

Khảo sát tác động chống oxy hóa và độc tính cấp của cao chiết nước cỏ màn trầu (*Eleusine indica* (L.) Gaertner., Poaceae)

Hoàng Thị Phương Liên¹, Nguyễn Thị Bạch Tuyết¹, Đỗ Gia Mẫn¹,
Vũ Ánh Minh Trang¹ và Nguyễn Hữu Phúc^{2*}

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Nước sắc của lá cỏ màn trầu (*Eleusine indica* (L.) Gaertner., Poaceae) được sử dụng để điều trị nhiễm trùng, hạ sốt, và chống viêm. Tuy nhiên, hoạt tính của dược liệu này tại Việt Nam chưa được đánh giá đầy đủ. Nghiên cứu này khảo sát tác động chống oxy hóa và độc tính cấp của cao chiết nước từ Cỏ màn trầu. Dược liệu được thu hái tại Huyện Hóc Môn, TP. Hồ Chí Minh vào tháng 4/2023. Thành phần hóa học sơ bộ được xác định bằng phương pháp Ciuley và cao nước được chiết nóng. Hàm lượng polyphenol toàn phần là 25.87 mg GAE/g, đo quang với thuốc thử Folin-Ciocalteu. Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* được đánh giá bằng phương pháp DPPH với IC_{50} là 359.26 $\mu\text{g/mL}$, so với đối chứng quercetin là 3.02 $\mu\text{g/mL}$. Thử nghiệm độc tính cấp *in vivo* trên chuột nhắt trắng chủng ICR cho thấy cao chiết không gây độc ở liều 5000 mg/kg với thể tích cho uống 50 mL/kg. Kết luận, cao chiết nước từ Cỏ màn trầu có hoạt tính chống oxy hóa kém so với quercetin và không gây độc tính cấp.

Từ khóa: cỏ màn trầu, *Eleusine indica*, polyphenol, chống oxy hóa, độc tính cấp

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cỏ màn trầu (*Eleusine indica*), thuộc họ Poaceae, là một loại thảo dược có phân bố rộng rãi khắp thế giới, bao gồm cả Việt Nam. Loại cỏ này thường mọc thành cụm trên các bãi cỏ ven đường, gần các kênh rạch và thậm chí trên đất nông nghiệp như vườn ươm hay đồn điền. Cỏ màn trầu chứa nhiều thành phần hóa học đa dạng như alkaloid, terpenoid, flavonoid, tannin, anthraquinon, saponin, glycosid tim và anthracen glycosid [1, 2]. Nhiều nghiên cứu quốc tế đã ghi nhận các hoạt tính sinh học quan trọng của cỏ màn trầu. Các cao chiết từ cỏ màn trầu gây ức chế sự phát triển của ký sinh trùng sốt rét, trong đó cao phân đoạn ethyl acetat cho tác động mạnh nhất với tỷ lệ ức chế là 77.89%. Cao chiết cỏ màn trầu ở liều 200 mg/kg, 400 mg/kg, 600 mg/kg có khả năng giảm đau, hạ sốt, chống viêm phụ thuộc liều trên các mô hình thực nghiệm *in vivo*. Thành phần trong cỏ màn trầu cũng thể hiện tác dụng chống oxy hóa, hạ huyết áp, kháng khuẩn...[3-8]. Trong y học dân gian, cỏ màn trầu

được biết đến với công dụng thanh nhiệt, lợi tiểu, hạ sốt, làm mát cơ thể và hạ huyết áp. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các nghiên cứu về cỏ màn trầu chủ yếu tập trung vào khả năng kháng khuẩn, trong khi các thông tin khoa học về độ an toàn và tác dụng chống oxy hóa của loài này vẫn còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu tiến hành thực hiện khảo sát hoạt tính sinh học về tác động chống oxy hóa trên *in vitro* và thử độc tính cấp trên *in vivo* của cỏ màn trầu *Eleusine indica* (L.) Gaertn., Poaceae.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và vật liệu

Nguyên liệu: Toàn bộ phần trên mặt đất của cỏ màn trầu (*Eleusine indica* (L.) Gaertn., họ Poaceae) được thu hái tại huyện Hóc Môn vào tháng 4/2023. Sau khi thu hái, cây được định danh bằng phương pháp quan sát hình thái và vi học. Dược liệu tươi được rửa sạch, phơi trực tiếp dưới ánh nắng mặt trời đến khi gần khô, sau đó cắt nhỏ và sấy khô ở

Tác giả liên hệ: ThS. Nguyễn Hữu Phúc

Email: phuchnh2@hiu.vn

hiệt độ 55 - 60°C. Tiếp theo, dược liệu khô được xay thành bột có kích thước phù hợp và bảo quản trong túi kín để đảm bảo chất lượng.

Dung môi: methanol (Sigma-Aldrich - Mỹ), nước muối sinh lý NaCl 0.9% (B. Braun - Việt Nam)

Chất chuẩn: gallic acid monohydrat (Himedia - Ấn Độ), acid acetic băng 100% khan (Merck KGaA - Đức), quercetin (Sigma-Aldrich - Mỹ).

Thuốc thử: Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich - Mỹ)

Trang thiết bị: Cân phân tích (Sartorius CPA 2245 - Đức), máy đọc Elisa Powerwave HT (BioTek - Mỹ), kính hiển vi (Olympus - Nhật), Micropipet (Gilson - Mỹ).

Động vật thử nghiệm: Chuột nhắt ICR được cung cấp bởi Viện vaccin và sinh phẩm y tế Nha Trang, có trọng lượng 18 – 26 g. Chuột được nuôi ổn định ít nhất 2 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm và nuôi trong lồng có lót lớp trấu ở đáy với điều kiện nhiệt

độ không quá 25°C, độ ẩm không quá 70% tại bộ môn Dược lý - Khoa Dược - Trường Đại học Nguyễn Tất Thành. Kích thước lồng nuôi: 41.2 * 27.2 * 14.5 cm, 8 chuột/lồng. Trong quá trình thử nghiệm, chuột được cung cấp đủ thức ăn (cám viên) và nước uống.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học

Nghiên cứu tiến hành phân tích sơ bộ hóa học của bột dược liệu theo phương pháp của Ciuley. Bột cỏ mần trầu được chiết xuất với các dung môi có độ phân cực tăng dần gồm: chloroform, ethanol 96%, nước. Sau đó, dịch chiết chloroform, dịch chiết ethanol 96%, dịch chiết nước được xác định các nhóm chất bằng các phản ứng hóa học đặc trưng[10].

Phương pháp định tính các nhóm hoạt chất bằng các phản ứng hóa học được tóm tắt ở Bảng 1.

Bảng 1. Phương pháp định tính các nhóm hoạt chất

Nhóm hoạt chất	Phương pháp thực hiện	Phản ứng dương tính
Tinh dầu	Bốc hơi đến cạn	Cắn có mùi thơm nhẹ
Chất béo	Nhỏ dung dịch lên giấy	Giấy có vết trong mờ
Carotenoid	Phản ứng với H ₂ SO ₄ đậm đặc	Xanh dương hay xanh lục ngả sang xanh dương
Triterpenoid tự do	Anhydric acetic + CHCl ₃ + H ₂ SO ₄ đậm đặc	Lớp phân cách nâu tím, lớp dưới màu xanh lục
Alkaloid	Thuốc thử chung alkaloid	Kết tủa
Coumarin	KOH 10%/cồn, soi UV 365 nm	Phát quang mạnh hơn
Anthraquinon	Thuốc thử Borntrager	Dung dịch màu đỏ
Flavonoid	Bột Mg + HCl đậm đặc	Dung dịch màu hồng tới đỏ
Anthocyanosid	HCl 10%, kiềm hóa bằng NaOH 10%	Dung dịch màu đỏ với acid, màu xanh với kiềm
Proanthocyanidin	Đun cách thủy 10 phút với HCl 10%	Dung dịch màu hồng tới đỏ
Tannin	Phản ứng với dung dịch FeCl ₃ và gelatin muối	Xanh rêu – xanh đen với FeCl ₃ , tủa bông với gelatin muối
Saponin	Lắc mạnh với dung dịch nước	Có bọt bền trong 15 phút
Acid hữu cơ	Một ít tinh thể NaCO ₃	Bọt khí bay lên
Polyuronid	Pha loãng với cồn 96%	Tủa bông trắng – vàng nâu

2.2.2. Phương pháp chiết xuất dược liệu

Từ 13 kg dược liệu tươi, sau khi phơi, cắt nhỏ, sấy và xay mịn thu được 2.15 kg bột dược liệu có độ ẩm 5.73%. Bột dược liệu có màu vàng xanh, mùi thơm nhẹ, có nhiều sợi.

Dịch chiết cao nước được điều chế bằng phương pháp hầm dược liệu trong bào chế được tiến hành như sau: đun 500 g bột dược liệu với 2500 mL nước cất, cách thủy 95°C trong một giờ thu dịch chiết 1. Tiếp tục chiết bã dược liệu với 2500 mL thu dịch chiết 2. Gộp 2 dịch chiết thu được, cô bay hơi nước ở 70°C đến thể chất đặc sệt có độ ẩm nhỏ hơn hoặc bằng 20 % thì ngừng cô. Cao chiết được bảo quản trong lọ thủy tinh và đặt ở ngăn mát tủ lạnh khi chưa sử dụng[11].

Hiệu suất chiết cao được tính theo công thức:

$$\text{Hiệu suất (H) chiết cao} = \frac{\text{Khối lượng cao}}{\text{Khối lượng bột dược liệu}} * 100\% \quad (1)$$

2.3. Định lượng polyphenol toàn phần

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định bằng phương pháp Folin - Ciocalteu[12]. Trong thành phần thuốc thử Folin-Ciocalteu, có chứa phức hợp phosphowolfram-phosphomolybdat. Phức hợp này sẽ bị khử bởi các hợp chất polyphenol trong mẫu tạo thành sản phẩm phản ứng có màu xanh lam. Sự hấp thụ cực đại của sản phẩm này xảy ra ở bước sóng 765nm. Hàm lượng polyphenol trong mẫu thử được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của acid gallic.

Mẫu thử: cao chiết nước cỏ mần trầu được pha trong nước cất với nồng độ 100 µg/mL.

Mẫu chuẩn: Acid gallic được pha trong nước cất với các nồng độ 1 - 10 µg/mL.

Hút lần lượt 100 µL mẫu thử hoặc mẫu chuẩn với 500 µL thuốc thử Folin - Ciocalteu 10%, vortex đồng nhất và để yên 5 phút. Tiếp tục thêm vào hỗn hợp 400 µL Na₂CO₃ 7.5%, ủ trong tối 60 phút.

Tiến hành đo độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 765 nm trên máy Elisa Powerwave HT (BioTek – Mỹ) 96 giếng ở nhiệt độ phòng. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng polyphenol được biểu diễn theo microgam đương lượng acid gallic (GAE)

trong 1 mg cao (mg GAE/g cao) và được tính bằng công thức:

$$P = \frac{C \times V \times K \times \text{Độ tinh khiết} \times 100}{m \times (100 - H)} \quad (2)$$

P (mg GAE/g cao): Hàm lượng polyphenol toàn phần trong cao.

C (µg/mL): Nồng độ GAE có trong mẫu suy từ đường chuẩn gallic acid.

V (mL): Thể tích mẫu thử.

K: Độ pha loãng.

H (%): Độ ẩm cao.

m (mg): Khối lượng cao chiết có trong thể tích V.

Độ tinh khiết của acid gallic chuẩn sử dụng trong thử nghiệm là 0.98.

2.4. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết nước cỏ mần trầu

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) là gốc tự do bền màu tím và có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 517 nm. Khi có mặt chất chống oxy hóa, electron tự do của phân tử nitơ trong DPPH sẽ bắt cặp với gốc hydro từ chất chống oxy hóa làm mất đi màu tím đặc trưng của gốc DPPH thành DPPH-H có màu vàng. Khả năng khử gốc DDPH[•] của một chất chống oxy hóa thể hiện ở mức độ làm giảm màu của dung dịch DDPH (chuyển từ tím sang vàng nhạt), được xác định bằng cách đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 517 nm [12].

DPPH được pha trong methanol ở nồng độ 0.2 mM, bảo quản kín trong tối ở nhiệt độ phòng.

Mẫu thử: Cao chiết pha thành các dung dịch có nồng độ từ 200 - 600 µg/mL.

Mẫu đối chứng: Quercetin pha trong methanol với nồng độ từ 1 - 5 µg/mL.

Hỗn hợp phản ứng gồm 100 µL mẫu với 100 µL dung dịch DPPH, ủ trong tối 30 °C trong thời gian 30 phút. Đo độ hấp thụ quang của DPPH ở bước sóng 517 nm. Tiến hành đo mẫu 3 lần, lấy giá trị trung bình. Thành phần các mẫu được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2. Thành phần của các mẫu khảo sát

	Mẫu chứng	Mẫu chứng trắng	Mẫu thử	Mẫu thử trắng	Mẫu đối chứng	Mẫu đối chứng trắng
Cao chiết			100 µL	100 µL		

	Mẫu chứng	Mẫu chứng trắng	Mẫu thử	Mẫu thử trắng	Mẫu đối chứng	Mẫu đối chứng trắng
Quercetin					100 μ L	100 μ L
MeOH	100 μ L	200 μ L		100 μ L		100 μ L
DPPH	100 μ L		100 μ L		100 μ L	

Khả năng bắt giữ gốc tự do DPPH có công thức:

$$\text{HTCO (\%)} = \left(1 - \frac{\text{OD}_{\text{thử}} - \text{OD}_{\text{thử trắng}}}{\text{OD}_{\text{chứng}} - \text{OD}_{\text{chứng trắng}}}\right) * 100 \% \quad (3)$$

OD chứng (quercetin): Độ hấp thu của mẫu đối chứng.

OD chứng trắng (methanol): Độ hấp thu của mẫu chứng trắng.

OD thử (cao chiết): Độ hấp thu của mẫu thử.

OD thử trắng: Độ hấp thu của mẫu thử trắng.

Thông qua phương trình hồi quy tuyến tính lập được, xác định IC_{50} của mẫu thử.

Cách tính IC_{50} : Từ bảng kết quả đã đo để vẽ đường tuyến tính và xác định phương trình hồi quy tuyến tính:

$$\hat{y} = ax + b \quad (4)$$

Thay $y = 50$ để tìm x , x tương ứng với nồng độ dập tắt gốc tự do DPPH 50%.

2.5. Khảo sát độc tính cấp đường uống

Thử nghiệm độc tính cấp được thực hiện theo hướng dẫn của Bộ Y tế (2015) và tổ chức Hợp tác và phát triển kinh tế (OECD 420) theo phương pháp liều cố định [13, 14]. Cho chuột nhện đối ít nhất 12 giờ trước khi thí nghiệm. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 2 lô, mỗi lô gồm 06 con chuột (03

chuột đực và 03 chuột cái). Lô chuột thí nghiệm được bố trí như sau:

Lô sinh lý (SL): Uống nước cất.

Lô thử nghiệm: Uống cao chiết cỏ màn trâu liều 5000 mg/kg thể trọng chuột, hòa tan vào nước cất.

Chuột uống nước cất hay cao chiết với thể tích cho uống 50 mL/kg trọng lượng chuột.

Theo dõi và ghi nhận các trình trạng chung của chuột (cử động tổng quát, biểu hiện về hành vi, trạng thái lông, ăn uống, tính chất phân, nước tiểu,...), các dấu hiệu bất đầu bị nhiễm độc (nôn, co giật, kích động,...) và số lượng chết của chuột trong vòng 72 giờ đầu sau khi uống cao thử. Nếu sau 72 giờ, chuột không có dấu hiệu bất thường hoặc chết, tiếp tục theo dõi trong 14 ngày. Tùy theo tỷ lệ sống/chết, tiếp tục thử nghiệm để xác định LD_{50} . Trong quá trình theo dõi, nếu có chuột chết thì cần mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Sau 14 ngày, chuột vẫn còn sống cũng được mổ để quan sát đại thể các cơ quan.

3. KẾT QUẢ

3.1. Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học

Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học cỏ màn trâu được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học cỏ màn trâu

Nhóm hợp chất	Kết quả định tính trên các dịch chiết			Kết quả chung
	Dịch CHCl_3	Dịch Ethanol	Dịch nước	
Chất béo	-			-
Carotenoid	+			+
Tinh dầu	-			-
Triterpenoid tự do	+			+
Alkaloid	-	+	+	+
Coumarin	+	+		+
Anthraglycosid	-			-
Flavonoid	-	+	+	+
Anthocyanosid		-	-	-
Proanthocyanidin		+	+	+
Tannin	Polyphenol		+	\pm
	Tannin		-	-
Saponin		+	+	+

Nhóm hợp chất	Kết quả định tính trên các dịch chiết			Kết quả chung
	Dịch CHCl ₃	Dịch Ethanol	Dịch nước	
Acid hữu cơ		+	-	±
Hợp chất polyuronic			+	+
Có thể đánh giá theo các mức sau: (+) có; (-) không; (±) nghi ngờ				
Chú thích Có thể có nhưng không thực hiện phản ứng Không có mặt của nhóm hoạt chất trong dịch chiết nên không thực hiện phản ứng				

Kết quả phân tích thành phần hóa học cho thấy có sự hiện diện của carotenoid, triterpenoid tự do, alkaloid, coumarin, flavonoid, proanthocyanidin, polyphenol, saponin, acid hữu cơ, hợp chất polyuronic.

3.2. Phương pháp chiết xuất dược liệu

Từ 500 g bột dược liệu được chiết nóng với 5 lít nước cất ở 95 °C (chia làm 2 lần dung môi chiết) và cô cách thủy 70 °C đến thể chất đặc sánh, hàm ẩm dưới 20%, thu được 76.85 g cao toàn phần. Như vậy, hiệu suất chiết cao là 15.37%. Hàm ẩm là 12.86%. Cao chiết cở mền trầu thu được có thể chất đặc sánh, màu nâu đen và có mùi thơm đặc trưng.

3.3. Định lượng polyphenol toàn phần

Công cụ Regression trong Excel dùng kiểm tra tính

thích hợp phương trình (pt) hồi quy tuyến tính:

$$\hat{y} = 0.0517x + 0.0211$$

Thử nghiệm tính tương thích:

$$p = 6.63 \cdot 10^{-15} < 0.05 \rightarrow \text{pt có tính tương thích.}$$

Thử nghiệm ý nghĩa của hệ số b:

$$p = 1.36 \cdot 10^{-5} < 0.05 \rightarrow \text{hệ số b có ý nghĩa.}$$

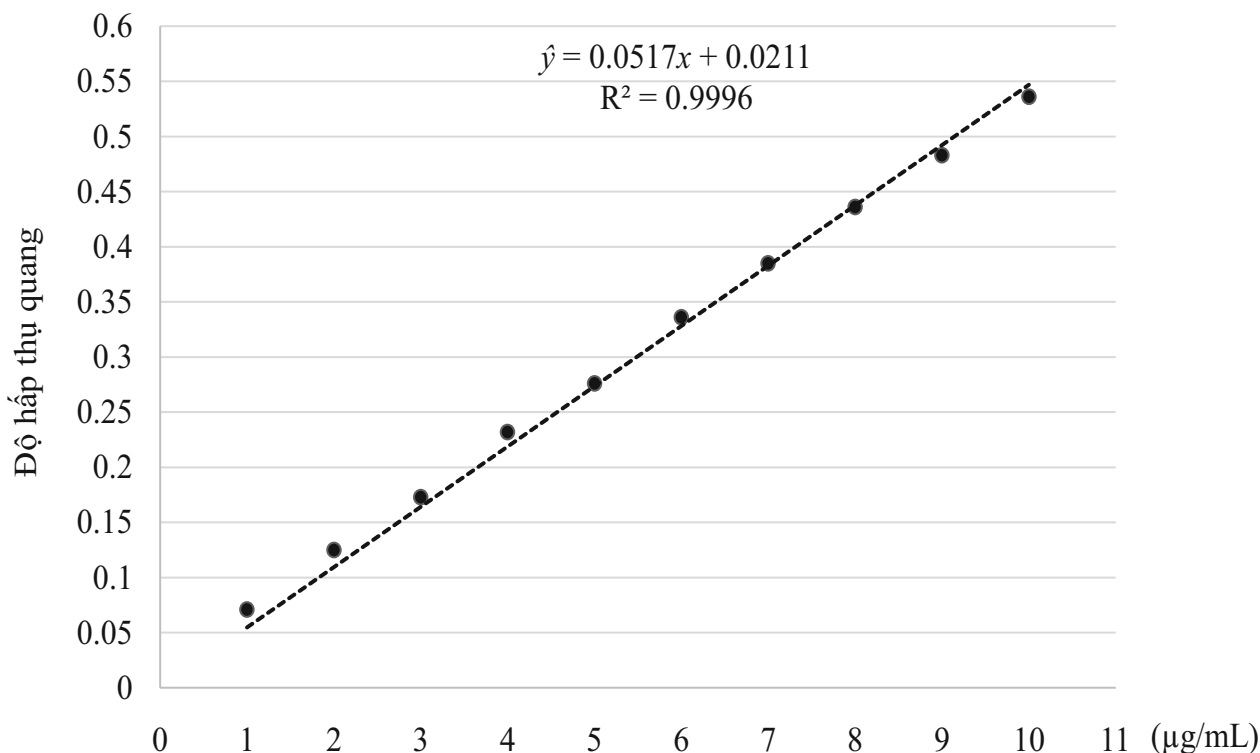
Hệ số tương quan:

$$R^2 = 0.9996 > 0.999$$

Như vậy, ở khoảng nồng độ 1 – 10 µg/mL có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ acid galic chuẩn và độ hấp thụ quang, với pt tuyến tính:

$$\hat{y} = 0.0517x + 0.0211$$

Kết quả về mối tương quan giữa nồng độ acid gallic chuẩn và độ hấp thụ quang được thể hiện ở Hình 1 và Bảng 4.



Hình 1. Đồ thị đường tuyến tính trong định lượng acid gallic chuẩn ở các nồng độ từ 1 - 10 µg/mL

Bảng 4. Kết quả độ hấp thụ quang của acid gallic chuẩn

Nồng độ (µg/mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ hấp thụ	0.071	0.125	0.173	0.232	0.276	0.336	0.385	0.436	0.483	0.536

Giá trị độ hấp thụ của cao chiết sau 3 lần đo là 0.140. Từ đó, nồng độ polyphenol trong cao chiết được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic là 2.30 µg/mL.

Tính theo công thức (2), cao chiết nước cỏ mần trầu có hàm lượng polyphenol toàn phần là 25.87 mg GAE/g cao.

3.4. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết nước cỏ mần trầu

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết nước được đánh giá qua khả năng ức chế gốc tự do DPPH. Quercetin là chất đối chứng trong phương pháp DPPH. Mẫu thử có hoạt tính chống oxy hóa sẽ làm cho DPPH chuyển màu từ màu tím sang màu vàng. Nồng độ chất chống oxy hóa càng cao thì DPPH càng bị nhạt màu.

3.4.1. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của chuẩn đối chiếu quercetin

Công cụ Regression trong Excel dùng kiểm tra tính

thích hợp phương trình hồi quy tuyến tính:

$$\hat{y} = 16.536x - 2.352$$

Trắc nghiệm tính tương thích:

$$p = 8.63 \cdot 10^{-6} < 0.05$$

Phương trình nên có tính tương thích.

Trắc nghiệm ý nghĩa của hệ số b:

$$p = 0.072 > 0.05 \text{ nên hệ số b không có ý nghĩa.}$$

Hệ số tương quan:

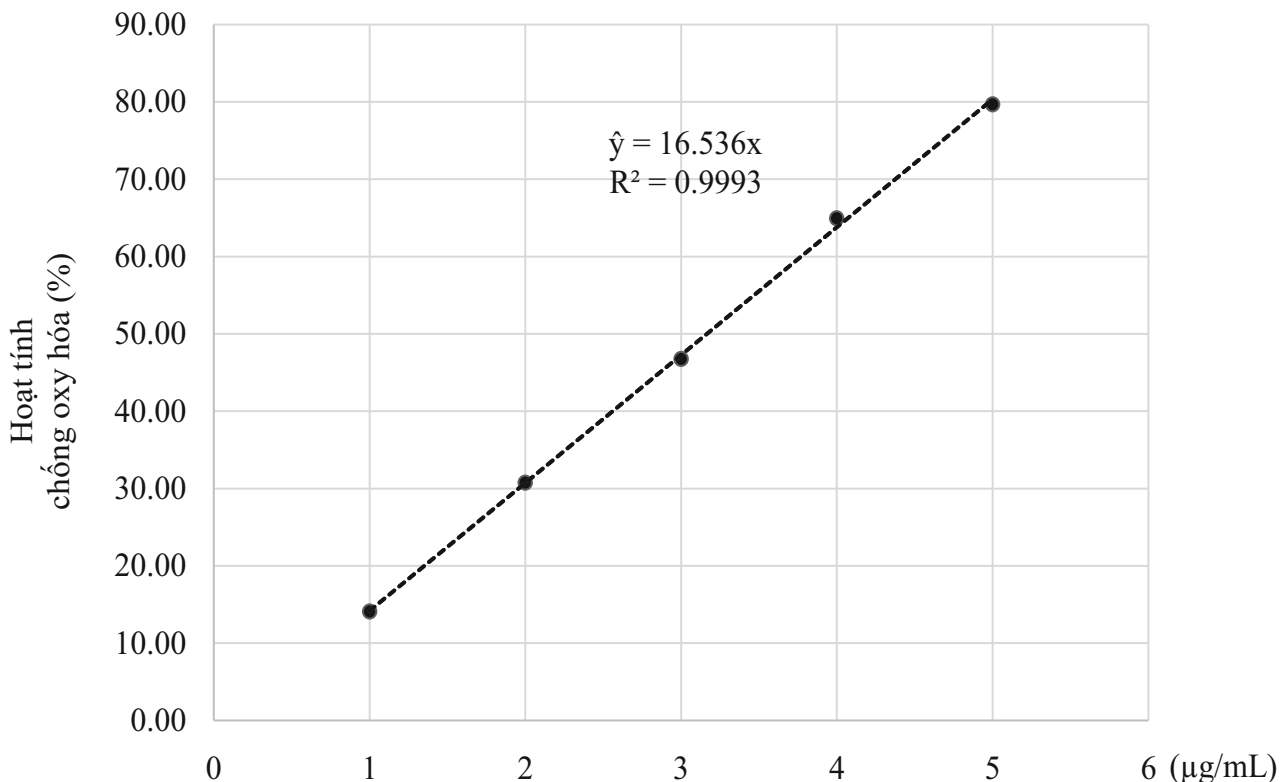
$$R^2 = 0.9993 > 0.999$$

Như vậy, ở nồng độ 1 – 5 µg/mL có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ quercetin chuẩn và độ hấp thụ, với phương trình tuyến tính:

$$\hat{y} = 16.536x$$

Thay giá trị y = 50%, xác định được IC₅₀ là 3.02 µg/mL.

Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của quercetin chuẩn ở Hình 2 và Bảng 5.



Hình 2. Đồ thị đường tuyến tính khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của quercetin chuẩn

Bảng 5. Hoạt tính chống oxy hóa của quercetin chuẩn

Nồng độ (µg/mL)	1	2	3	4	5
Hoạt tính chống oxy hóa (%)	14.10	30.78	46.75	64.96	79.69

3.4.2. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết nước cỏ mần trầu

Công cụ Regression trong Excel dùng kiểm tra tính thích hợp phương trình hồi quy tuyến tính:

$$\hat{y} = 0.1128x + 9.476$$

Trắc nghiệm tính tương thích:

$p = 7.86 \times 10^{-6} < 0.05$ nên phương trình có tính tương thích.

Trắc nghiệm ý nghĩa hệ số b:

$p = 0.001 < 0.05$ nên hệ số b có ý nghĩa.

Hệ số tương quan:

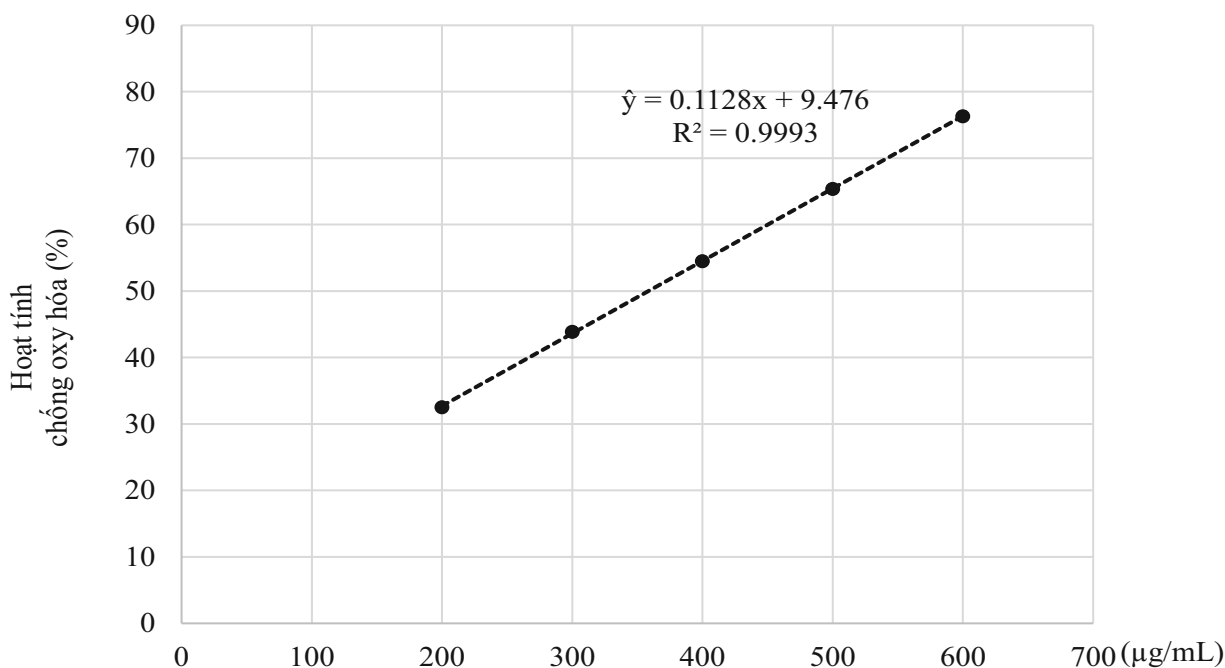
$$R^2 = 0.9993 > 0.999$$

Như vậy, ở nồng độ 200 – 600 µg/mL có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ cao chiết nước và độ hấp thụ, với pt tuyến tính:

$$\hat{y} = 0.1128x + 9.476$$

Thay giá trị $y = 50\%$, xác định được IC_{50} là 359.26 µg/mL.

Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết nước cỏ mần trầu ở Hình 3 và Bảng 6.



Hình 3. Đồ thị đường tuyến tính khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao nước cỏ mần trầu

Bảng 6. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết nước cỏ mần trầu

Nồng độ (µg/mL)	200	300	400	500	600
Hoạt tính chống oxy hóa (%)	31.64	43.99	54.61	65.38	77.34

Kết quả về hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của cao chiết nước cỏ mần trầu và chất đối chứng quercetin cho thấy IC_{50} của cao chiết nước cỏ mần trầu ($IC_{50} = 359.26 \mu\text{g/mL}$) lớn hơn 119 lần so với chất đối chứng quercetin ($IC_{50} = 3.02 \mu\text{g/mL}$), đồng nghĩa với hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết kém hơn quercetin.

3.5. Khảo sát độc tính cấp đường uống

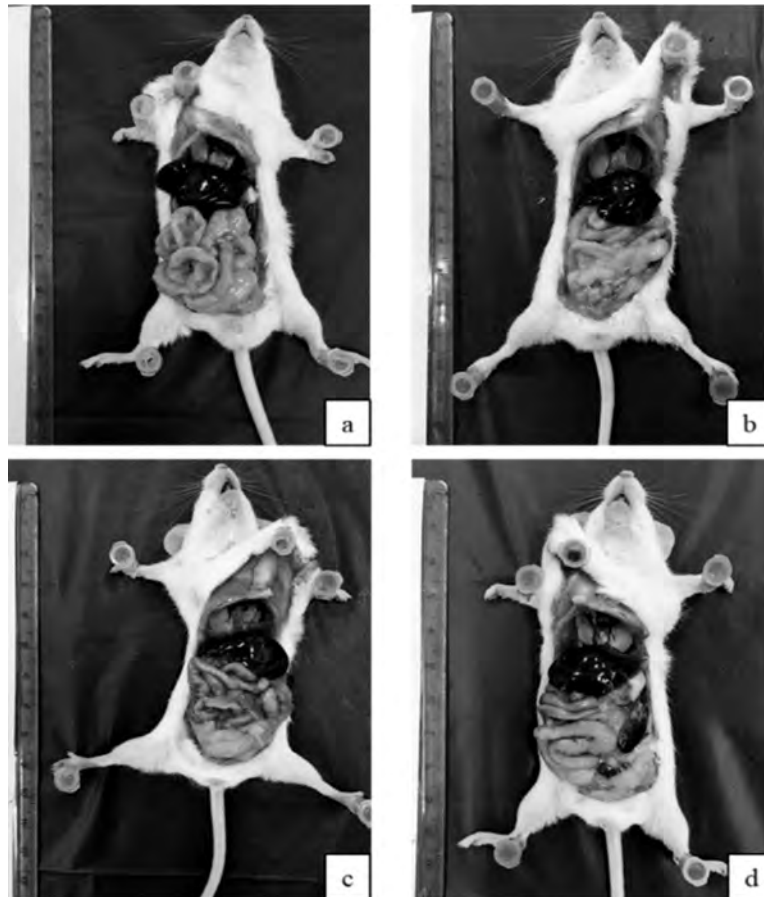
Chuột thử nghiệm uống cao chiết nước cỏ mần

trầu liều 5000 mg/kg với thể tích uống 50 mL/kg. Kết quả thu được 24 giờ đầu sau khi cho chuột uống liều thử nghiệm, 100 % chuột ở các lô (3 chuột đực, 3 chuột cái ở mỗi lô) đều có hoạt động bình thường. Chuột tiếp tục ăn cám viên và uống nước bình thường, lông mượt, tiểu tiện đều đặn, không ghi nhận triệu chứng của ngộ độc. Trong suốt thời gian 48 giờ và 72 giờ quan sát tiếp theo, không ghi nhận bất kỳ dấu hiệu bất thường nào

trên chuột thử nghiệm và không có trường hợp tử vong. Tiếp tục theo dõi cho đến ngày thứ 14 trong điều kiện chăm sóc bình thường. Kết quả cho thấy 100 % các lô thú thử nghiệm vẫn khỏe mạnh và hoạt động bình thường, không có dấu hiệu bất thường.

Sau 2 tuần theo dõi, chuột ở tất cả các lô được giải

phẫu để quan sát đại thể. Kết quả giải phẫu cho thấy không có bất kỳ thay đổi bệnh lý nào về hình thái đại thể của các cơ quan như tim, phổi, gan, thận và hệ thống tiêu hóa. Thêm vào đó, không có dấu hiệu nào cho thấy các cơ quan bị tổn thương, hoại tử hay xuất huyết. Hình ảnh đại thể của các chuột thử nghiệm được thể hiện ở Hình 4.



Hình 4. Đại thể các lô chuột ở thử nghiệm độc tính cấp đường uống sau 14 ngày

Chú thích: a – Đại thể chuột đực ở lô sinh lý; b – Đại thể chuột cái ở lô sinh lý; c – Đại thể chuột đực ở lô cao liều 5000 mg/kg; d – Đại thể chuột cái ở lô cao liều 5000 mg/kg.

Kết quả theo dõi trọng lượng chuột ở trong 14 ngày thử nghiệm được thể hiện ở Bảng 7.

Bảng 7. Trọng lượng chuột ở các lô thử nghiệm trong 14 ngày

Ngày	Lô sinh lý (g)	Lô cao chiết (g)
1	26.25 ± 0.86	26.36 ± 1.22
2	27.40 ± 0.77	28.31 ± 1.13
3	29.35 ± 0.96	28.72 ± 1.37
4	29.85 ± 0.75	28.65 ± 1.36
5	30.52 ± 0.89	28.94 ± 1.49
6	30.57 ± 1.07	29.07 ± 1.44
7	30.18 ± 1.11	29.17 ± 1.61

8	31.17 ± 1.17	29.55 ± 1.63
9	31.17 ± 1.11	30.02 ± 1.95
10	31.71 ± 1.25	30.02 ± 2.23
11	31.93 ± 1.31	30.31 ± 2.09
12	32.22 ± 1.31	30.69 ± 2.16
13	32.91 ± 1.49	31.09 ± 2.27
14	32.76 ± 1.41	30.76 ± 2.56

Kết quả nghiên cứu cho thấy trọng lượng của chuột tăng đều, không ghi nhận dấu hiệu giảm hay tăng cân nặng bất thường. Trọng lượng chuột ở 2 lô thử nghiệm trong vòng 14 ngày khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0.05$). So sánh cân

nặng cuối thử nghiệm và trước thử nghiệm ở các lô, kết quả cho thấy chuột ở 2 lô thử nghiệm đều tăng trọng lượng trung bình khoảng 4 – 7 g (lô sinh lý tăng 6.51 g; lô thử nghiệm tăng 4.40 g). Điều này cho thấy cao chiết nước cỏ mần trầu không làm ảnh hưởng đến cân nặng của chuột thử nghiệm, chuột uống cao vẫn tăng trọng lượng bình thường.

4. BÀN LUẬN

Phân tích thành phần hóa học *Eleusine indica* ở Việt Nam cho thấy cây chứa carotenoid, triterpenoid, alkaloid, coumarin, flavonoid, proanthocyanidin, polyphenol, saponin, acid hữu cơ và hợp chất polyuronic, tương đồng với các nghiên cứu trên thế giới [3, 4, 6].

Một nghiên cứu trước đây ở Malaysia vào năm 2012 với phương pháp chiết nóng, tỷ lệ 1g dược liệu : 10 mL nước, chiết trong 10 phút cho thấy tổng hàm lượng phenolic trong cao chiết nước của *Eleusine indica* là 14.9 mg đương lượng acid gallic/g cao chiết, IC₅₀ của phản ứng dập tắt gốc tự do DPPH là 2350 µg/mL [7]. Với nghiên cứu chúng tôi tiến hành, dược liệu thu hái tại Hóc Môn, phương pháp hầm với nước 2 lần, mỗi lần 60 phút với tỷ lệ 1g dược liệu : 10 mL nước cho tổng hàm lượng phenolic cao hơn (25.17 mg GAE/g cao) và IC₅₀ dập tắt gốc tự do DPPH thấp hơn (359.26 µg/mL). Các hoạt tính sinh học của polyphenol được chứng minh là có liên quan đến hoạt tính oxy hóa, hàm lượng polyphenol cao sẽ thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn, tức là giá trị IC₅₀ dập tắt gốc tự do DPPH sẽ thấp hơn. Sự khác biệt về hàm lượng polyphenol và hoạt tính chống oxy hóa có thể do sự khác nhau về thời gian chiết và điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng của vùng trồng dược liệu 2 nghiên cứu.

Cao cỏ mần trầu không gây ra độc tính cấp cho chuột ở liều 5000 mg/kg trọng lượng chuột. Điều này có nghĩa là giá trị LD₅₀ của cao cỏ mần trầu cao hơn 5000 mg/kg [15]. Theo bảng phân loại GHS, LD₅₀ của cao cỏ mần trầu được xếp vào phân loại 6 – chất gần như không có độc tính [14]. Ngoài ra, theo hướng dẫn của OECD 420, khi tiến hành thử ở mức liều 5000 mg/kg mà chuột vẫn sống bình thường thì ngừng thử nghiệm, không tiến hành thử độc tính cấp ở liều cao hơn nhằm tiết kiệm dược liệu sử dụng đồng thời giảm thiểu số lượng chuột tử vong [14, 15]. Do đó, không tiếp tục tiến hành tìm giá trị LD₅₀ chính xác. So sánh với nghiên cứu của Siew Ling Ong và cộng sự (2017) về độc tính cấp của *Eleusine indica* trên chuột cống Sprague – Dawley cho thấy phân đoạn hexan ở liều 2000 mg/kg không gây chết thú vật, không ảnh hưởng đến cân nặng, và chức năng gan thận của chuột [5]. Như vậy, cỏ mần trầu được chiết ở dung môi nước hoặc n-hexan đều gần như không có độc tính theo phân loại GHS.

5. KẾT LUẬN

Phần trên mặt đất của cỏ mần trầu chứa các nhóm hoạt chất: alkaloid, coumarin, flavonoid, polyphenol, saponin, acid hữu cơ, hợp chất polyuronic. Tổng hàm lượng polyphenol của cao chiết nước là 25.87 mg GAE/g cao. Cao chiết nước cỏ mần trầu thể hiện tác động chống oxy hóa, dập tắt gốc tự do DPPH với IC₅₀ là 359.26 µg/mL so với đối chứng quercetin có IC₅₀ là 3.02 µg/mL. Cao chiết nước cỏ mần trầu không gây độc tính ở liều 5000 mg/kg, được xếp vào nhóm 6, tức là chất gần như không có độc tính hệ thống phân loại toàn cầu về hóa chất (GHS). Nghiên cứu cung cấp những dữ liệu làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về thành phần và tác dụng dược lý của cỏ mần trầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đ. H. Bích, Đ. Q. Chung và B. X. Chương, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Hà Nội: Nxb Khoa học và Kỹ thuật, 2006.
- [2] Đ. Tấ. Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Hà Nội: Nxb Y học, 2006.
- [3] E. O. Ettebong and D. Obot, " A Systematic review on *Eleusine indica* (L.) Gaertn.): From ethnomedicinal uses to pharmacological activities", *Journal of Medicinal Plants Studies*,

vol.8, no.4, pp. 262-274, 2020.

- [4] A. C. C. Adoho *et al.*, " Review of the literature of *Eleusine indica*: phytochemical, toxicity, pharmacological and zootechnical studies", *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 10, no.3, pp. 29-33, 2021.

- [5] S. L. Ong, K. R. Nalamolu and H. Y. Lai., "Potential lipid-lowering effects of *Eleusine indica* (L) Gaertn. extract on high-fat-diet-induced

hyperlipidemic rats," *Pharmacogn Mag*, vol. 13, pp. S1-s9, 2017.

[6] I.O Alaekwe et. al., "Phytochemical and antimicrobial screening of the aerial parts of *Eleusine indica*," *International Journal of Pure Applied Bioscience*, vol. 3, no. 1, pp. 257-264, 2015.

[7] Iqbal Mohammad, Gnanaraj Charles, "*Eleusine indica* L. possesses antioxidant activity and precludes carbon tetrachloride (CCl₄)-mediated oxidative hepatic damage in rats", *Environmental health and preventive medicine*. vol.17, no.4, pp. 307-315, 2012

[8] A. S. Al-Zubairi et al., "*Eleusine indica* possesses antioxidant, antibacterial and cytotoxic properties," *Evid Based Complement Alternat Med*, vol. 2011, p. 965370, 2011.

[9] N. T. N. Phương, P. T. Phương và N. H. T. Tài, "Khảo sát hàm lượng flavonoid, alkaloid và khả năng kháng khuẩn của cao chiết cỏ mần trầu

(*Eleusine indica*)," *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, tập 53, tr. 54-60, 2017.

[10] T. Hùng, *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*. Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, 2015.

[11] Bộ Y tế, *Dược điển Việt Nam V*. NXB Y học, 2017.

[12] Helena Abramovič, Blaž Grobin, Nataša Poklar Ulrih, Blaž Cigić, "Relevance and standardization of *in vitro* antioxidant assays: ABTS, DPPH, and Folin–Ciocalteu", *Journal of Chemistry*, pp. 1-9, 2018.

[13] Bộ Y tế, *Hướng dẫn thử nghiệm phi lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*. NXB Y học, 2015.

[14] OECD, *Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD Publishing, Paris, 2002

[15] D. T. Đàm, *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*. Hà Nội: Nxb Y học, 2014

Study on antioxidant and evaluation of acute oral toxicity of aqueous goosegrass extract (*Eleusine indica* (L.) Gaertner., Poaceae)

Hoang Thi Phuong Lien, Nguyen Thi Bach Tuyet, Do Gia Man, Vu Anh Minh Trang and Nguyen Huu Phuc

ABSTRACT

People use the decoction of *Eleusine indica* (L.) Gaertner's Poaceae leaves to treat infections, fever, and inflammation. However, the pharmacological effects of herbal remedy have not been fully evaluated in Vietnam. This study examines the antioxidant effects and acute toxicity of *Eleusine indica*'s aqueous extract. We collected the plant in Hoc Mon District, Ho Chi Minh City, in April 2023. We determined the preliminary chemical composition using the Ciuley method and prepared the aqueous extract by hot extraction. We measured the total polyphenol content at 25.87 mg GAE/g using the Folin-Ciocalteu reagent. *In vitro* antioxidant activity was assessed by the DPPH method with an IC₅₀ of 359.26 µg/mL, compared to the quercetin standard with an IC₅₀ of 3.02 µg/mL. An *in vivo* acute toxicity test on ICR strain white mice found that the extract was safe at a dose of 5000 mg/kg and a volume of 50 mL/kg given by mouth. In conclusion, the aqueous extract of *Eleusine indica* exhibited lower antioxidant activity compared to quercetin and showed no acute toxicity.

Keywords: *Eleusine indica*, Poaceae, polyphenol, antioxidant, acute toxicity

Received: 28/08/2024

Revised: 21/10/2024

Accepted for publication: 22/11/2024