# NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG OXY HÓA CỦA CAO TOÀN PHẦN VÀ CAO PHÂN ĐOẠN TỪ RỄ CÂY ĐẢNG SÂM (*CODONOPSIS JAVANICA* (BLUME) HOOK.F. CULTIVATED) TRỒNG TẠI LÂM ĐỒNG

*Đỗ Văn Mãi*, Đinh Thị Đào**, Nguyễn Thị Ngọc Đan**, Dương Thị Mộng Ngọc**, Trần Công Luận**

## TÓM TẮT

***Mục tiêu***: *Đảng sâm là một trong những dược liệu quý hiếm và được được đưa vào sách đỏ Việt Nam năm 2007, còn gọi là "Nhân sâm của người nghèo". Vì thế nhằm phát triển nguồn dược liệu quý và thực hiện chủ trương của nhà nước về hình thành vùng trồng dược liệu, đồng thời góp phần đánh giá một trong những tác dụng sinh học của nguồn nguyên liệu Đảng sâm Việt Nam trồng theo hướng tác dụng chống oxy hóa, chúng tôi thực hiện đề tài: "Khảo sát thành phần hóa học theo hướng tác dụng chống oxy hóa của rễ cây Đảng sâm Việt Nam (Codonopsis javanica (Blume) Hook.f.) trồng tại Lâm Đồng".*

***Đối tượng và phương pháp***: *Rễ Đảng sâm trồng 3 năm tuổi tại Lâm Đồng do Công ty TNHH Cao Lâm cung cấp. Chiết xuất và tách phân đoạn bằng kỹ thuật chiết hồi lưu và chiết lỏng-lỏng. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của các phân đoạn này bằng phương pháp quét gốc tự do DPPH (in vitro).*

***Kết quả***: *Giá trị $IC_{50}$ của các mẫu cao toàn phần, cao diethyl ether, cao ethyl acetat, cao n-butanol và cao nước lần lượt là: 654,10 µg/ml; 874,62 µg/ml; 280,46 µg/ml; 945,41 µg/ml, 1113,30 µg/ml.*

***Kết luận***: *Cao toàn phần và các cao phân đoạn chiết từ rễ cây Đảng sâm Việt Nam có tác dụng chống oxy hóa theo hướng quét gốc tự do trong thử nghiệm DPPH. Trong đó cao ethyl acetat thể hiện tác dụng này mạnh nhất.*

***Từ khóa***: *Đảng sâm, Lâm Đồng, chống oxy hóa, DPPH.*

## ABSTRACT

*STUDY ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TOTAL EXTRACT AND FRACTIONS EXTRACTED FROM THE ROOT OF CODONOPSIS JAVANICA (BLUME) HOOK.F. CULTIVATED IN LAM DONG PROVINCE*

Do Van Mai, Dinh Thi Dao, Nguyen Thi Ngoc Dan, Duong Thi Mong Ngoc,Tran Cong Luan

* Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Supplement of Vol. 19 - No 5 - 2015: 87 - 90

***Objective***: *Codonopsis javanica (Blume) Hook.f. (Dang sam Viet Nam, DSVN) is one of the most precious medicinal plants of Vietnam and have been in the Red Book of Vietnam since 2007. It has been known as "ginseng for the poor". To develop the medicine value from this source of medicinal plant and realize the government's policies about the foundation of area for cultivation of medicinal plant as well as evaluate the quality of cultivated DSVN in view of antioxidant activities, the project "Study on chemical composition based on antioxidant activities of the root Codonopsis javanica (Blume) Hook.f. cultivated in Lam Dong Province" was carried out.*

***Methods***: *Roots of DSVN 3 years old cultivated in Lam Dong were provided by Cao Lam Co. Ltd.. Extraction and isolated into fractions by under reflux and liquid-liquid partition. The free radical scavening effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical test of fractions were examined.*

* Trường Đại học Tây Đô ** TT Sâm và Dược liệu TPHCM

*Tác giả liên lạc:* PGS.TS.Trần Công Luận *ĐT*: 0903671323 *Email*: congluan53@gmail.com

***Results**: $IC_{50}$ of total extract, diethyl ether, ethyl acetate, n-butanol and water are 654.10 μg/ml; 874.62 μg/ml; 280.46 μg/ml; 945.41 μg/ml, 1113.30 μg/ml, respectively.*

***Conclusion**: Total extract and fractions extracted from the root DSVN had antioxidant effects on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical test. In which, ethyl acetate fraction was strongest in this activity.*

***Keywords**: Codonopsis javanica, Lam Dong, antioxidant, DPPH.*

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Đảng sâm hay còn gọi là Đảng sâm Việt Nam có tên khoa học là *Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f., thuộc họ Hoa chuông (Campanulaceae) [2].Đảng sâm được đưa vào Sách Đỏ Việt Nam (2007), được gọi là "Nhân sâm của người nghèo" vì có công dụng gần giống như Nhân sâm mà lại rẻ tiền như tăng cường thể lực, chống suy nhược, kích thích các hoạt động não bộ, chống oxy hóa, chống lão hóa, phòng chống một số ung thư, tăng sức đề kháng…[4,8]. Một trong những tác dụng quan trọng đó, tác dụng chống oxy hóa là vấn đề hiện nay được nhiều người quan tâm trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Tuy nhiên, hiện nay những nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa của rễ cây Đảng sâm còn rất hạn chế. Chính vì vậy, đề tài "Khảo sát tác dụng chống oxy hóa của cao toàn phần và cao phân đoạn từ rễ cây Đảng sâm Việt Nam (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f.) trồng tại Lâm Đồng" được thực hiện với mục tiêu khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của cao toàn phần và cao phân đoạn từ rễ cây đảng sâm Việt Nam bằng thử nghiệm 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).

## ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Đối tượng nghiên cứu

Dược liệu là rễ Đảng sâm 3 năm tuổi trồng tại Công ty TNHH Cao Lâm, Đà Lạt, Lâm Đồng. Dược liệu được thái mỏng và sấy ở 40-55 $^oC$ cho đến khi khô. Tiến hành xay thành bột và được lưu trữ tại bộ môn Tài nguyên - Dược liệu của Trung tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh.

Từ 1225 g rễ Đảng sâm 3 năm tuổi ban đầu bằng phương pháp chiết hồi lưu với cồn 96% thu được 290 g cao toàn phần (hiệu suất 23,67%).

Từ 290 g cao toàn phần bằng kỹ thuật chiết lỏng - lỏng[1,5] thu được 23 g cao diethyl ether (hiệu suất 7,93%), 17 g cao ethyl acetat (hiệu suất 5,86%), 150 g cao n-buthanol (hiệu suất 51,72%) và 55 g cao nước (hiệu suất 18,97%).

### Vật liệu nghiên cứu

Cồn 96%, diethyl ether, ethyl acetat, *n*-butanol, methanol (Trung Quốc), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma, USA), acid ascorbic (Vitamin C) và trolox (*α*-tocopherol) (Sigma, USA), DMSO (dimethylsulfoxid) (Sigma, USA).

### Phương pháp xác định khả năng quét gốc tự do (thử nghiệm DPPH)[3,7,9]

#### *Chuẩn bị thuốc thử và mẫu thử*

*Dung dịch DPPH:* Pha dung dịch DPPH 0,6 mM trong methanol (MeOH) bằng cách hòa tan 5,915 mg DPPH với một lượng MeOH vừa đủ, sau đó cho vào bình định mức và thêm MeOH cho đủ 25 ml.

*Mẫu thử:* Khảo sát hoạt tính quét gốc tự do DPPH của các mẫu cao toàn phần, cao diethyl ether, cao ethyl acetat, cao *n*-butanol, cao nước. Các cao này được hòa tan với MeOH để đạt được nồng độ ban đầu là 1000 μg/m. Nếu khó tan có thể dùng DMSO trợ tan.

Đối chứng dương được sử dụng là vitamin C và trolox (đồng phân của vitamin E).

Các mẫu thử và chứng dương được tiến hành khảo sát ở 5 nồng độ khác nhau.

#### *Tiến hành quy trình thử nghiệm*

***Bảng 1.** Phản ứng thử nghiệm DPPH*

| Ống | Dung dịch thử (ml) | Dung dịch MeOH (ml) | Dung dịch DPPH (ml) |
|---|---|---|---|
| Trắng | 0 | 4 | 0 |
| Chứng | 0 | 3,5 | 0,5 |
| Thử | 0,5 | 3 | 0,5 |

Hỗn hợp sau khi pha để trong tối, ở nhiệt độ phòng 30 phút.

Đo quang ở bước sóng 517 nm.

***Cách tính kết quả***

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

$$HTCO(\%) = \frac{(ODc - ODt)}{ODc} \times 100$$

*Trong đó:*

*$OD_c$: Mật độ quang của dung dịch DPPH và MeOH.*

*$OD_t$: Mật độ quang của DPPH và mẫu thử.*

Từ HTCO (%) và nồng độ mẫu với phần mềm Excel ta được phương trình logarit giữa nồng độ mẫu thử và HTCO (%) có dạng y = aLn(x) + b, thế y = 50 để suy ra $IC_{50}$ (khả năng đánh bắt 50% DPPH của mẫu). Giá trị $IC_{50}$ càng thấp tương ứng với HTCO càng cao và ngược lại. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị trung bình của 3 lần đo khác nhau.

## KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

### Kết quả thử nghiệm DPPH *in vitro*

***Bảng 2.*** *Thông số thử hoạt tính quét gốc tự do DPPH trên cao toàn phần*

| Ống | Nồng độ mẫu (µg/ml) | OD trung bình | HTCO (%) |
|---|---|---|---|
| Chứng | 0 | 0,7020 | -- |
| 1 | 200 | 0,5092 | 27,46 |
| 2 | 400 | 0,4100 | 41,60 |
| 3 | 800 | 0,3222 | 54,10 |
| 4 | 1000 | 0,1956 | 72,13 |
| 5 | 1500 | 0,0993 | 85,86 |

***Bảng 3.*** *Thông số thử hoạt tính quét gốc tự do DPPH trên cao diethyl ether*

| Ống | Nồng độ mẫu (µg/ml) | OD trung bình | HTCO (%) |
|---|---|---|---|
| Chứng | 0 | 0,7190 | -- |
| 1 | 200 | 0,4689 | 34,78 |
| 2 | 600 | 0,3683 | 48,77 |
| 3 | 1000 | 0,3153 | 56,15 |
| 4 | 2500 | 0,1708 | 76,24 |
| 5 | 4000 | 0,0781 | 89,13 |

***Bảng 4.*** *Thông số thử hoạt tính quét gốc tự do DPPH trên cao ethyl acetat*

| Ống | Nồng độ mẫu (µg/ml) | OD trung bình | HTCO (%) |
|---|---|---|---|
| Chứng | 0 | 0,7050 | -- |
| 1 | 50 | 0,6269 | 11,07 |
| 2 | 100 | 0,4825 | 31,56 |
| 3 | 200 | 0,4059 | 42,42 |
| 4 | 400 | 0,1950 | 72,34 |
| 5 | 600 | 0,0968 | 86,27 |

***Bảng 5.*** *Thông số thử hoạt tính quét gốc tự do DPPH trên cao n-butanol*

| Ống | Nồng độ mẫu (µg/ml) | OD trung bình | HTCO (%) |
|---|---|---|---|
| Chứng | 0 | 0,7130 | -- |
| 1 | 100 | 0,6005 | 15,78 |
| 2 | 200 | 0,5698 | 20,08 |
| 3 | 400 | 0,4850 | 31,97 |
| 4 | 800 | 0,3375 | 52,66 |
| 5 | 1600 | 0,2001 | 71,93 |

***Bảng 6.*** *Thông số thử hoạt tính quét gốc tự do DPPH trên cao nước*

| Ống | Nồng độ mẫu (µg/ml) | OD trung bình | HTCO (%) |
|---|---|---|---|
| Chứng | 0 | 0,7220 | -- |
| 1 | 500 | 0,4749 | 34,22 |
| 2 | 1300 | 0,3151 | 56,35 |
| 3 | 2000 | 0,1953 | 72,95 |
| 4 | 2500 | 0,1568 | 78,28 |
| 5 | 3000 | 0,0888 | 87,70 |

***Bảng 7.*** *Thông số thử hoạt tính quét gốc tự do DPPH trên vitamin C*

| Ống | Nồng độ mẫu (µg/ml) | OD trung bình | HTCO (%) |
|---|---|---|---|
| Chứng | 0 | 0,7070 | -- |
| 1 | 2,5 | 0,5780 | 18,24 |
| 2 | 5 | 0,4578 | 35,25 |
| 3 | 10 | 0,2825 | 60,04 |
| 4 | 15 | 0,0594 | 91,60 |
| 5 | 20 | 0,0507 | 92,83 |

***Bảng 8.*** *Thông số thử hoạt tính quét gốc tự do DPPH trên trolox*

| Ống | Nồng độ mẫu (µg/ml) | OD trung bình | HTCO (%) |
|---|---|---|---|
| Chứng | 0 | 0,7100 | -- |
| 1 | 1,25 | 0,6562 | 7,58 |
| 2 | 2,5 | 0,5907 | 16,80 |
| 3 | 7,5 | 0,4525 | 36,27 |
| 4 | 15 | 0,2109 | 70,29 |
| 5 | 30 | 0,0378 | 94,67 |

### Nhận xét và bàn luận

- Qua các thông số của bảng trên, vẽ vào phần mềm Excel ta có phương trình tuyến tính hoạt tính.

- Từ đồ thị hoạt tính quét gốc tự do DPPH của cao khảo sát, ta có phương trình đồ thị y = ax + b.

- Thay y = 50 ta được kết quả $IC_{50}$ như bảng sau:

***Bảng 9.*** *Kết quả xác định $IC_{50}$ các mẫu theo phương pháp DPPH*

| Mẫu | Phương trình hồi quy | $IC_{50}$ (µg/ml) |
|---|---|---|
| Cao toàn phần | y = 28,360Ln(x) - 126,38 ($R^2$ = 0,9405) | 502,36 |
| Cao diethyl ether | y = 18,089Ln(x) - 64,598 ($R^2$ = 0,9735) | 564,10 |
| Cao ethyl acetat | y = 29,883Ln(x) - 107,88 ($R^2$ = 0,9779) | 197,01 |
| Cao *n*-butanol | y = 20,902Ln(x) - 86,748 ($R^2$ = 0,9611) | 693,91 |
| Cao nước | y = 29,245Ln(x) - 149,44 ($R^2$ = 0,9836) | 915,64 |
| Vitamin C | y = 38,608Ln(x) - 21,733 ($R^2$ = 0,9601) | 6,41 |
| Trolox | y = 27,588Ln(x) - 5,9916 ($R^2$ = 0,9465) | 7,61 |

Dựa vào bảng 9 so sánh $IC_{50}$ của các mẫu cao với vitamin C và trolox cho thấy các mẫu cao thử nghiệm đều có HTCO, tuy nhiên nồng độ mẫu để đánh bắt 50% gốc tự do DPPH vẫn còn cao. Trong các phân đoạn thì mẫu cao ethyl acetat có $IC_{50}$ thấp nhất, tức là có HTCO mạnh hơn so với các mẫu cao khác.

Cao diethyl ether ($IC_{50}$ = 874,62 µg/ml), *n*-butanol ($IC_{50}$ = 945,41 µg/ml) và cao nước ($IC_{50}$ = 1113,33 µg/ml) có giá trị $IC_{50}$ cao, điều này cho thấy hoạt tính quét gốc tự do ở các phân đoạn này yếu.

Sau khi khảo sát các cao phân đoạn bằng phản ứng DPPH, kết quả cho thấy phân đoạn ethyl acetat ($IC_{50}$ = 280,46 µg/ml) là phân đoạn có hoạt tính quét gốc tự do cao nhất.

## KẾT LUẬN

Cao toàn phần và cao phân đoạn từ rễ cây Đảng sâm Việt Nam trồng tại Lâm Đồng có tác dụng chống oxy hóa theo hướng quét gốc tự do trong thử nghiệm DPPH.

## BÀN LUẬN

Đây là lần đầu tiên bài báo cho kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa trên rễ cây Đảng sâm Việt Nam [*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f.] đã chứng minh được một số tài liệu[4,8] đã cho biết Đảng sâm có công dụng gần giống Nhân sâm trong đó có hoạt tính chống oxy hóa mà trước đây thế giới và Việt Nam chưa cho kết quả này.

***Lời cám ơn:*** *Tập thể thực hiện chân thành cám ơn sự tài trợ của Sở KHCN tỉnh Lâm Đồng cho đề tài này.*

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Dược liệu, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh (2010). *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*. tr. 2-5, 26-42, 79-84.
2. Bộ Y Tế (2009). *Dược điển Việt Nam IV*. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 753-754, PL-9,6, PL-9.7, PL-9.8, PL-12.10.
3. Chanda S. and Dave R. (2009), "*In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview", *African Journal of Microbiology Research*; 3 (13):981-996.
4. Đỗ Tất Lợi (2013). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Hồng Đức, Hà Nội, tr. 811-812.
5. Nguyễn Kim Phi Phụng (2007), *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, tr. 28-33, 181-200.
6. Viện dược liệu (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập 1. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật Hà Nội, tr.739-743.
7. Viện Dược liệu (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội, tr.279-293.
8. Võ Văn Chi (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập 1. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 872-873.
9. Wojdylo A., Oszmianski J. and Czemerys R. (2007), "Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs". *Food Chemistry*, 105:940–949.

*Ngày nhận bài báo:* *27/02/2015*
*Ngày phản biện nhận xét bài báo:* *15/05/2015*
*Ngày bài báo được đăng:* *08/09/2015*