

Khảo sát tổng hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa của rễ cây đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harm) trồng bằng phương pháp tự nhiên và phương pháp khí canh

Nguyễn Ngọc Quý^{1,*}, Nguyễn Văn Thủy¹, Nguyễn Dương Vũ¹, Nguyễn Thị Hồng Phúc¹, Trương Thanh Hưng², Nguyễn Quang Thạch², Ngô Thi Lam Giang², Lê Thị Thu Trang³, Nguyễn Đăng Khoa³, Lê Kim Phụng³

¹Viện Kỹ thuật Công nghệ cao Nguyễn Tất Thành, Đại học Nguyễn Tất Thành

²Viện Sinh học Nông nghiệp Tất Thành, Đại học Nguyễn Tất Thành

³Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

*nnquy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) là loại dược liệu quý đã được sử dụng từ lâu ở Việt Nam. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng *P. fruticosa* có tác dụng dược lý tương tự Nhân sâm. Tuy nhiên, *P. fruticosa* có chi phí rẻ hơn và dễ trồng hơn Nhân sâm nên ngày càng có nhiều phương pháp nuôi trồng mới trong đó có phương pháp khí canh. Nghiên cứu này nhằm xác định tổng hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxy hóa của cao còn rễ đinh lăng dựa trên phương pháp đo quang UV-Vis. Cao còn rễ đinh lăng trồng bằng phương pháp khí canh cho giá trị tổng hàm lượng polyphenol là 125,37µgGAE/mg và hàm lượng flavonoid là 86,13µgQE/mg, cao hơn cao còn rễ đinh lăng trồng bằng phương pháp thường ($p < 0.05$). Giá trị IC_{50} của cao còn rễ đinh lăng khí canh theo phương pháp DPPH và ABTS lần lượt là 73,54 và 35,33g/ml, cho thấy tiềm năng về khả năng chống oxy hóa mạnh. Theo kết quả điều tra hiện tại, *P. fruticosa* có hoạt tính chống oxy hóa đáng kể và có tiềm năng sử dụng để điều trị các bệnh khác nhau.

Nhận 08.08.2019

Được duyệt 30.11.2019

Công bố 25.12.2019

Từ khóa

đinh lăng, khí canh, polyphenol, flavonoid, DPPH, ABTS

© 2019 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Theo tiến sĩ Trương Thị Đẹp (2014), cây đinh lăng (*Polyscias fruticosa*) thuộc họ ngũ gia bì (Araliaceae), cùng họ Nhân sâm, là dược liệu quý được sử dụng nhiều trong y học dân gian Việt Nam và Trung Quốc[1]. Đinh lăng có nguồn gốc ở vùng đảo Polynesian ở Thái Bình Dương. Loài được sử dụng nhiều nhất là đinh lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) trồng ở Đông Nam Á và các đảo nhiệt đới của Thái Bình Dương, Indonesia, Lào, Papua New Guinea, Malaysia, Myanmar, Philippine, Singapore, Thái Lan và Việt Nam. Ở Việt Nam, đinh lăng được trồng rộng rãi khắp các địa phương như một cây gia vị, làm cảnh hay một cây thuốc tại gia. Cây thường được trồng từng khóm nhỏ trong vườn quanh nhà[1]. Đinh lăng là cây sống nhiều năm, ưa ẩm, ưa sáng, nhưng cũng chịu hạn và chịu nóng, không chịu ngập úng. Cây có thể phát triển trên nhiều loại đất, nhưng tốt nhất là đất pha cát[2]. Ở Ấn Độ, đinh lăng được cho là cây có tính làm săn, dùng trong điều trị sốt. Ở

Campuchia, lá đinh lăng được phối hợp với các cây thuốc khác làm bột hạ nhiệt, thuốc giảm đau. Tại Việt Nam, lá đinh lăng chữa ho, đau đầu, cảm sốt, mề đay. Vô thân cây dùng thúc đẩy việc loại bỏ nhau thai sau khi sinh con, chữa đau nhức. Rễ cây kháng khuẩn, kháng nấm và lợi tiểu[2,3]. Theo nghiên cứu của giáo sư Ngô Ứng Long và cộng sự của ông thuộc học viện Quân y[4], trong rễ Đinh lăng có chứa nhiều saponin giống như sâm, các vitamin B₁, B₂, B₆, C và 20 acid amin cần thiết cho cơ thể và những acid amin không thể thay thế được như lyzin, cystein, methionin... Những nghiên cứu của tiến sĩ Nguyễn Thị Thu Hương đã chỉ ra Đinh lăng có các tác dụng dược lý tương tự như cây sâm nhưng giá thành lại rẻ hơn và dễ trồng hơn sâm. Cụ thể, theo nghiên cứu của tác giả, cây có tác dụng tăng thể lực, kích thích các hoạt động của não bộ, giải tỏa lo âu, mệt mỏi, chống oxy hóa, bảo vệ gan và kích thích miễn dịch[5,6].

Hiện nay, nghiên cứu hoạt chất từ thiên nhiên đang được các nhà nghiên cứu và người sử dụng quan tâm vì khả năng chữa bệnh hiệu quả và tính an toàn đối với bệnh nhân. Với nhiều tác



dụng dược lí và tiềm năng sinh học cao, đỉnh lã đang được chú trọng nhân giống, nuôi trồng bằng các phương pháp mới như khí canh. Đây là phương pháp trồng cây trong không khí; chất dinh dưỡng và nước sẽ được cung cấp qua hệ thống bom phun sương. Tại Việt Nam, năm 2017, đã có nghiên cứu ứng dụng thành công công nghệ khí canh trong nhân giống vô tính và sản xuất sinh khối dược liệu đỉnh lã [7]. Tuy nhiên, nghiên cứu về cây đỉnh lã được trồng bằng phương pháp mới này còn hạn chế, chưa có nhiều dữ liệu khoa học minh chứng, so sánh thành phần và hoạt tính của cây đỉnh lã trồng bằng phương pháp khí canh với cây được trồng tự nhiên.

Do đó, chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu này nhằm cung cấp những dữ liệu khoa học về so sánh thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của rễ, thân, lá cây đỉnh lã được trồng tự nhiên và trồng bằng phương pháp khí canh. Từ đó, bước đầu định hướng nghiên cứu sử dụng rộng rãi nguồn dược liệu đỉnh lã được nuôi trồng bằng các phương pháp mới.

2 Thực nghiệm

2.1 Hóa chất

Đỉnh lã trồng tự nhiên và trồng khí canh được thu hái vào tháng 04 năm 2018, ở Trung tâm Công nghệ Sinh học TP.HCM, quận 12. Nguyên liệu được sơ chế và tiến hành chiết nóng 2 lần với dung môi ethanol, dịch chiết sẽ được cô thành cao và tiến hành khảo sát các yếu tố. Các chất chuẩn như acid gallic, quercetin, Folin 10%, DPPH và ABTS đều được nhập khẩu từ Đức (Merk).

2.2 Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol trong dược liệu

Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol trong dược liệu được tiến hành dựa trên phương pháp Folin-Ciocalteu của Vương và cộng sự (2013)[8] với một số chỉnh sửa như sau: Hỗn hợp 0,25ml dịch chiết và 1,25ml dung dịch thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% (khối lượng/thể tích) được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 08 phút. Sau đó, thêm vào dung dịch trên 1ml dung dịch Na_2CO_3 7,5% (khối lượng/thể tích) và ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 60 phút. Cuối cùng, dung dịch trên sẽ được đo quang UV-Vis ở bước sóng 765nm, với acid gallic là chất chuẩn. Tổng hàm lượng polyphenol trong dược liệu sẽ được trình bày tương ứng theo khối lượng μg acid gallic trên khối lượng mg cao dược liệu.

2.3 Phương pháp xác định tổng hàm lượng flavonoid trong dược liệu:

Dựa trên phản ứng thay đổi màu của hợp chất flavonoid khi tác dụng với dung dịch AlCl_3 , hàm lượng flavonoid trong dược liệu được xác định bằng phương pháp đo quang UV-Vis của Vương và cộng sự năm 2013 đã được chỉnh sửa [8]. Đầu tiên, 0,5ml dịch chiết và 4,3ml ethanol sẽ được hòa với 0,1ml dung dịch AlCl_3 10% và 0,1ml dung dịch CH_3COOK 1M. Hỗn hợp trên sẽ được ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và được đo quang UV-Vis ở bước sóng 415nm với quercetin là chất chuẩn. Hàm lượng flavonoid trong dược

liệu sẽ được trình bày tương ứng theo khối lượng μg quercetin trên khối lượng mg cao dược liệu.

2.4 Phương pháp khảo sát hoạt tính chống oxi hoá DPPH trong dược liệu

Phương pháp khảo sát hoạt tính chống oxi hoá DPPH trong dược liệu được tiến hành dựa trên phương pháp DPPH của Vương và cộng sự (2013)[8] với một số chỉnh sửa như sau: Đầu tiên, dung dịch mẹ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) được pha bằng cách hòa 24 mg DPPH trong 100ml ethanol và được bảo quản trong tối ở nhiệt độ -20°C . Tiếp theo, dung dịch thuốc thử DPPH sẽ được chuẩn bị ngay trước khi sử dụng. Dung dịch thuốc thử DPPH được pha bằng cách hòa 10ml dung dịch mẹ trong khoảng 45ml ethanol, và được điều chỉnh sao cho giá trị khi đo quang ở 517nm là $1,1 \pm 0,02$. Sau đó, hỗn hợp 0,5ml dịch chiết và 1,5ml dung dịch thuốc thử DPPH sẽ được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và được đo quang UV-Vis ở bước sóng 517nm. L-Ascorbic acid là chất chuẩn, cũng được tiến hành tương tự mẫu dịch chiết. Tỷ lệ phần trăm các gốc tự do trong thuốc thử DPPH được dịch chiết ức chế được tính theo công thức sau [9]:

$$\%IC = \frac{OD \text{ của mẫu trắng} - OD \text{ của mẫu thử}}{OD \text{ của mẫu thử}} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó: %IC là tỷ lệ phần trăm các gốc tự do được dịch chiết ức chế (%), OD của mẫu trắng là mật độ quang (Optical Density) tại 734nm của mẫu trắng, OD của mẫu thử là mật độ quang (Optical Density) tại 734nm của mẫu thử.

Giá trị IC_{50} của dịch chiết là tại nồng độ này, dịch chiết có khả năng ức chế 50% các gốc tự do của thuốc thử [10]. Khả năng chống oxi hóa được tính theo giá trị IC_{50} và được so sánh với giá trị IC_{50} của L-Ascorbic.

2.5 Phương pháp khảo sát hoạt tính chống oxi hoá ABTS trong dược liệu

Phương pháp khảo sát hoạt tính chống oxi hoá ABTS trong dược liệu được tiến hành dựa trên phương pháp ABTS của Thaipong (2006)[11] và Kamonwannasit (2013)[12] với một số chỉnh sửa như sau: Dung dịch mẹ ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) là hỗn hợp 10ml dung dịch ABTS 7.4mM và 10ml dung dịch $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2,6 mM. Dung dịch mẹ được bảo quản trong tối ở nhiệt độ phòng trong 15 giờ. Tiếp theo, dung dịch thuốc thử ABTS sẽ được chuẩn bị ngay trước khi sử dụng. Dung dịch thuốc thử ABTS được pha bằng cách hòa 1ml dung dịch mẹ trong khoảng 60ml ethanol và được điều chỉnh sao cho giá trị khi đo quang ở 734nm là $1,1 \pm 0,02$. Sau đó, hỗn hợp 0,5ml dịch chiết và 1,5ml dung dịch thuốc thử ABTS sẽ được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và được đo quang UV-Vis ở bước sóng 734nm. L-Ascorbic acid là chất chuẩn, cũng được tiến hành tương tự mẫu dịch chiết. Tỷ lệ phần trăm các gốc tự do trong thuốc thử DPPH được dịch chiết ức chế được tính theo công thức (1) [9]:

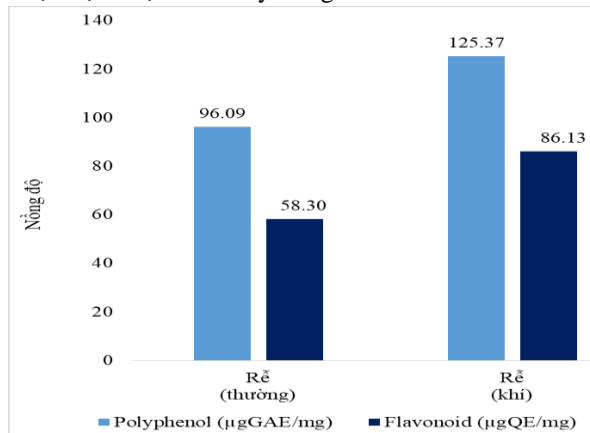
Trong đó: %IC là tỉ lệ phần trăm các gốc tự do được dịch chiết ức chế (%), OD của mẫu trắng là mật độ quang (Optical Density) tại 734nm của mẫu trắng, OD của mẫu thử là mật độ quang (Optical Density) tại 734nm của mẫu thử.

Giá trị IC_{50} của dịch chiết là tại nồng độ này, dịch chiết có khả năng ức chế 50% các gốc tự do của thuốc thử [10]. Khả năng chống oxi hóa được tính theo giá trị IC_{50} và được so sánh với giá trị IC_{50} của L-Ascorbic.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong dược liệu

Polyphenol và flavonoid là một trong những thành phần quan trọng nhất và chiếm tỉ lệ lớn trong thực vật nói chung. Đây là những chất chống oxi hóa mạnh. Vì vậy, chỉ tiêu này khá quan trọng trong nghiên cứu hoạt tính chống oxi hóa của thực vật. Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong dược liệu được trình bày trong Hình 1.



Hình 1 Hàm lượng polyphenol và flavonoid của rễ cây đinh lăng trồng tự nhiên và trồng bằng phương pháp khí canh

Theo Marja và các đồng sự, những loại thực vật có hàm lượng polyphenol lớn hơn $20\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ được xem là có hoạt tính chống oxi hóa mạnh [12]. Kết quả cho thấy rễ cây đinh lăng trồng tự nhiên và trồng bằng phương pháp khí canh có chứa hàm lượng polyphenol khá cao, lần lượt là $96,09\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ và $125,37\mu\text{gGAE}/\text{mg}$. Vì vậy, rễ đinh lăng trồng tự nhiên và trồng bằng phương pháp khí canh đều là nguồn chất chống oxi hóa tự nhiên dồi dào, có nhiều tiềm năng ứng dụng trong thực tế.

Rễ đinh lăng trồng bằng phương pháp khí canh chứa hàm lượng polyphenol ($125,37\mu\text{gGAE}/\text{mg}$) và flavonoid ($86,13\mu\text{gQE}/\text{mg}$) cao hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với cây trồng tự nhiên, chứa hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là $96,09\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ và $58,30\mu\text{gQE}/\text{mg}$.

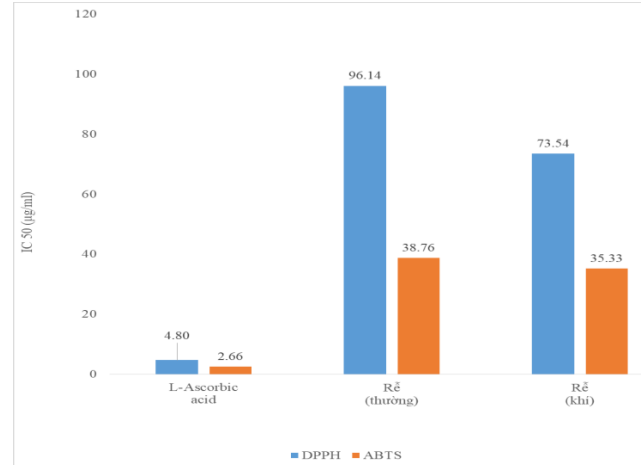
3.2 Khảo sát hoạt tính chống oxi hóa của cây đinh lăng bằng phương pháp DPPH và ABTS

Khả năng chống oxi hóa của cao rễ đinh lăng trồng tự nhiên và trồng bằng phương pháp khí canh được khảo sát trên nhiều nồng độ khác nhau, từ đó xác định được khoảng tuyến tính giữa nồng độ với khả năng chống oxi hóa IC (%) của từng loại cao chiết. Dựa vào phương trình hồi qui tuyến tính

ta xác định được giá trị IC_{50} là nồng độ dọn dẹp được 50% gốc tự do DPPH và ABTS. Các mẫu có giá trị IC_{50} càng thấp thì hoạt tính chống oxi hóa càng cao.

Hoạt tính chống oxi hóa của cây đinh lăng bằng phương pháp DPPH và ABTS được trình bày trong Hình 2.

Kết quả khảo sát cho thấy giá trị IC_{50} theo phương pháp DPPH và ABTS của các mẫu tăng dần theo thứ tự: L-Ascorbic, rễ khí canh và rễ thường. Dựa vào Hình 1 và 2, ta



Hình 2 Hoạt tính chống oxy hóa của cây đinh lăng trồng tự nhiên và trồng bằng phương pháp khí canh

thấy hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng chống oxi hóa tỉ lệ thuận với nhau. Hàm lượng polyphenol, flavonoid càng tăng, thì hoạt tính chống oxi hóa càng mạnh. Những hợp chất phenolic có nhiều nhóm OH tự do, các OH tự do này thường dễ dàng nhường proton H^+ cho các chất oxi hóa làm trung hòa các gốc tự do. Do đó, các cao chiết có chứa càng nhiều các hợp chất phenolic thì hoạt tính chống oxi hóa theo cơ chế quét gốc tự do cần H^+ càng cao. Điều này tương tự kết quả nghiên cứu của tiến sĩ Hương [5,6] và Rungthip Kawaree [7].

Rễ cây đinh lăng khí canh có hiệu quả chống oxi hóa mạnh nhất với giá trị IC_{50} theo phương pháp DPPH và ABTS lần lượt là $73,54\mu\text{g}/\text{ml}$ và $35,33\mu\text{g}/\text{ml}$. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng chống oxi hóa của rễ cây đinh lăng trồng bằng phương pháp khí canh.

4 Kết luận

Khảo sát hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính chống oxi hóa, ta có kết luận là rễ đinh lăng trồng bằng phương pháp khí canh có chứa hàm lượng hai hoạt chất trên và khả năng chống oxi hóa cao hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với rễ cây đinh lăng trồng tự nhiên. Cụ thể, rễ đinh lăng trồng bằng phương pháp khí canh chứa hàm lượng polyphenol $125,37\mu\text{g GAE}/\text{mg}$ và flavonoid $86,13\mu\text{gQE}/\text{mg}$, còn rễ cây đinh lăng trồng tự nhiên chứa hàm lượng polyphenol và flavonoid lần lượt là $96,09\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ và $58,30\mu\text{gQE}/\text{mg}$. Đồng thời, rễ cây đinh lăng khí canh có hiệu quả chống oxi hóa mạnh nhất với

giá trị IC₅₀ theo phương pháp DPPH và ABTS lần lượt là 73,54 và 35,33 (µg/ml). Tuy nhiên, các nghiên cứu sâu hơn như phân lập ra các hoạt chất từ các phân đoạn trên, khảo sát khả năng chống oxi hóa trên mô động vật nhằm tìm ra hoạt chất tinh khiết có hoạt tính sinh học cao nhất và ứng dụng thực tế tiềm năng nguồn dược liệu đỉnh lăng

khí canh vào các sản phẩm thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ NTTU, mã số đề tài 2019.01.24.

Tài liệu tham khảo

1. Trương Thị Đẹp (2014). *Thực vật dược*. NXB giáo dục. 263 - 264.
2. Đỗ Tất Lợi (2003). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học. 863-868.
3. Phạm Tố Liên và Võ Thị Bạch Mai (2007). Bước đầu nghiên cứu sự tạo dịch treo tế bào cây Đinh lăng *Polycias fruticosa* (L.) Harms. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*. 10(07). 11-15
4. Ngô Ứng Long và cs (1993). Nghiên cứu dược lí cây Đinh lăng trên chức năng của hệ thần kinh ngoại biên. *Tạp chí Dược học*. 5. 10 - 12.
5. Nguyễn Thị Thu Hương và cs (2003). Nghiên cứu tác dụng chống oxy hoá của cây Đinh lăng. *Tạp chí Dược liệu*. 5(8). 142 - 146.
6. Nguyễn Thị Thu Hương và cs (2004). Nghiên cứu tác dụng chống oxy hoá của cây Đinh lăng. *Tạp chí Dược liệu*. 3. 85 - 89.
7. Rungthip Kawaree, Sombat Chowwanapoonpoh. (2009). Stability of Chemical Components and Antioxydant Activity of Volatile Oils from Some Medicinal Plants in Thailand. *Journal of Natural Sciences*. 8 (1). 23-36
8. Vuong Q V, Hirun S, Roach P D, Bowyer M C, Philip P A and Scalett C J. Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxydant activities of *Carica papaya* leaves aqueous extracts. *J. Herbal Med.* (2013) 3 104-111.
9. Gülçin I 2009 Antioxydant activity of L–adrenaline: A structure–activity insight *Chem Biol Interact* 179(2–3) 71–80.
10. Liu S C, Lin J T, Wang C K 2009 Antioxydant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* sonn.) flowers *Food Chem* 114 577-581.
11. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. And Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxydant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.* 19, 669–675.
12. Kamonwannasit, S., Nantapong, N., Kumkrai, P., Luecha, P., Kupittayanant, S. And Chudapongse, N. 2013. Antibacterial activity of *Aquilaria crassna* leaf extract against *Staphylococcus epidermidis* by disruption of cell wall. *Ann. Clin. Microb. Anti.* 12, 1–7.
13. Marja, P. Kahkonen, Anu, I. H., Heikki, J. V., Jussi Pekka, R., Kalevi, P., Tytti, S. K., Marina, H. (1999), “Antioxydant activity of plant extracts containing phenolic compounds” *J. Agric. Food Chem* 47 3954-3961.

Evaluate the total polyphenol, flavonoid and antioxydant activity of dinh lang roots (*Polycias fruticosa* (L.) Harm) naturalli grown and cultivated by aeroponic methods

Nguyen Ngoc Quy^{1,*}, Nguyen Van Thuy¹, Nguyen Thi Hong Phuc¹, Truong Thanh Hung², Nguyen Quang Thach², Ngo Thi Lam Giang², Le Thi Thu Trang³, Nguyen Dang Khoa³, Le Kim Phung³

¹NTT Hi-Tech Institute, Nguyen Tat Thanh University ²Tat Thanh Insitute of Agrobiology, Nguyen Tat Thanh University

³Department of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

*nnquy@ntt.edu.vn

Abstract *Polycias fruticosa* (L.) Harms is a precious medicinal plant that has been used for a long time in Vietnam. Previous studies have shown that *P.fruticosa* has the same pharmacological effects as Ginseng. However, because the cost is cheaper and it is easier to grow than Ginseng, Nowadays, more and more new methods are used to grow *P.fruticosa*, like aeroponics. This research aims to evaluate the total polyphenol, flavonoids content and antioxydant activities of *P.fruticosa* using UV-VIS spectrophotometry. The results indicated that the highest total polyphenol content was 125.37µg GAE/mg extract and flavonoid content was 86.13µg QE/mg for dry ethanol extract in *P.fruticosa* roots grown using aeroponics technology. The IC₅₀ value of this extract using DPPH and ABTS methods were 73.54 and 35.33µg/ml, respectively, which showed high potential antioxydant activity. According to the results of present investigation, the plant showed significant antioxydant activity that can be used for the treatment of various diseases.

Keywords *Polycias fruticosa*, polyphenol, flavonoids, aeroponics, DPPH and ABTS.