

Khảo sát tác động chống oxy hóa *in vitro* của lá cây lá dong (*Phrynium parviflorum* Roxb, Marantaceae)

Hoàng Thị Phương Liên

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

htplien@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Đề tài tiến hành nhằm khảo sát sự ảnh hưởng của dung môi chiết (nước, cồn 50%, 70%, 96%) lên hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của lá cây Lá dong thông qua khả năng đánh bắt gốc tự do DPPH. Kết quả cho thấy dịch chiết nước của lá cây Lá dong cho hoạt tính chống oxy hóa nhất với giá trị IC_{50} thấp nhất (419,61 μ g/ml) so với các dịch chiết từ dung môi khác, IC_{50} của chất đối chứng là acid ascorbic là 7,34 μ g/ml. Như vậy, dịch chiết nước của lá cây Lá dong có tiềm năng sử dụng làm chất chống oxy hóa tự nhiên.

Nhận 15.12.2017
Được duyệt 26.01.2018
Công bố 01.02.2018

Từ khóa
chống oxy hóa, lá dong,
DPPH

© 2018 Journal of Science and Technology - NTTU

1. Đặt vấn đề

Gốc tự do (Reactive oxygen species - ROS) là sản phẩm phụ tự nhiên của quá trình trao đổi oxy, đóng vai trò quan trọng trong quá trình truyền tín hiệu tế bào và cân bằng nội mô. Tuy nhiên, trong môi trường có các tác nhân như nhiệt độ, tia cực tím thì lượng ROS tăng lên đáng kể. Gốc tự do là một tác nhân độc hại gây ra nhiều bệnh như bệnh tim mạch, các bệnh về gan, đục thủy tinh thể, lão hóa, ung thư...

Lá Dong là loại cây dễ trồng, hiện nay chủ yếu sử dụng làm lá gói các loại bánh. Theo kinh nghiệm dân gian, lá cây Lá dong có tác dụng giải độc, chữa say rượu [1], [2]. Tuy nhiên hiện nay chưa có nghiên cứu về tác dụng dược lý của lá cây Lá dong.

Do đó, chúng tôi thực hiện đề tài “Khảo sát tác động chống oxy hóa *in vitro* của lá cây Lá dong (*Phrynium parviflorum* Roxb, Marantaceae)” với mục tiêu:

- Khảo sát sơ bộ tính chống oxy hóa của lá Dong ở các dung môi nước và cồn 50 độ, 70 độ, 96 độ.
- Xác định IC_{50} của cao tiềm năng.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Mẫu dược liệu: Lá cây Lá dong được thu hái từ huyện Nhà Bè, Tp. Hồ Chí Minh.

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), acid ascorbic mua

từ Sigma-Aldrich, Đức.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chiết xuất dược liệu

Lá cây Lá Dong được rửa sạch, loại bỏ phần cuống cứng, sấy khô dược liệu ở nhiệt độ 80 °C, trong vòng 8 giờ rồi xay nhỏ. Dược liệu được chiết xuất toàn phần với các dung môi nước, cồn 50%, 70%, 96% bằng phương pháp chiết nóng ở nhiệt độ 90 °C. Thực hiện chiết 2 lần, tỉ lệ dược liệu/ dung môi mỗi lần chiết là 1 g/10 ml. Cô dịch chiết ở nhiệt độ 70 °C tới khi đạt thể chất cao đặc, sau đó cho vào bình hút ẩm đến khi khối lượng không đổi để xác định hàm lượng chất chiết được.

2.2.2 Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* bằng phương pháp DPPH

Nguyên tắc: dựa trên phản ứng khử 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) thành 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazin (DPPH - H). DPPH là một gốc tự do bền nhờ sự di chuyển bất định của cặp electron tự do trong phân tử. Do đó, DPPH không bị dimer hoá như các gốc tự do khác. Có bước sóng hấp thụ cực đại ở 517 nm, dưới tác động của chất oxy hóa AH sẽ cho 1 nguyên tử H và DPPH bị khử thành DPPH - H, dung dịch DPPH màu tím chuyển sang màu vàng của DPPH - H. Sự thay đổi độ hấp thụ của hỗn hợp trước và sau phản ứng được ghi nhận ở 517nm, từ đó xác định khả năng quét gốc tự do DPPH của tác nhân chống oxy hóa cần khảo sát [3], [4], [5], [6], [7].



Tiến hành: Dùng 1 ml dung dịch DPPH (nồng độ 0,2 mM trong methanol, pha dùng trong ngày, bảo quản ở 4 °C) cho vào 1 ml dung dịch cao thử có nồng độ khác nhau. Hỗn hợp được lắc đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối. Sau 30 phút, đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Tiến hành đồng thời với mẫu trắng (dung môi hòa tan mẫu thử + MeOH), mẫu chuẩn (dung môi hòa tan mẫu thử + DPPH trong MeOH), mẫu chứng trắng (mẫu thử + MeOH). Tiến hành 3 lần, lấy giá trị trung bình.

Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) được tính theo công thức:

$$HTCO (\%) = \left(1 - \frac{OD_{thử} - OD_{chứng trắng}}{OD_{chuẩn} - OD_{trắng}} \right) * 100$$

OD_{chứng trắng}: độ hấp thụ của mẫu chứng trắng

OD_{thử}: độ hấp thụ của mẫu thử

OD_{chuẩn}: độ hấp thụ của mẫu chuẩn

OD_{trắng}: độ hấp thụ của mẫu trắng

Thông qua phương trình hồi quy lập được, xác định IC₅₀ của mẫu thử.

3. Kết quả

2.3 Kết quả chiết xuất dược liệu

Từ 6 kg lá cây Lá dong tươi, loại bỏ phần cuống thu được 5,3 kg bẹ lá. Sấy ở 80 °C trong 8h, thu được 0,72 kg dược liệu khô, độ ẩm 6,50%.

2.4 Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa in vitro

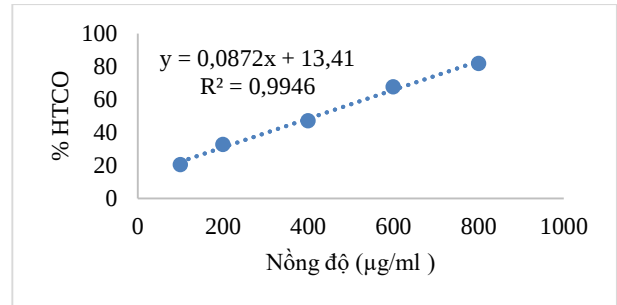
Hàm lượng chất chiết được theo các dung môi được và kết quả khảo sát sơ bộ hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết được biểu diễn ở Bảng 1.

Bảng 1 Hàm lượng chất chiết được và hoạt tính chống oxy hóa HTCO của các dung môi

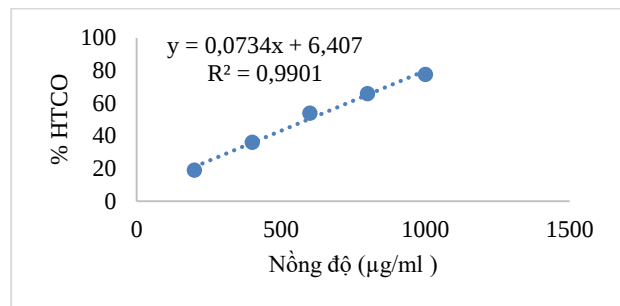
Dung môi	Hàm lượng chất chiết được	HTCO (%)
Nước	16,13 %	89,75
Ethanol 50%	14,95 %	77,53
Ethanol 70%	14,80 %	78,75
Ethanol 96%	10,20 %	53,21

Kết quả thu được cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của các cao toàn phần ở dung môi nước, ethanol 50%, ethanol 70%, và hàm lượng chất chiết được đều cao hơn so với cao ethanol 96%. Từ đó, tiếp tục khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của các cao nước, ethanol 50%, ethanol 70% ở các

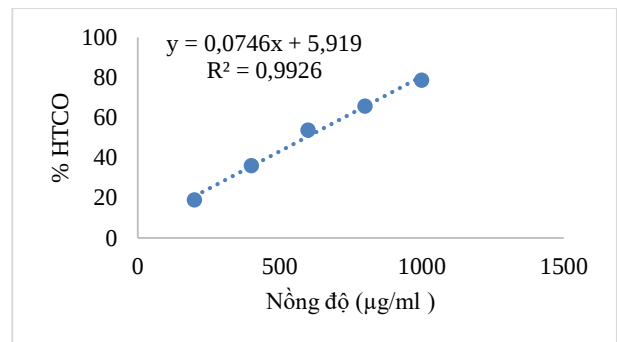
nồng độ 1000, 800, 600, 400, 200, 100 µg/ml để xác định IC₅₀; tiến hành khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của chất đối chứng acid ascorbic đồng thời với các mẫu cao thử. Kết quả được trình bày ở Hình 1, Hình 2, Hình 3, Hình 4.



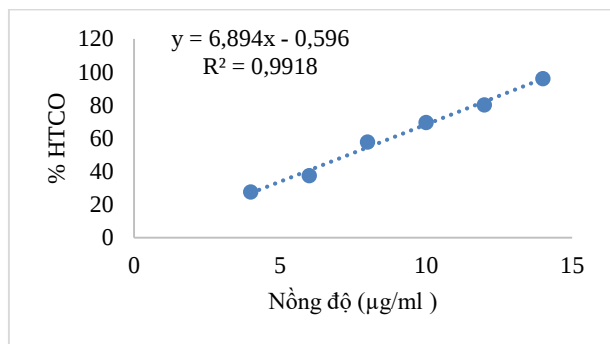
Hình 1. Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của cao nước lá cây Lá dong



Hình 2. Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của cao còn 50% lá cây Lá dong



Hình 3. Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của cao còn 70% lá cây Lá dong



Hình 4 Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của acid ascorbic

Dựa vào phương trình tuyến tính biểu diễn hoạt tính chống oxy hóa (%) theo nồng độ của các cao toàn phần và chất đối chiếu, suy ra giá trị IC_{50} . Kết quả trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của các cao nước, cồn 50, cồn 70 lá cây Lá dong và acid ascorbic

Mẫu thử	Phương trình hồi quy	R^2	IC_{50} (µg/ml)
Cao nước	$y = 0,0872x + 13,41$	$R^2 = 0,9946$	419,61
Cao cồn 50	$y = 0,0734x + 6,407$	$R^2 = 0,9901$	593,91
Cao cồn 70	$y = 0,0746x + 5,919$	$R^2 = 0,9926$	590,90
Vitamin C	$y = 6,894x - 0,596$	$R^2 = 0,9918$	7,34

Theo kết quả nghiên cứu, hàm lượng chất chiết được ở 2 dung môi cồn 50, cồn 70 gần tương đương nhau. Cao nước được liệu có tiềm năng chống oxy hóa tốt nhất ($IC_{50} = 419,61 \mu\text{g/ml}$ so với $593,91 \mu\text{g/ml}$ của cao cồn 50 và $590,90 \mu\text{g/ml}$ của cao cồn 70).

4. Kết luận và đề nghị

Kết quả thu được:

Khảo sát hàm lượng chất chiết được ở các dung môi nước, cồn 50, cồn 70 và cồn 96 lần lượt là 16,13%, 15,00%, 14,87%, 10,20%.

IC_{50} của các cao nước, cồn 50, cồn 70 lần lượt là 419,61; 593,91; 590,90 $\mu\text{g/ml}$, IC_{50} của chất đối chứng acid ascorbic là 7,34 $\mu\text{g/ml}$.

Dung môi nước cho hàm lượng chất chiết được và hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* cao hơn so với các dung môi cồn 50, cồn 70 và cồn 96.

Đề nghị tiếp tục đề tài theo các hướng sau:

Nghiên cứu thành phần hóa học của lá cây Lá dong.

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vivo* của cao nước lá cây Lá dong.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2004, tr. 125 – 126.
2. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2004, tr. 549 – 549.
3. Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K., *Methods for testing antioxidant activity*, Analyst, 127(1), (2002), 183.
4. Badarinath, A. V., Rao, K. M., Chetty, C. M. S., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S., & Gnanaprakash, K., *A review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations*, International Journal of PharmTech Research, 2(2), (2010), 1276-1285.
5. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M., Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, Food chemistry, 85(4), (2004), 633.
6. Narayanan, B. L., Rajkumar, L. P., Arulanandham, A., Babu, N. S., Gayathri, T., & Raju, A., *Anti-oxidant and anti-inflammatory activity of synthesized 3 (substituted) chromen-2-one*, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 3(2), (2012), 474.
7. W.Brand-Williams, M.E.Cuvelier, C.Berse, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*, LWT - Food Science and Technology, 28 (1), (1995), 25.

Study on antioxidant activity of Phrynium parviflorum Roxb leaf extract in vitro

Hoang Thi Phuong Lien

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

Abstract The aim of this study was to evaluate the effects of extraction solvent (water, ethanol 50%, 70%, 96%) on the antioxidant activity of the leaves of La dong (*Phrynium parviflorum* Roxb, Marantaceae) via DPPH radical scavenging activity. The results showed that the leaves of La dong extracted by water solvent gave the best effectiveness antioxidant activity with a lowest IC_{50} value (419,61 $\mu\text{g/ml}$) in comparison with those of the other extracts, the IC_{50} value of the standard ascorbic acid is 7,34 $\mu\text{g/ml}$. The present study suggested that the water extract of La dong's leaves could be a promising source of natural antioxidant

Keywords antioxidant, *Phrynium parviflorum* Roxb, DPPH.