

# Khảo sát điều kiện chiết xuất lá cây Dung (*Symplocos cochinchinensis* (Lour.) Moore) để thu cao chiết có hoạt tính chống oxy hóa

Phan Thiện Vy\*, Chế Quang Minh, Lư Bích Ngọc Giàu

Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

\*ptvy@ntt.edu.vn

## Tóm tắt

Cây Dung là một loài cây gỗ thường mọc ở miền Trung và Tây Nguyên. Lá Dung thường được sử dụng trong y học cổ truyền để hỗ trợ hệ tiêu hóa, chữa các chứng khó tiêu và rối loạn kinh nguyệt. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng dịch chiết từ lá Dung có nhiều hoạt tính hữu ích, bao gồm khả năng hạ lipid máu, chống oxy hóa, gây độc tế bào và hạ đường huyết. Nghiên cứu đã thu thập và xác định được mẫu thực vật lá Dung từ huyện Trà Bồng, tỉnh Quảng Ngãi là loài *Symplocos cochinchinensis* bằng phương pháp DNA. Nghiên cứu tối ưu hóa hoạt tính chống oxy hóa của lá Dung, được thực hiện bằng phương pháp khảo sát điều kiện chiết xuất. Các dung môi được sử dụng bao gồm nước, ethanol (EtOH) (50, 70 và 96) %. Ngoài ra, các điều kiện hỗ trợ như siêu âm và nhiệt độ cũng được xem xét. Kết quả cho thấy rằng chiết xuất bằng EtOH 70 % và siêu âm trong 20 phút tại 40 °C tạo ra cao chiết có hoạt tính chống oxy hóa đánh giá bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH tốt nhất,  $C_{50} = (439,99 \pm 14,58) \mu\text{g/mL}$

Nhận 20/04/2024  
Được duyệt 19/05/2024  
Công bố 20/06/2024

## Từ khóa

lá Dung, *Symplocos cochinchinensis*, chống oxy hóa, EtOH 70 %, siêu âm

© 2024 Journal of Science and Technology - NTTU

## 1 Đặt vấn đề

Lá Dung (LD) từ lâu là thức uống dân dã trong dân gian, cây thường mọc tự nhiên ở vùng núi các tỉnh miền Trung và Tây Nguyên [1]. Nước lá có màu vàng mượt óng ánh, vị ngọt mát đầu lưỡi có nhiều tác dụng như giúp tiêu hóa tốt, hỗ trợ điều trị đau dạ dày, tá tràng, tiêu chảy, làm dịu cơn đói bụng tạm thời, giúp thanh lọc cơ thể, tiêu độc, tiêu mỡ (hỗ trợ giảm cân), cân bằng huyết áp, hỗ trợ kháng khuẩn, kháng viêm, mau lành vết thương, giúp thông huyết, điều kinh, giảm đau khớp xương...

Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của cây Dung và những cây cùng chi; cũng như các thử nghiệm *in vivo* về tác dụng nổi trội của cây Dung trong điều trị đái tháo đường (ĐTĐ) [2], kháng khối u [3, 4],... đã được tiến hành. Nhiều nghiên cứu cho thấy trong chi *Symplocos* có nhiều thành phần hóa học khác nhau, các thành phần được chú ý nhiều là

saponin, flavonoid, lignan và polyphenol. Ngoài ra, có các thành phần khác như là steroid, alkaloid, iridoid, megastigman, alcol mạch dài, ester mạch dài, một vài nguyên tố [5-7]. Chi *Symplocos* có nhiều tác dụng dược lý nổi bật và quan trọng như: kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hóa, gây độc tế bào, có tác dụng trong điều trị đái tháo đường, hỗ trợ điều trị các bệnh đường tiêu hóa [5, 7-11].

Các hợp chất polyphenol trong lá *Symplocos cochinchinensis* đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa. Thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* khả năng chống oxy hóa của dịch chiết methanol cho tác dụng mạnh mẽ, cụ thể dịch chiết cho thấy hoạt tính bắt gốc tự do rất tốt,  $IC_{50}$  trên mô hình bắt gốc tự do DPPH là 620,30  $\mu\text{g/mL}$ , hydroxyl là 730,21  $\mu\text{g/mL}$  và nitric oxyd là 870,31  $\mu\text{g/mL}$ , thử nghiệm peroxid hóa lipid là 710,21  $\mu\text{g/mL}$ . Trong thử nghiệm *in vivo* gây stress oxy hóa bằng  $\text{CCl}_4$ , dịch chiết (250 và 500 mg/kg) cho tác

dụng giảm SGOT, SGPT và LDH tương đương với silymarin (25 mg/kg) [12]. Các thành phần như symplocosid, acid betulinic trong cây cũng có tác dụng bảo vệ gan, chống oxy hóa [8].

Thành phần  $\alpha$ -amyrin, acid oleanolic và acid ursolic trong LD được chứng minh là tác nhân chống oxy hóa, thu gom gốc tự do mạnh mẽ [13],  $\beta$ -amyrin đã được thử nghiệm *in vivo* chứng minh tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan [14]. Nhiều nghiên cứu cũng chứng minh thành phần  $\beta$ -sitosterol trong lá *Symplocos cochinchinensis* cho tác dụng chống oxy hóa, với  $IC_{50} = 500 \mu\text{g/mL}$  ở dịch chiết EtOH [15].

Chất chống oxy hóa đóng một vai trò quan trọng đối với sức khỏe con người, vì chúng có thể ức chế hoặc trì hoãn các phản ứng oxy hóa không mong muốn và do đó ngăn ngừa stress oxy hóa liên quan đến các bệnh như huyết áp cao, rối loạn thoái hóa thần kinh hoặc ung thư [16]. Những nghiên cứu trên đã cho thấy tiềm năng chống oxy hóa đáng kể của LD, tuy nhiên chưa có nghiên cứu cụ thể về điều kiện và phương pháp chiết xuất nhằm thu được cao LD có hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất để phục vụ cho sản xuất và sử dụng trong điều trị các bệnh liên quan. Vì vậy, việc khảo sát chiết xuất nhằm thu cao chiết có hoạt tính chống oxy hóa từ LD. Cao LD với hoạt tính chống oxy hóa tốt có thể ứng dụng trong các chế phẩm giúp ngăn ngừa stress oxy hóa, hỗ trợ trong điều trị các bệnh như cao huyết áp, rối loạn thoái hóa thần kinh và ung thư.

## 2 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1 Đối tượng nghiên cứu

LD được thu hái tại huyện Trà Bồng, Quảng Ngãi, Việt Nam vào tháng 06/2023 lưu tại phòng thí nghiệm bộ môn Dược liệu Trường Đại học Nguyễn Tất Thành. LD được phơi khô, xay thành bột, lọc qua rây số 1400 để thu được bột có kích thước khoảng 1,4 mm, bảo quản ở nhiệt độ phòng.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Định danh mẫu thực vật

Mẫu thực vật được định danh bằng phương pháp giải trình tự gen *matK* và định danh phân biệt.

Nguyên vật liệu: mẫu lá tươi; hóa chất chiết DNA: Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific™), Cat. No. K0512; hóa chất PCR: i-Taq™ DNA Polymerase (iNtRON Biotechnology, Inc.), Cat. No. 25021; môi do công ty Phù Sa cung cấp (gen: *matK*; forward primer (5'-3'):

CCCRTYCATCTGGAAATCTTGGTTC; reverse primer (5'-3'): GCTRTRATAATGAGAAAGATTTCTGC) [17].

Quy trình thực hiện: mẫu DNA được chiết theo quy trình chiết DNA của Thermo. Mẫu DNA sau khi chiết được kiểm tra nồng độ bằng cách đo quang ở 260 nm. Khuếch đại đoạn gen mục tiêu và định danh loài: một phần đoạn DNA mã hóa cho gen mục tiêu được khuếch đại bằng iTaq với nhiệt độ gắn mồi là 55 °C; sản phẩm sau khi PCR được kiểm tra sự hiện diện của các băng DNA mục tiêu và gửi giải trình tự ở công ty GeneLab. Trình tự DNA sau khi giải được phân tích và so sánh bằng công cụ BLAST với ngân hàng gen để định danh đến loài. Mẫu có kết quả định danh với các loài khá tương đồng sẽ được giống hàng để tìm loài có mức độ tương đồng cao nhất.

#### 2.2.2 Phân tích sơ bộ thành phần hóa học

Dựa vào độ hòa tan của các hợp chất trong dược liệu, chiết tách hỗn hợp với các dung môi theo độ phân cực tăng dần: kềm phân cực, phân cực trung bình và phân cực mạnh. Bằng cách chiết dược liệu lần lượt với các dung môi: diethyl ether, ethanol và nước. Sau đó xác định các nhóm hợp chất như chất béo, carotenoid, tinh dầu, triterpenoid tự do, alkaloid, coumarin, antraglycosid, flavonoid, glycosid tim, anthocyanosid, proanthocyanidin, tanin, triterpenoid thủy phân, saponin, acid hữu cơ, chất khử, hợp chất polyuronic trong từng dịch chiết bằng phản ứng đặc trưng [18].

#### 2.2.3 Khảo sát điều kiện chiết xuất

Mục đích khảo sát các điều kiện chiết xuất là xác định dung môi, các phương pháp hỗ trợ chiết xuất (nhiệt độ, siêu âm) để thu được cao LD có hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất. Các bước khảo sát được tiến hành như sau: *Bước 1*: khảo sát dung môi chiết xuất

Dung môi khảo sát gồm nước, EtOH 50 %, EtOH 70 % và EtOH 96 %.

Bột dược liệu được ngâm với dung môi theo tỷ lệ dược liệu/dung môi (1:5) ở nhiệt độ thường trong 60 phút, lọc thu dịch chiết, cô ở nhiệt độ 50 °C đến cao đặc (độ ẩm cao dưới 20 %). Các cao đặc được tiến hành thử hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH. Cao chiết có giá trị hoạt tính chống oxy hóa ( $IC_{50}$ ) tốt nhất thì dung môi đó được lựa chọn để tiến hành khảo sát tiếp theo.

*Bước 2*: Khảo sát phương pháp hỗ trợ chiết xuất

Phương pháp chiết xuất được khảo sát gồm 5 điều kiện: (1) chiết nóng nhiệt độ 40 °C trong 60 phút; (2) chiết



nóng nhiệt độ 70 °C trong 60 phút; (3) chiết hỗ trợ siêu âm (PowerSonic 410 – 40 kHz, 400 W) trong 5 phút; (4) chiết hỗ trợ siêu âm (PowerSonic 410 – 40 kHz, 400 W) trong 15 phút; và (5) chiết hỗ trợ siêu âm (PowerSonic 410 – 40 kHz, 400 W) trong 20 phút.

Sau khi chiết nóng hoặc chiết hỗ trợ siêu âm theo 5 điều kiện trên, dịch chiết được lọc và cô ở nhiệt độ 50 °C đến cao đặc (độ ẩm cao dưới 20 %). Các cao đặc được tiến hành thử hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH.

#### 2.2.4 Thử hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH

Các mẫu nghiên cứu được xác định hoạt tính chống oxy hóa bằng cách cho tác dụng với một gốc tự do ổn định là 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sự giảm DPPH được xác định bằng cách đo quang dựa trên sự giảm độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm.

Quy trình thử hoạt tính chống oxy hóa gồm 3 bước chính:

**Bước 1:** chuẩn bị hóa chất dùng trong thử nghiệm như sau: (i) mẫu thử được pha trong MeOH thành dãy nồng độ từ (16-1024) µg/mL; (ii) mẫu chứng dương là vitamin C được pha tương tự mẫu thử thành dãy nồng độ (1,56 – 25) µg/mL; (iii) thuốc thử DPPH nồng độ 0,2 mM pha trong MeOH.

**Bước 2:** khảo sát hoạt tính chống oxy hóa thực hiện trên đĩa 96 giếng, cho lần lượt các loại mẫu vào đĩa như sau: (i) mẫu thử gồm 100 µL mẫu cao/ vitamin C và 100 µL DPPH; (ii) mẫu chứng thử gồm 100 µL mẫu cao/vitamin C và 100 µL MeOH/DMSO; (iii) mẫu chứng âm gồm 100 µL MeOH/DMSO và 100 µL DPPH; (iv) mẫu trắng chứa 200 µL MeOH/DMSO. Đĩa 96 giếng được ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó đo quang ở bước sóng 517 nm.

**Bước 3:** so sánh sự giảm hàm lượng DPPH giữa mẫu thử và mẫu chứng âm (không có chất ức chế) để xác định phần trăm ức chế. Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Thử nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần. Kết quả trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (Mean ± SD). Dạng đường

biểu diễn giữa phần trăm ức chế và nồng độ chất ức chế để xác định chỉ số IC<sub>50</sub>.

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

$$HTCO (\%) = \left[ 1 - \left( \frac{A_{thử} - A_{chứng thử}}{A_{chứng âm} - A_{trắng}} \right) \right] \times 100$$

#### 3 Kết quả vào thảo luận

3.1 Mẫu thực vật được xác định là LD *Symplocos cochinchinensis* bằng phương pháp giải trình tự gen. Kết quả tách chiết DNA tổng số: OD<sub>260/280</sub> = 1,500; nồng độ DNA = 11 ng/µL.

Kết quả giải trình tự gene *matK* mẫu thực vật (731 bp):  
 TTGAGGATCCACTATGATAATGAGAAAGATTT  
 CTATATATACGCCCGAATCGGTCAATAATATC  
 AGAATCTGATAAATCGGCCAGACTGGCTTAC  
 TAATGGGATATCCTAACACGTTACAAAATTC  
 GCTTTAGACAATGATCCGATCAGAGGAATAA  
 TTGGAAGTACTGATCGAACTTTTAAATAGCA  
 TTTCTATTAGAAATGCGTTTTCTAGCAGTTG  
 ACTCCGTACCATTGAAGGGTTTAGTCGCACAC  
 TTGAAAGATAGCCCAGAAAGTCGAGGGAATG  
 ATGGGATAATTGGTTTATATGGATCCTTCTCG  
 GTTGAGACCACATGTAAAATAACATTGCCAT  
 AAATTGACAAAGTAATATTTCCATTTCTTCAT  
 CAAAATAAACGTCCCTTTTGAAACCAAATG  
 GATTTTCCTTGATACCTAACATAATGCATGAA  
 AGGATCCTTGAACAACCATAGAATGGCCCGA  
 AAATCCTTAGTAAATACTTCTACAAAATATTC  
 TATTTTTCCATAGAAATATATTCGTTCAAGAA  
 AAATTCCAGAAGATATTAATCGTAAATGAGA  
 AGATTGGTTGCGGAGAAAACGAAGATAGAT  
 TCGTATTCACATACATGAGAATTATATAGGAA  
 CAAGAATAATCTTTGATTTTTTTTTGAAAAG  
 AAAAAGTAGATTTCTTTGGAGTAATAAGACTA  
 TTCCAATTACAATACTCGTGGAGAAAGAATCG  
 T

Kết quả phân tích BLAST trên GenBank được trình bày trong Bảng 1.

**Bảng 1** Kết quả phân tích BLAST trên GenBank của mẫu thực vật

Tên khoa học	Điểm tối đa	Tổng điểm	Tỷ lệ chồng phủ (%)	Giá trị E	Độ tương đồng (%)	Độ dài của trình tự tham chiếu	Mã số định danh
<i>Symplocos cochinchinensis</i>	1351	1351	100	0	100	747	KR531503.1
<i>Symplocos cochinchinensis</i>	1351	1351	100	0	100	750	KR531501.1
<i>Symplocos theophrastifolia</i>	1351	1351	100	0	100	787	KJ687858.1
<i>Symplocos cochinchinensis</i>	1351	1351	100	0	100	786	LC680568.1
<i>Symplocos cochinchinensis</i>	1351	1351	100	0	100	755	JN564058.1
<i>Symplocos cochinchinensis</i>	1351	1351	100	0	100	848	HQ415341.1

Dựa trên kết quả phân tích trình tự gene *matK* có thể kết luận rằng mẫu thực vật cần định danh có trình tự gene *matK* tương đồng cao nhất với hai loài *Symplocos cochinchinensis* và *Symplocos theophrastifolia*. Dựa trên phân tích tổng quan từ báo cáo của Phạm Hoàng Hộ, những cây thuộc chi *Symplocos* có ở Việt Nam [1]. Loài *S. cochinchinensis* thường gặp ở Quảng Ninh, Quảng Nam, Quảng Ngãi và Đà Nẵng, trong khi loài *S. theophrastifolia* chưa được đề cập đến. Có thể cho rằng, rằng LD đã thu thập tại huyện Trà Bồng, Quảng Ngãi, Việt Nam là loài *Symplocos cochinchinensis*.

### 3.2 Thành phần hóa học sơ bộ của LD

Sơ bộ kết luận phát hiện trong mẫu dược liệu LD (bột) có saponin, flavonoid, anthocyanosid, proanthocyanosid, polyphenol, tanin, triterpen tự do, acid hữu cơ, hợp chất khử. Phản ứng xác định saponin, flavonoid, polyphenol, acid hữu cơ, hợp chất khử cho kết quả rõ ràng. Phản ứng xác định anthocyanosid, proanthocyanosid kết quả không rõ ràng, kết quả được trình bày trong Bảng 2.

**Bảng 2** Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học lá Dung

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Hiện tượng	Kết quả định tính trên các dịch chiết		
			Ether	EtOH	Nước
<b>Flavonoid</b>	Mg/HCl đậm đặc	Hồng tới đỏ	-	++++	+++
<b>Anthocyanosid</b>	HCl	Đỏ	/	++	+
	KOH	Xanh	/	++	+
<b>Proanthocyanidin</b>	HCl/t <sup>0</sup>	Đỏ	/	++	+
<b>Triterpen tự do</b>	Liebermann-Burchard	Đỏ nâu - tím	+++	/	/
<b>Tanin</b>	FeCl <sub>3</sub>	Xanh rêu/ xanh đen	/	++++	+
	Gelatin muối	Tủa bông trắng	/	++++	+
<b>Saponin</b>	Thuốc thử Liebermann	Có vòng tím nâu	/	++++	++++
	Lắc mạnh với nước	Bọt bền > 15 phút	/	++++	++++
<b>Acid hữu cơ</b>	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Sủi bọt	/	+++	++++
<b>Chất khử</b>	Thuốc thử Fehling	Tủa đỏ gạch	/	++++	++++

(-) Không có, (±) Nghi ngờ, (+) Có ít, (++) Có, (++++) Có nhiều, (+++++) Có rất nhiều, (/) Không thực hiện

### 3.3 Kiểm tra độ tinh khiết của dược liệu

Dược liệu bột LD có độ ẩm (8,193 ± 0,085) % (dưới 13 %), độ tro toàn phần 3,4 % (không quá 8 %), độ tro không tan trong acid là 0,16 % (dưới 2 %), phù hợp theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam [19].

### 3.4 Kết quả khảo sát điều kiện chiết xuất dựa trên hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH

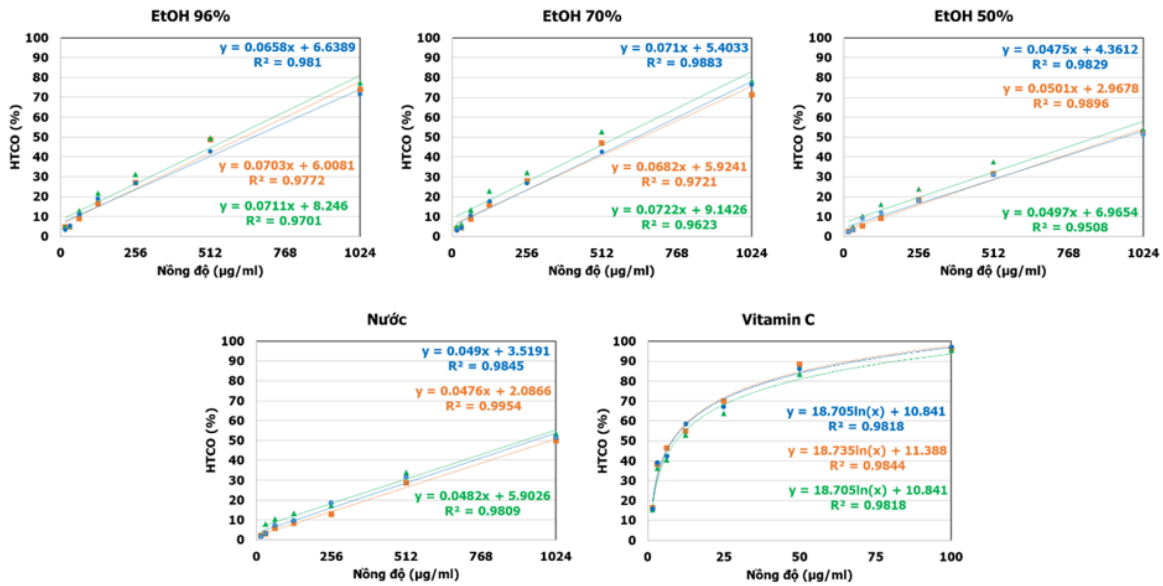
#### 3.4.1 Khảo sát các dung môi chiết xuất

Độ ẩm và giá trị hoạt tính (IC<sub>50</sub>) chống oxy hóa của các cao đặc được chiết với 4 dung môi khảo sát (nước,



EtOH 50 %, EtOH 70 % và EtOH 96 %) được trình bày trong Bảng 3. Phương trình đường thẳng  $y = ax + b$  được xây dựng dựa vào hoạt tính chống oxy hóa

(HTCO %) và nồng độ thử nghiệm, hệ số a và b được đánh giá ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) bằng phép kiểm Fisher (Hình 1).



**Hình 1** Phương trình tuyến tính hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết theo dung môi và vitamin C  
Xanh dương: lần 1, Cam: lần 2, Xanh lá: lần 3

**Bảng 3** Hiệu suất chiết và giá trị hoạt tính chống oxy hóa của các CLD được chiết với 4 dung môi khảo sát

Dung môi chiết	Hiệu suất chiết (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
EtOH 96 %	3,99	624,00 ± 35,90
EtOH 70 %	2,99	613,42 ± 42,16
EtOH 50 %	14,93	921,82 ± 49,68
Nước	13,43	956,69 ± 46,38
Vitamin C (chứng dương)	—	8,43 ± 0,78

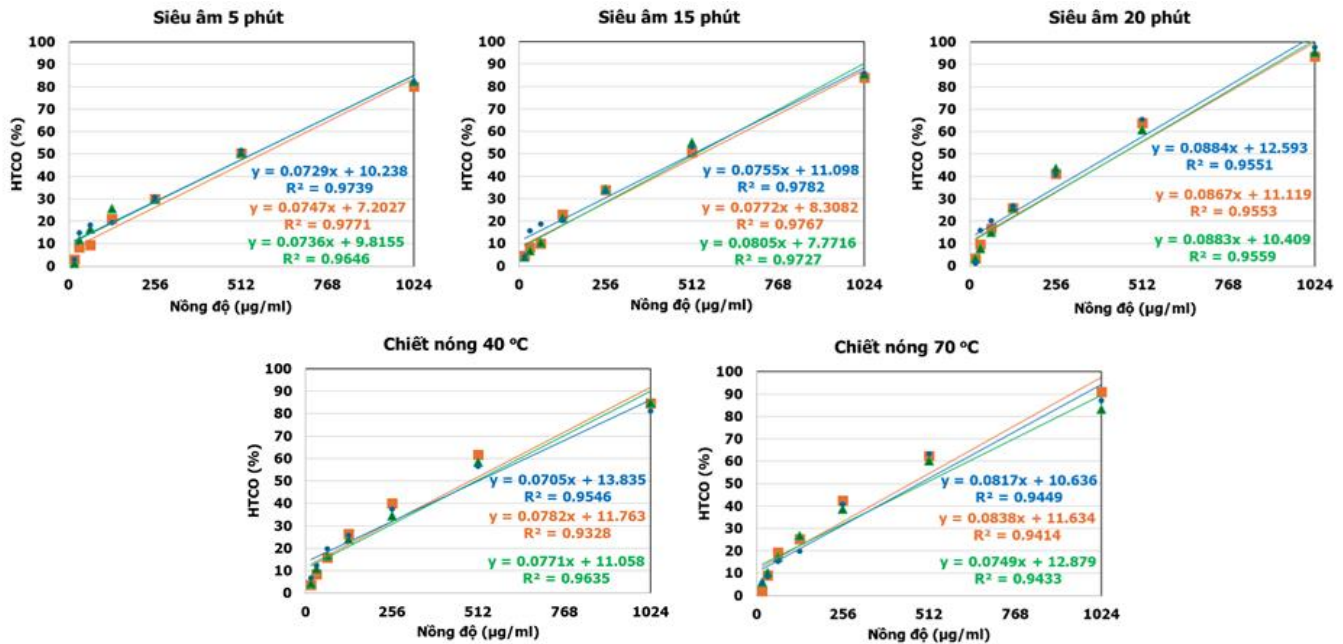
Do khảo sát thực hiện ở điều kiện nhiệt độ phòng, thời gian ngâm là 60 phút nên hiệu suất chiết khá thấp (dưới 15 %). Kết quả thử nghiệm cho thấy hiệu suất chiết và giá trị hoạt tính không tương quan với nhau, dung môi EtOH 50 % và nước mặc dù có hiệu suất chiết cao hơn nhưng hoạt tính chống oxy hóa thấp hơn EtOH 70 % và 96 %. Điều này có thể giải thích là dung môi phân cực hơn chiết được nhiều tạp không có hoạt tính chống oxy hóa hơn, ví dụ như chất nhầy. Mặc dù cao EtOH 96 % có hiệu suất chiết cao hơn nhưng hoạt tính chống oxy hóa lại thấp hơn cao EtOH 70 %, điều này có thể là do EtOH 96 % chiết được nhiều chlorophyll hơn, nhưng thành phần này lại không có hoạt tính chống oxy hóa tốt. Dung môi chiết cho CLD có giá trị hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất là EtOH 70 % (IC<sub>50</sub> = (613,42 ± 42,16)

µg/mL). Vì vậy, EtOH 70 % được lựa chọn làm dung môi chiết xuất cho các thử nghiệm tiếp theo. Kết quả thu được phù hợp với công bố trước đó của Krishna và cộng sự năm 2015 với IC<sub>50</sub> = 500 µg/mL ở dịch chiết EtOH [15], Sunil và cộng sự năm 2011 [12] (IC<sub>50</sub> = 620,30 µg/mL).

3.4.2 Khảo sát phương pháp hỗ trợ chiết xuất  
Phương trình đường thẳng  $y = ax + b$  được xây dựng dựa vào hoạt tính chống oxy hóa (HTCO %) và nồng độ thử nghiệm, hệ số a và b được đánh giá ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) bằng phép kiểm Fisher (Hình 2). Độ ẩm và giá trị hoạt tính (IC<sub>50</sub>) chống oxy hóa của các cao đặc EtOH 70 % được chiết với 5 điều kiện chiết xuất khác nhau được trình bày trong Bảng 4.

**Bảng 4** Hiệu suất chiết và giá trị hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết với các phương pháp hỗ trợ nhiệt độ, siêu âm

Điều kiện chiết	Hiệu suất chiết (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Siêu âm 5 phút	5,48	554,78 ± 15,71
Siêu âm 15 phút	5,93	526,63 ± 12,52
Siêu âm 20 phút	5,96	439,99 ± 14,58
Chiết nóng 40 °C/60 phút	14,38	491,09 ± 13,07
Chiết nóng 70 °C/60 phút	14,91	478,42 ± 19,12



**Hình 2** Phương trình tuyến tính hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết theo phương pháp hỗ trợ chiết xuất. Xanh dương: lần 1, Cam: lần 2, Xanh lá: lần 3

Chiết nóng có hiệu suất chiết tăng gấp 4,6 lần so với ngâm ở nhiệt độ phòng, nhưng không khác nhau đáng kể ở 40 °C và 70 °C. Hiệu suất chiết bằng siêu âm tăng gấp 2 lần so với ngâm ở nhiệt độ phòng với thời gian chiết rút ngắn đáng kể. Kết quả trên cho thấy, việc sử dụng sóng siêu âm và nhiệt độ làm tăng đáng kể hiệu suất chiết. Hiệu suất chiết cũng một phần ảnh hưởng đến kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa, hiệu suất chiết càng cao thì chiết càng được càng nhiều hoạt chất, tuy nhiên lượng tạp chất trong cao chiết cũng nhiều hơn làm ảnh hưởng đến hoạt tính của cao chiết. Phương pháp chiết hỗ trợ bằng siêu âm trong 20 phút thu được cao lá Dung có hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất (IC<sub>50</sub> = (439,99 ± 14,58) µg/mL) trong các phương pháp thử nghiệm. Phương pháp chiết hỗ trợ nhiệt độ 40 °C và 70 °C có hoạt tính chống oxy hóa tương đương nhau (491,09 và 478,42 µg/mL), hiệu suất chiết cũng xấp xỉ nhau. Tuy nhiên, nhiệt độ thấp 40 °C hạn chế sự biến tính của hoạt chất hơn nên được ưu tiên lựa chọn. Dựa

vào kết quả khảo sát, đề tài lựa chọn điều kiện chiết xuất kết hợp siêu âm 20 phút, nhiệt độ 40 °C nhằm tăng hiệu suất chiết đồng thời thu được cao LD có hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất.

Phương pháp chiết hỗ trợ siêu âm bằng EtOH 70 % trong nghiên cứu này giúp rút ngắn đáng kể thời gian chiết xuất (chỉ còn 20 phút) và lượng dung môi sử dụng so với các nghiên cứu trước đây (Bảng 5). Đồng thời cao chiết cũng tăng hoạt tính chống oxy hóa so với các công bố của Sunil và cộng sự năm 2011 [12] (IC<sub>50</sub> = 620,30 µg/mL) và Krishna và cộng sự năm 2015 [20] (IC<sub>50</sub> = 500 µg/mL).

Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết LD trong nghiên cứu này (bằng 1/52 vitamin C) không cao bằng nghiên cứu trước đó của Ly và cộng sự năm 2022 [16] (bằng 1/42 lần vitamin C). Sự khác biệt về kết quả trong hai nghiên cứu có thể là do sự khác nhau về phương pháp thực hiện, phương pháp chiết xuất, thời gian và địa điểm thu mẫu.

**Bảng 5** Hoạt tính chống oxy hóa DPPH của cao LD trong nghiên cứu này và các nghiên cứu trước đây

Nghiên cứu	Dung môi chiết	Tỷ lệ được liệu:dung môi	Phương pháp chiết	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	IC <sub>50</sub> chứng dương (µg/mL)
Nghiên cứu này, 2024	EtOH 70 %	1:5	Ngâm lạnh 60 phút	613,42 ± 42,16	Vitamin C 8,43 ± 0,78
	EtOH 70 %	1:5	Siêu âm 20 phút	439,99 ± 14,58	Vitamin C 8,43 ± 0,78
Ly và cộng sự, 2022 [21]	EtOH 45 %	1:15	Ngâm rút (tốc độ dòng 2 mL/phút)	174,33 ± 3,12	Vitamin C 4,20 ± 0,07
Krishna và cộng sự, 2015 [20]	EtOH	(-)	Soxhlet	500	Quercetin (-)
Sunil và cộng sự, 2011 [12]	MeOH	1:3 (3 lần)	Ngâm lạnh 48 giờ	620,30 ± 0,14	BHT 290,32 ± 1,04

(-) không được đề cập trong nghiên cứu, BHT: Butylated hydroxy toluene

#### 4 Kết luận và kiến nghị

Nghiên cứu đã thu thập và xác định được mẫu thực vật LD là loài *Symplocos cochinchinensis* bằng phương pháp DNA. Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật trong LD phát hiện sự hiện diện rõ của các nhóm hợp chất có tiềm năng chống oxy hóa cao như saponin, triterpen tự do, và flavonoid; bên cạnh đó còn phát hiện các nhóm hợp chất khác có trong LD như acid hữu cơ, anthocyanosid, proanthocyanosid, polyphenol, và tanin. Đề tài đã khảo sát điều kiện chiết cao trên 4 loại dung môi, 5 phương pháp chiết với điều kiện hỗ trợ là nhiệt độ và siêu âm. Cao chiết được đánh giá hoạt tính

chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH. Kết quả xác định được điều kiện chiết xuất thu cao LD có hoạt tính chống oxy hóa cao nhất là siêu âm 20 phút tại 40 °C với dung môi chiết là EtOH 70 %.

Điều kiện chiết xuất kết hợp với các chỉ tiêu đánh giá mẫu thực vật và cao chiết cụ thể của nghiên cứu là tiền đề cho việc phát triển các nghiên cứu chế phẩm tiếp theo từ LD.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ – Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, mã số đề tài 2023.01.137/HĐ-KHCN

#### Tài liệu tham khảo

- Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản Trẻ, p. 664-674
- Sunil C., Ignacimuthu S., Agastian P. (2011). Antidiabetic effect of *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore. in type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 134 (2), 298-304
- Tang M. J., Shen D. D., Hu Y. C., Gao S., Yu S. S. (2004). Cytotoxic triterpenoid saponins from *Symplocos chinensis*. *Journal of Natural Products*, 67, 1969-1974.
- Fu G. M., Wang Y. H., Gao S., Tang M. j., Yu S. S. (2004). Five new cytotoxic triterpenoid saponin from the roots of *Symplocos chinensis*. *Planta Medica*, 71, 666-672.
- Badoni R., Semwalb D. K., Kothiyala S. K., Rawat U. (2010). Chemical constituents and biological applications of the genus *Symplocos*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 12 (12), 1069-1080.
- Gupta A., Sharma MC. (2015 ). Biologically active long-chain aliphatic alcohols and esters from the bark of *Symplocos racemosa*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7 (5 ), 1056-1059.
- Huo C.-H., Shen L.-R., Zhao Y.-Y., Liang H. (2007). Chemical constituents of plants from the genus *Symplocos*. *Chemistry & Biodiversity*, 4,1-11.

8. Acharya N., Acharya S., Shah U., Shah R., Hingorani L. (2016). A comprehensive analysis on *Symplocos racemosa* Roxb.: Traditional uses, botany, phytochemistry and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 181, 236-251.
9. Arumugam G., Manjula P., Paari N. (2013). A review: Anti diabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. *Journal of Acute Disease*, 2 (3), 196-200.
10. Bhusnar H. U., Nagore D. H., Nipanikar S. U. (2014). Phytopharmacological profile of *Symplocos racemosa*: a review. *Pharmacologia*, 5 (2), 76-83.
11. Bachhawat J.A., Shihabudeen M.S., Thirumurugan K. (2011). Screening of fifteen indian ayurvedic plants for alpha-glucosidase inhibitory activity and enzyme kinetics. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (4): p. 267-274.
12. Sunil C., Ignacimuthu S. (2011). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of *Symplocos cochinchinensis* S. Moore leaves containing phenolic compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (7), 1604-1609.
13. Santiago L. A., Dayrit K. C., Correa P. C. B., Mayor A. B. R. (2014). Comparison of antioxidant and free radical scavenging activity of triterpenes  $\alpha$ -amyrin, oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Natural Products*, 7, 29-36.
14. Sunil C., Irudayaraj S. S., Duraipandiyan V., et al. (2014). Antioxidant and free radical scavenging effects of  $\beta$ -amyrin isolated from *S. cochinchinensis* Moore. leaves. *Industrial Crops and Products*, 61, 510-516.
15. Krishna A., Mathews S. E., Ayyathan D. M., Chandrasekaran R., Thiagarajan K. (2015). Comparative phytochemical and antioxidant analysis in leaf and bark of *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) Moore *ssp. laurina* (Retz.) Nooteb. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6 (1), 292-299.
16. Rumpf J., Burger R., Schulze M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123470.
17. Yu J., Xue J.H., Zhou S.L. (2011). New universal *matK* primers for DNA barcoding angiosperms. *Journal of Systematics and Evolution*, 49 (3), 176-181.
18. Trần Hùng, Nguyễn Việt Kinh và cộng sự (2015), *Phương pháp nghiên cứu dược liệu*. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, p. 2-126.
19. Bộ Y tế, *Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ 5*, tập 2. 2018, Nhà xuất bản Y học, p. 1107-1108.
20. Ayyathan D., Archana K., Mathews S., Rajasekaran C., Kalaivani T. (2015). Comparative phytochemical and antioxidant analysis in leaf and bark of *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) Moore *ssp. laurina* (Retz.) Nooteb. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6 (1), 292-299.
21. Ly H. T., Le V. K. T., Phan C. S., et al. (2022). Phytochemical analysis and correlation of total polyphenol content and antioxidant properties of *Symplocos cochinchinensis* leaves. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 64 (1), 43-48.

## Investigation of extraction conditions for obtaining an potential antioxidant extract from the leaves of *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. moore

Thien-Vy Phan\*, Quang-Minh Che, Bich-Ngoc-Giau Lu  
Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University  
\*ptvy@ntt.edu.vn

**Abstract:** "Dung" (*Symplocos cochinchinensis*) is a woody plant species commonly found in the Central and Tay Nguyen regions of Vietnam. The leaves of *S. cochinchinensis* are often used in traditional medicine to support the digestive system and treat indigestion and menstrual disorders. Several studies have demonstrated that leaf extract has many valuable activities, including lipid-lowering, antioxidant, cytotoxic, and hypoglycemic properties. The study collected and identified Dung leaf samples from Tra Bong district, Quang Ngai province, by using the DNA method. This research investigated the extraction conditions for obtaining the most effective antioxidant extract from *S. cochinchinensis* leaves. Several solvents were used for screening method, including water, ethanol (EtOH) 50 %, 70 % and 96 %. At the same time, supporting conditions such as ultrasound and temperature are also considered. The results showed that extraction with 70 % EtOH and ultrasound for 20 minutes at 40 °C produced the extract with the best antioxidant activity ( $IC_{50} = 439.99 \pm 14.58 \mu\text{g/mL}$ ). This extraction process can serve as a premise for developing products from Dung leaves.

**Keywords** Dung, *Symplocos cochinchinensis*, antioxidant, 70 % EtOH, ultrasound-assisted