

Nghiên cứu

DOI: 10.59715/pntjimp.3.3.9

Khảo sát hoạt tính chống stress oxy hóa *in vitro* từ cao chiết lá cây thạch vĩ (*Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell)

Phạm Ngọc Khôi^{1,2}, Võ Tấn Khang^{2,3}, Trần Tiến Tài³, Phạm Đức Vũ³, Võ Đức Trí Dũng³, Trần Sĩ Nguyên⁴, Nguyễn Phan Phương Nhi², Nguyễn Thị Lê⁵, Bùi Thế Vinh⁶, Nguyễn Thị Thu Hương⁷

¹Bộ môn Mô Phôi - Di truyền, Khoa Khoa học cơ bản - Y học cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

²Văn phòng Khoa, Khoa Khoa học cơ bản - Y học cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

³Bộ môn Sinh lý - Sinh lý bệnh - Miễn dịch, Khoa Khoa học cơ bản - Y học cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

⁴Bộ môn Vi sinh Y học, Khoa Khoa học cơ bản - Y học cơ sở, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, Thành phố Hồ Chí Minh

⁵Khoa Dược, Bệnh viện Quận Phú Nhuận, Thành phố Hồ Chí Minh

⁶Bộ môn Vật lý - Hóa phân tích - Kiểm nghiệm, Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, Thành phố Hồ Chí Minh

⁷Bộ môn Dược lý - Dược lâm sàng, Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, Thành phố Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Stress oxy hóa là sự mất cân bằng giữa các gốc tự do và chất chống oxy hóa trong cơ thể. Điều này có thể gây tổn thương cho các mô, cơ quan và dẫn đến nhiều bệnh khác nhau. Trong bối cảnh Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về hoạt tính sinh học của lá cây thạch vĩ (*Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell), nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát hoạt tính chống stress oxy hóa *in vitro* của cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ. Cao chiết từ lá cây thạch vĩ có khả năng kháng oxy hóa cao ($IC_{50} = 157,09 \mu\text{g/ml}$ cho thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH, $IC_{50} = 23,12 \mu\text{g/ml}$ cho thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào, $IC_{50} = 141,03 \mu\text{g/ml}$ cho thử nghiệm ức chế xanthine oxidase *in vitro*), nhưng vẫn thấp hơn so với mẫu đối chứng lần lượt là Acid ascorbic ($IC_{50} = 4,97 \mu\text{g/ml}$), Trolox ($IC_{50} = 27,88 \mu\text{g/ml}$), Allopurinol ($IC_{50} = 3,77 \mu\text{g/ml}$). Nghiên cứu này đã khảo sát được hoạt tính chống stress oxy hóa *in vitro* của cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ. Điều này giúp bổ sung tiềm năng hỗ trợ điều trị bệnh từ lá cây thạch vĩ, từ đó làm cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính sinh học khác của lá cây thạch vĩ.

Từ khóa: Lá cây thạch vĩ (*Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell), stress oxy hóa, DPPH, peroxy hóa lipid tế bào, xanthine oxidase.

Abstract

A study on *in vitro* anti-oxidative stress activities from tongue fern (*Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell)

Oxidative stress is an imbalance between free radicals and antioxidants in human body. This can cause damage to tissues, organs and result in various diseases. In Vietnam, there are not many studies on the leaves of tongue fern (*Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell), the aim of this study was carried out to investigate *in vitro* anti-oxidative stress activities from 70% ethanol extract of tongue fern. The extract from the leaves of tongue fern has high antioxidant capacity ($IC_{50} = 157.09 \mu\text{g/ml}$ for capturing free radicals DPPH, $IC_{50} = 23.12 \mu\text{g/ml}$ for inhibition of cellular lipid peroxidation, $IC_{50} = 141.03 \mu\text{g/ml}$ for xanthine oxidase inhibition *in vitro* test), but still lower than the control sample such as Ascorbic acid ($IC_{50} = 4.97 \mu\text{g/ml}$), Trolox ($IC_{50} = 27.88 \mu\text{g/ml}$),

Ngày nhận bài:

05/5/2024

Ngày phân biện:

19/5/2024

Ngày đăng bài:

20/7/2024

Tác giả liên hệ:

Phạm Ngọc Khôi

Email:

pnkhoi@pnt.edu.vn

ĐT: 0909 097 802

Allopurinol ($IC_{50} = 3.77 \mu\text{g/ml}$), respectively. This study has investigated *in vitro* anti-oxidative stress activities from 70% ethanol extract of tongue fern. This helps add to the potential to support disease treatment from tongue fern, thereby serving as a basis for further research on other biological activities of tongue fern.

Keyword: Tongue fern (*Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell), oxidative stress, DPPH, cellular lipid peroxidation, xanthine oxidase

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các gốc tự do là các phân tử chứa oxy có số lượng electron không đồng đều. Số lượng electron không đồng đều này cho phép các gốc tự do dễ dàng phản ứng với các phân tử khác. Các gốc tự do có thể gây ra các phản ứng hóa học chuỗi lớn trong cơ thể vì chúng phản ứng rất dễ dàng với các phân tử khác. Những phản ứng dây chuyền này được gọi là quá trình oxy hóa. Quá trình này có thể có lợi hoặc có hại. Chất chống oxy hóa là các phân tử có thể đem một electron cho gốc tự do mà không làm cho chúng mất ổn định. Điều này làm cho gốc tự do ổn định và trở nên ít phản ứng hơn [1].

Quá trình oxy hóa là một quá trình bình thường và cần thiết diễn ra trong cơ thể. Mặt khác, stress oxy hóa xảy ra khi có sự mất cân bằng giữa hoạt động của gốc tự do và hoạt động chống oxy hóa. Khi hoạt động bình thường, các gốc tự do có thể giúp cơ thể chống lại các tác nhân gây bệnh [2]. Nhưng khi có nhiều gốc tự do hơn mức cân bằng bởi các chất chống oxy hóa thì các gốc tự do có thể bắt đầu gây tổn hại cho DNA, protein và lipid trong cơ thể. DNA, protein và lipid lại chiếm phần lớn trong cơ thể, do đó, tổn thương đó có thể dẫn đến vô số bệnh tật theo thời gian, bao gồm các bệnh đái tháo đường, xơ vữa động mạch, xơ cứng mạch máu, tình trạng viêm, tăng huyết áp, bệnh tim, bệnh thoái hóa thần kinh như bệnh Parkinson, bệnh Alzheimer và bệnh ung thư. Bên cạnh đó, stress oxy hóa cũng góp phần gây ra lão hóa cơ thể [3].

Cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell) là một vị thuốc nam khá thông dụng trong y học cổ truyền có vị đắng ngọt, hơi hàn, vào hai kinh phế và bàng quang. Ngoài ra, vị thuốc này còn có thông lâm, thanh thấp nhiệt. Người ta dùng thạch vĩ làm thuốc lợi tiểu, dùng trong trường hợp tiểu ra sỏi, tiểu ra máu, viêm niệu đạo, viêm bàng quang. Ngoài ra, còn dùng

thạch vĩ làm thuốc bổ, thân rễ dùng chữa bệnh than, ung nhọt lở loét, ngộ độc do lưu huỳnh. Nấu với dầu, bôi lên tóc để chữa bệnh tóc rụng [4]. Tuy nhiên, việc khảo sát hoạt tính sinh học của cây thạch vĩ ít được nghiên cứu.

Hiện nay ở Việt Nam chưa có nhiều công trình nghiên cứu về loại cây này, vì vậy trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu chính là đánh giá một số hoạt tính chống stress oxy hóa *in vitro* từ cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu lá cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell) sau khi thu mẫu được đem về Phòng Dược liệu và định danh bằng phương pháp mô tả hình thái thực vật trong “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam” của Đỗ Tất Lợi (2004) [4].

2.2. Hóa chất nghiên cứu

Bảng 1. Hóa chất nghiên cứu

Tên hóa chất	Nguồn gốc xuất xứ
Ethanol 99,9%	Sigma Aldrich
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Sigma Aldrich
Acid ascorbic	Sigma Aldrich
Trolox	Calbiochem Ltd. Co.
Acid tricloacetic	Sigma Aldrich
Acid thiobarbituric	Sigma Aldrich
Xanthine	Sigma Aldrich
Xanthine oxidase	Sigma Aldrich
Allopurinol	Sigma Aldrich

2.3. Thiết bị nghiên cứu

Bảng 2. Thiết bị nghiên cứu

Tên thiết bị nghiên cứu		
Cân sấy ẩm	Nồi đun cách thủy	Lò vi sóng
Cân kỹ thuật	Nồi hấp khử trùng	Máy cô quay chân không
Cân phân tích	Tủ sấy	Máy vortex
Bếp điện	Tủ hút	Máy đo quang phổ UV-Vis

2.4. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện tại Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh (41 Đinh Tiên Hoàng, Phường Bến Nghé, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam) và Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch (2 Dương Quang Trung, Phường 12, Quận 10, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam).

2.5. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế dựa trên các thực nghiệm *in vitro* trong phòng thí nghiệm. Kiểu thu thập dữ liệu là tiền cứu. Thí nghiệm được lặp lại ít nhất ba lần riêng biệt cho mỗi thí nghiệm. Các số liệu hoạt tính được đánh giá và so sánh với mẫu chứng.

2.6. Các bước tiến hành nghiên cứu

Dược liệu được xử lý dựa theo Phụ lục 1, Dược điển Việt Nam V. Sau đó chia làm hai bước tiến hành. Ở bước 1, tiến hành tách chiết nguyên liệu bằng phương pháp ngâm kiệt theo một điều kiện tách chiết (dung môi ethanol 70%, tỷ lệ nguyên liệu với dung môi là 1 : 10 (g/ml), 48 giờ, 50 - 60 giọt/phút, cô quay 50 °C) [5, 6]. Ở bước 2, sau khi thu được cao chiết toàn phần tách chiết từ lá cây thạch vĩ thì pha loãng thành dịch chiết toàn phần, sử dụng dịch chiết toàn phần này để khảo sát tiếp khả năng chống stress oxy hóa như khả năng dập tắt gốc tự do DPPH, khả năng ức chế peroxy hóa lipid tế bào qua việc xác định hàm lượng malonyl dialdehyde, khả năng ức chế xanthine oxidase *in vitro*.

2.7. Xử lý mẫu lá cây thạch vĩ

Mẫu lá cây thạch vĩ sau khi thu hái sẽ được làm sạch sơ bộ bằng nước và loại bỏ tạp

chất, phần lá hư, rách, bị sâu mọt. Nguyên liệu sau khi làm sạch sẽ được phơi khô dưới bóng râm, tránh ánh nắng chiếu trực tiếp vì ánh sáng mặt trời có thể phá hủy một số hợp chất có sẵn. Nguyên liệu khô sau đó được xay nhỏ để tăng diện tích tiếp xúc giữa mẫu và dung môi, tạo điều kiện cho việc hòa tan các hợp chất có trong nguyên liệu (mẫu không quá to vì khó chiết, không quá mịn vì sẽ cản trở dòng chảy khi lọc) nhằm tăng hiệu suất trích ly [5].

2.8. Phương pháp ngâm kiệt

Bột dược liệu lá cây thạch vĩ được ủ 30 phút và nhồi vào bình ngâm kiệt, thêm dung môi sao cho bề mặt dung môi ethanol 70% luôn nằm trên dược liệu khoảng 5 cm (tỷ lệ bột dược liệu : dung môi là 1 : 10), để 48 giờ và xả vòi bình chiết với tốc độ nhỏ giọt là 50 - 60 giọt/phút, thu dịch chiết, sau đó cô quay thu hồi ethanol (nhiệt độ cô quay là 50 °C), cô cách thủy và thu được cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ. Sau đó dịch chiết được cô giảm áp để thu được cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ (độ ẩm cao đặc < 20% theo quy định của Dược điển Việt Nam V) để thực hiện các thử nghiệm tiếp theo [5].

2.9. Thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH

Các chất nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa theo cơ chế dập tắt gốc tự do sẽ làm giảm màu của gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [2]. Xác định khả năng này bằng cách đo quang ở độ dài sóng có đỉnh hấp thụ cực đại tại λ là 517 nm. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho 0,5 ml mẫu thử ở các nồng độ khảo sát được cho phản ứng

với đồng lượng dung dịch DPPH 0,8 mM pha trong methanol với dãy nồng độ là 500 µg/ml; 750 µg/ml; 1000 µg/ml; 1500 µg/ml; 2000 µg/ml. Hỗn hợp sau khi pha được để ở nhiệt độ phòng 30 phút trong tối. Đo quang ở độ dài sóng λ là 517 nm. Tính toán kết quả theo công thức tính % hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) như sau $HTCO\% = [(OD_C - OD_T) / OD_C] \times 100$, trong đó thì OD_C là mật độ quang của mẫu chứng, OD_T là mật độ quang của mẫu thử. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình của 3 lần đo khác nhau. Acid ascorbic (Sigma Aldrich) được sử dụng làm mẫu chứng dương.

2.10. Thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào

Xác định khả năng ức chế peroxy hóa lipid của mẫu nghiên cứu qua việc xác định hàm lượng malonyl dialdehyd (MDA), là sản phẩm của quá trình peroxy hóa lipid màng tế bào [2]. MDA có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric để tạo thành phức hợp trimethin (màu hồng) có đỉnh hấp thụ cực đại ở độ dài sóng λ là 532 nm. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho mẫu thử ở các nồng độ thử nghiệm được cho phản ứng với dịch đồng thể và thêm đệm phosphate vừa đủ 2 ml. Ủ hỗn hợp phản ứng trong 15 phút và dừng phản ứng bằng acid tricloacetic. Sau khi ly tâm lấy dịch trong cho phản ứng với thuốc thử acid thiobarbituric trong 15 phút với dãy nồng độ là 25 µg/ml; 125 µg/ml; 250 µg/ml; 1250 µg/ml; 2500 µg/ml. Tiến hành đo quang ở độ dài sóng λ là 532 nm. Tính toán kết quả theo công thức tính % hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) như sau $HTCO\% = [(OD_C - OD_T) / OD_C] \times 100$, trong đó thì OD_C là mật độ quang của mẫu chứng, OD_T là mật độ quang của mẫu thử. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình của 3 lần đo khác nhau. Trolox (Calbiochem Ltd. Co.), đồng phân của vitamin E được sử dụng làm chất đối chiếu trong nghiên cứu này.

2.11. Thử nghiệm ức chế enzyme xanthine oxidase (XO) *in vitro*

Nguyên tắc của thử nghiệm dựa trên phương pháp của Tadataka Noro và cộng sự (1983) có điều chỉnh để phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Nguyên tắc định lượng dựa trên phản ứng sau: $Xanthine + H_2O + O_2 \rightarrow Acid\ uric + H_2O_2$ dưới xúc tác của enzyme xanthine oxidase (XO) [2]. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho hỗn hợp phản ứng gồm 100 µl dung dịch mẫu thử, 300 µl dung dịch đệm phosphate 50 mM (pH là 7,5), 100 µl dung dịch enzyme XO (0,2 U/mL) trong dung dịch đệm phosphate, 100 µL nước cất. Hỗn hợp này được ủ ở 37°C trong 15 phút, sau đó thêm 200 µL xanthine 0,15 mM trong dung dịch đệm rồi ủ tiếp 30 phút. Kết thúc phản ứng bằng cách thêm 200 µL HCl 0,5 M. Hỗn hợp phản ứng được đem đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở độ dài sóng là 295 nm. Mẫu chứng được tiến hành tương tự nhưng dung dịch thử được thay bằng dung dịch đệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Để có cơ sở đánh giá hoạt tính của những mẫu chất khảo sát đối với enzyme XO, nghiên cứu sử dụng Allopurinol (Sigma Aldrich) làm đối chứng dương với dãy nồng độ là 0,125 mM; 0,250 mM; 0,375 mM; 0,500 mM; 0,750 mM. Tính toán kết quả hoạt tính ức chế hoạt động của enzyme XO được tính theo công thức như sau $\%I = (OD_C - (OD_m - OD_{cm}) / OD_C) \times 100$, trong đó thì OD_C là giá trị mật độ quang của dung dịch không có mẫu thử (mẫu chứng), OD_m là giá trị mật độ quang của dung dịch có mẫu thử phản ứng với xanthine oxidase (mẫu), OD_{cm} là giá trị mật độ quang của dung dịch có mẫu thử, không có xanthine oxidase (chứng mẫu, màu của mẫu).

2.12. Phương pháp xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần và sử dụng phần mềm thống kê SAS 8.1 để tính giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và sự sai khác có ý nghĩa của ba lần lặp lại. Kiểm định ANOVA được thực hiện để đánh giá mức độ khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị với mức ý nghĩa $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ**3.1. Kết quả thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH****Bảng 3.** Thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH của các mẫu

Cao chiết thạch vĩ						
Nồng độ trước phản ứng ($\mu\text{g/ml}$)	Nồng độ trong phản ứng ($\mu\text{g/ml}$)	OD_1	OD_2	OD_3	OD_{TBC}	%HTCO
Chứng		0,996	0,999	0,987	0,994	-
2000	250	0,105	0,096	0,107	0,103	89,67
1500	188	0,313	0,302	0,313	0,309	68,88
1000	125	0,656	0,650	0,614	0,640	35,61
750	94	0,851	0,825	0,832	0,836	15,90
500	63	0,899	0,891	0,906	0,899	9,59
Acid ascorbic						
Nồng độ trước phản ứng ($\mu\text{g/ml}$)	Nồng độ trong phản ứng ($\mu\text{g/ml}$)	OD_1	OD_2	OD_3	OD_{TBC}	%HTCO
Chứng		0,917	0,989	0,909	0,938	-
88,07	11,01	0,051	0,055	0,055	0,054	94,28
44,03	5,50	0,363	0,359	0,352	0,358	61,85
17,61	2,20	0,665	0,667	0,644	0,659	29,80
8,81	1,10	0,761	0,781	0,759	0,767	18,26
1,76	0,22	0,861	0,891	0,863	0,872	7,10

Bảng 4. Giá trị IC_{50} của mẫu trên thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH

Mẫu	Thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH	
	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Phương trình, R^2
Cao chiết thạch vĩ	157,09	$y = 0,4546x - 21,417$ $R^2 = 0,9859$
Acid ascorbic	4,97	$y = 8,0061x + 10,18$ $R^2 = 0,9798$

3.2. Kết quả thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào của các mẫu**Bảng 5.** Thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào của các mẫu

Cao chiết thạch vĩ						
Nồng độ trước phản ứng ($\mu\text{g/ml}$)	Nồng độ trong phản ứng ($\mu\text{g/ml}$)	OD_1	OD_2	OD_3	OD_{TBC}	%HTCO
Chứng		0,502	0,514	0,522	0,513	-
1500	75,0	0,101	0,095	0,094	0,097	81,144
1000	50,0	0,129	0,123	0,125	0,126	75,488
750	37,5	0,178	0,169	0,152	0,166	67,555
500	25,0	0,222	0,252	0,235	0,236	53,901
250	12,5	0,340	0,385	0,369	0,365	28,869
Trolox						
Nồng độ trước phản ứng ($\mu\text{g/ml}$)	Nồng độ trong phản ứng ($\mu\text{g/ml}$)	OD_1	OD_2	OD_3	OD_{TBC}	%HTCO
Chứng		0,482	0,481	0,479	0,481	-
25	1,25	0,460	0,458	0,445	0,454	5,48
125	6,25	0,394	0,388	0,375	0,386	19,76
250	12,50	0,333	0,339	0,308	0,327	32,04
1250	62,50	0,189	0,179	0,180	0,183	62,00
2500	125,00	0,100	0,089	0,099	0,096	80,03

Bảng 6. Giá trị IC_{50} của mẫu trên thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào

Mẫu	Thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào	
	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Phương trình, R^2
Cao chiết thạch vĩ	23,12	$y = 30,064\ln(x) - 44,423$ $R^2 = 0,976$
Trolox	27,88	$y = 16,378\ln(x) - 4,5067$ $R^2 = 0,966$

3.3. Kết quả thử nghiệm ức chế xanthine oxidase *in vitro*

Bảng 7. Thử nghiệm ức chế enzyme xanthine oxidase của các mẫu

Cao chiết thạch vỹ												
		OD ₁	OD ₂	OD ₃	OD _{TBC}							
Chứng		0,585	0,585	0,596	0,589							
Nồng độ ban đầu (µg/ml)	Nồng độ phản ứng (µg/ml)	OD mẫu				OD chứng				OD _{TBC}	Hoạt tính ức chế (%)	
		OD ₁	OD ₂	OD ₃	OD _{TBC}	OD ₁	OD ₂	OD ₃	OD _{TBC}			
2000	200	0,844	0,843	0,865	0,851	0,758	0,765	0,746	0,756	0,094	83,98	
1750	175	0,805	0,799	0,836	0,813	0,653	0,652	0,666	0,657	0,156	73,44	
1500	150	0,755	0,699	0,674	0,709	0,526	0,455	0,482	0,488	0,222	62,34	
1250	125	0,666	0,721	0,714	0,700	0,322	0,318	0,333	0,324	0,376	36,13	
1000	100	0,802	0,769	0,777	0,783	0,259	0,255	0,269	0,261	0,522	11,38	
Allopurinol												
Nồng độ Allopurinol (mM)	Nồng độ Allopurinol (mM) trong phản ứng	Nồng độ Allopurinol (µg/ml) trong phản ứng	OD ₁	OD ₂	OD ₃	OD _{TBC}	Hoạt tính ức chế (%)					
Chứng			0,764	0,775	0,702	0,747						
0,750	0,075	10,21	0,160	0,145	0,151	0,152	79,65					
0,500	0,050	6,81	0,227	0,241	0,231	0,233	68,81					
0,375	0,038	5,10	0,315	0,304	0,333	0,317	57,52					
0,250	0,025	3,40	0,412	0,444	0,432	0,429	42,53					
0,125	0,013	1,70	0,555	0,503	0,539	0,532	28,74					

Bảng 8. Giá trị IC₅₀ của mẫu trên thử nghiệm ức chế xanthine oxidase

Mẫu	Thử nghiệm ức chế xanthine oxidase	
	IC ₅₀ (µg/ml)	Phương trình, R ²
Cao chiết thạch vỹ	141,03	y = 106,97ln(x) - 479,39 R ² = 0,986
Allopurinol	3,77	y = 29,367ln(x) + 10,651 R ² = 0,983

IV. BÀN LUẬN

Stress oxy hóa đang là mối quan tâm hàng đầu đối với các nhà khoa học hiện nay [1]. Đây là một hiện tượng xuất hiện trong cơ thể sinh vật khi có sự mất cân bằng giữa việc sản xuất các gốc tự do và việc kiểm soát nồng độ gốc

tự do thông qua hoạt động của các chất chống oxy hóa nội sinh và ngoại sinh. Sự gia tăng số lượng gốc tự do trong cơ thể cùng với việc kiểm soát kém hiệu quả trong thời gian dài là nguyên nhân của nhiều bệnh lý mạn tính như ung thư, bệnh tim mạch, thoái hóa hệ thần kinh và lão

hóa [2]. Bổ sung các chất chống oxy hóa ngoại sinh thông qua việc sử dụng các loại sản phẩm tự nhiên có nguồn gốc thực vật như gia vị, rau, củ, quả đã được chứng minh có tác dụng làm gia tăng hiệu quả kiểm soát nồng độ gốc tự do trong cơ thể, làm giảm nguy cơ mắc các bệnh lý mạn tính [1, 3].

Nguồn dược liệu của nước ta vô cùng phong phú, tuy nhiên sự thiếu hụt các cơ sở khoa học đã dẫn đến những hạn chế trong việc mở rộng hiệu quả sử dụng của nguồn nguyên liệu quý giá này. Có rất nhiều loại dược liệu được người dân sử dụng để phòng ngừa và nâng cao sức khỏe cá nhân, nhưng chủ yếu vẫn dựa trên kinh nghiệm dân gian. Những kết quả nghiên cứu y học gần đây đã cho thấy các loại dược liệu thông dụng được người dân sử dụng phổ biến như cây nhàu [7], cây ô rô [8], cây lá dứa [9], lá sa kê [10], cây rau sam [11] đều là các loại dược liệu có tính chống stress oxy hóa cao. Lá cây thạch vĩ cũng là một trong các loại dược liệu này nhưng cho đến hiện nay vẫn chưa có được sự quan tâm nghiên cứu cụ thể. Như vậy qua những nghiên cứu về cây thuốc có khả năng chống stress oxy hóa sẽ giúp ngăn chặn sự sản xuất ra nhiều gốc tự do bằng cách bổ sung các chất chống oxy hóa tự nhiên có trong thực vật bởi các chất chống oxy hóa này có khả năng làm sạch gốc tự do có hại cho cơ thể từ sự stress oxy hóa.

DPPH (công thức: 2,2 - diphenyl - 1 - picrylhydrazyl) là một gốc tự do có độ dài sóng hấp thụ cực đại tại 515 - 517 nm và có màu tím. Các chất có khả năng chống oxy hóa sẽ trung hòa gốc DPPH bằng cách cho hydrogen, làm giảm độ hấp thụ tại độ dài sóng cực đại và màu của dung dịch phản ứng sẽ nhạt dần, chuyển từ tím sang vàng. Kết quả thực nghiệm cho thấy cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ có hoạt tính dập tắt gốc tự do DPPH yếu hơn chứng dương Acid ascorbic (Bảng 4). Hiệu quả chống oxy hóa 50% (IC_{50} , half maximal inhibitory concentration) được tính dựa vào đường chuẩn $y = ax + b$. Hoạt tính chống oxy hóa của mẫu càng cao, thể hiện qua giá trị IC_{50} loại bỏ gốc tự do càng nhỏ. Kết quả thu được cho thấy lá

cây thạch vĩ có hoạt tính chống oxy hóa, điều này mở ra hướng nghiên cứu chọn thời điểm thu hoạch tốt nhất của lá cây thạch vĩ cho các nghiên cứu ứng dụng sau này.

Peroxy hóa lipid là sự tấn công của gốc tự do vào các lipid có nối đôi carbon - carbon, đặc biệt là các acid béo không no nhiều nối đôi. MDA (malondialdehyde) là sản phẩm đặc hiệu đánh giá mức độ oxy hóa màng lipid. Phương pháp chẩn đoán tổn thương peroxy hóa thường quy là định lượng sản phẩm cuối MDA bằng thử nghiệm TBARS (thiobarbituric acid reactive substance assay). Acid thiobarbituric phản ứng với MDA tạo thành sản phẩm phức hợp trimethin (màu hồng) và độ hấp thụ được xác định tại độ dài sóng 532 nm. Đánh giá khả năng làm giảm MDA (mất màu hồng) để xác định khả năng ức chế peroxy hóa lipid *in vitro* của mẫu khảo sát. Tổn thương oxy hóa hay còn gọi là stress oxy hóa *in vitro* thường được đánh giá qua sự tăng MDA và giảm mức độ hay hoạt tính của các chất chống oxy hóa. Kết quả ở Bảng 6 cho thấy cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ thể hiện hoạt tính ức chế peroxy hóa lipid tế bào rất điển hình với IC_{50} rất thấp, trong khoảng 23,12 $\mu\text{g/ml}$ và mạnh hơn chứng dương Trolox. Từ kết quả này gợi mở những nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa *in vivo* của cao chiết từ lá cây thạch vĩ trên những mô hình gây tổn thương oxy hóa tế bào gan hay tế bào thận do độc tính của thuốc như paracetamol, cisplatin hay do bệnh lý gây nên như đái tháo đường.

Mục đích thử nghiệm là khảo sát khả năng ức chế của cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ đến hoạt động của enzyme xanthine oxidase *in vitro*, dựa vào thử nghiệm xanthine oxidase. Kết quả khảo sát được đánh giá dựa vào phần trăm enzyme xanthine oxidase bị ức chế. Đánh giá sự ức chế hoạt động của enzyme xanthine oxidase được xác định dựa vào mức độ acid uric được hình thành từ xanthine trong cùng một thời gian thí nghiệm. Chất có khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase càng cao sẽ càng hạn chế sự hình thành acid uric, do đó mật độ quang của acid uric sẽ giảm. Giá trị hấp thụ cực

đại của acid uric là 295 nm. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong Bảng 8. Kết quả cho thấy cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ thể hiện hoạt tính ức chế xanthine oxidase như yếu hơn chứng dương Allopurinol. Từ kết quả này gợi mở những nghiên cứu tác dụng chống oxy hóa *in vivo* của cao chiết từ lá cây thạch vĩ vì việc bổ sung các chất ức chế enzyme xanthine oxidase vừa có tác dụng ức chế sự tạo thành acid uric ngăn ngừa bệnh gout, cũng vừa có tác dụng ngăn chặn lại stress oxy hóa là nguyên nhân gây tổn thương tế bào và mô trong cơ thể. Các hợp chất sinh học trong cao chiết lá cây thạch vĩ có khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase và có tiềm năng sử dụng cao chiết lá cây thạch vĩ như thực phẩm bổ sung trong điều trị bệnh gout.

Trong bối cảnh Việt Nam vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về lá cây thạch vĩ, nghiên cứu này đã khảo sát hoạt tính chống stress oxy hóa *in vitro* của cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ như thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH, ức chế peroxy hóa lipid tế bào, ức chế xanthine oxidase *in vitro*, góp phần định hướng cho việc sử dụng và khai thác lá cây thạch vĩ như một hoạt chất sinh học chiết xuất từ thực vật dùng để phòng và chữa nhiều bệnh lý, sẽ đặt nền tảng cho việc phát triển nguồn dược liệu từ lá cây thạch vĩ.

V. KẾT LUẬN

Cao chiết từ lá cây thạch vĩ có khả năng chống stress oxy hóa khá cao:

- $IC_{50} = 157,09 \mu\text{g/ml}$ cho thử nghiệm dập tắt gốc tự do DPPH (chỉ bằng 3,16% so với mẫu chứng dương là Acid ascorbic với $IC_{50} = 4,97 \mu\text{g/ml}$).

- $IC_{50} = 23,12 \mu\text{g/ml}$ cho thử nghiệm ức chế peroxy hóa lipid tế bào (cao hơn 17,08% so với mẫu chứng dương là Trolox với $IC_{50} = 27,88 \mu\text{g/ml}$).

- $IC_{50} = 141,03 \mu\text{g/ml}$ cho thử nghiệm ức chế xanthine oxidase *in vitro* (chỉ bằng 2,67% so với mẫu chứng dương là Allopurinol với $IC_{50} = 3,77 \mu\text{g/ml}$).

Như vậy, cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ đã thể hiện được hoạt tính chống stress

oxy hóa *in vitro*, nhưng vẫn thấp hơn so với các mẫu đối chứng đã sử dụng trong nghiên cứu này. Kết quả của nghiên cứu này mở ra những hướng nghiên cứu mới tiếp theo như khảo sát cơ chế chống stress oxy hóa của cao chiết cây thạch vĩ ở những bệnh có liên quan, tiếp tục đẩy mạnh nghiên cứu về tác dụng chống oxy hóa *in vivo* trên những mô hình gây tổn thương stress oxy hóa tế bào gan và tế bào thận do độc tính của thuốc hay do bệnh lý gây ra hoặc khảo sát tác dụng hạ acid uric máu cấp bằng kali oxonat từ cao chiết ethanol 70% từ lá cây thạch vĩ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lại Thị Ngọc Hà, Vũ Thị Thu. Stress oxy hóa và các chất chống oxy hóa tự nhiên. Tạp chí Khoa học và Phát triển 2009; 7(5): 667-677.
2. Aurelia Magdalena Pisoschi, Aneta Pop. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. Eur. J. Med. Chem. 2015; 97:55-74.
3. Helmut Sies. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. Redox Biol. 2015; 4:180-183.
4. Đỗ Tất Lợi. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học; 2004: 249-250.
5. Phạm Ngọc Khôi. Khảo sát thành phần hóa học và điều kiện tách chiết polyphenol và flavonoid từ lá cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua*). Tạp chí Y Dược học Phạm Ngọc Thạch 2022; 2(4): 97-105.
6. Phạm Ngọc Khôi, Bùi Thế Vinh, Nguyễn Thị Thu Hương. Khảo sát một số hoạt tính sinh học *in vitro* từ dịch chiết lá cây thạch vĩ (*Pyrrhosia lingua* (Thunb.) Farwell). Tạp chí Y Dược học Phạm Ngọc Thạch 2023; 3(2): 130-136.
7. Đái Thị Xuân Trang, Quách Tú Huệ, Võ Thị Ngọc Diễm, Nguyễn Thị Mai Phương. Khảo sát hiệu quả hạ đường huyết và chống oxy hóa của cao chiết cây nhàu (*Morinda citrifolia* L.) ở chuột bệnh tiểu đường. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, Phần A: Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường 2012; 23b: 115-124.

8. Đái Thị Xuân Trang, Phan Kim Định, Trương Đình Yên An, Nguyễn Thị Yên Chi. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa của cây ô rô (*Acanthus ilicifolius* L.)”, Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, Phần A: Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường 2014; 35:104-110.
9. Đái Thị Xuân Trang, Ninh Khắc Huyền Trân. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa của dịch chiết ethanol từ cây lá dứa (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) trên mô hình chuột bệnh đái tháo đường”, Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ 2015; 37(1): 231-237.
10. Đái Thị Xuân Trang, Trương Thị Phương Thảo. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa của lá sa kê (*Artocarpus altilis*). Tạp chí Công nghệ Sinh học 2015; 13(1): 143-150.
11. Đái Thị Xuân Trang, Trương Thị Phương Thảo, Kaeko Kamei. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa của cây rau sam (*Portulaca oleracea* L.) *in vitro* bằng phương pháp HPLC-ESR và *in vivo* trên ruồi giấm chuyển gen. Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ 2015; 5(18): 32-41.