

Chiết xuất và tối ưu hóa hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết lá Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) với sự hỗ trợ của vi sóng

Đặng Thị Lệ Thủy¹, Lê Thị Tường Vi², Lý Hồng Hương Hạ¹ và Phạm Cảnh Em^{1*}
¹Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, ²Bệnh viện Nhi đồng thành phố

TÓM TẮT

Polyscias fruticosa (L.) Harms thuộc họ Araliaceae và được sử dụng làm dược liệu với hoạt tính dược lý đa dạng như chống trầm cảm, chống căng thẳng, cải thiện trí nhớ, chống oxy hóa, hạ đường huyết, bảo vệ gan, hạ lipid máu, kháng nấm và kháng khuẩn. Ngoài ra, lá *Polyscias fruticosa* còn chứa nhiều các hoạt chất như phenolic, flavonoid, diệp lục,... có hoạt tính chống oxy hóa tốt. Nghiên cứu này khảo sát hàm lượng phenolic tổng (TPC), hàm lượng flavonoid tổng (TFC) và hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của cao chiết từ lá Đinh lăng bằng phương pháp hỗ trợ vi sóng. Kết quả cho thấy quá trình chiết sử dụng dung môi ethanol 90%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1:20 (wt/v), công suất vi sóng 200 W, thời gian chiết 15 phút bằng phương pháp hỗ trợ vi sóng đã cải thiện đáng kể hiệu suất chiết (33.50%), TPC (60.91 mg GAE/100 mg), TFC (62.88 mg QE/g) và hoạt tính chống oxy hóa ($IC_{50\text{ DPPH}} = 20.38 \mu\text{g/mL}$ và $IC_{50\text{ ABTS}} = 12.60 \mu\text{g/mL}$) so với phương pháp thông thường. Do đó, cao chiết tối ưu này thể hiện dược tính tiềm năng để phát triển dược liệu có hoạt tính chống oxy hóa trong tương lai.

Từ khóa: *Polyscias fruticosa*, hàm lượng phenolic, hàm lượng flavonoid, chống oxy hóa, vi sóng

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đinh lăng là cây thuộc loài *Polyscias fruticosa*, họ Araliaceae cùng họ với Nhân sâm. Đa số các loài thuộc chi *Polyscias* được làm cây cảnh, chỉ có một số loài được nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học để sử dụng làm thuốc, trong đó loài Đinh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) được sử dụng phổ biến nhất.

Đinh lăng được nghiên cứu bắt đầu từ những năm 60, là một cây thuốc quý được đưa vào Dược điển Việt Nam như một vị thuốc bổ khí, lợi sữa, tăng lực và chống stress hay còn gọi là “*Nhâm sâm của người nghèo*” [1]. Nhiều nghiên cứu cho thấy loài *Polyscias fruticosa* chứa thành phần saponin, polyacetylen, tinh dầu, flavonoid và phenolic với hoạt tính sinh học đa dạng như chống trầm cảm, giảm stress, cải thiện trí nhớ, chống oxy hóa, hạ đường huyết, bảo vệ gan, kháng nấm và kháng khuẩn [2 - 3]. Bên cạnh đó, Đinh lăng lá nhỏ là loại cây dễ trồng, rẻ tiền do phù hợp với điều kiện môi trường ở Việt Nam. Vì thế, Đinh lăng lá nhỏ được quy hoạch trồng nhiều nơi trong cả nước với hy vọng tìm ra những công dụng thay thế cho Nhân sâm khá đắt tiền và ngày càng quý hiếm.

Trong những năm gần đây, nhiều sản phẩm của *Polyscias fruticosa* đã được phát triển và được coi như một liệu pháp điều trị thay thế thuốc. Tính ổn định của các hoạt chất của *Polyscias fruticosa* trong quá trình chiết xuất và bảo quản là một thách thức lớn. Nhiệt độ và thời gian chiết xuất có ảnh hưởng lớn đến sự ổn định của các hoạt chất trong cao chiết *Polyscias fruticosa*. Hàm lượng flavonoid, saponin và dẫn chất phenolic giảm đáng kể khi nhiệt độ tăng [4]. Ngoài ra, phương pháp chiết xuất hiện đại với hỗ trợ vi sóng ngày càng phát triển với ưu điểm là hàm lượng hoạt chất và hiệu suất chiết vượt trội hơn phương pháp thông thường. Tuy nhiên, ứng dụng phương pháp chiết xuất hỗ trợ vi sóng cũng như tối ưu hóa điều kiện chiết xuất ở lá Đinh lăng còn rất hạn chế. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu là chiết xuất hiện đại với sự hỗ trợ vi sóng và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết lá của Đinh lăng lá nhỏ với hy vọng góp phần tăng minh chứng khoa học về hoạt tính chống oxy hóa của lá Đinh lăng ở Việt Nam. Ngoài ra, điều kiện chiết tốt nhất của nghiên cứu có thể là cơ sở khoa học tiềm năng để ứng dụng

Tác giả liên hệ: ThS. Phạm Cảnh Em
 Email: empc@hiu.vn

chiết xuất hiện đại ở quy mô công nghiệp cũng như tạo tiền đề phát triển thực phẩm chức năng từ lá Đinh lăng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng của nghiên cứu là cao chiết lá của Đinh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) ở Việt Nam. Lá Đinh lăng được thu hái vào ngày 10/5/2023 tại vườn dược liệu ở Bến Tre, Việt Nam. Mẫu lá được loại bỏ phần sâu và hư, sau đó rửa sạch bằng nước cất, để ráo nước và thái nhỏ. Cuối cùng, mẫu được phơi khô ở nhiệt độ phòng và nghiền thành bột mịn (khoảng 0.2 mm) để điều chế cao chiết sử dụng cho khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính sinh học.

2.2. Hóa chất

Các hóa chất sử dụng có nguồn gốc từ Merck (Đức) đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.3. Trang thiết bị

Các thiết bị chính được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: bếp cách thủy Memmert (Đức), tủ sấy Memmert (Đức), máy nghiền mẫu (FM-681 C, Hanil, Incheon, Hàn Quốc), máy vi sóng CEM Discover (công suất tối đa: 300 W và tần số (magnetron frequency): 2450 MHz, Mỹ), máy lắc quỹ đạo PSU-10i (Anh), máy quang phổ Shimadzu UV-1800 (Nhật) và máy cô quay chân không Rotavapor® (Buchi Essen, Đức).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Chiết cao bằng phương pháp thông thường

Mẫu bột khô của lá Đinh lăng được chiết bằng dung môi (ethanol, methanol và aceton), nồng độ (100%, 90% và 70%) và tỷ lệ bột: dung môi (1:20, 1:10 và 1:5 wt/v - khối lượng mẫu gram/thể tích dung môi mL) khác nhau ở nhiệt độ phòng bằng máy lắc quỹ đạo (220 vòng/phút) trong 24 giờ.

2.4.2. Chiết cao bằng phương pháp hỗ trợ của vi sóng

Mẫu bột khô của lá Đinh lăng được chiết bằng dung môi (ethanol, methanol và aceton), nồng độ (100%, 90% và 70%), tỷ lệ bột: dung môi (1:20, 1:10 và 1:5 wt/v), thời gian (10, 15 và 20 phút) và công suất (100, 200 và 300 W) khác nhau với sự hỗ trợ của vi sóng bằng máy CEM Discover (cài đặt tốc độ khuấy cao, nhiệt độ kiểm soát 50°C và công suất cố định – Fixed power).

2.4.3. Xử lý hỗn hợp sau chiết

Dịch chiết được lọc qua giấy lọc Whatman® No.1 (Anh) và cô đuổi dung môi trong điều kiện áp suất giảm ở 40°C đến khô bằng máy cô quay chân không Buchi. Mẫu được lưu ở nhiệt độ 2-8°C cho các thí nghiệm tiếp theo và hạn chế tiếp xúc với ánh sáng, nhiệt và không khí.

2.4.4. Hiệu suất chiết

Hiệu suất chiết được tính bằng công thức sau:

$$\text{Hiệu suất chiết (\%)} = \frac{\text{Khối lượng cao chiết khô (g)} \times 100}{\text{Khối lượng mẫu (g)}}$$

2.4.5. Thử nghiệm hóa thực vật

Cao chiết khô của lá Đinh lăng được thử nghiệm để định tính các hợp chất phenolic, alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, glycosid tim, coumarin, anthraquinon và triterpenoid theo phương pháp Ciuley cải tiến [5]. Các thử nghiệm này dựa trên quan sát trực quan về sự thay đổi màu sắc hoặc hình thành kết tủa sau khi thêm thuốc thử cụ thể.

2.4.6. Hàm lượng phenolic tổng (TPC)

TPC của cao chiết lá Đinh lăng được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu với acid gallic làm phenol chuẩn [6]. Hỗn hợp phản ứng gồm 250 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu (tỷ lệ 1:4), 250 µL nước cất và 250 µL dịch chiết (1000 µg/mL) lắc đều các ống nghiệm. Sau đó, thêm vào 250 µL dung dịch Na₂CO₃ 10% trộn đều các hỗn hợp và đem ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Hàm lượng phenolic tổng trong cao chiết Đinh lăng được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic. Kết quả được trình bày dưới dạng đương lượng mg acid gallic (GAE) trên 100 mg chất khô (mg GAE/100 mg). TPC được tính bằng công thức như sau: $C = C_1 \times V/m$, trong đó C = hàm lượng phenolic tổng (mg GAE (đương lượng acid gallic)/g), C₁ = nồng độ acid gallic (mg/mL) được tính bằng phương trình đường chuẩn $y = 0.0365 + 0.1083 (R^2 = 0.9902)$, V = thể tích cao chiết (mL) và m = khối lượng cao chiết (g). Các thử nghiệm xác định TPC được thực hiện lặp lại 3 lần.

2.4.7. Hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định bằng phương pháp đo quang AlCl₃ với chất chuẩn quercetin [2]. Hỗn hợp phản ứng gồm 40 µL dung

dịch NaNO₂ 5% trong 200 μL nước cất và 200 μL cao chiết (nồng độ 500 μg/mL) và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó, thêm 40 μL dung dịch AlCl₃ 10% trộn đều thuốc thử và để yên trong 6 phút. Thêm 400 μL dung dịch NaOH 1M và nước cất vừa đủ 1 mL. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 510 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Nồng độ flavonoid của cao chiết được tính toán bằng phương trình đường chuẩn quercetin ($y = 0.0041 + 0.0063x$, $R^2 = 0.9913$) và TFC được biểu thị bằng đương lượng quercetin trên mỗi gam khối lượng khô (mg QE/g).

2.4.8. Hoạt tính chống oxy hóa DPPH

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) là chất tạo ra gốc tự do được dùng để thực hiện sàng lọc tác dụng chống oxy hóa của các chất nghiên cứu. Hoạt tính chống oxy hóa thể hiện qua việc làm giảm màu của DPPH và được xác định bằng phương pháp đo quang ở bước sóng = 517 nm [2]. Hỗn hợp phản ứng gồm 100 μL dung dịch DPPH pha loãng trong methanol ở nồng độ 1 mM và 100 μL dung dịch theo các nồng độ của cao chiết. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút ở điều kiện tối. Độ hấp thụ của DPPH chưa phản ứng được xác định bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 517 nm. Các thử nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần. Đường chuẩn biểu thị mối tương quan giữa nồng độ DPPH và mật độ quang là: $y = 0.3225x + 0.0241$, $R^2 = 0.9938$. Acid ascorbic (vitamin C) được sử dụng làm chất chuẩn và cũng được tiến hành tương tự mẫu dịch chiết. Phần trăm ức chế các gốc tự do DPPH được tính theo công thức:

$$I (\%) = (OD_{\text{trắng}} - OD_{\text{thử}}) / OD_{\text{thử}} \times 100$$

Trong đó: I: phần trăm gốc tự do DPPH bị ức chế (%), OD: mật độ quang/ độ hấp thụ.

Khả năng chống oxy hóa được thể hiện qua giá trị IC₅₀ (μg/mL, nồng độ ức chế 50% gốc tự do).

2.4.9. Hoạt tính chống oxy hóa ABTS

ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) acid) là chất tạo ra gốc tự do. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết lá Đinh lăng cũng được xác định theo phương pháp ABTS [2]. Dung dịch ABTS⁺ được chuẩn bị gồm ABTS 7 mM và K₂S₂O₈ 2.45 mM, trộn đều hai dung dịch (tỉ lệ 1:1) và ủ tối trong 16 giờ. Sau đó, dung dịch được pha loãng bằng methanol để độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 734 nm có giá trị 0.70 ± 0.02. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho 10 μL cao chiết vào 990 μL dung dịch ABTS⁺ và ủ 6 phút trong tối ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ được xác định ở bước sóng 734 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Phần trăm ức chế các gốc tự do ABTS được tính theo công thức:

$$I (\%) = (OD_{\text{trắng}} - OD_{\text{thử}}) / OD_{\text{thử}} \times 100$$

Trong đó: I: phần trăm gốc tự do ABTS bị ức chế (%), OD: mật độ quang/ độ hấp thụ.

Khả năng chống oxy hóa được thể hiện qua giá trị IC₅₀ (μg/mL, nồng độ ức chế 50% gốc tự do).

2.4.10. Phân tích thống kê

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (SD). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0.05$) được đánh giá thông qua phân tích phương sai một chiều (One-way ANOVA) bằng phần mềm SPSS 26.

3. KẾT QUẢ

3.1. Định tính nhóm hợp chất trong các cao chiết

Thành phần các nhóm hợp chất hiện diện trong các cao chiết lá Đinh lăng bằng phương pháp thông thường (C, conventional method) và hỗ trợ của vi sóng (M, microwave-assisted method) được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa thực vật của cao chiết lá Đinh lăng

STT	Nhóm hợp chất	M	C
1	Dẫn chất phenolic	+++	++
2	Alkaloid	++	+
3	Flavonoid	+++	++
4	Saponin	+++	+++
5	Tannin	-	-
6	Glycosid tim	-	-
7	Coumarin	+	+
8	Anthraquinon	+	-
9	Triterpenoid	+	±

(-): không có, (±): không rõ, (+): có ít, (++) : có, (+++) : có nhiều, (++++): có rất nhiều

3.2. Hiệu suất chiết

Kết quả hiệu suất chiết của cao lá Đinh lăng (%) ở các

điều kiện trích ly khác nhau bằng phương pháp hỗ trợ của vi sóng và thông thường được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Hiệu suất chiết của cao chiết lá Đinh lăng (%)

Thông số		M	C
Dung môi	Ethanol	19.24 ± 0.41	18.92 ± 0.52
	Methanol	19.01 ± 0.36	18.31 ± 0.29
	Aceton	11.93 ± 0.30	10.76 ± 0.34
Nồng độ	EtOH 100%	19.24 ± 0.41	18.92 ± 0.52
	EtOH 90%	22.78 ± 0.60	21.17 ± 0.35
	EtOH 70%	22.02 ± 0.53	24.25 ± 0.27
Tỷ lệ	1:20	22.78 ± 0.60	21.17 ± 0.35
	1:10	17.45 ± 0.38	17.08 ± 0.24
	1:5	12.16 ± 0.29	11.55 ± 0.33
Thời gian	10 phút	22.78 ± 0.60	
	15 phút	27.65 ± 0.43	
	20 phút	26.48 ± 0.54	
Công suất	100 W	27.65 ± 0.43	
	200 W	33.50 ± 0.39*	
	300 W	32.26 ± 0.45	

Tỷ lệ (mẫu: dung môi ethanol, wt/v), nồng độ % được tính theo v/v, C (conventional method): phương pháp thông thường, M (microwave-assisted method): phương pháp hỗ trợ của vi sóng, * sự khác biệt đáng kể ($p < 0.05$)

3.3. Hàm lượng phenolic tổng (TPC) và hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Hàm lượng TPC và TFC của cao chiết lá Đinh lăng ở

các điều kiện chiết xuất khác nhau sử dụng phương pháp hỗ trợ của vi sóng và thông thường được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng TPC (mg GAE/100 mg) và TFC (mg QE/g) của cao chiết lá Đinh lăng

Thông số		M		C	
		TPC	TFC	TPC	TFC
Dung môi	Ethanol	36.18 ± 0.33*#	28.57 ± 0.26*#	22.37 ± 0.20	18.11 ± 0.19
	Methanol	29.38 ± 0.22	12.52 ± 0.25	20.34 ± 0.26	10.61 ± 0.28
	Aceton	24.19 ± 0.30	8.89 ± 0.19	15.98 ± 0.31	6.83 ± 0.25
Nồng độ	EtOH 100%	36.18 ± 0.33	28.57 ± 0.26	22.37 ± 0.20	18.11 ± 0.19
	EtOH 90%	43.08 ± 0.27*#	34.53 ± 0.30*#	25.72 ± 0.33	19.35 ± 0.23
	EtOH 70%	20.84 ± 0.18	9.61 ± 0.25	12.09 ± 0.21	5.54 ± 0.17
Tỷ lệ	1:20	43.08 ± 0.27*#	34.53 ± 0.30*#	25.72 ± 0.33	19.35 ± 0.23
	1:10	17.36 ± 0.24	13.41 ± 0.28	13.28 ± 0.19	8.67 ± 0.21
	1:5	12.78 ± 0.18	10.72 ± 0.21	10.03 ± 0.23	5.84 ± 0.18
Thời gian	10 phút	43.08 ± 0.27	34.53 ± 0.30		
	15 phút	48.55 ± 0.41*	45.60 ± 0.35*		
	20 phút	38.63 ± 0.23	23.90 ± 0.34		
Công suất	100 W	48.55 ± 0.41	45.60 ± 0.35		
	200 W	60.91 ± 0.37*	62.88 ± 0.32*		
	300 W	53.27 ± 0.26	49.01 ± 0.34		

TPC: hàm lượng phenolic tổng, TFC: hàm lượng flavonoid tổng, Tỷ lệ (mẫu: dung môi ethanol, wt/v), EtOH: ethanol, nồng độ % được tính theo v/v, C (conventional method): phương pháp thông thường, M (microwave-assisted method): phương pháp hỗ trợ của vi sóng, * sự khác biệt đáng kể của TPC và TFC ở cùng một thông số khảo sát ($p < 0.05$), # sự khác biệt đáng kể giữa phương pháp hỗ trợ của vi sóng và thông thường ở kết quả TPC và TFC tốt nhất ($p < 0.05$).

3.4. Hoạt tính chống oxy hóa in vitro

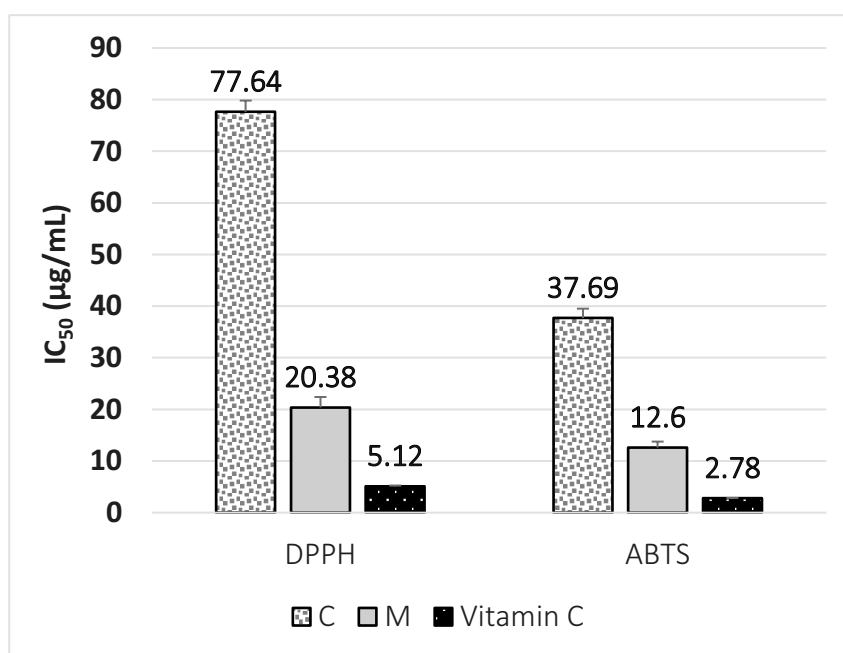
Nghiên cứu thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa được thực hiện trên hai hệ DPPH và ABTS với thuốc đối chứng dương là vitamin C. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa

trên hệ DPPH và ABTS của cao chiết lá Đinh lăng được trình bày ở Bảng 4. Kết quả so sánh hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết lá Đinh lăng ở phương pháp M và C với thuốc đối chiếu vitamin C được thể hiện ở Hình 1.

Bảng 4. Hoạt tính chống oxy hóa DPPH và ABTS (IC₅₀, µg/mL) của cao chiết lá Đinh lăng

Thông số		M		C	
		DPPH	ABTS	DPPH	ABTS
Dung môi	Ethanol	54.74 ± 2.16*#	25.54 ± 1.35*#	88.45 ± 3.35	40.29 ± 1.83
	Methanol	66.41 ± 1.89	59.28 ± 2.73	95.37 ± 3.04	64.77 ± 2.27
	Aceton	80.87 ± 2.82	81.08 ± 2.40	119.93 ± 4.11	101.84 ± 3.06
Nồng độ	EtOH 100%	54.74 ± 2.16	25.54 ± 1.35	88.45 ± 3.35	40.29 ± 1.83
	EtOH 90%	45.97 ± 2.45*#	21.13 ± 2.01*#	77.64 ± 2.18	37.69 ± 1.82
	EtOH 70%	95.03 ± 3.28	75.93 ± 3.48	163.81 ± 3.50	131.71 ± 4.03
Tỷ lệ	1:20	45.97 ± 2.45*	21.13 ± 2.01*	77.64 ± 2.18	37.69 ± 1.82
	1:10	108.06 ± 2.96	53.41 ± 1.97	139.13 ± 3.81	83.16 ± 2.30
	1:5	145.96 ± 4.03	69.07 ± 2.64	187.45 ± 3.39	122.95 ± 3.78
Thời gian	10 phút	45.97 ± 2.45*	21.13 ± 2.01*		
	15 phút	30.21 ± 1.70	21.02 ± 1.27		
	20 phút	52.27 ± 2.69	35.53 ± 1.60		
Công suất	100 W	30.21 ± 1.70	21.02 ± 1.27		
	200 W	20.38 ± 2.02*	12.60 ± 1.16*		
	300 W	26.23 ± 2.14	18.89 ± 1.43		
	Vitamin C	5.12 ± 0.13	2.78 ± 0.07		

Tỷ lệ (mẫu: dung môi ethanol, wt/v), EtOH: ethanol, nồng độ % được tính theo v/v, C (conventional method): phương pháp thông thường, M (microwave-assisted method): phương pháp hỗ trợ của vi sóng, * sự khác biệt đáng kể của DPPH và ABTS ở cùng một thông số khảo sát (p < 0.05), # sự khác biệt đáng kể giữa phương pháp hỗ trợ của vi sóng và thông thường của kết quả DPPH và ABTS tốt nhất (p < 0.05).



Hình 1. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết lá Đinh lăng và vitamin C (C - phương pháp thông thường, M - phương pháp hỗ trợ của vi sóng)

4. BÀN LUẬN

Thời gian chiết của phương pháp thông thường (C, 24 giờ, nhiệt độ phòng) dài hơn đáng kể (gấp 72-144 lần) so với phương pháp chiết với hỗ trợ vi sóng (M, 10-20 phút). Thiết bị CEM Discover của phương pháp hỗ trợ của vi sóng cho thấy sự hiện đại hơn khi các thông số như tốc độ khuấy, nhiệt độ và công suất được kiểm soát chính xác và tự động. Thành phần hóa thực vật của cao chiết lá Đinh lăng ở phương pháp M và C thể hiện sự giống nhau ở các đặc điểm gồm: có nhiều saponin, có coumarin, không có tannin và glycosid tim. Tuy nhiên, phương pháp M cho cao chiết tốt hơn khi có sự hiện diện nhiều hơn của triterpenoid (có), alkaloid (có), dẫn chất phenolic (có nhiều) và flavonoid (có nhiều). Ngoài ra, hợp chất anthraquinon có ít trong cao chiết ở phương pháp M, trong khi không hiện diện trong cao chiết ở phương pháp C. Bên cạnh đó, dẫn chất phenolic và flavonoid là các hợp chất chính trong cao chiết lá Đinh lăng. Đây cũng là các hợp chất quyết định hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết dược liệu.

Hiệu suất chiết của cao lá Đinh lăng từ phương pháp M thể hiện giá trị cao hơn (khoảng 1-2%) so với phương pháp C ở các thông số dung môi chiết, nồng độ dung môi và tỷ lệ mẫu: dung môi (wt/v). Ở phương pháp C, hiệu suất chiết dao động trong khoảng 10.76-24.25%, trong khi hiệu suất chiết dao động trong khoảng 11.93-33.50% ở phương pháp M. Thời gian ngắn và hiệu suất chiết cao là lợi thế lớn và quan trọng của phương pháp M so với phương pháp C. Mặc khác, dung môi EtOH ở nồng độ phần trăm thấp hơn đã thể hiện hiệu suất chiết tốt hơn. Điều này có thể là do sự hiện diện càng nhiều nước trong dung môi chiết sẽ tăng cường sự chiết các thành phần phân cực thân nước. Hiệu suất chiết tốt nhất là $33.50 \pm 0.39\%$ ở phương pháp M khi sử dụng dung môi EtOH 90%, tỷ lệ mẫu: dung môi (wt/v) 1:20, thời gian 15 phút, công suất 200 W và tốc độ khuấy cao.

Trong tự nhiên, nhiều hợp chất phenolic được chiết xuất từ lá, thân hoặc các bộ phận khác của cây đóng vai trò là các chất chống oxy hóa tiềm năng. Các hợp chất phenolic hoạt động như một chất khử cung cấp hydro và làm ngừng hoạt động của gốc tự do. Ngoài ra, hợp chất flavonoid là một nhóm các hợp chất hiện diện trong dược liệu có hoạt tính chống oxy hóa thông qua quá trình làm sạch hoặc khử gốc tự do [7]. Hợp chất phenolic và flavonoid có thể tăng cường hoạt động và biểu

hiện của các gen quy định các enzym chống oxy hóa như glutathion peroxidase, catalase và superoxid dismutase với khả năng phân hủy hydroperoxid, hydrogen peroxid và anion superoxid cũng như ức chế sự biểu hiện của gen quy định enzym xanthin oxidase. Ưu điểm của những hợp chất này là không độc hại với cơ thể con người và môi trường [7]. Do đó, hàm lượng phenolic tổng và flavonoid tổng là hai chỉ tiêu quan trọng nhằm đánh giá khả năng chống oxy hóa từ cao chiết dược liệu. Tương tự như kết quả hiệu suất chiết, hàm lượng TPC và TFC của phương pháp M cao hơn đáng kể phương pháp C khoảng 1.18-1.84 lần ($p < 0.05$) ở các thông số khảo sát như loại dung môi, nồng độ và tỷ lệ mẫu: dung môi (wt/v). Dung môi ethanol (EtOH) thể hiện ưu thế chiết TPC cao hơn gấp 1.10-1.50 lần và TFC cao hơn gấp 1.71-3.21 lần so với dung môi methanol và aceton ở cả hai phương pháp M và C. Mặt khác, nồng độ dung môi EtOH 90% và tỷ lệ mẫu: dung môi 1:20 (wt/v) thể hiện hàm lượng TPC (43.08 mg GAE/100 mg) và TFC (34.53 mg QE/g) cao nhất khi so sánh với các điều kiện nồng độ và tỷ lệ khác. Dung môi EtOH 90% thể hiện hàm lượng TPC và TFC cao hơn EtOH 100% và 70% lần lượt là 1.15-2.13 lần và 1.07-3.59 lần. Trong khi đó, tỷ lệ mẫu: dung môi 1:20 (wt/v) thể hiện hàm lượng TPC và TFC cao hơn hai tỷ lệ dung môi còn lại lần lượt là 1.94-3.37 lần và 2.23-3.31 lần. Do đó, dung môi EtOH 90% với tỷ lệ 1:20 (wt/v) là các thông số tối ưu được chọn cho khảo sát thời gian và công suất trong phương pháp M. Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian 15 phút và công suất 200 W cho cao chiết lá Đinh lăng có hàm lượng TPC và TFC cao nhất với giá trị lần lượt là 60.91 mg GAE/100 mg và 62.88 mg QE/g. Ngoài ra, sự tăng thời gian và công suất trong phương pháp M có xu hướng làm giảm hàm lượng TPC và TFC. Điều này có thể là do sự phân hủy các hợp chất phenolic và flavonoid dưới ảnh hưởng công suất cao trong thời gian dài hơn.

Khả năng chống oxy hóa *in vitro* của cao chiết lá Đinh lăng được khảo sát thông qua phương pháp DPPH và ABTS. Đối với cả phương pháp thông thường và vi sóng microwave power g, cao chiết lá Đinh lăng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt trên cả hệ DPPH ($IC_{50} = 20.38-187.45 \mu\text{g/mL}$) và ABTS ($IC_{50} = 12.60-131.71 \mu\text{g/mL}$). Tùy theo phương pháp chiết xuất và điều kiện chiết xuất mà cao chiết chứa hàm lượng các hoạt chất và thể

hiện hoạt tính chống oxy hóa khác nhau. Cao chiết sử dụng dung môi EtOH thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao hơn methanol và acetone. Ngoài ra, dung môi EtOH 90% với tỷ lệ 1:20 (wt/v) thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn so với các nồng độ và tỷ lệ dung môi EtOH khác với giá trị IC_{50} trên hệ DPPH và ABTS nhỏ hơn đáng kể ($p < 0.05$). Đặc biệt, cao chiết lá Đinh lăng từ phương pháp M ($IC_{50\text{ DPPH}} = 45.97\text{-}145.96\ \mu\text{g/mL}$, $IC_{50\text{ ABTS}} = 21.13\text{-}75.93\ \mu\text{g/mL}$) thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn phương pháp C ($IC_{50\text{ DPPH}} = 77.64\text{-}187.45\ \mu\text{g/mL}$, $IC_{50\text{ ABTS}} = 37.69\text{-}131.71\ \mu\text{g/mL}$) ở nồng độ và tỷ lệ dung môi khác nhau với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0.05$). Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy mối quan hệ tỷ lệ thuận của hàm lượng TPC và TFC với hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*. Hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất của phương pháp C là $IC_{50\text{ DPPH}} = 77.64\ \mu\text{g/mL}$, $IC_{50\text{ ABTS}} = 37.69\ \mu\text{g/mL}$ với dung môi chiết EtOH 90% ở tỷ lệ 1:20 (wt/v) trong 24 giờ. Trong khi đó, hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất của phương pháp M là $IC_{50\text{ DPPH}} = 20.38\ \mu\text{g/mL}$, $IC_{50\text{ ABTS}} = 12.60\ \mu\text{g/mL}$ với dung môi chiết EtOH 90% ở tỷ lệ 1:20 (wt/v) và công suất 200 W trong thời gian ngắn 15 phút (Hình 1). Do đó, hoạt tính chống oxy hóa của phương pháp M thể hiện giá trị IC_{50} trên hệ DPPH mạnh hơn 3.81 lần và IC_{50} trên hệ ABTS mạnh hơn 2.99 lần so với phương pháp C mặc dù hoạt tính chống oxy hóa yếu hơn thuốc đối chiếu vitamin C.

So sánh với các nghiên cứu tương tự, tối ưu hóa điều kiện chiết xuất các hoạt chất polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa đã được tiến hành trên rễ Đinh lăng sử dụng phương pháp thông thường. Các thông số gồm loại dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu và dung môi, thời gian và nhiệt độ có ảnh hưởng đáng kể đến quá trình chiết xuất. Kết quả cho thấy tỷ lệ nguyên liệu: EtOH 90% (1:20 g/mL) và chiết trong 3 giờ ở 30°C cho cao rễ *Polyscias fruticosa* có tổng hàm lượng polyphenol và flavonoid cao nhất [8]. Nồng độ EtOH 90% với tỷ lệ mẫu: dung môi 1:20 wt/v cho cao chiết tốt nhất tương tự với nghiên cứu hiện tại trên lá Đinh lăng ở cả phương pháp thông thường và hỗ trợ của vi sóng. Cao lá Đinh lăng ở nồng độ 50 mg/mL thể hiện hoạt tính bắt gốc superoxid gần 45% và được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa ở mô não chuột [9]. Hơn nữa, cao chiết lá Đinh lăng ($EC_{50\text{ DPPH}} = 1151.59\ \mu\text{g/mL}$ và $EC_{50\text{ khử sắt}} = 49.04\ \mu\text{g/mL}$) thể hiện hiệu quả chống oxy hóa cao hơn một số loại cao chiết thực vật khác như cây sung ít

răng ($EC_{50\text{ DPPH}} = 2540\ \mu\text{g/mL}$) và khoai sâm ($EC_{50\text{ khử sắt}} = 731.19\ \mu\text{g/mL}$) [10]. Cao chiết lá Đinh lăng thể hiện hàm lượng TPC (20.57 mg GAE/100 mg), TFC (8.30 mg QE/g), $IC_{50\text{ DPPH}} = 77.74\ \mu\text{g/mL}$ và $IC_{50\text{ ABTS}} = 37.71\ \mu\text{g/mL}$ khi chiết bằng dung môi EtOH 45%, tỷ lệ mẫu: dung môi 1:15 wt/v, nhiệt độ phòng và thời gian chiết 24 giờ sử dụng phương pháp thông thường [2]. Kết quả của nghiên cứu hiện tại cho thấy sự cao hơn đáng kể về hàm lượng TPC (60.91 mg GAE/100 mg) và TFC (62.88 mg QE/g) cũng như thể hiện hoạt tính chống oxy tốt hơn ($IC_{50\text{ DPPH}} = 20.38\ \mu\text{g/mL}$, $IC_{50\text{ ABTS}} = 12.60\ \mu\text{g/mL}$) với sự hỗ trợ của vi sóng khi chiết bằng dung môi EtOH 90%, tỷ lệ mẫu: dung môi 1:20 wt/v, công suất 200 W và thời gian chiết 15 phút.

Tóm lại, các hợp chất phenolic và flavonoid hiện diện nhiều hơn trong cao chiết lá của Đinh lăng lá nhỏ khi sử dụng phương pháp hỗ trợ của vi sóng. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết lá của Đinh lăng lá nhỏ thể hiện hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* tiềm năng với hỗ trợ của vi sóng, từ đó cũng chứng minh hiệu quả chống oxy hóa *in vitro* của cao chiết lá Đinh lăng là hoàn toàn phù hợp. Trên cơ sở của nghiên cứu hiện tại, các nghiên cứu tiếp theo có thể được tiến hành để khảo sát khả năng chống oxy hóa *in vivo* nhằm cung cấp thêm minh chứng về khả năng chống oxy hóa tiềm năng của cao chiết dược liệu này.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tiến hành định tính thành phần hóa thực vật, xác định hiệu suất chiết, định lượng hợp chất phenolic và flavonoid tổng cũng như đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* trên hệ DPPH và ABTS của cao chiết lá Đinh lăng ở Việt Nam thông qua phương pháp thông thường và hỗ trợ của vi sóng. Ngoài ra, điều kiện chiết xuất khác nhau (loại dung môi, nồng độ dung môi, tỷ lệ mẫu: dung môi, thời gian và công suất) cũng được khảo sát để xác định điều kiện tối ưu cho cao chiết với hàm lượng TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất. Kết quả cho thấy phương pháp hỗ trợ của vi sóng đã cải thiện đáng kể các thành phần hoạt chất trong cao chiết, hiệu suất chiết, TPC, TFC và hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết lá Đinh lăng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC16.02.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y tế Việt Nam, “*Dược điển Việt Nam V*,” Nhà xuất bản Y học - Hà Nội, tr. 1168-1169, 2018.
- [2] L. H. Trieu, G. T. Tra My, D. N. Nhu Quynh, V. H. Thuy, L. V. Minh and N. T. Thu Huong, “Antioxidant activity of *Polyscias fruticosa* roots, leaves and their combination,” *J. Med. Mater.*, vol. 26, pp. 186-192, 2021.
- [3] A. Boye, D. O. Acheampong, V. Y. A. Barku, A. Yussam and E. A. Asiamah, “Follicular development and post-implantation loss assessments in nonpregnant and pregnant rats orally exposed to *Polyscias fruticosa* leaf extract,” *J. Compl. Med. Res.*, vol. 8, pp. 1-10, 2018.
- [4] M. T. Nguyen and L.S. Hoang, “Effect of storage temperature and preservatives on the stability and quality of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms herbal health drinks,” *J. Pharma. Res. Inter.*, vol. 26, pp. 1-7, 2019.
- [5] Trần Hùng, “*Phương pháp nghiên cứu dược liệu*,” Bộ môn Dược liệu - Khoa Dược: Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, tr. 25-49, 2014.
- [6] K. Slinkard and V. L. Singleton, “Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods,” *American Enol. Viticul.*, vol. 28, no. 1, pp. 49-55, 1977.
- [7] R. Baharfar, R. Azimi and M. Mohseni, “Antioxidant and antibacterial activity of flavonoid-, polyphenol- and anthocyanin-rich extracts from *Thymus kotschyanus* boiss & hohen aerial parts,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 52, pp. 6777-6783, 2015.
- [8] N. Q. Nguyen, M. T. Nguyen, V. T. Nguyen, V. M. Le, L. H. Trieu, X. T. Le, T.V. Khang, N. T. L. Giang, N. Q. Thach and T. T. Hung, “The effects of different extraction conditions on the polyphenol, flavonoids components and antioxidant activity of *Polyscias fruticosa* roots,” *Mater. Sci. Eng.*, vol. 736, pp. 1-8, 2020.
- [9] Nguyễn Thị Thu Hương và Nguyễn Thị Ánh Như, “Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của Đinh lăng dựa trên cơ chế tác dụng chống oxy hoá,” *Tạp chí Dược liệu*, tập 9, số 3, tr. 85-89, 2004.
- [10] M. M. Mutungi, F. W. Muema, F. Kimutai, Y. B. Xu, H. Zhang, G. L. Chen and M. Q. Guo, “Antioxidant and antiproliferative potentials of *Ficus glumosa* and its bioactive polyphenol metabolites,” *Pharmaceuticals (Basel)*, vol. 14, p. 266, 2021.

Extraction and optimization of antioxidant activity of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms leaf extract with microwave-assisted method

Dang Thi Le Thuy, Le Thi Tuong Vi, Ly Hong Huong Ha and Pham Canh Em

ABSTRACT

Polyscias fruticosa (L.) Harms belongs to the Araliaceae family and are used as a medicinal plant with diverse pharmacological effects such as antidepressant, antistress, improved memory, antioxidant, hypoglycemic, hepatoprotective, hypolipidemic, antifungal, and antibacterial activities. Besides, *Polyscias fruticosa* (L.) leaves contain significant bioactive compounds like phenolics, flavonoids, chlorophylls, etc. with high antioxidant activity. This study investigated total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and in vitro antioxidant activity of extract from *Polyscias fruticosa* leaves by microwave-assisted method. The results showed that extraction using ethanol 90% solvent, ratio of material/solvent of 1:20 (wt/v), microwave power of 200 W, and extraction time of 15 min with the microwave-assisted method significantly improved the extraction yield (33.50%), TPC (60.91 mg GAE/100 mg), TFC (62.88 mg QE/g), and antioxidant activity ($IC_{50\text{ DPPH}} = 20.38\ \mu\text{g/mL}$ and $IC_{50\text{ ABTS}} = 12.60\ \mu\text{g/mL}$) compared to conventional method. Therefore, this optimal extract exhibited potential medicinal properties for the development of medicinal herbs with antioxidant activity in the future.

Keywords: *Polyscias fruticosa*, phenolic content, flavonoid content, antioxidant, microwave

Received: 05/09/2023

Revised: 01/10/2023

Accepted for publication: 06/10/2023