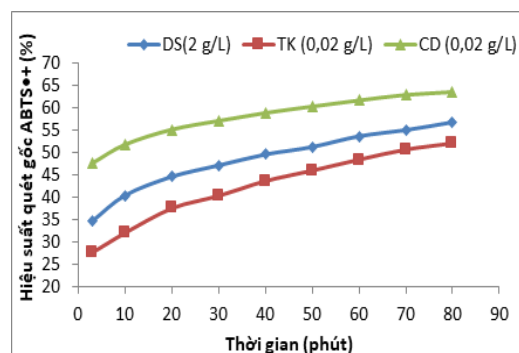
Đối với cận chiết Chè dây và lá trâu không ở nồng độ 2,5; 50,0; 250,0 mg/ cận chiết có hoạt tính rất mạnh, ở thời điểm 3 phút hiệu suất quét gốc đo được là 75%- 90%, phần lớn các gốc tự do đã bị khử, sau đó các hợp chất chống oxy hóa bị phân hủy tạo ra các hợp chất có khả năng cản màu làm cho giá trị đo quang của dung dịch tăng lên, hiệu suất quét gốc giảm đến phút thứ 80 của khảo sát.

Hình 2d là kết quả giá trị EC_{50} của các cận chiết đẳng sâm, chè dây, trâu không và chất chống oxy hóa tiêu chuẩn ascorbic. Cận chiết có giá trị EC_{50} càng nhỏ thể hiện hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh. Theo kết quả giá trị EC_{50} thu được, so sánh với ascorbic ta thấy rằng, chè dây có giá trị EC_{50} nhỏ nhất là 1,29 mg/L, trâu không là 3 mg/L. Cả hai giá trị này đều thấp hơn giá trị EC_{50} của chất chống oxy

hóa tiêu chuẩn ascorbic (5,7 mg/L). Giá trị EC_{50} của đẳng sâm tương đối cao (66,3 mg/L) so với hai cận chiết còn lại và ascorbic. Điều này chứng tỏ rằng, hoạt tính chống oxy hóa của chè dây và trâu không là rất lớn, hoạt tính của đẳng sâm kém hơn so với hai loại cận chiết còn lại.

Khảo sát hoạt tính bắt gốc tự do $ABTS^{*+}$. Cận chiết đẳng sâm 2,00 g/L, trâu không 0,02 g/L, chè dây 0,02 g/L được chuẩn bị để tiến hành cho khảo sát đánh giá hoạt tính quét gốc $ABTS^{*+}$ theo thời gian. Kết quả thể hiện ở hình cho thấy cận chiết ở các nồng độ khảo sát đều có hoạt tính khử gốc cation $ABTS^{*+}$. Khả năng khử gốc cation $ABTS^{*+}$ tăng theo thời gian khảo sát. Ở cùng nồng độ khảo sát 0,02 g/L, cận chiết chè dây thể hiện hoạt tính quét gốc

tốt hơn cận chiết lá trà không ở tất cả các thời điểm đo.



Hình 3: Hiệu suất quét gốc ABTS^{•+} theo thời gian của cận chiết đẳng sâm (2,00 g/L), trà không (0,02 g/L), chè dây (0,02 g/L)

Bảng 1: giá trị EC₅₀ của cận chiết rễ đẳng sâm, chè dây, lá trà không và hai chất chống oxi hóa tiêu chuẩn ascorbic, BHT

Cận	Ascor.	BHT	ĐS	TK	CD
EC ₅₀	52,0	25,6	2603,0	38,2	17,8

Bảng 1 biểu diễn giá trị EC₅₀ của các cận chiết đẳng sâm, trà không, chè dây và hai chất chống oxi hóa tiêu chuẩn ascorbic và BHT. Từ kết quả khảo sát cho thấy giá trị EC₅₀ của cận chè dây là nhỏ nhất (17,8 mg/L), giá trị này nhỏ hơn EC₅₀ của hai chất chống oxi hóa tiêu chuẩn là ascorbic (52,0 mg/L) và BHT (25,6 mg/L) vì vậy cận chè dây thể hiện hoạt tính chống oxi hóa cao ascorbic và BHT. Giá trị EC₅₀ của cận trà không là 38,2 mg/L nhỏ hơn EC₅₀ của ascorbic nhưng lớn hơn của BHT, vì vậy cận trà không thể hiện hoạt tính chống oxi hóa cao hơn ascorbic nhưng thấp hơn chất chống oxi hóa tổng hợp BHT. Đối với cận chiết đẳng sâm, giá trị EC₅₀ xác định được là rất lớn (2603,0 mg/L) so với hai cận chiết còn lại và hai chất chống oxi hóa tiêu chuẩn. Từ kết quả thực nghiệm kết luận được cận đẳng sâm có hoạt tính chống oxi hóa thấp, cận chè dây và trà không có hoạt tính chống chống oxi hóa cao, là nguồn cung cấp chất chống oxi hóa tự nhiên lý tưởng để thay thế các chất chống oxi hóa tổng hợp.

4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy cả ba loại dược liệu chè dây, trà không là nguồn cung cấp các chất chống oxi hóa tự nhiên tốt, chúng chứa hàm lượng rất lớn phenolic và flavonoid, thể hiện hoạt tính chống oxi hóa mạnh hơn chất chống oxi hóa tổng hợp BHT và ascorbic trong khi nguồn nguyên liệu dễ kiếm, giá thành rẻ và an toàn với sức khỏe con người. Đẳng sâm là dược liệu, đông y sử dụng trong bồi bổ sức khỏe hỗ trợ hệ tiêu hóa và tuần hoàn, các hợp chất trong đẳng sâm thể hiện hoạt tính chống oxi hóa không đáng kể do đó có thể kết hợp với các thảo dược có hoạt tính chống oxi hóa để bảo vệ hoạt chất và bù đắp cho đặc tính còn thiếu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T. L. Do, “Nhưng Cây Thuoc Va Vi Thuoc Viet Nam.” p. 1485, 1995.
- [2] D. H. Bich, *Cây thuốc và động vật làm thuốc của Việt Nam tập 1.pdf*.
- [3] R. Gan, X. Xu, F. Song, L. Kuang, and H. Li, “Antioxidant activity and total phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases,” *J. Med. Plants Res.*, vol. 4, no. 22, pp. 2438–2444, 2010.
- [4] B. Halliwell, “Free radicals, antioxidants, and human disease: Curiosity, cause, or consequence,” *Lancet*, vol. 344, no. 8924, pp. 721–724, 1994.
- [5] S. B. Nimse and D. Pal, “Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms,” *RSC Adv.*, vol. 5, no. 35, pp. 27986–28006, 2015.
- [6] W. J. Li *et al.*, “Phenolic compounds and antioxidant activities of *Liriope muscari*,” *Molecules*, vol. 17, no. 2, pp. 1797–1808, 2012.
- [7] J. Porkony, N. Yanishlieva, and M. Gordon, *Antioxidant in food*. 2001.

(xem tiếp tr. 15)