

KHẢO SÁT TÁC DỤNG CHỐNG OXY HOÁ CỦA CAO CHIẾT THÂN MẬT GẤU NAM

Đến tòa soạn 09-02-2023

Phạm Văn Vĩ, Thái Thị Cẩm*, Nguyễn Duy Tuấn, Hứa Hữu Bằng², Trần Quang Độ^{3*}

1. Trường Đại học Nam Cần Thơ

2. Khoa Dược, Trường Đại học Võ Trường Toản

3. Khoa Khoa học Tự Nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Email: tqde@ctu.edu.vn; thaicam06@gmail.com

SUMMARY

THE SURVEY ANTIOXIDANT EFFECTS OF STEM EXTRACTS FROM BITTER LEAF (*Vernonia amygdalina* L.)

Bitter leaf is a medicinal plant widely used in folk medicine but little studied for the biological effects. Antioxidant activities of stem extracts include n-hexane; chloroform; ethyl acetate; n-butanol; ethanol; and water, determined by the free radicals reduction ability 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method and Fe^{3+} reduction capacity test. On the DPPH model with the best EC_{50} values of Ethyl acetate and n-butanol, the EC_{50} values were $63.73\mu g/mL$ and $87.21\mu g/mL$. On the Fe^{3+} reduction test model with the best EC_{50} being Ethyl acetate, the EC_{50} value was $72.02\mu g/mL$. Bitter leaf is a plant with the potential for antioxidant capacity and hepatoprotective bioactivity..

Keywords: Antioxidant activities, bitter leaf, DPPH.

1. GIỚI THIỆU

Ngày nay diễn biến bệnh tật trên thế giới cũng như tại Việt Nam đang ngày càng phức tạp như bệnh tiểu đường, các bệnh về gan, huyết áp, bệnh ung thư vú ở phụ nữ ... Mật gấu nam là một loại thảo dược được du nhập và trồng phổ biến ở Việt Nam và được người dân sử dụng để chữa các bệnh tăng huyết áp, tiểu đường, bệnh về gan... Các bộ phận trên mặt đất của cây Mật gấu nam đã được các nước trên thế giới sử dụng như một thuốc hạ sốt, nhuận tràng, chống sốt rét và trị giun [5], [10], [11], [16]. Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy tác dụng chống oxy hóa [1], [2], [7], [9]; kháng khuẩn [6], [11]; chống ký sinh trùng [3], [4], [15]; trị đái tháo đường [2], [7], [13] và hạ huyết áp [6], [14]. Ngoài ra Mật gấu nam còn có tác dụng hỗ trợ điều trị HIV/AIDS [12]; ức chế sự tăng trưởng và tăng sinh tế bào ung thư vú [17].

Trước đó nhóm đã tiến hành nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa của cao chiết ở lá cây Mật gấu nam cho các kết quả tốt. Nghiên cứu này tiếp tục khảo sát sơ bộ thành phần hoá học có trong cao chiết cồn 96% của thân cây Mật gấu nam, khảo sát tác dụng chống oxy hóa trên các cao phân đoạn; n-hexane; chloroform; ethyl acetate; n-butanol; ethanol; nước bằng khả năng loại bỏ gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) và năng lực khử sắt.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Thân cây Mật gấu nam được thu hái tại khu vực ấp Mỹ Lộc, xã Mỹ Khánh, huyện Phong Điền, Thành phố Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát sơ bộ thành phần hoá học có trong cao chiết ethanol 96% từ thân cây Mật gấu nam.

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa. Cao cồn của thân Mật gấu nam hoà tan với nước và phân đoạn với các dung môi theo độ phân cực tăng dần, từ *n*-hexane; chloroform; ethyl acetate; *n*-butanol và cuối cùng là nước. *n*-hexane; chloroform; ethyl acetate; *n*-butanol và chiết xuất dạng nước được cô đặc bằng cách sử dụng máy cô quay chân không để tạo ra các cao phân đoạn tương ứng.

2.2.1. Phương pháp DPPH

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết được xác định bởi khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH theo mô tả của Sharma and Bhat (2009) có hiệu chỉnh. Khi có sự hiện diện của chất kháng oxy hóa thì các điện tử tự do của DPPH có khả năng kết hợp với hydrogen của chất kháng oxy hóa tạo thành dạng DPPH-H có màu vàng. Giá trị EC₅₀ càng thấp chứng tỏ khả năng bắt gốc tự do DPPH càng cao và khả năng kháng oxy hóa càng mạnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 100 µL DPPH và 100 µL cao chiết (chất chuẩn) đã pha loãng với dãy nồng độ khảo sát. Sau đó, hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 60 phút. Đo độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 517 nm. Chất đối chứng dương được sử dụng là acid gallic. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Phần trăm loại bỏ gốc tự do DPPH được tính theo công thức:

% Loại bỏ gốc tự do = (Ac – Am)/Ac X 100

Trong đó:

Ac: là giá trị hấp thụ của đối chứng âm.

Am: là giá trị hấp thụ của mẫu.

2.2.2. Phương pháp năng lực khử sắt

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết được xác định bởi năng lực khử sắt (Reducing power – RP) thực hiện theo phương pháp Zhu *et al.* (2002) có hiệu chỉnh. Chất kháng oxy hóa sẽ khử phức Fe³⁺ trong phân tử kali ferricyanide thành Fe²⁺, sau khi bổ sung FeCl₃ sẽ tạo phức có màu xanh dương. Khả năng kháng oxy hóa được biểu diễn theo độ hấp thụ của mẫu, giá trị EC₅₀ càng thấp thì khả năng kháng oxy hóa càng cao. Hỗn hợp phản ứng gồm 500 µL cao chiết (chất chuẩn) ở nồng độ khảo sát, 500 µL dung dịch đệm phosphate (0,2M, pH = 6,6) và 500 µL K₃Fe(CN)₆ 1%, hỗn hợp phản ứng

được ủ ở 50°C trong 20 phút. Tiếp đến, hỗn hợp được thêm 500 µL CCl₃COOH 10% rồi ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút. Nhẹ nhàng rút 500 µL dịch phía trên cho vào 500 µL nước cất và 100 µL FeCl₃ 0,1%, lắc đều. Đo độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 700 nm. Chất đối chứng dương sử dụng là acid gallic. Thí nghiệm lặp lại 3 lần.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Trong cao chiết ethanol 96% của thân Mật gấu nam định tính tìm thấy các hợp chất như: alkaloid; flavonoid; tanin; saponin; acid hữu cơ và các chất khử.

Từ các thông tin của hợp chất đã thu, cao chiết của thân Mật gấu nam đã được đánh giá hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH.

Kết quả cho thấy, tất cả các cao của thân Mật gấu nam đều cho thấy tác dụng chống oxy hoá bằng phương pháp DPPH ở các nồng độ. Tuy nhiên, cao chiết ethyl acetate có hoạt động mạnh trung hoà DPPH mạnh hơn so với các cao chiết còn lại. Hoạt động thu gom gốc tự do của tất cả các mẫu cho thấy xu hướng phản ứng phụ thuộc vào nồng độ (Hình 1). Việc tăng nồng độ của các mẫu thử nghiệm sẽ làm tăng tác dụng trung hoà DPPH. Giá trị EC₅₀ của các cao chiết *n*-hexane; chloroform; ethyl acetate; *n*-butanol; ethanol; nước lần lượt là 1367,67 µg/mL; 368,35 µg/mL; 63,73 µg/mL; 87,21 µg/mL; 329,56 µg/mL; 3303,51 µg/mL (Bảng 1). So với nghiên cứu trước đây của tác giả và cộng sự (2021) trên các cao phân đoạn của lá Mật gấu nam chỉ ghi nhận cao ethyl acetate cho kết quả trung hoà DPPH tốt nhất với giá trị EC₅₀ là 71,88 µg/mL [0].

Trong cao chiết ethyl acetate và *n*-butanol chứa các chất có khả năng trung hoà DPPH mạnh hơn các cao chiết còn lại của thân cây Mật gấu nam. Cao chiết có khả năng trung hoà DPPH thấp nhất là cao chiết nước.

Cao chiết thân cây Mật gấu nam tiếp tục được thử nghiệm năng lực khử Fe³⁺. Kết quả cho thấy, hoạt tính chống oxy hoá bằng năng lực khử sắt tương tự như phương pháp DPPH. Các mẫu cao chiết đều có tác dụng khử sắt ở các nồng độ. Năng lực khử sắt của các cao chiết đều chịu ảnh hưởng bởi nồng độ (Hình 2). Giá

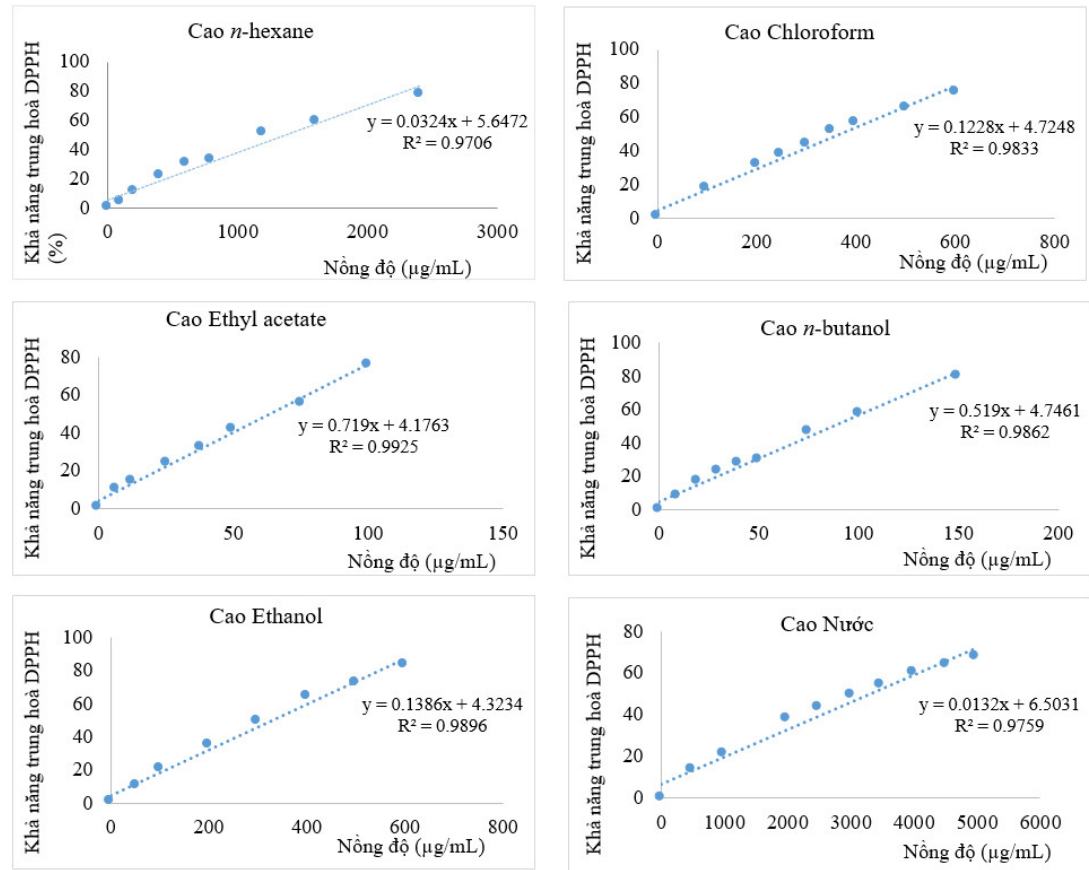
trị EC₅₀ của các cao chiết *n*-hexane; chloroform; ethyl acetate; *n*-butanol; ethanol; nước lần lượt là 1468,33µg/mL; 493,23 µg/mL; 72,02 µg/mL, 101,36 µg/mL; 411,33 µg/mL và 4650,33 µg/mL (Bảng 2). So với giá trị EC₅₀ của cao chiết ethyl acetate ở lá là 8,4170 µg/mL trên nghiên cứu trước đây của

tác giả và cộng sự (2021) thì các cao phân đoạn ở lá cho kết quả khử sắt tốt hơn [0].

Cao chiết ethyl acetate và *n*-butanol có tác dụng khử sắt mạnh hơn các cao chiết còn lại của thân Mật gấu nam. Cao chiết có năng lực khử sắt thấp nhất là cao chiết nước.

Bảng 1. Kết quả hoạt tính chống oxy hoá các cao phân đoạn bằng phương pháp DPPH của thân Mật gấu nam

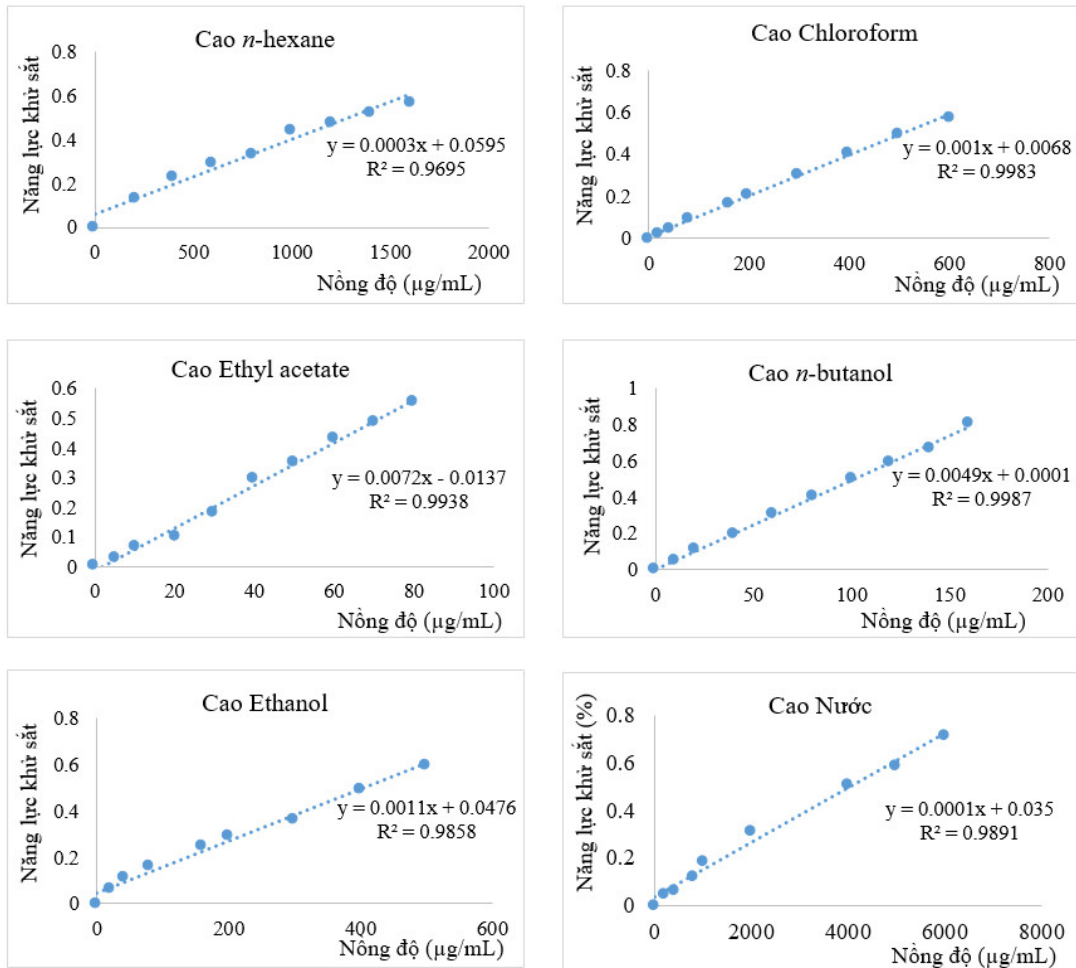
Cao chiết	Phương trình hồi quy	Giá trị EC ₅₀ (µg/mL)
Acid gallic	$y = 12,114x + 0,5733; R^2 = 0,9907$	4,08±0,01
Cao <i>n</i> -hexane	$y = 0,0324x + 5,6472; R^2 = 0,9706$	1367,67±24,50
Cao Chloroform	$y = 0,1228x + 4,7248; R^2 = 0,9833$	368,35±0,30
Cao Ethyl acetate	$y = 0,719x + 4,1763; R^2 = 0,9925$	63,73±0,49
Cao <i>n</i> -butanol	$y = 0,519x + 4,7461; R^2 = 0,9862$	87,21±1,80
Cao Cỏn	$y = 0,1386x + 4,3234; R^2 = 0,9896$	329,56±1,61
Cao Nước	$y = 0,0132x + 6.5031; R^2 = 0,9759$	3303,51±15,60



Hình 1. Các biểu đồ thể hiện khả năng trung hoà DPPH các cao phân đoạn thân Mật gấu nam

Bảng 2. Kết quả hoạt tính chống oxy hoá các cao phân đoạn bằng phương pháp khử sắt của cao chiết thân Mật gấu nam

Cao chiết	Phương trình hồi quy	Giá trị EC ₅₀ (µg/mL)
Acid gallic	$y = 0,0508x - 0,0283$; $R^2 = 0,9898$	10,41±0,07
Cao <i>n</i> -hexane	$y = 0,0003x + 0,0595$; $R^2 = 0,9695$	1468,33±18,35
Cao Chloroform	$y = 0,001x + 0,0068$; $R^2 = 0,9983$	493,23±0,30
Cao Ethyl acetate	$y = 0,0072x - 0,0137$; $R^2 = 0,9938$	72,02±0,56
Cao <i>n</i> -butanol	$y = 0,0049x + 0,0001$; $R^2 = 0,9987$	101,36±2,17
Cao Cồn	$y = 0,0011x + 0,0476$; $R^2 = 0,9858$	411,33±2,20
Cao Nước	$y = 0,0001x + 0,035$; $R^2 = 0,9891$	4650,33±3,06



Hình 2. Các biểu đồ thể hiện năng lực khử sắt của các cao phân đoạn từ thân Mật gấu nam

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu khảo sát hoạt tính oxy hóa các cao phân đoạn của thân cây Mật gấu nam (thu hái tại huyện Phong Điền, TP. Cần Thơ) đã thu được các kết quả sau:

+ Trên mô hình thử nghiệm trung hoà DPPH cao phân đoạn có khả năng trung hòa gốc tự do

tốt nhất là cao ethyl acetate và thứ hai là cao *n*-butanol, giá trị EC₅₀ là 63,73 µg/mL và 87,21 µg/mL.

+ Trên mô hình thử nghiệm năng lực khử sắt cao ethyl acetate và cao *n*-butanol tiếp tục thể hiện năng lực khử sắt tốt hơn các cao phân

đoạn khác với giá trị EC₅₀ là 72,02 µg/mL và 101,36 µg/mL.

Kết quả cho thấy các cao chiết từ thân cây Mật gấu nam có hoạt tính chống oxy hóa tốt, trong đó cao phân đoạn ethyl acetate và cao *n*-butanol cho hoạt tính tốt nhất. Góp phần đa dạng thêm nguồn nguyên liệu để tiếp tục nghiên cứu tác dụng của loài này và tạo ra cơ hội phát hiện thêm các chất chống oxy hoá mới có tác dụng tốt cho cơ thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Bùi Hoàng Minh, Dương Thị Ngọc Huyền, Nguyễn Thị Mơ, Trịnh Công Thái, (2020). Phân lập thành phần hóa học hướng tác dụng chống oxi hóa trong lá cây Lá đắng (*Vernonia amygdalina* Delile, Asteraceae). *Tạp chí khoa học và công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành*, số 9, tr.44-51.

[2] Phạm Văn Vĩ, Thái Thị Cẩm, Trần Quang Đệ, (2021). Khảo sát tác dụng chống oxy hoá của cao chiết lá Mật gấu nam. *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, tập 26(số 4B), tr.79-82.

[3] ADEMOLA I.O., ELOFF J.N., (2011). Anthelmintics activity of acetone extract and fractions of *Vernonia amygdalina* against *Haemonchus contortus* eggs and larvae. *Trop. Anim. Health Prod.*, v43(n2), p.521-527.

[4] ADIUKWU P.C., AMON A., NAMBATYA G., (2011). Pharmacognostic, antiparasitic and antipyretic evaluation of the aqueous extract of *Vernonia amygdalina* leaf. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, v5(n2), p.709-716.

[5] AGRA M.F., SILVA K.N., DINIZ I.J.L., FREITAS P.F., BARBOSA-FILHO J.M., (2008). Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v18(n3), p.472-508.

[6] AJIBOLA C.F., ELEYINMI A.F., ALUKO R.E., (2011). Kinetics of the inhibition of renin and angiotensin I converting enzyme by polar and non-polar polyphenolic extracts of *Vernonia amygdalina* and *Gongronema latifolium* leaves. *Plant Foods Hum. Nutr.*, v66(n4), p.320-327.

[7] AKINOLA O.B., OMOTOSO G.O., AKINOLA O.S., DOSUMU O.O., ADEWOYE E.T., (2011). Effects of combined leaf extract of *Vernonia amygdalina* and *Azadirachta indica* on hepatic morphology and hepatotoxicity markers in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Chin. Integr. Med.*, v9(n12), p.1373-1379.

[8] ERASTO P., GRIERSON D.S., AFOLAYAN A.J., (2006). Bioactive

sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *J. Ethnopharmacol.*, v106(n1) p.117-120.

[9] FAROMBI E.O., OWOEYE O., (2011). Antioxidative and chemopreventive properties of *Vernonia amygdalina* and *Garcinia biflavonoid*. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, v8(n6), p.2533-2555.

[10] GEORGEWILL O.A., GEORGEWILL U.O., (2010). Evaluation of the anti-inflammatory activity of extract of *Vernonia amygdalina*. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, v3(n2), p.150-151.

[11] IGILE G.O., OLESZEK W., JURZYSTA M., BURDA S., FAFUNSO M., FASANMADE A.A., (1994). Flavonoids from *Vernonia amygdalina* and their antioxidant activities. *J. Agric. Food Chem.*, v42(n11), p.2445-2448.

[12] Momoh M.A., Muhamed U., Agboke A.A., Akpabio E.I., and Osonwa Uduma E., (2012). Immunological effect of aqueous extract of *Vernonia amygdalina* and a known immune booster called immunace and their admixtures on HIV/AIDS clients: a comparative study. *Asian Pac J Trop Biomed*, p.181-184.

[13] OKIGBO R.N., MMEKA E.C., (2008). Antimicrobial effects of three tropical plant extracts on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, v5(n3), p.226-229.

[14] SALIU J.A., ADEMILUYI A.O., AKINYEMI A.J., OBOH G., (2011). In vitro antidiabetes and antihypertension properties of phenolic extracts from bitter leaf (*Vernonia amygdalina* Del.). *J. Food Biochem*, v36(n5), p.569-576.

[15] TADESSE A., GEBRE-HIWOT A., ASRES K., DJOTE M., FROMMEL D., (1993). The in vitro activity of *Vernonia amygdalina* on *Leishmania aethiopica*. *Ethiop. Med. J.*, v31(n3), p.183-189.

[16] VIGNERON M., DEPARIS X., DEHARO E., BOURDY G., (2005). Antimalarial remedies in French Guiana: a knowledge attitudes and practices study. *J. Ethnopharmacol.*, v98(n3), p.351-360.

[17] WONG F.C., WOO C.C., HSU A., TAN B.K., (2013). The anti-cancer activities of *Vernonia amygdalina* extract in human breast cancer cell lines are mediated through caspase-dependent and p53-independent pathways. *J. Plos one*, v8(n10).