

KHẢ NĂNG BẮT GỐC TỰ DO DPPH VÀ NĂNG LỰC KHỬ CỦA NAM SÂM BÒ Ở CẬN GIỜ, TP HỒ CHÍ MINH

NGUYỄN THỊ HẰNG*, NGUYỄN THỊ THANH TÂM†, MAI HỮU PHƯƠNG**

TÓM TẮT

Nam sâm bò (*Boerhavia diffusa* L.) thuộc họ Bông phấn (*Nyctaginaceae*), là thảo dược phổ biến của vùng nhiệt đới. Trong y học cổ truyền Ấn Độ, Nam sâm bò được sử dụng để trị các bệnh như tiểu đường, kháng viêm, ung thư. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các bằng chứng khoa học về loài cây này còn chưa sáng tỏ. Theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH, hoạt tính kháng oxy hóa ở lá là mạnh nhất ($IC_{50} = 538,391 \pm 10,218 \mu\text{g/ml}$) so với thân ($615,797 \pm 12,798 \mu\text{g/ml}$) và rễ ($883,899 \pm 7,488 \mu\text{g/ml}$). Tại nồng độ 1.000 $\mu\text{g/ml}$, năng lực khử của cao thân ($OD = 0,522 \pm 0,017$) mạnh hơn so với lá ($OD = 0,403 \pm 0,013$) và rễ ($OD = 0,278 \pm 0,010$).

Từ khóa: *Boerhavia diffusa* Linn., bắt gốc tự do DPPH, năng lực khử, kháng oxy hóa.

ABSTRACT

DPPH free radical scavenging and reducing power properties of Boerhavia diffusa in Can Gio, Ho Chi Minh City

Spreading Hogweed (*Boerhavia diffusa* Linn.), which belongs to the *Nyctaginaceae* family, is a common herbal plant in the tropics. Spreading Hogweed is used in the Indian traditional medicine system to treat diabetes, inflammatory, and cancer. However, there is still no scientific research on this plant involving treating disease in Viet Nam. In this paper, the antioxidant activity of leave extract, which the IC_{50} value of DPPH free radical scavenging capacity was $538,391 \pm 10,218 \mu\text{g/ml}$, was higher than the stem ($IC_{50} = 615,797 \pm 12,798$) and root extracts ($IC_{50} = 883,899 \pm 7,488$). The reducing power of stem extract (the Optical Density - $OD = 0,522 \pm 0,017$) was stronger than the leave ($OD = 0,403 \pm 0,013$) and root extracts. ($OD = 0,278 \pm 0,010$) at concentration of 1,000 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: *Boerhavia diffusa* Linn., DPPH free radical scavenging, reducing power, antioxidant.

1. Mở đầu

Chi *Boerhavia* có hơn 40 loài trong đó loài Nam sâm bò (*Boerhavia diffusa* L.) rất phổ biến, mọc hoang nhiều nơi, có thể có chủng dưới loài. Loài này thuộc dạng thân thảo, phân bố ở vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và nơi có khí hậu ẩm áp như: Ấn Độ, Trung Quốc, Lào, Campuchia... Ở Việt Nam, Nam sâm bò phân bố ở một số vùng đất cát như: Quảng Ninh, Bình Thuận, Thành phố Hồ Chí Minh...[2]

* ThS, Trường Đại học Sư phạm TPHCM; Email: ngthhang@yahoo.com

** Cử nhân, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

Ở Ấn Độ, Brazil, Nam sâm bò thường được sử dụng trong Y học cổ truyền để trị nhiều loại bệnh trong đó có tiểu đường và ung thư [9]. Một số công trình đã chứng minh Nam sâm bò thu nhận tại Ấn Độ chứa một lượng lớn các hợp chất như flavonoid, alkaloid, steroid, triterpenoid, lipid, lignin, carbohydrate, protein và glycoprotein, punarnavine, boeravinone, hypoxanthine 9-L-arabinofuranoside, acid ursolic, punarnavoside, lirodendrin, acid arachidic, β -Sitosterol, α -2-sitosterol, acid palmitic, β -sitosterol, acid stearic, hentriacontane, triacontanol... trong đó, một số chất đã thể hiện nhiều hoạt tính sinh học như: kháng oxy hóa, có khả năng tạo phức với các ion kim loại nên có tác dụng như những chất xúc tác ngăn cản các phản ứng oxy hóa. Do đó, chúng có tác dụng bảo vệ cơ thể, ngăn ngừa xơ vữa động mạch, tai biến mạch máu, lão hóa, thoái hóa gan, các tổn thương do bức xạ [7, 10]. Ở Việt Nam, Đông y thường dùng nó để chữa hen suyễn, đau dạ dày, phù thũng, thiếu máu, vàng da, gan cổ trướng, tiểu ít, táo bón thường xuyên, các bệnh về lá lách, viêm nhiễm. Rễ Nam sâm bò có tác dụng lợi tiểu, nhuận tràng, long đờm, trị viêm loét giác mạc, quáng gà... [1].

Một số hợp chất flavonoid đã được phân lập từ Nam sâm bò (ở Ấn Độ) là boeravinone A, B, C, D, E, F, G... đều thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa. Đặc biệt, boeravinone G được chứng minh có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh, có tiềm năng trong việc điều chế các loại thuốc chữa trị các bệnh liên quan tới gốc tự do. Ngoài ra, các hợp chất boeravinone C, K, M đã được chứng minh có khả năng gây chết theo chương trình của dòng tế bào MCF-7 và HeLa [7].

Các hợp chất alkaloid (punarnavine, hypoxanthine 9-L-arabinofuranoside...) trong Nam sâm bò có nhiều hoạt tính sinh học quan trọng. Một trong những hợp chất alkaloid được chiết xuất từ Nam sâm bò là punarnavine ($C_{17}H_{22}N_2O$) được chứng minh có khả năng chống lại sự di căn của các tế bào ung thư, điều hòa miễn dịch, kháng viêm, giảm đau... Rễ Nam sâm bò có chứa 0,04% hợp chất này [7].

Mặc dù ở Việt Nam, Nam sâm bò mọc hoang ở rất nhiều nơi, nhưng các bằng chứng khoa học về loài dược liệu này còn chưa sáng tỏ.

Nghiên cứu của Đỗ Thị Mỹ Liên (2014), đã tiến hành khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của 3 loài thuộc chi *Boerhavia*, họ Bông phấn. Kết quả đã phân lập được 55 hợp chất, trong đó có 16 hợp chất mới. Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế các tế bào ung thư cho thấy các hợp chất boeravinone thể hiện hoạt tính kháng ung thư trên dòng tế bào MCF-7 và HeLa [3].

Hiện nay, các bằng chứng khoa học cho thấy sự gia tăng nồng độ các gốc tự do trong tế bào là một trong những nguyên nhân chủ yếu gây nên các vấn đề bệnh tật như: xơ vữa động mạch, tiểu đường, ung thư... [8]. Vì vậy, các nhà nghiên cứu trên thế giới không ngừng tìm tòi và sàng lọc các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên để giải quyết các vấn đề trên. Do đó, nghiên cứu về khả năng kháng oxy hóa và chống oxy hóa là một vấn đề thiết thực.

Dựa trên những dẫn liệu trên, chúng tôi quyết định khảo sát khả năng kháng oxy hóa của loài này với mong muốn góp phần cung cấp những dẫn liệu khoa học về dược lí để ứng dụng trong y học và làm tiền đề cho các nghiên cứu về sau.

2. Mẫu vật, hóa chất và phương pháp nghiên cứu

2.1. Mẫu vật và hóa chất

Nam sâm bò (thân, lá, rễ) được thu tại thị trấn Cần Thạnh, huyện Cần Giờ, Thành phố Hồ Chí Minh vào ngày 03/9/2014 ở tọa độ: 10°23'14.2"B 106°55'21.7"Đ. Tại vị trí thu mẫu, đất có độ kiềm yếu, độ ẩm thấp, khả năng giữ nước kém (Bảng 1). Các chỉ tiêu khác: Độ ẩm không khí: 81,63%; nhiệt độ: 30,16°C; cường độ ánh sáng: 31.070 lux.

Bảng 1. Một số chỉ tiêu về đất

Chỉ tiêu/Tầng đất	Tầng 0 – 30 cm	Tầng 30 – 60 cm
pH	7,467 ± 0,295	7,727 ± 0,243
Độ ẩm (%)	1,273 ± 0,034	1,088 ± 0,057

Như vậy, chúng tôi ghi nhận tại thời điểm thu mẫu, cường độ ánh sáng, nhiệt độ và độ ẩm không khí cao.

Nam sâm bò được định danh theo “*Cây cỏ Việt Nam*” [2]. Mẫu được rửa sạch, sấy khô ở 50°C đến khi trọng lượng không đổi, được bảo quản tại nơi khô ráo, thoáng mát tại Phòng Thí nghiệm Di truyền - Thực vật.

DPPH (80 µM, Sigma): Pha 3,3 mg DPPH trong methanol tuyệt đối tạo thành 100ml dung dịch có nồng độ 80 µM. Dung dịch được bảo quản ở 4°C trong điều kiện không có ánh sáng. Dung dịch DPPH được pha loãng trước khi tiến hành thí nghiệm.

Acid ascorbic (15 µg/ml, Sigma): Nồng độ 15 µg/ml là giá trị IC₅₀ của acid ascorbic được khảo sát tại điều kiện của phòng thí nghiệm. Giá trị IC₅₀ là nồng độ mà tại đó acid ascorbic bắt 50% gốc DPPH.

Hóa chất sử dụng trong phương pháp xác định năng lực khử: Acid ascorbic (0 – 250 µg/ml); đệm phosphate 0,2 M (pH = 6,6); Kali ferricyanid (K₃[Fe(CN)₆]) 1%; Tricloacetic acid 10% (bảo quản trong điều kiện không có ánh sáng); Sắt (III) clorua (FeCl₃) 0,1% (bảo quản trong điều kiện không có ánh sáng).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp thu nhận cao chiết

Mẫu được xay nhuyễn thành bột, sau đó ngâm với dung môi ethanol tuyệt đối trong vòng 48 giờ theo tỉ lệ 1:10 (g/ml). Sau 48 giờ, dịch chiết được lọc qua giấy lọc và loại cặn. Sau đó, dịch chiết sẽ được cô quay đuôi dung môi thu cao chiết ở nhiệt độ 50°C, áp suất 175 mbar. Cao chiết được để khô tự nhiên. Bảo quản ở 40°C để sử dụng cho các thí nghiệm về sau [4].

Lưu ý: Bột sẽ được ngâm nhiều lần cho đến khi dịch chiết gần như trong suốt.

2.2.2. Phương pháp thử hoạt tính bắt gốc tự do DPPH

Về nguyên tắc, các chất kháng oxy hóa sẽ trung hòa gốc DPPH bằng cách cho hydrogen, làm giảm độ hấp thụ tại bước sóng cực đại và màu của dung dịch phản ứng

nhạt dần, chuyển từ màu tím sang màu vàng nhạt. Giá trị mật độ quang OD càng thấp chứng tỏ khả năng bắt gốc tự do DPPH càng cao [6].

Quy trình thí nghiệm thực hiện như sau: Bổ sung 5 ml DPPH (0,8 mM, pha trong methanol) vào mỗi ống nghiệm đã chứa 1 ml cao chiết tại các nồng độ khác nhau (0 – 1000 µg/ml). Ủ 30 phút trong điều kiện không có ánh sáng, sau đó, tiến hành đo mật độ quang OD tại bước sóng 517 nm. Giá trị mật độ quang OD phản ánh khả năng kháng oxy hóa của mẫu. Chứng dương trong thí nghiệm là acid ascorbic (15 µg/ml), chứng âm là nước cất hai lần. Tỷ lệ phần trăm hoạt tính kháng oxy hóa được xác định theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ \% hoạt tính bắt gốc tự do DPPH} = \frac{OD_c - OD_m}{OD_c} \times 100$$

Trong đó, OD_m : giá trị mật độ quang OD của mẫu thử;

OD_c : giá trị mật độ quang OD của chứng âm.

Từ tỷ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, chúng tôi xây dựng phương trình tương quan tuyến tính, từ đó chúng tôi xác định giá trị IC_{50} (là nồng độ mà tại đó bắt 50% gốc tự do DPPH) để làm cơ sở so sánh khả năng kháng oxy hóa giữa các mẫu. Mẫu nào có giá trị IC_{50} càng thấp thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao.

2.2.3. Phương pháp năng lực khử

Nguyên tắc: Mẫu thử sẽ khử ion Fe^{3+} trong phân tử kali ferricyanid ($K_3[Fe(CN)_6]$) thành ion Fe^{2+} trong phân tử kali ferrocyanid ($K_4[Fe(CN)_6]$). Khi bổ sung $FeCl_3$, Fe^{3+} sẽ phản ứng với ion ferrocyanid tạo thành phức hợp ferris ferrocyanid ($K_4[Fe(CN)_6]_3$) màu xanh dương.

Quy trình khảo sát năng lực khử được tiến hành như sau: 1 ml mẫu thử ở các nồng độ khảo sát được bổ sung thêm 2,5 ml dung dịch đệm phosphate 0,2M (pH = 6,6), ủ ở nhiệt độ $50^{\circ}C$, 20 phút. Sau đó, mỗi ống nghiệm được bổ sung thêm 2,5 ml dung dịch tricloacetic acid 10%. Lấy 2,5 ml dung dịch trên, thêm 2,5 ml nước cất hai lần, bổ sung 0,5 ml dung dịch $FeCl_3$ 0,1%. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm, giá trị mật độ quang OD phản ánh khả năng khử của mẫu. Giá trị mật độ quang càng cao chứng tỏ năng lực khử của mẫu càng cao.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Giá trị % bắt gốc tự do DPPH, độ lệch chuẩn và giá trị IC_{50} của các nghiệm thức được xử lý trên phần mềm Microsoft Excel 2010.

So sánh sự khác biệt về mặt thống kê và xác định phương trình hồi quy giữa nồng độ cao chiết và tỷ lệ % bắt gốc tự do DPPH được xây dựng trên phần mềm thống kê SPSS 16.0. Theo đó, một số phương trình phổ biến như:

- Phương trình linear: $Y = b_0 + b_1 * X$
- Phương trình quadratic: $Y = b_0 + b_1 * X + b_2 * X^2$
- Phương trình cubic: $Y = b_0 + b_1 * X + b_2 * X^2 + b_3 * X^3$
- Phương trình power: $Y = b_0 * X^{b_1}$

- Phương trình logarithmic: $Y = b_0 + b_1 \cdot \ln(X)$

Trong đó, Y: tỉ lệ % hoạt tính bất gốc tự do DPPH;

X: nồng độ cao chiết; b_0 : hằng số; b_1, b_2, b_3 : các hệ số hồi quy.

Phương trình hồi quy được chọn là phương trình có hệ số tương quan và tương quan hiệu chỉnh cao (phản ánh sự biến thiên của tỉ lệ % hoạt tính bất gốc tự do DPPH được giải thích bởi nồng độ cao chiết); với độ tin cậy 95% thì P- value - giá trị Sig của phương trình và các tham số thường $\leq 0,05$ là có ý nghĩa.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Mô tả hình thái của Nam sâm bò

Cây Nam sâm bò có những đặc điểm sau:

- Thân: cây thân thảo, sống lâu năm, thân mọc tỏa ra sát mặt đất (Hình 1). Đặc điểm này giúp cây không bị ngã đổ khi thường xuyên chịu tác động của gió biển. Thân hình trụ, có màu xanh hoặc tím.

- Lá: lá đơn, mọc đối, hình bầu dục. Mặt dưới màu trắng lục, có nhiều lông ngắn. Mặt trên màu lục thẫm. Lá có gân dạng lông chim, mép lá lượn sóng (Hình 2).

- Rễ: Nam sâm bò thuộc loại rễ củ, nhiều tinh bột, có mùi thơm. Rễ có màu nâu, có nhiều rễ phụ mọc từ rễ chính (Hình 3).

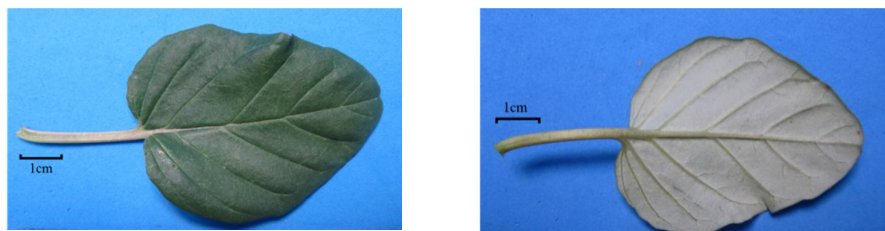
- Hoa: cụm hoa hình xim mang từ 3 – 4 hoa lưỡng tính, màu hồng đậm, cuống ngắn, mọc ở nách lá. Hoa mẫu 5, cánh hoa dính lại hình thành bao hoa dạng ống. Hợp bầu dưới, đính noãn đáy. Nhánh hoa có nhiều lông tròn, dính (Hình 4).

- Quả: hình trụ dài khoảng 4 mm, đầu hơi tròn, phần gần cuống nhọn. Quả có 5 cạnh, bề mặt quả có lông dính đa bào giúp quả phát tán đi xa (Hình 5).

Kết quả mô tả một số đặc điểm hình thái Nam sâm bò tại khu vực thu mẫu cũng tương tự như mô tả của Phạm Hoàng Hộ (Cây cỏ Việt Nam, 1999) [2].



Hình 1. Nam sâm bò ngoài tự nhiên



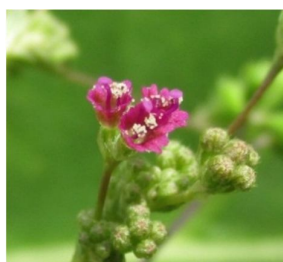
A. Mặt trên

B. Mặt dưới

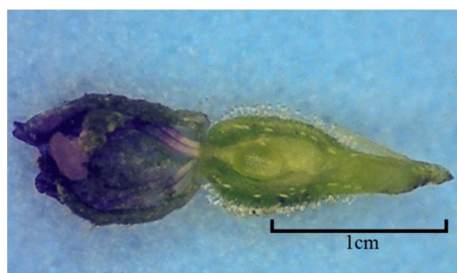
Hình 2. Lá Nam sâm bò



Hình 3. Rễ Nam sâm bò

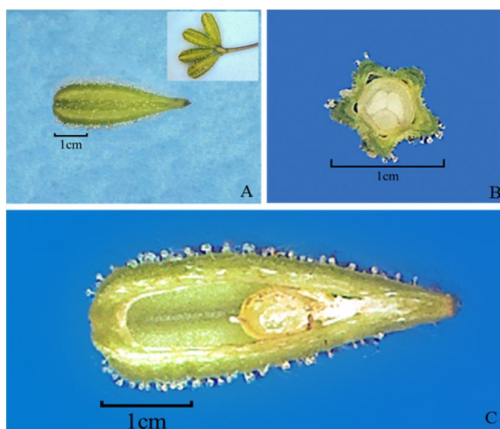


A. Cụm hoa



B. Hoa (cắt dọc)

Hình 4. Hoa Nam sâm bò



A. Quả

B. Quả (cắt ngang)

C. Quả (cắt dọc)

Hình 5. Quả Nam sâm bò

3.2. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol Nam sâm bò

Để xác định khả năng bắt gốc tự do DPPH, các cao chiết ethanol thu nhận từ thân, lá, rễ Nam sâm bò được pha loãng thành dãy nồng độ từ 100 - 1000 $\mu\text{g/ml}$. Chứng dương sử dụng là acid ascorbic ở nồng độ 15 $\mu\text{g/ml}$. Chứng âm là nước cất hai lần. Các nghiệm thức trong đề tài được lặp lại 3 lần. Kết quả ghi nhận được về tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết được minh họa theo Bảng 2.

Bảng 2. Tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết ethanol

Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Lá	Thân	Rễ
100	8,577 ^a \pm 1,588	7,470 ^a \pm 1,407	3,997 ^a \pm 0,534
200	21,578 ^b \pm 3,661	17,266 ^b \pm 1,788	10,830 ^b \pm 1,152
400	41,205 ^c \pm 5,297	35,118 ^c \pm 1,039	21,506 ^c \pm 0,836
600	54,961 ^d \pm 1,767	51,046 ^d \pm 1,030	31,364 ^d \pm 1,093
800	74,331 ^e \pm 0,930	67,028 ^e \pm 2,082	43,733 ^e \pm 1,003
1000	88,915^f \pm 2,059	75,877^f \pm 1,221	58,867^f \pm 1,508
Acid ascorbic (15 $\mu\text{g/ml}$)	45,959 \pm 3,276	49,506 \pm 1,475	48,241 \pm 1,958

Ghi chú: a, b, c, d, e, f: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo hàng dọc

Như vậy, theo sự tăng dần nồng độ từ 100 $\mu\text{g/ml}$ – 1000 $\mu\text{g/ml}$, tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết đều tăng dần. Điều đó chứng tỏ, khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết tăng tỉ lệ thuận theo chiều tăng nồng độ. Với nồng độ 1000 $\mu\text{g/ml}$, tỉ lệ % khả năng bắt gốc tự do ở **cao lá là 88,915%**, cao hơn so với **cao thân (75,877%)** và **cao rễ (58,867%)**. Giữa các nồng độ trong cùng một loại cao chiết, tỉ lệ % khả năng bắt gốc tự do DPPH có sự khác biệt về mặt thống kê với P-value $\leq 0,05$.

Như trên đã trình bày, các phương trình hồi quy đơn giản thể hiện mối tương quan giữa tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH và các nồng độ cao chiết Nam sâm bò được xây dựng dựa vào phần mềm thống kê SPSS 16.0. Trên cơ sở đó, phương trình được chọn là phương trình có hệ số tương quan và tương quan hiệu chỉnh cao nhất với các P-value của phương trình và các tham số đều $\leq 0,05$ (với độ tin cậy 95%).

Các phương trình hồi quy đã được xác định:

+ **Cao lá:** phương trình mũ $Y = 0,100X^{0,990}$ với hệ số tương quan $R = 0,995$; tương quan sau hiệu chỉnh $R = 0,987$; P-value của phương trình là 0,000 và các tham số đều $\leq 0,000$ (hệ số hồi quy = 0,000; hằng số = 0,030).

+ **Cao thân:** phương trình mũ $Y = 0,076X^{1,013}$ với hệ số tương quan $R = 0,997$, tương quan hiệu chỉnh = 0,993; P-value của phương trình = 0,000 và hệ số hồi quy = 0,000; hằng số = 0,013.

+ **Cao rễ:** $Y = 0,025X^{1,125}$ với hệ số tương quan là 0,997 và tương quan hiệu chỉnh = 0,993; P-value của phương trình = 0,000 và hệ số hồi quy: 0,000; hằng số = 0,018.

Với các phương trình hồi quy trên, các giá trị IC_{50} của hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết đã được xác định (Bảng 3). Kết quả thu được cho thấy, cao ethanol lá có giá trị IC_{50} thấp nhất. Điều này chứng tỏ hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của cao chiết này là cao nhất. Ngược lại, rễ có giá trị IC_{50} cao nhất nên nó thể hiện khả năng kháng oxy hóa là thấp nhất. Hoạt tính bắt gốc tự do DPPH giữa các cao chiết có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với $P\text{-value} = 0,000$.

Bảng 3. Giá trị IC_{50} của cao chiết ethanol

Nồng độ/Mẫu	Lá	Thân	Rễ
IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	$528,196^a \pm 24,172$	$603,151^b \pm 13,018$	$867,007^c \pm 14,672$

Ghi chú: a, b, c: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo hàng ngang

Như vậy, trong cùng một điều kiện thử nghiệm, hoạt tính kháng oxy hóa theo phương pháp này được sắp xếp theo thứ tự tăng dần: **rễ < thân < lá**.

3.3. Hoạt tính kháng oxy hóa của Nam sâm bò theo phương pháp năng lực khử

Để khảo sát năng lực khử, cao chiết Nam sâm bò được pha loãng từ nồng độ $2000\mu\text{g/ml}$. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Chứng âm sử dụng là nước cất hai lần. Chứng dương là acid ascorbic.

Bảng 4. Năng lực khử của cao chiết ethanol

Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)/Mẫu	Cao rễ	Cao lá	Cao thân
100	$0,052^{b.1} \pm 0,005$	$0,075^{b.2} \pm 0,005$	$0,076^{b.2} \pm 0,004$
200	$0,088^{c.1} \pm 0,007$	$0,111^{c.2} \pm 0,003$	$0,139^{c.3} \pm 0,009$
400	$0,152^{d.1} \pm 0,008$	$0,180^{d.2} \pm 0,008$	$0,231^{d.3} \pm 0,019$
600	$0,206^{e.1} \pm 0,009$	$0,241^{e.2} \pm 0,014$	$0,319^{e.3} \pm 0,006$
800	$0,236^{f.1} \pm 0,008$	$0,320^{f.2} \pm 0,026$	$0,408^{f.3} \pm 0,017$
1000	$0,278^{g.1} \pm 0,010$	$0,403^{g.2} \pm 0,013$	$0,522^{g.3} \pm 0,017$
1200	$0,322^{h.1} \pm 0,011$	$0,464^{h.2} \pm 0,009$	$0,682^{h.3} \pm 0,008$
1400	$0,396^{i.1} \pm 0,015$	$0,556^{i.2} \pm 0,013$	$0,790^{i.3} \pm 0,007$
1600	$0,458^{j.1} \pm 0,026$	$0,619^{j.2} \pm 0,015$	$0,877^{j.3} \pm 0,013$
1800	$0,524^{k.1} \pm 0,009$	$0,708^{k.2} \pm 0,020$	$0,954^{k.3} \pm 0,009$
2000	$0,583^{l.1} \pm 0,013$	$0,804^{l.2} \pm 0,008$	$1,068^{l.3} \pm 0,027$

Ghi chú:

- a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nồng độ cao chiết ($P = 0,000$).

- 1, 2, 3: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các cao chiết trong cùng một nồng độ ($P \leq 0,05$).

Theo chiều tăng nồng độ, giá trị mật độ quang OD của các mẫu cao chiết tăng dần (sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê). Cụ thể, khi tăng nồng độ từ 100 $\mu\text{g/ml}$ lên 2.000 $\mu\text{g/ml}$, giá trị mật độ quang OD tại bước sóng 700 nm tăng từ **0,076 lên 1,068** (thân); từ **0,052 lên 0,583** (rễ); từ **0,075 lên 0,804** (lá). Nồng độ càng cao, tổng năng lực khử và hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh (Bảng 4).

Khi so sánh giữa các cao chiết với nhau, trong cùng một nồng độ, cao thân thể hiện khả năng khử Fe^{3+} thành Fe^{2+} mạnh nhất. Cao rễ thể hiện năng lực khử yếu nhất.

Thứ tự năng lực khử của các cao chiết tăng lần lượt như sau: **cao rễ < cao lá < cao thân**.

3.4. Thảo luận

Như vậy, cùng với các công trình ngoài nước, đặc biệt là các nghiên cứu của Guha, G. (2009), Tolulope, O. M. (2010), Bhardwaj, R., (2014), kết quả nghiên cứu đã xác định cao chiết từ các bộ phận của Nam sâm bò thu tại huyện Cần Giờ, TPHCM thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH và năng lực khử.

Trong đó, theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH, cao chiết ethanol lá thể hiện khả năng kháng oxy hóa mạnh nhất, sau đó là thân và rễ. Điều này có thể được giải thích theo các công trình nghiên cứu của tác giả Bhardwaj, R., Sharma, P. và cộng sự (2014). Các nghiên cứu này cho thấy trong các thành phần thân, lá, rễ có chứa các hợp chất phenolic, flavonoid và acid ascorbic là khác nhau. Theo đó, hàm lượng phenolic, flavonoid, acid ascorbic của lá là cao nhất và thấp nhất là ở rễ đối với Nam sâm bò được thu nhận tại Ấn Độ. Các hợp chất này đã được chứng minh thể hiện khả năng kháng oxy hóa mạnh. Đồng thời, theo Pallavi, cao chiết methanol lá có hoạt tính bắt gốc tự do ABTS, năng lực khử, hoạt tính enzyme peroxidase và khả năng oxi hóa lipid là cao nhất so với thân và rễ. Methanol và ethanol là hai dung môi có tính phân cực trung bình gần như tương tự nhau, cho nên chúng có thể có khả năng chiết xuất ra các hợp chất tương tự [8]. Đồng thời, với công trình của Tolulope, O. M. và cộng sự (2010), cao chiết ethanol lá Nam sâm bò thu tại Nigeria có các thành phần như vitamine E, vitamine C, phenol, flavonoid và thể hiện khả năng bắt gốc tự do DPPH, năng lực khử Fe^{3+} . Vì vậy, điều này có thể lí giải đối với cao ethanol, lá Nam sâm bò trong nghiên cứu thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa mạnh [10].

Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Bhardwaj, R. và cộng sự (2014), cao methanol của thân Nam sâm bò khả năng bắt gốc tự do DPPH cao nhất so với lá và rễ. Dựa trên phân tích mối tương quan giữa các hàm lượng các hợp chất phenol, flavonoid và acid ascorbic với giá trị IC_{50} về hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của các cao chiết, tác giả cho rằng hoạt tính kháng oxy hóa ở thân mạnh có thể là do sự có mặt của các hợp chất phenol [5]. Điều này có thể là cơ sở để lí giải cho kết quả nghiên cứu về hoạt tính kháng oxy hóa của Nam sâm bò thu nhận tại huyện Cần Giờ trong phương pháp nâng

lực khử. Theo đó, kết quả này không tương đồng với kết quả khảo sát bắt gốc tự do DPPH. Thông qua giá trị mật độ quang OD tại bước sóng 700 nm, năng lực khử của cao thân mạnh hơn so với cao lá và rễ.

Để khảo sát khả năng kháng oxy hóa của một hợp chất, nhiều phương pháp được sử dụng: phương pháp bắt gốc tự do DPPH, năng lực khử, thử hoạt tính ức chế gốc tự do NO, xác định hàm lượng Malonyl dialdehyde, đánh giá khả năng kết hợp với ion sắt II, thử hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase. Mỗi phương pháp hướng tới các gốc tự do khác nhau trong tế bào. Vì vậy, để khảo sát đầy đủ khả năng kháng oxy hóa của một hợp chất, người ta thường sử dụng nhiều phương pháp khác nhau. Do đó, nghiên cứu cần phải phân tích sâu hơn nữa về thành phần các hợp chất ở mỗi bộ phận theo hướng kháng oxy hóa để có thể ứng dụng trong thực tiễn.

Ngoài ra, Guha, G. và cộng sự (2011) đã tiến hành khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các chiết xuất khác nhau từ lá Nam sâm bò bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH. Kết quả cho thấy giá trị IC_{50} của các mẫu cao chiết là: cao nước ($200,82 \pm 0,55 \mu\text{g/ml}$), cao methanol ($327,40 \pm 0,68 \mu\text{g/ml}$), cao chloroform ($409,81 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$), cao hexane ($2.351,60 \pm 0,18 \mu\text{g/ml}$). Kết quả trên cho thấy cao nước và cao methanol thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa cao hơn 2 cao còn lại. Điều đó cho thấy các hợp chất có hoạt tính kháng oxy hóa trong Nam sâm bò là những hợp chất có tính phân cực. Nghiên cứu sử dụng ethanol là dung môi có tính phân cực gần giống methanol. Chính vì vậy, các cao chiết ethanol trong báo cáo này đều thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa. Có thể, để chiết xuất ra các hợp chất có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh, nghiên cứu cần phải sử dụng các dung môi có tính phân cực mạnh.

Như vậy, với các kết quả ghi nhận được, Nam sâm bò được nhu nhận tại huyện Cần Giờ (TPHCM) đã thể hiện khả năng kháng oxy hóa. Điều này góp phần cung cấp những dẫn liệu khoa học cho các ứng dụng trong y học sau này. Bởi vì, sự gia tăng hàm lượng các gốc tự do trong tế bào sẽ dẫn đến quá trình lão hóa, bệnh tật: xơ vữa động mạch, suy yếu hệ thống miễn dịch, giảm trí tuệ, tiểu đường, ung thư...[8]. Vì vậy, việc nghiên cứu và tìm tòi ra các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên có khả năng kháng oxy hóa và trị bệnh có ý nghĩa thiết thực. Bên cạnh đó, kết quả về hoạt tính kháng oxy hóa của Nam sâm bò trong báo cáo này góp phần làm sáng tỏ các ứng dụng của nó điều trị các bệnh của Đông y như: viêm nhiễm, tiểu đường, ung thư...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2003), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập 2, tr. 700 – 702.
2. Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, Quyển 1 - Tập 2, Nxb Trẻ, tr. 717.
3. Đỗ Thị Mỹ Liên (2014), *Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của ba loài thuộc chi Boerhavia, họ Bông phấn*, Luận án Tiến sĩ, Đại học Khoa học Tự nhiên TP Hồ Chí Minh.

4. Nguyễn Kim Phi Phụng (2007), *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*, Nxb Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
5. Bhardwaj, R., Yadav, A. & Sharma, R. (2014), “Phytochemicals and antioxidant activity in *Boerhavia diffusa*”, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 6(1), pp. 344 – 348.
6. Brand – Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995), “Use of free radical method to evaluate antioxidant activity”, *LWT*, Vol. 28, pp. 25 – 30.
7. Goyal, B.M., Bansal, P., Gupta, V., Kumar, S., Singh, R. & Maithani, M. (2010), “Pharmacological Potential of *Boerhaavia diffusa*: An Overview”, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, Vol. 2(1), pp. 17 – 22.
8. Lazo-de-la-Vega-Monroy, M-L. & Fernández-Mejía, C. (2013), “Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the Role Of Vitamins with Antioxidant Actions”, *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants*, pp. 209 – 232.
9. Sharma, P., Bhardwaj, R., Yadav, A. & Sharma, R. A. (2014), “Antioxidant properties of methanolic extracts of *Boerhavia diffusa*”, *Research Journal of Phytochemistry*, Vol. 8(3), 119 – 126.
10. Tolulope, O. M., Akinmoladun, A. C., Ogunboye, A. A., & Akindahunsi, A. A. (2010), “Antioxidant activity and hepatoprotective property of leaf extracts of *Boerhavia diffusa* Linn. againsts acetaminophen – induced liver damage in rats”, *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 48, pp. 2200 – 2205.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 05-10-2016; ngày phản biện đánh giá: 24-10-2016;
ngày chấp nhận đăng: 16-12-2016)