

# NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH ỨC CHẾ GỐC TỰ DO DPPH CỦA MỘT SỐ CÂY THUỐC AN GIANG

## A STUDY ON SCAVENGING DPPH RADICAL ACTIVITY OF MEDICINAL PLANTS FROM AN GIANG

**Phan Thị Anh Đào**  
ĐH Sư Phạm Kỹ Thuật, TP. HCM  
**Nguyễn Xuân Hải,**  
**Nguyễn Trung Nhân,**  
**Nguyễn Thị Thanh Mai,**  
ĐH Khoa Học Tự Nhiên, TP. HCM

### TÓM TẮT

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu hoạt tính chống oxi hóa của 31 mẫu cao MeOH trích từ 31 cây thuốc An Giang bằng phương pháp ức chế gốc tự do DPPH. 31 mẫu cao đều có hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH tại các nồng độ 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml và 10 µg/ml. Trong đó, 21 mẫu có phần trăm ức chế lớn hơn 50% tại nồng độ 100 µg/ml, 10 mẫu có phần trăm ức chế lớn hơn 50% tại nồng độ 50 µg/ml và 5 mẫu có phần trăm ức chế lớn hơn 50% tại nồng độ 25 µg/ml. Hai mẫu cao Huyết Rồng và Lá Liễu có hoạt tính mạnh được thử tại các nồng độ 1, 2, 5 và 10 µg/ml. Giá trị  $IC_{50}$  lần lượt của hai mẫu này là 5,2 µg/ml và 6,3 µg/ml. Quercetin được sử dụng làm chất đối chứng dương có giá trị  $IC_{50}$  là 2,2 µg/ml.

**Từ khóa:** Cây thuốc An Giang, hoạt tính chống oxi hóa, ức chế gốc tự do DPPH

### ABSTRACT

We carried out a research on the antioxidant activity of 31 extracts prepared from 31 medicinal plants from An Giang province by the DPPH radical scavenging test. 31 extracts displayed activity at 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, and 10 µg/ml. Of the extracts assayed, 21 extracts showed an inhibition rate greater than 50% at 100 µg/ml; 10 extracts had over 50% inhibition at 50 µg/ml; and 5 extracts showed greater than 50% inhibition at 25 µg/ml. *Siholobus parviflorus* (Roxb.), *Excoecaria cochinchinensis* Lour showed strong activity tested at smaller concentrations of 1, 2, 5, and 10 µg/ml.  $IC_{50}$  values of these extracts were 5.2 µg/ml and 6.3 µg/ml, respectively. Quercetin was used as a positive control with  $IC_{50}$  2.2 µg/ml.

**Key words:** An Giang medicinal plant, antioxidant activity, DPPH radical scavenging

### I. MỞ ĐẦU

Oxygen là một nguyên tố thiết yếu cho sự sống, tuy nhiên nó trở nên có hại khi tồn tại dưới dạng các gốc tự do hay các dạng hoạt động của oxygen (ROS). Các gốc tự do được tạo ra trong cơ thể để chống lại các loại virút và vi khuẩn gây bệnh, tuy nhiên khi ở hàm lượng cao các gốc tự do này phản ứng với những đại phân tử như protein, lipid, ADN và gây ra một số bệnh nghiêm trọng như ung thư, suy thận, rối loạn tim mạch....(1) Do đó, việc tìm kiếm các cây thuốc có hoạt tính chống oxi hóa là

việc làm cần thiết để phòng ngừa các căn bệnh nêu trên.

Xu hướng hiện nay, các nhà nghiên cứu mong muốn tìm các hợp chất chống oxi hóa mạnh có nguồn gốc dược thảo thay cho các hóa chất tổng hợp (2). Song, Việt Nam là nước có nguồn dược thảo phong phú và đa dạng với hơn 12.000 loại cây cỏ, trong đó có rất nhiều dược liệu quý. Cho nên, công việc tìm kiếm cây thuốc có hoạt tính mạnh hết sức

khó khăn và phức tạp. Do đó, các nhà khoa học thường sử dụng những phương pháp sàng lọc hoạt tính chống oxi hóa để định hướng trong nghiên cứu.

Phương pháp thử DPPH là một phương pháp đơn giản, nhanh chóng và dễ dàng thực hiện với một máy đo UV- Vis. Nguyên tắc cơ bản của phương pháp là đo độ giảm hấp thụ của DPPH trước và sau khi DPPH bị trung hòa bởi các chất có khả năng chống oxi hóa. Phương pháp này được sử dụng phổ biến, đặc biệt là rất phù hợp cho quá trình sàng lọc những cây thuốc có hoạt tính chống oxi hóa.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu hoạt tính chống oxi hóa của một số cây thuốc An Giang bằng cách sử dụng phương pháp ức chế gốc tự do DPPH.

## II. HÓA CHẤT VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Cây thuốc

Các cây thuốc được chọn trong nghiên cứu này dựa trên các tính chất dược lý như chữa bệnh ung thư, tim mạch, tiểu đường, kháng viêm, viêm khớp, thận... 31 cây thuốc được thu thập tại vùng Bảy Núi, huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang vào tháng 8 năm 2009 (bảng 1). Các cây thuốc được định danh bởi tiến sĩ Hoàng Việt, khoa Sinh, ĐH Khoa học Tự nhiên TP Hồ Chí Minh.

### 2. Hóa chất

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) và Quercetin được mua từ hãng Merck (Germany). Các hóa chất khác đều có độ tinh khiết cao.

### 3. Điều chế mẫu cao

Cây mẫu được liệu khô (100— 300 g) được xay nhỏ thành dạng bột, trích nóng với MeOH (200—300 ml) bằng phương pháp đun hoàn lưu trong 3 giờ kể từ khi dung môi sôi. Các dung dịch trích sau 3 lần đun hoàn lưu sẽ được gom lại và đuổi dung môi thu lấy cao MeOH.

### 4. Phương pháp ức chế gốc tự do DPPH

Gốc tự do bèn DPPH được sử dụng để xác định hoạt tính ức chế gốc tự do của các mẫu cao. Thêm 1,5 ml dung dịch DPPH 0,1 mM vào 1,5 ml dung dịch mẫu lần lượt có nồng độ 100, 50, 25, 10  $\mu\text{g/ml}$  trong ethanol 90%. Sau đó, ủ dung dịch trong bóng tối (30 phút) và đo độ hấp thụ quang tại 517 nm. Các mẫu có hoạt tính mạnh, ức chế trên 50% tại nồng độ 10  $\mu\text{g/ml}$ , được tiếp tục tiến hành thử ở các nồng độ thấp hơn là 5, 2, 1  $\mu\text{g/ml}$ . Tất cả thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần.

Hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH (I%) được tính toán theo công thức: (3)

$$I\% = (A_c - A_s)/A_c \times 100$$

$A_c$  và  $A_s$  là mật độ quang của dung dịch control và dung dịch mẫu thử. Dựa vào các giá trị I% thu được tại các nồng độ mẫu khác nhau, ta xác định giá trị  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  được định nghĩa là nồng độ của mẫu mà tại đó nó có thể ức chế 50 % gốc tự do hoặc enzym. Mẫu có hoạt tính càng cao thì  $IC_{50}$  càng thấp. Quercetin được sử dụng làm chất đối chứng dương tại các nồng độ nồng độ 10, 5, 2, 1  $\mu\text{M}$  trong ethanol 90%.

Bảng 1 : Danh mục 31 cây thuốc An Giang (4) (5)

TÊN THƯỜNG GỌI	BỘ PHÂN DÙNG			CÔNG DỤNG	TÊN THƯỜNG GỌI			CÔNG DỤNG	BỘ PHÂN DÙNG			CÔNG DỤNG
	TÊN KHOA HỌC	HỌ	HỌ		TÊN KHOA HỌC	HỌ	HỌ		TÊN KHOA HỌC	HỌ	HỌ	
Bắp	<i>Zea mays</i> L.	Lúa	Râu	Lợi tiểu, thông mật, viêm đường tiết niệu	Mía Cua	<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br.	Trúc đào	Thân	Thanh nhiệt, giải độc, tiêu thũng, chỉ thống, bình suyễn			
Bình Bát	<i>Coccinia cordifolia</i> (L.)	Bí	Trần	Lợi tiểu, viêm đường tiêu, kháng khuẩn	Nhân Lông	<i>Passiflora foetida</i> L.	Lạc tiên	Dây	An thần, chữa mất ngủ, tím hơi hộp			
Bồ Ngót	<i>Saururus androgynus</i> (L.) Merr.	Thầu dầu	Trần	Chữa sỏi nhau, tưa lưỡi, hoạt huyết, giải độc, lợi tiểu	Nhau Nhà	<i>Morinda citrifolia</i> L.	Cà phê	Toàn cây	Đau khớp, nhức mỏi, trĩ			
Cát Lôi	<i>Costus speciosus</i> (Koenig) Smith	Mía dỏ	Trần,	Sạn thận, viêm khớp	Núc Nác	<i>Oroxylum indicum</i> (L.) Vent.	Hoa chùm ớt	Hạt	Thanh can, giải nhiệt, tiêu độc, sát trùng, nhuận phế			
Cỏ Bạc Đầu	<i>Kyliniga brevifolia</i> Rothb.	Cói	Toàn cây	Lợi tiểu, thông lã, thanh nhiệt	Ô Rô	<i>Acanthus ilicifolius</i> L.	Ô rô	Toàn cây	Thanh nhiệt, chống viêm, tiêu đờm, hạ khí, viêm gan			
Cỏ Mần Trầu	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn.f.	Lúa	Trần	Hạ sốt, thanh nhiệt, giải độc, mát gan, lợi tiểu	Răng Bay	<i>Drynaria quercifolia</i> (L.) J. Sm.	Răng dê	Củ	Sạn thận, giữ nước			
Cỏ Mực	<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	Cúc	Trần	Sốt xuất huyết, kiết, thân, tiêu ra máu	Ráy Gai	<i>Lasia spinosa</i> (L.) Thwaites	Ráy	Thân	Tiêu đờm, trừ suyễn, thanh nhiệt, giải độc, hạ thấp, gan			
Cỏ Tranh	<i>Imperata cylindrica</i> (L.) Beauv.	Lúa	Rễ	Thanh nhiệt, tiêu ra máu, ho ra máu, hen suyễn	Sầu Đầu	<i>Melia azadirachta</i> L.	Xoan	Thân	Bồi bổ, trị giun sán			
Dây Thuốc Cá	<i>Derris elliptica</i> Benth.	Cánh bướm	Lá	Bệnh phổi, lấy giun, chữa ghẻ	Thạch Hộc	<i>Dendrobium nobile</i> Lindl.	Lan	Toàn cây	Trợ thận, trợ huyết			

Dưa Cạn	<i>Cathartanthus roseus</i> (L.) G.Don	Trúc đào	Toàn cây	Ứng thư, huyết áp, u xơ, u nang	Thiên Tuế	<i>Cycas revoluta</i> Thunb.	Tuế	Hạt	Bướu cổ, cổ cứng, sấp dãi, hoạt tinh, khí hư
Đại Bì	<i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC	Cúc	Toàn cây	Cảm cúm, tán phong hàn, tiêu đờm, viêm họng	Thụ Lũ Bao	<i>Solanum nigrum</i> L.	Cà	Thân	Tiểu đường, sốt, viêm phế quản cấp, gan
Đinh Lăng	<i>Tieghemopanax frutescens</i> Vig.	Nhân sâm	Lá	Dưỡng não, thuốc bổ	Tô Mộc	<i>Caesalpinia sappan</i> L.	Vàng	Hạt	Giảm đau, tán tử, tiêu sưng
Hoàng Đằng	<i>Fibraurea</i> spp.	Tiết đề	Thân	Viêm, kết tỳ, tiêu chảy, sỏi rết, bệnh gan	Tơ Hồng Xanh	<i>Cassytha filiformis</i> L.	Long não	Dây	Bệnh tim, thanh nhiệt, lợi thấp, tiêu thũng, chữa thận hư
Huyết Rồng	<i>Sholobus parviflorus</i> (Roxb)	Huyết dụ	Dây	Bổ máu, tiểu đường	Trắc Bã Diệp	<i>Biota orientalis</i> (L.) Endl.	Hoàng đàn	Lá	Luong huyết, tư thấp nhiệt, cầm máu, ho ra máu
Khổ Qua	<i>Momordica charantia</i> L.	Bí	Dây	Tiểu đường, thanh nhiệt, bổ thận, lợi tiểu, nhuận tràng	Trần Bì	<i>Citrus delicatissae</i> Tenore	Cam	Vỏ	Cầm, bổ khí, kiện tỳ, lý khí, táo thấp, hóa đờm, sỏi rết
Lá Liễu	<i>Excoecaria cochinchinensis</i> Lour.	Liều	Thân	Horamáu, kinh phong, sạn thận, sỏi					

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phương pháp ức chế gốc tự do DPPH là phương pháp có tính chất căn bản, đơn giản, được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa của các mẫu cao trích từ các cây thuốc. Tại Việt Nam, phương pháp này cũng đang bắt đầu sử dụng nhiều đặc biệt trong sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa. Trong đề tài này, chúng tôi tiến hành thử hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH của 31 mẫu cao MeOH được ly trích từ 31 cây thuốc. Kết quả cho thấy, 31 mẫu cao đều có hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH tại các nồng độ 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml và 10 µg/ml. Trong đó, 21 mẫu có phần trăm ức chế lớn hơn 50% tại nồng độ 100 µg/ml, 10 mẫu có phần trăm ức chế lớn hơn 50% tại nồng độ 50 µg/ml và 5 mẫu có phần trăm ức chế lớn hơn 50% tại nồng độ 25 µg/ml. Hai mẫu Lá liễu và Huyết Rồng ức chế trên 50% tại nồng độ 10 µg/ml. Hai mẫu này có hoạt tính mạnh nên được thử tiếp tại

các nồng độ 1, 2, 5 µg/ml. Giá trị  $IC_{50}$  của Huyết Rồng và Lá liễu thấp nhất lần lượt là 5,2 và 6,3 µg/ml. 10 mẫu gồm Lá Liễu, Huyết Rồng, Dây Thuốc Cá, Núc Nác, Thạch Hộc, Ráng Bay, Cỏ Bạc Đầu, Nhàu Nhà, Ô rô và Sầu Đâu có  $IC_{50} < 50$  µg/ml. 11 mẫu bao gồm Bồ Ngót, Tơ Hồng, Trần Bì, Cỏ Mực, Đại Bì, Rễ Tranh, Hoàng Đăng, Dừa Cạn, Hạt Thiên Tuế, Cát Lồi và Hạt Tô Mộc có  $IC_{50} < 100$  µg/ml. 10 mẫu còn lại gồm có Ráy Gai, Trắc Bá Diệp, Bình Bát, Nhân Lông, Cỏ Mần Trầu, Bắp, Khổ Qua, Mùa Cua, Đinh Lăng và Thù Lù Bao không có hoạt tính ( $IC_{50} > 100$  µg/ml) (bảng 2, hình 1). Giá trị  $IC_{50}$  của Quercetin là 2,2 µg/ml (6,5 µM).

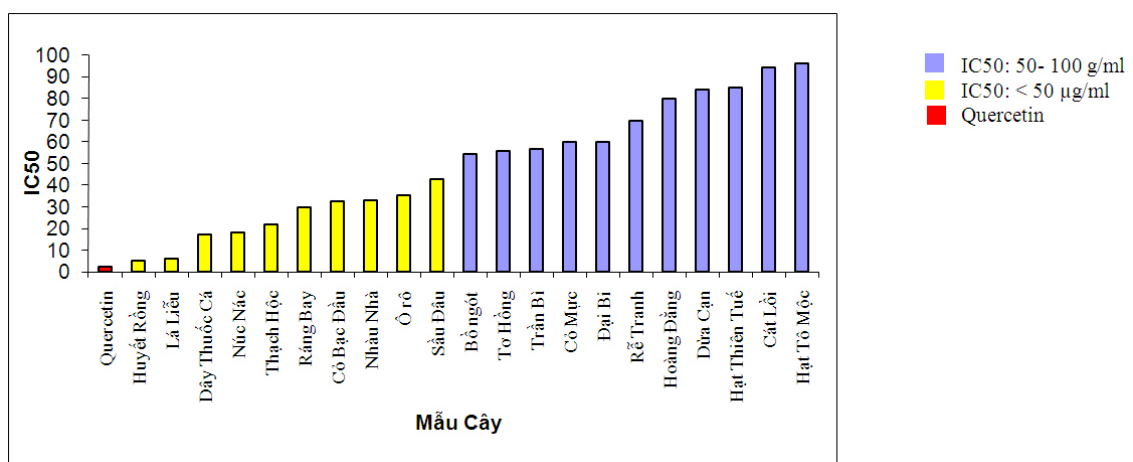
Như vậy, trong số 31 mẫu được liệu khảo sát thì Huyết Rồng và Lá Liễu là hai mẫu có hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH cao nhất với giá trị  $IC_{50}$  thấp nhất.

**Bảng 2 :** Kết quả thử hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH của 31 mẫu cao

STT	Mẫu	% Ức chế DPPH				$IC_{50}$ (µg/ml)
		100 µg/ml	50 µg/ml	25µg/ml	10 µg/ml	
1*	Huyết Rồng	80,1 ± 0,5	49,0 ± 0,3	18,2 ± 0,3	8,5 ± 0,3	5,2
2*	Lá Liễu	80,5 ± 0,6	39,6 ± 0,2	16,3 ± 0,3	6,5 ± 0,4	6,3
3	Dây Thuốc Cá	89,7 ± 0,5	75,0 ± 0,2	69,0 ± 0,5	32,1 ± 0,2	17,3
4	Núc Nác	89,1 ± 0,2	85,5 ± 0,4	68,2 ± 0,6	28,2 ± 0,3	18,2
5	Thạch Hộc	89,1 ± 0,5	86,2 ± 0,3	57,5 ± 0,7	23,8 ± 0,2	21,7
6	Ráng Bay	86,0 ± 0,5	83,1 ± 0,4	42,0 ± 0,5	17,5 ± 0,3	29,9
7	Cỏ Bạc Đầu	89,4 ± 0,3	85,3 ± 0,5	33,9 ± 0,2	20,8 ± 0,4	32,8
8	Nhàu Nhà	88,4 ± 0,4	76,5 ± 0,3	37,3 ± 0,3	17,9 ± 0,3	33,1
9	Ô rô	88,1 ± 0,3	73,2 ± 0,5	34,1 ± 0,4	16,1 ± 0,2	35,2
10	Sầu Đâu	84,4 ± 0,7	58,8 ± 0,4	27,6 ± 0,5	12,7 ± 0,3	42,9
11	Bồ Ngót	76,1 ± 0,7	47,4 ± 0,3	21,6 ± 0,3	9,7 ± 0,3	54,6
12	Tơ Hồng	71,5 ± 0,5	47,2 ± 0,3	15,7 ± 0,3	3,0 ± 0,2	55,7
13	Trần Bì	76,4 ± 0,7	45,8 ± 0,5	20,7 ± 0,4	8,6 ± 0,4	56,8
14	Cỏ Mực	80,5 ± 0,5	42,3 ± 0,5	8,9 ± 0,2	2,1 ± 0,3	60,0
15	Đại Bì	73,0 ± 0,3	44,2 ± 0,5	21,1 ± 0,5	3,3 ± 0,3	60,1
16	Rễ Tranh	66,0 ± 0,4	39,7 ± 0,4	20,6 ± 0,4	9,1 ± 0,3	69,6
17	Hoàng Đăng	62,0 ± 0,6	31,1 ± 0,3	12,9 ± 0,3	4,4 ± 0,3	80,1

18	Dừa Cạn	58,0 ± 0,5	32,7 ± 0,3	12,2 ± 0,2	4,5 ± 0,2	84,3
19	Hạt Thiên Tuế	57,2 ± 0,4	33,1 ± 0,3	10,5 ± 0,5	4,8 ± 0,4	85,1
20	Cát Lồi	52,4 ± 0,7	31,0 ± 0,4	10,2 ± 0,3	5,6 ± 0,3	94,5
21	Hạt Tô Mộc	51,8 ± 0,4	29,0 ± 0,5	12,0 ± 0,2	4,7 ± 0,3	96,2
22	Ráy Gai	49,9 ± 0,3	28,3 ± 0,6	11,1 ± 0,3	3,6 ± 0,2	> 100
23	Trắc Bá Diệp	44,6 ± 0,4	25,8 ± 0,3	9,8 ± 0,4	4,3 ± 0,4	> 100
24	Bình Bát Dây	39,6 ± 0,5	21,2 ± 0,4	8,2 ± 0,4	4,3 ± 0,3	> 100
25	Nhân Lông	37,8 ± 0,5	20,5 ± 0,3	7,8 ± 0,5	1,8 ± 0,3	> 100
26	Cỏ Mần Trầu	37,3 ± 0,3	19,8 ± 0,3	7,8 ± 0,3	2,2 ± 0,2	> 100
27	Râu Bắp	31,5 ± 0,4	15,7 ± 0,4	5,7 ± 0,4	0,8 ± 0,1	> 100
28	Khổ Qua	31,1 ± 0,5	16,9 ± 0,5	5,7 ± 0,2	2,7 ± 0,3	> 100
29	Mùa Cua	28,2 ± 0,2	16,0 ± 0,2	4,1 ± 0,2	2,3 ± 0,2	> 100
30	Đinh Lăng	16,9 ± 0,3	9,0 ± 0,3	1,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	> 100
31	Thù Lù Bao	16,4 ± 0,4	8,5 ± 0,2	2,7 ± 0,2	0,3 ± 0,1	> 100

Các mẫu được đánh dấu \* có hoạt tính mạnh, được thử ở các nồng độ thấp hơn: 10, 5, 2 và 1 µg/ml.



Hình 1: So sánh hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH của Quercetin và 21 mẫu có hoạt tính

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra một số cây thuốc đặc biệt là Lá Liễu và Huyết Rồng có hoạt tính chống oxi hóa cao, tạo cơ sở cho các nghiên cứu về cô lập các hợp chất hoạt tính sau này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Galvez M, Martin-Cordero C, Houghton PJ and Ayuso MJ, *Antioxidant activity of methanol extracts obtained from Plantago species*, 1927-1933, J. Agric. Food Chem, Vol 53, 2005.
- Mensor L L, Menezes F S, Leitao G G, Reis A S, dos Santos T C, Coube C S and Leitao S GS, *Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method*, 127-130, Phytother. Res, Vol 15, 2001.
- Bahman Nickavar and Farideh Al-sadat Abolhasani, *Screening of antioxidant properties of seven umbelliferae fruits*

*from Iran*, 30- 35, Pak. J. Pharm. Sci, Vol.22, No.1, 2009.

4. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y Học, 2009.
5. Võ Văn Chi, *Cây thuốc An Giang*, Ủy Ban Khoa Học Kỹ Thuật An Giang, 1991.