

Sàng lọc hoạt tính chống oxy hóa và thành phần hóa học của rễ cây Quăng (*Alangium salviifolium* (L.F.) wangerin alangiaceae)

Đặng Thị Lệ Thủy, Lý Hồng Hương Hạ*, Lý Huyền Châu,
Nguyễn Thị Chi, Dương Thị Lệ, Lê Minh Khoa và Trần Anh Vũ
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Các công trình khoa học trên thế giới về loài *Alangium salviifolium* (L.f) Wang., Alangiaceae cho thấy nhiều tác dụng dược lý đáng quý. Tuy nhiên hiện nay chỉ có vài nghiên cứu về loài cây này tại Việt Nam. Đề tài tiến hành chiết xuất, sàng lọc hoạt tính sinh học rễ cây Quăng (*Alangium salviifolium* (L.f) Wang.) nhằm cung cấp thêm thông tin để có thể ứng dụng loài cây này làm thuốc. **Mục tiêu:** Nghiên cứu thành phần hóa học thực vật và khảo sát hóa học hướng tác dụng chống oxy hóa của rễ cây Quăng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Rễ cây Quăng (*Alangium salviifolium* (L.f) Wang.) thu hái tại Quảng Nam, nghiên cứu phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật bằng phương pháp Ciuley cải tiến. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp ức chế xanthin oxidase. **Kết quả:** Rễ của cây Quăng được xác định có thành phần chính là alkaloid, triterpen, flavonoid, coumarin, đường khử, tinh dầu. Hoạt tính chống oxy hóa trên mô hình ức chế xanthin oxidase (XO) cho thấy cao diclorometan (cao A), cao ethyl acetat (cao B), rửa alkaloid base toàn phần (cao D) có hoạt tính ức chế xanthin oxidase vượt trội. **Kết luận:** Cao B và cao D ở nồng độ 200 µg/ml vẫn có tác dụng ức chế trên 50%, là cơ sở cho việc lựa chọn các cao tiềm năng để phân lập chất có hoạt tính.

Từ khóa: *Alangium salviifolium*, chống oxy hóa, xanthin oxydase, sơ bộ hoá thực vật

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Quăng (*Alangium salviifolium* (L.f.) Wang., Alangiaceae) là cây đặc hữu ở các quốc gia Đông Á, Đông Nam Á ... dùng chữa các bệnh thấp khớp, sốt, bệnh ngoài da, rối loạn tiêu hóa, tiểu đường, cao huyết áp...[1-2]. Nhiều nghiên cứu đã công bố về thành phần hóa học trên các bộ phận dùng của cây Quăng và những nghiên cứu thử tác dụng sinh học cũng cho các kết quả rất ấn tượng về tác dụng chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, ...[3 - 5].

Tuy nhiên, ở Việt Nam chỉ có vài nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học của loài cây này. Nghiên cứu được thực hiện góp phần làm rõ về thành phần hóa học, khả năng chống oxy hóa và tạo tiền đề cho các nghiên cứu sâu đưa cây Quăng thành nguyên liệu làm thuốc.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Rễ của cây Quăng thu hái tháng 9/2017 tại thôn Phú Văn, xã Tam Thành, huyện Phú Ninh, tỉnh Quảng Nam. Dược liệu rễ cây được thu hái, loại

sạch đất cát, phơi khô ở 40°C, xay bột thô.

2.2. Hóa chất và thiết bị

Ethanol, *n*-hexan, cloroform, ethyl acetat, methanol, nước cất, DPPH (Sigma), acid ascorbic (Sigma), H₂SO₄, HCl, FeCl₃ 5%, KOH 1%, NaOH 10%, HCl 10%, anhydrid acetic, Mg, Na₂CO₃, Gelatin muối, thuốc thử Dragendorff, K₂HPO₄, KH₂PO₄, xanthin oxydase (XO), allopurinol, DMSO.

Máy đo pH EcoTestr pH2, pipetman thể tích 1000 và 100 µl, máy đo quang phổ tử ngoại UV-1700 Pharma Spec (Shimazu - Nhật).

2.3. Phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật

Tiến hành các phản ứng định tính đơn giản để sơ bộ xác định sự hiện diện của các nhóm hợp chất có trong mẫu dược liệu ở các phân đoạn có độ phân cực tăng dần bằng phương pháp Ciuley cải tiến[6].

2.4. Chiết xuất

Cân 100 g bột rễ, ngâm kiệt với cồn 96%, loại dung môi, cao ethanol thu được chiết phân bố lỏng - lỏng

Tác giả liên hệ: ThS. Lý Hồng Hương Hạ
Email: hlhh@hiu.vn

với các dung môi có độ phân cực tăng dần bao gồm dịch chiết ether, dịch cồn 96% và nước. Loại dung môi, thu các cao phân đoạn dùng sàng lọc sinh học.

2.5. Sàng lọc sinh học bằng mô hình ức chế XO (xanthin oxydase)

Thử hoạt tính ức chế xanthin oxydase bằng cách cho các cao phân đoạn với nồng độ khác nhau tác dụng với xanthin oxydase (XO) và xanthin trong môi trường đệm phosphat pH = 7.5.

Thử nghiệm tiến hành trên đĩa 96 giếng, đo quang phổ hấp thụ ở bước sóng 290 nm, chứng dương dùng allopurinol.

- **Dung dịch đệm phosphat 70 mM:** Cân chính xác 9.21 g K_2HPO_4 và 2.33 g KH_2PO_4 pha trong bình định mức với nước cất hai lần vừa đủ 1 lít. Kiểm tra độ pH của dung dịch bằng máy đo pH EcoTestr pH2, điều chỉnh pH dung dịch về 7.5 bằng dung dịch HCl 1N hoặc NaOH 1M.

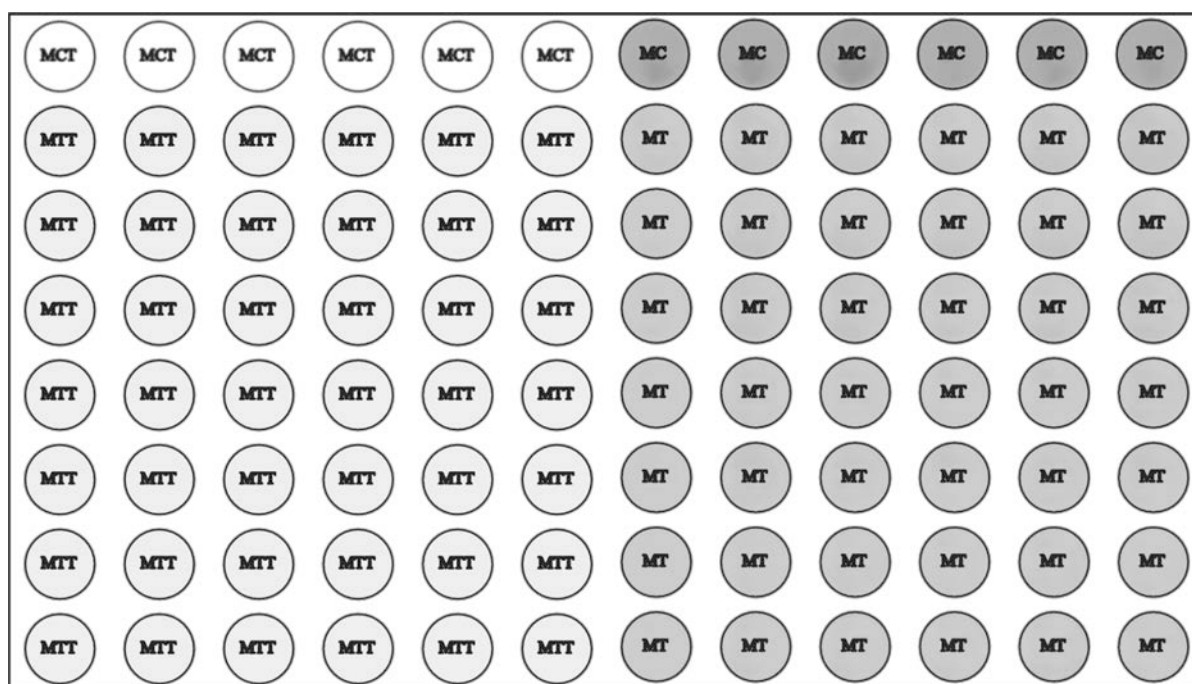
- **Dung dịch XO 0.01 U/mL:** Dùng pipetman thể tích 1000 và 100 μ L lấy chính xác 128.2 μ L XO cho vào bình định mức 10 mL, thêm dung dịch đệm phosphat pH 7.5 vừa đủ 10 mL, lắc đều, chỉ pha ngay trước khi dùng.

- **Dung dịch xanthin 150 μ M:** Cân chính xác 1.9 mg xanthin, pha với đệm phosphat pH 7.5; trợ tan bằng NaOH 1M tỷ lệ 0.1% vừa đủ trong bình định mức 25 mL; lắc đều, pha ngay trước khi sử dụng.

- **Các mẫu thử là các cao phân đoạn** pha với DMSO trong eppendorf để có dung dịch mẹ có nồng độ 1 mg/mL, từ dung dịch mẹ pha giai mẫu có nồng độ giảm dần, kết quả sẽ tính theo nồng độ cuối trong giếng.

- **Chứng dương allopurinol** pha với DMSO trong eppendorf thành các nồng độ khác nhau.

Bố trí mẫu chứng trắng, mẫu chứng, mẫu thử trắng và mẫu thử theo Hình 1.



Hình 1. Bố trí thí nghiệm thử tác dụng ức chế XO trên đĩa 96 giếng

Bảng 1. Thành phần thử tác dụng ức chế XO trong giếng của đĩa 96

	Mẫu chứng (μ L)	Mẫu chứng trắng (μ L)	Mẫu thử (μ L)	Mẫu thử trắng (μ L)
Đệm phosphat (pH = 7.5)	110	140	60	90
Mẫu thử hay allopurinol	-	-	50	50
Xanthin oxydase (XO)	30	-	30	-
Xanthin	60	60	60	60
Thể tích trong giếng	200	200	200	200

Tính toán kết quả:

$$\% \text{ Ức chế XO} = \left(1 - \frac{\text{Abs mẫu thử} - \text{Abs mẫu thử trắng}}{\text{Abs mẫu chứng} - \text{Abs mẫu chứng trắng}} \right) \times 100$$

Đo độ hấp thu ở bước sóng 290 nm.

3. KẾT QUẢ

3.1. Thành phần hóa học

Khảo sát sơ bộ cho thấy rễ Quảng có nhiều alkaloid, triterpen, đường khử, một ít tinh dầu và có thể có flavonoid, coumarin.

Bảng 2. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật bột rễ cây Quảng

Nhóm hợp chất	Dịch chiết ether	Dịch chiết cồn 96%	Dịch chiết nước
Tinh dầu	+	-	-
Alkaloid	-	+++	++
Triterpen	++	++	-
Polyphenol	-	+	+
Flavonoid	+	-	-
Coumarin	-	+	-
Polyuronic	-	-	++
Đường khử	-	+	++

3.2. Chiết xuất cao toàn phần và các cao phân đoạn
100g bột rễ Quảng xay thô ngâm kiệt với cồn 96%, thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được cao cồn 96% (cao TP). Thêm nước tỷ lệ 1:1, tiến hành chiết phân bố lỏng – lỏng với các dung môi có độ phân cực tăng dần: diclorometan, ethyl acetat, loại dung môi, thu được các cao như sau: cao diclorometan (cao A), cao ethyl acetat (cao B), cao nước (cao C).

Cao C thêm dung dịch acid H₂SO₄ 2%/nước đến pH

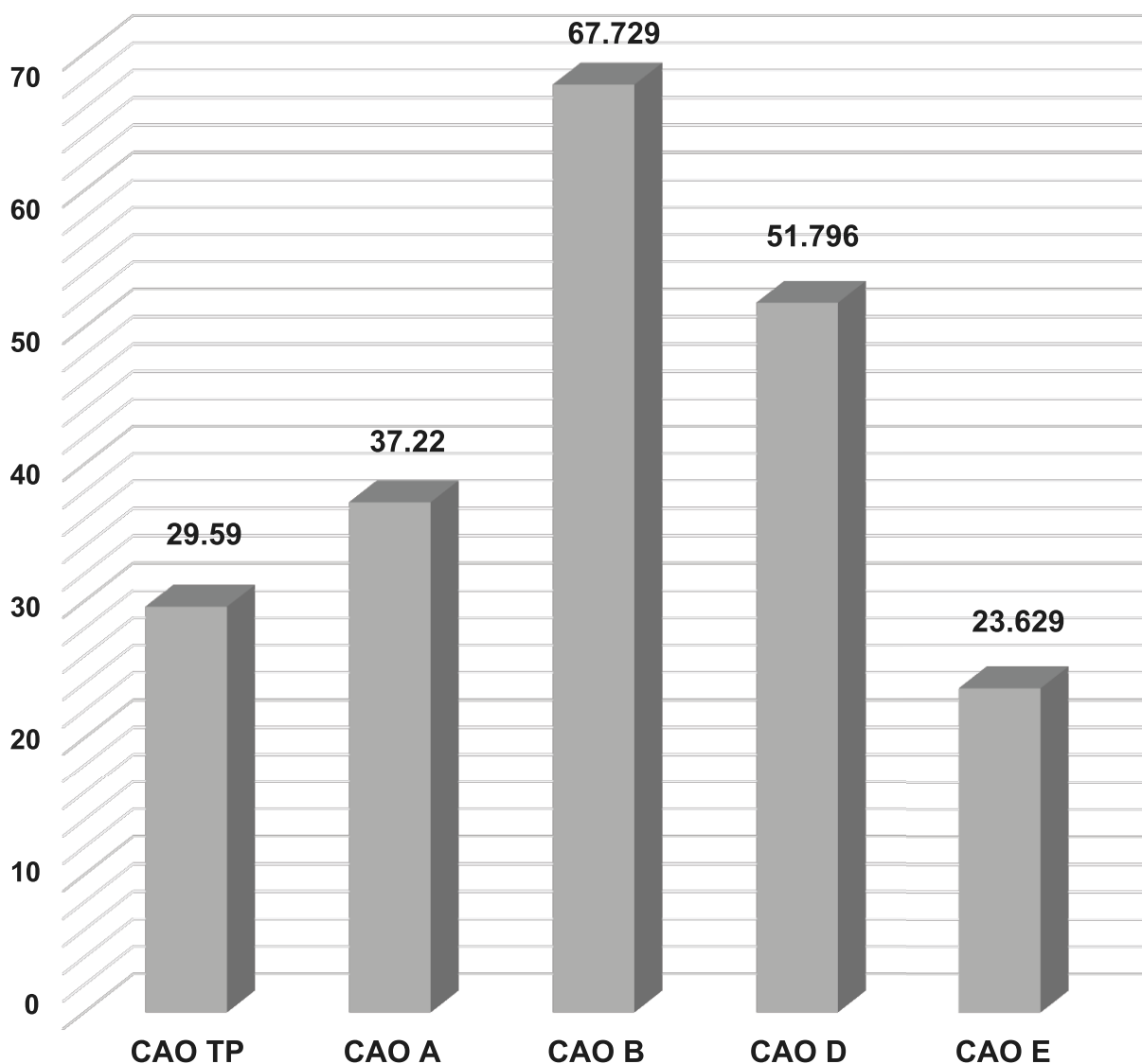
= 3, lọc lấy phần kết tủa (tủa này không còn tủa với thuốc thử Dragendorff và Valse-Mayer) kiểm hóa dịch nước acid bằng dung dịch NH₄OH đến pH = 9, thu được tủa alkaloid base toàn phần (cao D), phần dịch kiềm còn lại acid hóa bằng dung dịch acid H₂SO₄ 2% đến pH = 7, loại dung môi thu được cao E.

3.3. Hoạt tính ức chế xanthin oxydase

Kết quả thử tác dụng ức chế XO các cao TP, A, B, D, E trình bày ở Bảng 4.

Bảng 3. Kết quả % ức chế XO cao TP, A, B, D, E

Nồng độ/giếng (µg/mL)	TP	A	B	D	E
1000	41,845	84,585	99,482	OVER	62,263
500	37,185	46,925	84,223	100,779	36,690
250	35,555	38,259	68,327	62,527	26,720
200	29,590	37,221	67,729	51,796	23,629
100	26,002	35,543	47.61	38,728	22,981
50	13,141	24,585	38,446	28,516	23,629



Hình 2. Biểu đồ so sánh tác dụng ức chế xanthin oxydase của cao TP, cao A, cao B, cao D, cao E ở nồng độ 200 µg/mL.

Từ biểu đồ Hình 2 cho thấy cao A, cao B, Cao D có hoạt tính ức chế XO mạnh hơn cao TP và cao E. Cao B và cao D ở nồng độ 200 µg/mL vẫn có tác dụng ức chế trên 50%. IC₅₀ của từng cao phân đoạn là cao TP (1,370.5 µg/mL), cao A (427.83 µg/mL), cao B (47.5 µg/mL), cao D (178.25 µg/mL), cao E (807.75 µg/mL).

4. BÀN LUẬN

Các bộ phận như rễ, thân, lá, hoa, quả của *Alangium salviifolium* (L.f.) Wang đã được nghiên cứu cho thấy có chứa các nhóm hợp chất chính là alkaloid, terpenoid, flavonoid với nhiều tác dụng dược lý quan trọng đã được báo cáo như: chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, hạ đường huyết, tính độc tế bào mạnh,...[2, 5, 7]. Thực trạng trong nước, cây Quảng mọc hoang đã bị

chặt bỏ rất nhiều, có nguy cơ biến mất. Nghiên cứu được thực hiện với mong muốn đưa được các bằng chứng khoa học chứng minh tác dụng của rễ Quảng, góp phần phục hồi một cây thuốc giá trị có nguy cơ biến mất.

Bên cạnh đó, nghiên cứu cho thấy cao A, cao B, Cao D có hoạt tính chống oxy hóa vượt trội trên mô hình ức chế XO nên có thể xem là các cao tiềm năng được lựa chọn để tiếp tục khảo sát và phân lập.

5. KẾT LUẬN

Rễ cây Quảng thu hái tại Quảng Nam cho thấy thành phần chính là alkaloid, terpenoid và flavonoid. Cao chiết toàn phần và các cao chiết phân đoạn từ rễ cây Quảng có hoạt tính chống oxy

hóa theo cơ chế ức chế xanthin oxydase, trong đó các cao A, cao B, Cao D có hoạt tính ức chế XO đáng kể, trong đó cao B cho hoạt tính mạnh nhất (67.729%) Kết quả đã cung cấp dữ liệu về hoạt tính chống oxy hóa của Rễ cây Quảng, góp phần

quan trọng trong việc nâng cao giá trị sử dụng, phục hồi loài cây này để có thêm một nguyên liệu có giá trị và phát triển nghiên cứu thành phần hóa học của Rễ cây Quảng theo định hướng tác dụng sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. Suresh, V. B. Nair, and S. Christudas, "Pharmacological and phytochemical studies of *Alangium salvifolium* Wang. – A review", *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55(2), p. 217-222, 2017.
- [2] T. B. Singh and V. Rekha, "Biological evaluation of *Alangium salviifolium* (L.F.) Wangerin", *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(12), p. 611-618, 2014.
- [3] K. D. Hepcy, A. Dinakar, and N. Senthilkumar, "Antidiabetic, Analgesic and Anti-Inflammatory activity of Aqueous extracts of Stem and Leaves of *Alangium salvifolium* and *Pavonia zeylanica*", *International Journal of Drug Development & Research*, 4(4), p. 298-306, 2012.
- [4] N. Laizuman, Z. Ronok, M. Ashik, I. Saiful, H. Anamul, F. Abul, and J. Mele, "Antioxidant and antitumor activity of chloroform extract of *Alangium salviifolium* flowers", *Phytopharmacology* 2(1), p. 123-134, 2012.
- [5] P. Keyur, P. K. Singh, R. Pooja,..., P. Kanti, R. K. Ravikumar, and K. Vipin, "Importance of *Alangium salviifolium* and Its Pharmacological Update", *European Journal of Medicinal Plants* 12(4), p. 1-15, 2016.
- [6] Viện dược liệu, *Cây thuốc và động vật làm thuốc Việt Nam tập 1*. Hà Nội, Nxb Khoa học và kỹ thuật, p.179, 2016.
- [7] H. Munuswamy, T. Thirunavukkarasu, S. Rajamani, E. Kuppan, and D. Ernest, "A review on antimicrobial efficacy of some traditional medicinal plants in Tamilnadu", *Journal of Acute Disease*, p. 99-105, 2013.

Screening of antioxidant activity and phytochemical screening of roots of *Alangium salviifolium* (L.F.) Wangerin alangiaceae

Dang Thi Le Thuy, Ly Hong Huong Ha,
Ly Huyen Chau, Nguyen Thi Chi, Duong Thi Le,
Le Minh Khoa and Tran Anh Vu

ABSTRACT

Background: Leaves and bark of Alangium salviifolium (L.f.) have astringent effects, used to treat rheumatism, leprosy, syphilis and asthma, jaundice, stomach pain. In addition, the stem of Alangium salviifolium has the potential to scavenge free radicals. However, there are not many research papers on the chemical composition and antioxidant effects of this species in Vietnam. Objectives: The phytochemical composition and antioxidant activity on the rhizomes of this plant. Materials and method: Alangium salviifolium was collected in Phu Ninh, Quang Nam, studied and analyzed preliminary phytochemical composition by improved Ciuley method. Investigation of antioxidant activity by xanthine oxidase method. Results: The roots of Alangium salviifolium were identified with the main components being alkaloids, triterpenes, flavonoids, and coumarins. The antioxidant activity on high B and high D xanthine oxidase inhibitor models at a concentration of 200 µg/ml still had an

inhibitory effect of over 50%. Conclusion: The above results are the basis for in-depth studies on other pharmacological effects and the isolation of active ingredients of the Alangium salviifolium.

Keywords: *Alangium salviifolium, antioxidant, xanthin oxidase, preliminary phytochemical composition*

Received: 25/07/2022

Revised: 06/09/2022

Accepted for publication: 16/10/2022