

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH KHÁNG OXI HÓA CỦA SÀI ĐẤT BA THÙY

Bùi Thị Kim Lý⁽¹⁾, Trần Thị Yến Nhi⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài: 12/4/2022; Ngày phản biện: 15/4/2022; Chấp nhận đăng: 30/5/2022

Liên hệ Email: lybtk@tdmu.edu.vn

<https://doi.org/10.37550/tdmu.VJS/2022.03.304>

Tóm tắt

Sài đất ba thù (SDBT), tên khoa học là *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa của cao chiết thô và xác định các hoạt chất kháng oxi hóa tiềm năng thuộc nhóm phân đoạn nào từ cao chiết thô của SDBT. Để thực hiện điều này, chúng tôi tiến hành thu nhận cao chiết methanol thô và phân đoạn cao chiết thô methanol thành các phân đoạn có độ phân cực tăng dần lần lượt là n-hexan, chloroform, etyl axetat và nước bằng phương pháp chiết lỏng – lỏng. Kết quả chỉ ra rằng cao chiết methanol thô có giá trị EC_{50} (DPPH) là $185,00 \pm 4,31 \mu\text{g/ml}$, trong khi đó dịch chiết etyl axetat có giá trị EC_{50} thấp nhất, thể hiện khả năng trung hòa gốc tự do DPPH cao nhất (giá trị EC_{50} đối với các phân đoạn n-hexan, chloroform, etyl axetat và nước lần lượt là $> 800,00 \mu\text{g/ml}$, $625,64 \pm 43,05 \mu\text{g/ml}$, $19,67 \pm 0,98 \mu\text{g/ml}$ và $478,17 \pm 34,67 \mu\text{g/ml}$). Điều này chứng tỏ các hoạt chất kháng oxi hóa tiềm năng thuộc nhóm chất có độ phân cực trung bình. Ngoài ra, kết quả thí nghiệm cũng cho thấy có mối liên hệ chặt chẽ giữa hàm lượng phenol và hoạt tính kháng oxi hóa của cao chiết, thể hiện rõ ở phân đoạn etyl axetat, phân đoạn này có chứa hàm lượng phenol cao hơn và thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa mạnh hơn so với các phân đoạn còn lại.

Từ khóa: etyl axetat, kháng oxi hóa, phân đoạn, polyphenol, sài đất ba thù

Abstract

STUDY ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SPHAGNETICOLA TRILOBATA EXTRACTS

Sphagneticola trilobata (L.) Pruski is the scientific name for SAI DAT BA THUY (SDBT). The purpose of this study was to investigate the antioxidant activity of the crude extract and the class of fractions to which the potential antioxidants in the crude extract of SDBT belong. To do this, we extracted crude methanol extract and fractionated it with increasing polarity of n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and water, respectively. The crude methanol extract had the EC_{50} value (DPPH) of $185.00 \pm 4.31 \mu\text{g/ml}$, whereas the ethyl acetate extract had the lowest EC_{50} values, indicating the strongest DPPH scavenging action (EC_{50} values for n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and aqueous

were $> 800.00\mu\text{g/ml}$, $625.64 \pm 43.05\mu\text{g/ml}$, $19.67 \pm 0.98\mu\text{g/ml}$, and $478.17 \pm 34.67\mu\text{g/ml}$, respectively). Semi-polar compounds may possess antioxidant activity. Additionally, there appeared to be a strong correlation between the phenolic content of the extracts and their antioxidant activity, with the ethyl acetate fraction carrying the highest phenolic content exhibiting the strongest antioxidant activity.

1. Đặt vấn đề

Sài đất ba thù (SDBT) có tên khoa học là *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski, thuộc họ Cúc, và có tên đồng danh khoa học khác là *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. Đây là loài cây phân bố rộng ở Nam Mỹ, Trung Mỹ, Mexico và Tây Ấn. Ngoài ra, SDBT còn được tìm thấy ở Bangladesh, India, China, Malaysia, Indonesia, Vietnam, Cambodia và Myanmar. Tại Việt Nam, SDBT còn được gọi là sài đất kiểng, sơn cúc ba thù hoặc cúc xuyên chi. SDBT mọc hoang dại ở khắp mọi nơi, trên mọi địa hình và được trồng như một loại cây kiểng công trình tại Việt Nam. SDBT có chứa nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học đã được chứng minh có nhiều tác dụng dược lý do đó SDBT được sử dụng trong y học cổ truyền ở khắp nơi trên khắp thế giới. Theo Coe & Anderson (1996), quả, lá và thân của SDBT đã được sử dụng để điều trị các biến chứng khi sinh bao gồm vết cắn và đốt, sốt và bệnh tật (Coe và nnk., 1996). Lá SDBT thường được dùng để chữa bệnh suy thận, cảm lạnh, vết thương, vô kinh và đau bụng kinh (Coe và nnk., 1996; Melappa và nnk., 2011).

Các nghiên cứu trước đây cho thấy dịch chiết methanol từ hoa của SDBT có hoạt tính kháng oxi hóa rất tốt. Các tính chất chống oxi hóa được đánh giá bởi phương pháp 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) và axit 2,2'-azino-bis 3-thylbenzthiazolin-6-sulphonic (ABTS). Kết quả cho thấy chiết xuất methanol của SDBT so với acid ascorbic chuẩn có hoạt tính chống oxi hoá gần tương đương nhau với giá trị EC_{50} lần lượt là $90\mu\text{g/ml}$ và $60\mu\text{g/ml}$ (Chethan và nnk., 2012).

Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa của cao chiết methanol thô và xác định các hoạt chất kháng oxi hóa tiềm năng thuộc nhóm phân đoạn nào từ cao chiết thô của SDBT.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Chuẩn bị mẫu cao chiết phân đoạn

Chiết xuất metanol thô của SDBT (Chi và nnk., 2021) được phân đoạn bằng phương pháp chiết lỏng: lỏng với các dung môi có độ phân cực tăng dần theo thứ tự n-hexan, chloroform, etyl axetat và nước. Các cao chiết sau đó được cô quay chân không, hòa tan với dung môi thích hợp để sẵn sàng cho thí nghiệm (Arumugam và nnk., 2006).

2.2. Hoạt tính kháng oxi hóa

Thử nghiệm trung hòa gốc diphenylpicryl-hydrazyl 1'-1' (DPPH) được thực hiện

bằng phương pháp đã được mô tả trước đây bởi Ghatak và cộng sự với những sửa đổi nhỏ (Ghatak và nnk., 2015). Dung dịch DPPH (0,3 mM) được tạo ra để phản ứng theo tỉ lệ 1:1 với dịch chiết của cao phân đoạn. Độ hấp thụ ở bước sóng 517nm được xác định sau 30 phút ủ ở 37°C. Trong thử nghiệm này, vitamin C được sử dụng làm chất đối chứng dương. Khả năng trung hòa các gốc tự do DPPH được tính theo công thức sau:

$$\text{Gốc tự do DPPH (\%)} = \frac{\text{mẫu đối chứng âm tính}}{\text{đối chứng âm tính}} \times 100\%$$

2.3. Xác định hàm lượng polyphenol tổng số

Tổng hàm lượng polyphenol của dịch chiết SDBT được xác định bằng cách sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu (Lewis, 2012) theo quy trình của Nunzia và cộng sự (Nunzia và nnk., 2011) được sửa đổi một vài điểm nhỏ. Thuốc thử Folin-Ciocalteu chứa chất oxi hóa là hỗn hợp acid phosphotungstic và acid phosphomolybdic, trong quá trình khử, các nhóm hydroxy phenol dễ bị oxi hóa, chất oxi hóa này sẽ bị khử thành các oxid vonfram và molybden sinh ra màu xanh có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 765nm và cường độ màu sẽ tỷ lệ với hàm lượng phenol có trong mẫu. Quy trình được thực hiện như sau, pha loãng dãy nồng độ của acid garlic với methanol 40%: 0µg/ml; 31,25µg/ml; 62,5µg/ml; 125µg/ml; 250µg/ml; 500µg/ml. Cao chiết được pha loãng với methanol 40% 1000 lần. 200µl acid garlic/mẫu bổ sung 200µl thuốc thử F-C, vortex, ủ 5 phút ở nhiệt độ phòng. Thêm 1600µl Na₂CO₃ 5%, vortex, ủ 20 phút ở 40°C. Đo OD ở bước sóng 765nm. Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic, đơn vị GAE/mg cao chiết, với GAE là đương lượng acid gallic.

2.4. Phương pháp phân tích số liệu

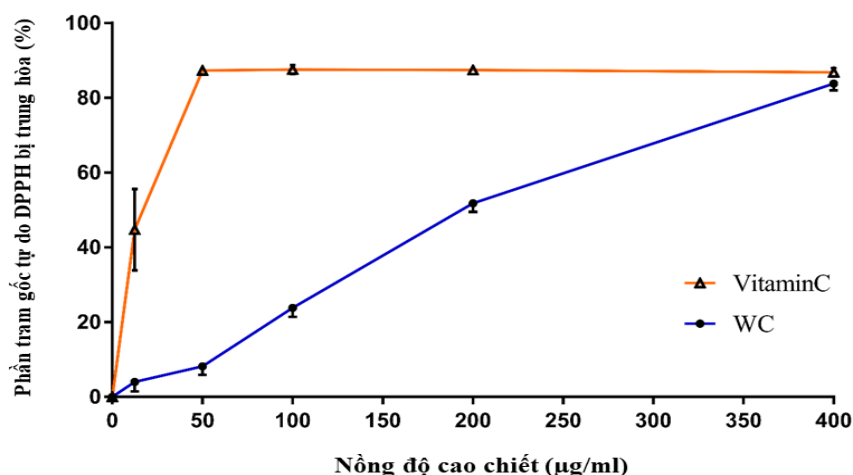
Các thí nghiệm được thực hiện ít nhất ba lần và được phân tích bằng phần mềm Graphpad prism phiên bản 9.0.0. Phân tích hồi quy phi tuyến được thực hiện để xác định nồng độ cao chiết mà tại đó trung hòa được 50% gốc tự do DPPH (EC₅₀). Sự khác biệt đáng kể được xác định bằng giá trị p là 0,05. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± sai số chuẩn của giá trị trung bình.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Đánh giá khả năng kháng oxi hóa của cao chiết methanol thô SDBT

Khả năng kháng oxi hóa của cao chiết methanol thô của SDBT được xác định bằng phương pháp DPPH. Giá trị EC₅₀ của cao chiết methanol thô SDBT là 185,00 ± 4,31µg/ml (EC₅₀ của acid ascorbic là 13,47 ± 2,26µg/ml) (Hình 1). Một kết quả khác được ghi nhận trên một loài cùng chi là *Wedelia chinensis* thu nhận ở Ấn Độ có giá trị EC₅₀ là 9,16µg/ml (Verma và nnk., 2015). Nghiên cứu của Govindappa và cs ghi nhận ở nồng độ 100mg/ml, tỉ lệ trung hòa gốc oxi hóa tự do của dịch chiết ethanol của thân và hoa của SDBT đạt đến 82,64% và 55,41%, và của lá là 86,17% (Govindappa và nnk., 2011). Trong khi đó, giá trị này của acid ascorbic ở nồng độ 100mg/ml là 98%. Một nghiên cứu khác ghi nhận kết

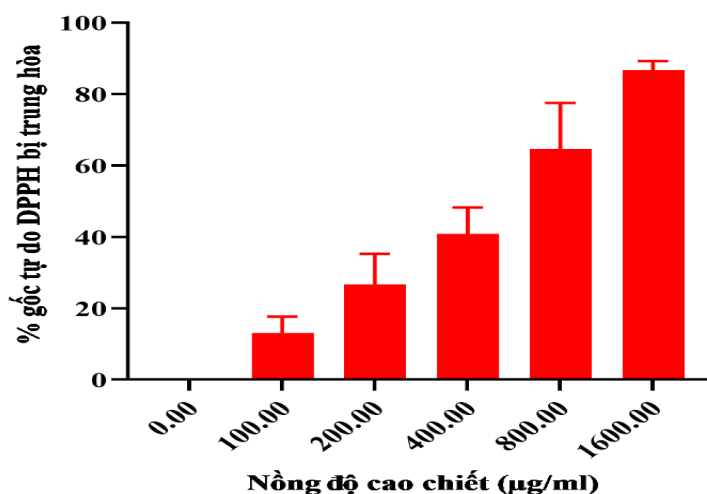
quả giá trị EC_{50} ở hoa của SDBT là $90\mu\text{g/ml}$ và của acid ascorbic là $60\mu\text{g/ml}$ (Chethan và nnk., 2012). Kết quả khảo sát đồng thời trên dịch chiết methanol và nước của SDBT ở nồng độ $20\mu\text{g/ml}$ cho tỉ lệ trung hòa gốc tự do là 56,68% và 18,93% trong khi đó tỉ lệ này ở acid ascorbic ở cùng nồng độ là 56,26% (Kurapati và nnk., 2018).



Hình 1. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết methanol thô SDBT

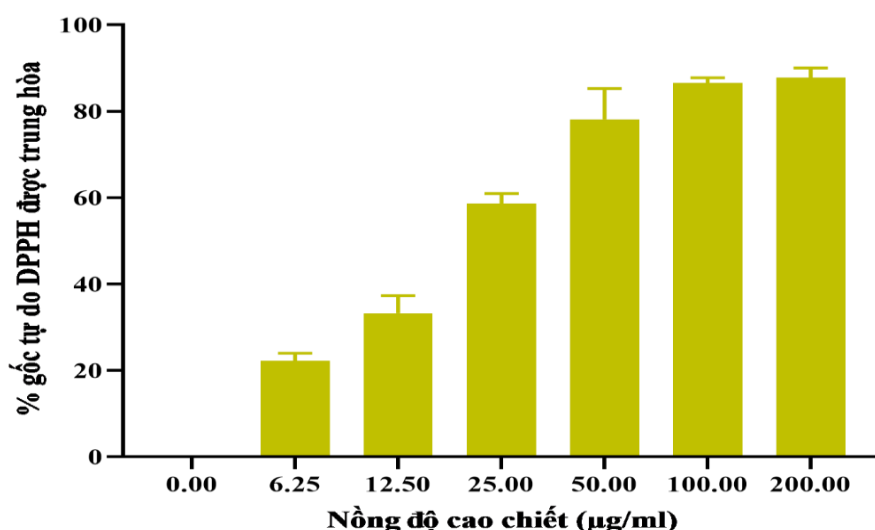
3.2. Đánh giá khả năng kháng oxi hóa của cao chiết phân đoạn của SDBT

Tiếp theo để xác định các hoạt chất kháng oxi hóa tiềm năng thuộc nhóm phân đoạn nào từ cao chiết thô của SDBT, chúng tôi tiến hành phân đoạn cao chiết thô methanol thành các phân đoạn có độ phân cực tăng dần lần lượt là n-hexan, chloroform, etyl axetat và nước bằng phương pháp chiết lỏng – lỏng. Kết quả hình 2 cho thấy giá trị EC_{50} của phân đoạn nước là $478,17 \pm 34,67\mu\text{g/ml}$, giá trị này cho thấy hoạt động trung hòa gốc tự do DPPH của chiết xuất trong cao phân đoạn nước là khá thấp.



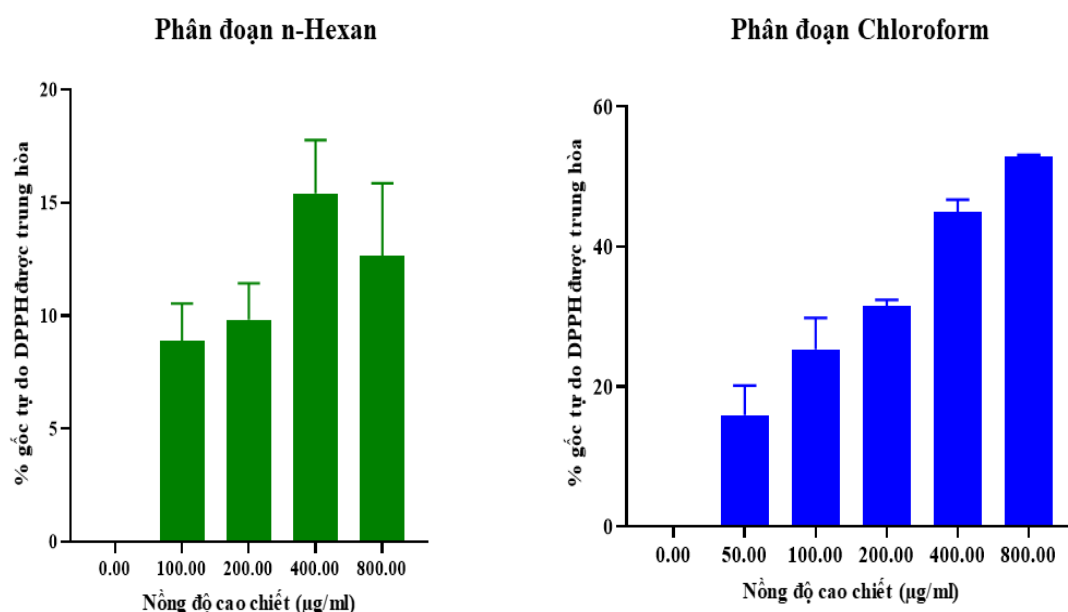
Hình 2. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết phân đoạn nước của SDBT

Trong khi đó, cao chiết phân đoạn etyl axetat của SDBT được ghi nhận có hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH cao nhất. Theo hình 3 và bảng 1, cao chiết phân đoạn etyl axetat có giá trị EC_{50} là $19,67 \pm 0,98 \mu\text{g/ml}$. Điều này chứng tỏ rằng phân đoạn etyl axetat có khả năng loại bỏ các gốc tự do rất cao, kết quả này gần tương đương với vitamin C.



Hình 3. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết phân đoạn etyl axetat của SDBT

Mặt khác, như minh họa trong hình 4 và bảng 1, hoạt động trung hòa gốc tự do DPPH trong các phân đoạn n-hexan và chloroform cũng rất yếu (giá trị EC_{50} đối với n-hexan và chloroform lần lượt là $> 800,00 \mu\text{g/ml}$ và $625,64 \pm 43,05 \mu\text{g/ml}$).



Hình 4. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết phân đoạn n-hexan và nước của SDBT

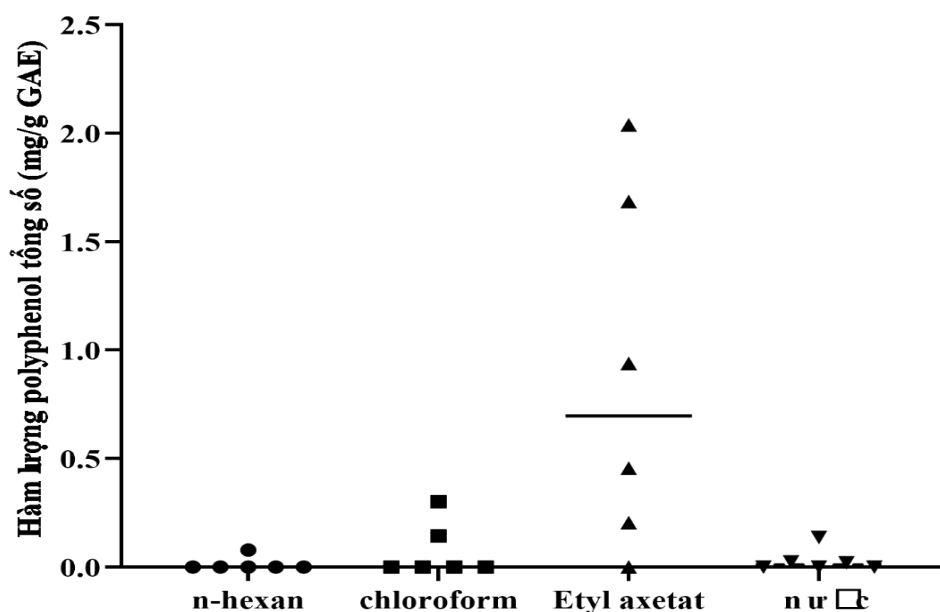
Bảng 1. Giá trị EC_{50} DPPH của các cao chiết

Cao chiết	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Methanol thô	$185 \pm 4,31$
Phân đoạn Hexan	> 800.00
Phân đoạn Chloroform	625.64 ± 43.05
Phân đoạn Etyl axetat	19.67 ± 0.98
Phân đoạn nước	478.17 ± 34.67
Acid ascorbic	$13,47 \pm 2,26$

Tóm lại, trong số tất cả các phân đoạn được nghiên cứu, phân đoạn etyl axetat có hiệu quả kháng oxi hóa cao nhất. Như vậy, các hoạt chất có khả năng kháng oxi hóa có thể là các hợp chất có độ phân cực trung bình.

3.3. Tổng hàm lượng polyphenol của các phân đoạn SDBT

Nhìn chung, do đặc điểm hóa học của dung môi etyl axetat mà phân đoạn này có thể hòa tan được nhiều hợp chất thuộc các nhóm sesquiterpene, diterpene, coumarine, quinone và aglycone. Các nhóm hợp chất này cũng đã được xác định là có trong SDBT và được cho là chịu trách nhiệm cho phần lớn hoạt tính sinh học của chiết xuất từ SDBT (Chi và nnk., 2021). Dung môi etyl axetat cũng có thể hòa tan nhiều polyphenol, và thành phần này có thể là hoạt tính chính của phân đoạn. Bên cạnh đó, cũng có nhiều báo cáo cho rằng hoạt động kháng oxi hóa của các chất chiết xuất từ thực vật thường tương quan với sự hiện diện của các nhóm hợp chất phenol.



Hình 5. Hàm lượng polyphenol tổng số của các cao chiết phân đoạn

Kết quả ở hình 5 cho thấy phân đoạn etyl axetat chứa nhiều lượng polyphenol hơn đáng kể so với các phân đoạn khác. Điều này là do hợp chất phenol dễ hòa tan hơn trong dung môi etyl axetat hơn so với các dung môi khác. (Lu và nnk., 2014).

DPPH có một gốc proton tự do với đỉnh hấp thụ đặc trưng ở bước sóng 517nm, do đó những chất có hoạt tính kháng oxi hóa sẽ có khuynh hướng trung hòa gốc proton này và qua đó làm giảm mức độ hấp thụ ở cùng bước sóng (Jao và nnk., 2002). Rất nhiều nghiên cứu trước đây đã chứng minh mối liên hệ giữa hoạt tính trung hòa gốc tự do và tổng hàm lượng polyphenol. Oki và cộng sự (2006) đã chứng minh rằng việc tăng số lượng các hợp chất phenolic đã thúc đẩy hoạt động trung hòa gốc tự do. Các nghiên cứu của Lu và Foo (2000) và Siriwardhana và cộng sự (2003) cũng đã phát hiện ra mối tương quan đáng kể giữa khả năng trung hòa gốc DPPH và tổng hàm lượng phenol.

Kết quả thí nghiệm cho thấy dường như có mối liên hệ chặt chẽ giữa hàm lượng phenol trong các cao chiết và hoạt tính kháng oxi hóa của chúng thể hiện rõ ở phân đoạn etyl axetat có hàm lượng phenol cao hơn và cũng đồng thời thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa mạnh hơn các phân đoạn còn lại.

Tóm lại, từ các kết quả trên chúng tôi nhận thấy rằng polyphenol chính là nguyên nhân làm tăng hoạt tính kháng oxi hóa của cao chiết etyl acetat ở SDBT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Arumugam, P., Ramamurthy, P., Santhiya, S. T., & Ramesh, A. (2006). Antioxidant activity measured in different solvent fractions obtained from *Mentha spicata* Linn.: An analysis by ABTS.+ decolorization assay. *Asia Pac J Clin Nutr*, 15(1), 119.
- [2] Chethan, J., Kumara, K. S., Niranjana, S., & Prakash, H. (2012). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic flower extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitch. *African Journal of Biotechnology*, 11(41), 9829-9834.
- [3] Chethan, J., Sampath Kumara, K. K., R, N. S., & Prakash, H. S. (2012). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic flower extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitch. *African Journal of Biotechnology*, 11(41), 9829-9834.
- [4] Chi, H. T., Thuong, N. T. L., & Ly, B. T. K. (2021). *Sphagneticola Trilobata* (L.) Pruski (Asteraceae) Methanol Extract Induces Apoptosis in Leukemia Cells through Suppression of BCR/ABL. *Plants (Basel)*, 10(5). doi: 10.3390/plants10050980
- [5] Coe, F. G., & Anderson, G. J. (1996). Ethnobotany of the garífuna of Eastern Nicaragua. *Economic Botany*, 50(1), 71-107. doi: 10.1007/BF02862114
- [6] Ghatak, A., Nair, S., Vajpayee, A., Chaturvedi, P., Samant, S., Soley, K., . . . Desai, N. (2015). *Evaluation of antioxidant activity, total phenolic content, total flavonoids, and LC-MS characterization of Saraca asoca* (Roxb.) De.Wilde (Vol. 3).
- [7] Govindappa, M., & Poojashri, M. (2011). Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, 3(3), 43-51.
- [8] J.Lewis, M. (2012). *Estimation of the phenolic and other oxidation substrate content in extract using Follin - Ciocalteau reagent*.
- [9] Jao, C.-L., & Ko, W.-C. (2002). 1,1Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolyzates from tuna cooking juice. *Fisheries Science*, 68, 430-435. doi: 10.1046/j.1444-2906.2002.00442.x

- [10] Kurapati, S., Krishna Pallapatti, R., Kanikaram, S., & Bollikolla, H. B. (2018). *A Quantitative Estimation of Phytochemicals, Anti-Diabetic and Anti-Oxidant Activities of Crude Extracts of Sphagneticola trilobata (L.) and Adathoda vasica Linn* (Vol. 04).
- [11] Liu, F., & Ng, T. B. (2000). *Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs*. (0024-3205 (Print)).
- [12] Lu, Y., Shipton, F., Khoo, T.-J., & Wiart, C. (2014). Antioxidant Activity Determination of Citronellal and Crude Extracts of Cymbopogon citratus by 3 Different Methods. *Pharmacology & Pharmacy*, 05, 395-400. doi: 10.4236/pp.2014.54047
- [13] Melappa, G., S, N., N, P., T.s, S., Cp, C., Santoyo, G., . . . Anil, N. (2011). Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of water extract of Wedelia trilobata (L.) Hitchc. *Journal of medicinal plants research*, 5, 5718-5729.
- [14] Nunzia, C., & Vincenzo, L. (2011). The Influence of Initial Carbonate Concentration on the Folin-Ciocalteu Micro-Method for the Determination of Phenolics with Low Concentration in the Presence of Methanol: A Comparative Study of Real-Time Monitored Reactions American. *Journal of Analytical Chemistry*, 2, 840-848
- [15] Oki, T., Masuda, M., Furuta, S., Nishiba, Y., Terahara, N., & Suda, I. (2006). Involvement of Anthocyanins and other Phenolic Compounds in Radical-Scavenging Activity of Purple-Fleshed Sweet Potato Cultivars. *Journal of Food Science*, 67, 1752-1756. doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb08718.x
- [16] Siriwardhana, N., Lee, K. W., Jeon, Y. J., Kim, S. H., & Haw, J. W. (2003). Antioxidant Activity of Hizikia fusiformis on Reactive Oxygen Species Scavenging and Lipid Peroxidation Inhibition. *Food Science and Technology International*, 9(5), 339-346. doi: 10.1177/1082013203039014
- [17] Verma, N., & Khosa, R. L. (2015). Chemistry and biology of genus wedelia jacq. *A review* (Vol. 6).