

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG OXY HÓA VÀ ĐỘC TÍNH CẤP CỦA CÂY BÙ DỄ TÍA (*UVARIA GRANDIFLORA* ROXB. EX HORNEM-ANNONACEAE)

Nguyễn Thị Hoài

Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Bồ đề tía là dược liệu phân bố tự nhiên ở miền Trung Việt Nam, có nhiều hoạt tính sinh học tốt. Nghiên cứu này được tiến hành để đánh giá tác dụng chống oxy hóa thông qua khả năng dập tắt gốc tự do DPPH và xác định độc tính cấp của dược liệu. **Đối tượng nghiên cứu:** Phần trên mặt đất cây Bồ đề tía. **Phương pháp nghiên cứu:** Đánh giá khả năng dập tắt gốc tự do Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) theo phương pháp của Kedare. Đánh giá độc tính cấp theo phương pháp của Abraham và Turner. **Kết quả:** Khả năng chống oxy hóa trên hệ DPPH của cao chiết toàn phần và cao chiết phân đoạn ethyl acetat thể hiện ở giá trị IC_{50} lần lượt là 88,49 $\mu\text{g/ml}$ và 65,57 $\mu\text{g/ml}$. Về độc tính cấp: với liều cực đại có thể cho chuột uống được 10000 mg/kg thể trọng chuột, chưa xác định được giá trị LD_{50} trên mô hình thí nghiệm. **Kết luận:** Bồ đề tía có tác dụng chống oxy trung bình và dược liệu chưa thể hiện độc tính cấp ở liều thử nghiệm.

Từ khóa: chống oxy hóa, độc tính cấp, DPPH, gốc tự do, Bồ đề tía.

Abstract

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ACUTE TOXICITY OF EXTRACT OF *UVARIA GRANDIFLORA* ROXB. EX HORNEM - ANNONACEAE

Nguyen Thi Hoai

Hue University of Medicine and Pharmacy

Background: *Uvaria grandiflora*, a naturally occurring medicinal plant in Central Vietnam, showed many significant biological activities. The objective of the study was to evaluate the antioxidant activity through the ability of Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and the acute toxicity of extract of *U. grandiflora*. **Materials:** The aerial part of *U. grandiflora*. **Method:** Evaluation the ability of DPPH radical scavenging by the method of Kedare (2011). Evaluation of acute toxicity by the method of Abraham and Turner (1978). **Results:** The crude methanol extract and ethyl acetat fraction displayed the IC_{50} values 88.49 $\mu\text{g/ml}$ and 65.57 $\mu\text{g/ml}$, respectively. On acute toxicity, the LD_{50} value could not be identified at the maximum dose given to mice (10000 mg/kg mice). **Conclusion:** Extract of methanol and ethyl acetat fraction of *Uvaria grandiflora* showed moderate antioxidant activities. The LD_{50} value could not be identified.

Key words: antioxidant, acute toxicity, DPPH, free radical, *Uvaria grandiflora*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Bồ đề tía, tên khoa học *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem, thuộc chi Bồ đề (*Uvaria*), họ Na (*Annonaceae*), phân bố rộng rãi ở một số quốc gia khu vực Đông Nam châu Á, bao gồm Ấn Độ, Mianmar, Trung Quốc, Xrilanka, Malaysia, Indonesia và Việt Nam. Ở Việt Nam, Bồ đề tía mọc rải rác trong rừng thứ sinh, phân bố tự nhiên ở Thanh Hóa, Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên Huế, Đà Nẵng, Quảng Nam, Khánh Hòa và Đồng Nai. Theo kinh

nghiệm dân gian, ở Malaysia, lá cây Bồ đề tía được nấu uống để điều trị đau thắt lưng, đau dạ dày, đầy hơi, làm dịu đau bụng và hỗ trợ trong phục hồi cho phụ nữ sau sinh [10]. Ngoài ra lá và thân loài cây này còn được dùng để điều trị bong gân, thấp khớp, giải độc ngộ độc thực phẩm, ong chích...[6]. Ở Việt Nam, cây Bồ đề tía được đồng bào dân tộc Pako Vân Kiều ở Quảng Trị sử dụng để chữa các bệnh về gan, mật và các bệnh liên quan đến khối u cho thấy hiệu quả tốt.

Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Hoài, email: hoai77@gmail.com

Ngày nhận bài: 20/5/2018; Ngày đồng ý đăng: 18/6/2018; Ngày xuất bản: 5/7/2018

DOI: 10.34071/jmp.2018.3.15

Có nhiều bằng chứng cho thấy các gốc tự do là nguyên nhân quan trọng gây nên một số bệnh mãn tính và thoái hóa như xơ vữa động mạch, bệnh tim thiếu máu cục bộ, ung thư, tiểu đường, các bệnh về gan mật và lão hóa. Hợp chất có tác dụng chống oxy hoá thường có khả năng dập tắt các gốc tự do, mang lại nhiều lợi ích tốt cho cơ thể như bảo vệ sự toàn vẹn của tế bào, ngăn ngừa một số tai biến, làm chậm quá trình lão hoá cơ thể, bảo vệ chức năng gan, hạn chế các tác nhân gây viêm... Việc nghiên cứu tìm kiếm các dược liệu có tác dụng chống oxy hoá là cần thiết trong nỗ lực tìm kiếm các loại thuốc và sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên phục vụ công tác phòng và chữa bệnh cho nhân dân.

Trong quy trình nghiên cứu một dược liệu, việc đánh giá độc tính cấp là rất cần thiết để cung cấp bằng chứng về độ an toàn của dược liệu đó. Ở Việt Nam chưa tìm thấy nghiên cứu nào đánh giá tác

dụng chống oxy hóa cũng như khảo sát độc tính cấp của dược liệu Bù dẻ tía. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu đánh giá độc tính cấp và hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng dập tắt gốc tự do DPPH của cây Bù dẻ tía, góp phần cung cấp các bằng chứng khoa học cho những nghiên cứu xa hơn trong định hướng ứng dụng dược liệu này vào công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là phần trên mặt đất của cây Bù dẻ tía thu hái tại huyện Đakrông tỉnh Quảng Trị vào tháng 5 năm 2017. Mẫu được xác định tên khoa học là *Uvaria grandiflora* Roxb. ex Hornem, họ Na (Annonaceae) bởi TS. Nguyễn Thế Cường - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật – Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam.



Hình 1. Hoa và quả cây Bù dẻ tía

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết xuất dược liệu

Dược liệu sau khi thu hái được rửa sạch, thái nhỏ, phơi, sấy khô, xay thành bột thô và bảo quản ở nơi khô thoáng.

1,5kg bột dược liệu được chiết siêu âm ở 40°C với methanol trong vòng 1 giờ, tiến hành lặp lại 3 lần. Lọc và gộp dịch chiết, cất loại dung môi dưới áp suất giảm đến khi kiệt dung môi thu được 200g cao chiết tổng methanol. Lấy một phần nhỏ cao chiết này phân tán vào nước cất tỷ lệ 1:1, chiết phân bố lần lượt bằng các dung môi có độ phân cực tăng dần n-hexan, chloroform và ethyl acetat (mỗi dung môi 3 lần, với tỷ lệ dung môi: nước là 1:1). Các phân đoạn được cất loại kiệt dung môi dưới áp suất giảm thu được cao phân đoạn tương ứng là n-hexan, chloroform, ethyl acetat và nước.

2.2.2. Phương pháp đánh giá tác dụng chống oxy hóa in vitro

Cao chiết toàn phần và các phân đoạn tương ứng

từ phần trên mặt đất cây Bù dẻ tía được đánh giá khả năng quét gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) theo phương pháp của Kedare và cộng sự có thay đổi nhỏ để phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm [4]. Dựa vào phản ứng giữa gốc tự do DPPH màu tím đỏ với chất chống oxy hóa để tạo ra phức hợp của DPPH có màu vàng và không hấp thụ ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 517nm. Đo độ hấp thụ tại bước sóng 517nm của dung dịch sau phản ứng. Cao chiết toàn phần và các phân đoạn được pha bằng methanol thành các dung dịch có nồng độ khác nhau. Chuẩn bị hỗn hợp phản ứng gồm: 400μl dung dịch các mẫu thử, 1600 μl dung dịch DPPH (nồng độ 150 μM) trong methanol. Ủ hỗn hợp phản ứng ở 37°C trong 30 phút. Song song với mỗi mẫu thử, một mẫu chứng được tiến hành trong cùng điều kiện với thành phần gồm: 400μl methanol, 1600 μl dung dịch DPPH (nồng độ 150 μM) trong methanol. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Sử dụng Acid ascorbic làm chứng dương.

Hoạt tính quét gốc tự do DPPH được đánh giá thông qua giá trị phần trăm ức chế I(%) và được tính theo công thức: $I(\%) = [(A_{\text{chứng}} - A_{\text{thử}}) / A_{\text{chứng}}] \times 100$.

Trong đó:

$A_{\text{chứng}}$: là độ hấp thụ của mẫu chứng

$A_{\text{thử}}$: là độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng có mẫu thử.

Tính giá trị IC_{50} . Giá trị IC_{50} càng thấp thể hiện tác dụng chống oxy hóa càng mạnh.

2.2.3. Phương pháp đánh giá độc tính cấp cao chiết toàn phần của dược liệu

36 chuột BALB/c khỏe mạnh, khối lượng 20-22 gram, không phân biệt giống, được chia làm 6 lô (6 chuột/lô), và bị bỏ đói hoàn toàn 16 h trước khi cho uống cao chiết toàn phần cây Bù dẻ tía một lần duy nhất ở các nồng độ 5000, 6000, 7000, 8000, 9000

và 10000 mg/kg thể trọng tương ứng với 6 lô thí nghiệm. Sau khi cho uống 1-2 giờ, chuột được nuôi dưỡng bình thường trở lại (cho ăn, uống tự do) và theo dõi liên tục trong 72 giờ để xác định số chuột chết trong từng lô và tính giá trị LD_{50} theo công thức của Abraham [2] và Turner [9].

2.2.4. Xử lý kết quả

Xử dụng phần mềm Microsoft Excel 2013 để xử lý các kết quả thu được.

3. KẾT QUẢ

3.1. Tác dụng chống oxy hóa *in vitro*

Tác dụng chống oxy hóa *in vitro* trên mô hình quét gốc tự do DPPH của các mẫu thử là cao chiết toàn phần và cao chiết các phân đoạn ở các nồng độ khác nhau được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Tác dụng chống oxy hóa *in vitro* trên mô hình quét gốc tự do DPPH của cao chiết toàn phần và cao chiết các phân đoạn

Nồng độ (µg/ml)	Phần trăm ức chế (I%)					Acid ascorbic	
	MeOH	n-hexan	Chloroform	Ethyl acetat	Nước	C (µg/ml)	I%
10	3,21 ± 1,36	3,96 ± 0,89	3,68 ± 1,42	19,52 ± 0,16	2,78 ± 2,24	0,5	10,66 ± 1,63
20	17,83 ± 2,74	11,36 ± 3,62	5,51 ± 0,76	22,75 ± 0,27	6,68 ± 1,64	1	21,56 ± 2,24
50	23,57 ± 3,55	13,56 ± 1,11	12,67 ± 0,77	46,15 ± 0,16	8,45 ± 1,52	2	43,35 ± 2,41
70	33,11 ± 2,46	14,77 ± 1,51	34,53 ± 0,40	61,19 ± 0,14	21,48 ± 0,85	2,5	55,86 ± 1,42
130	77,94 ± 2,17	53,49 ± 0,51	50,93 ± 0,81	76,63 ± 0,10	70,70 ± 1,18	3	65,05 ± 2,26
IC_{50}	88,49	125,81	124,51	65,57	106,04		2,29

Từ kết quả Bảng 1 cho thấy cao chiết toàn phần và cao chiết phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính chống oxy với IC_{50} lần lượt là 88,49 µg/ml và 65,57 µg/ml. Cao chiết phân đoạn n-hexan thể hiện tác dụng yếu nhất với IC_{50} là 125,81 µg/ml. Song song với các mẫu thử, tiến hành tương tự với mẫu chứng dương acid ascorbic cho thấy tác dụng quét gốc tự do DPPH *in vitro* của acid ascorbic thể hiện qua giá trị IC_{50} là 2,29 µg/ml.

3.2. Kết quả xác định độc tính cấp

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao chiết toàn phần cây Bù dẻ tía được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Liều (mg/kg/lần)	Số chuột chết/số chuột sống sau 72 giờ	Biểu hiện chức năng trong vòng 24 giờ
5000	0/6	Chuột khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
6000	0/6	Chuột khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
7000	0/6	Chuột khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
8000	0/6	Chuột khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
9000	0/6	Chuột khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt
10000	0/6	Chuột khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, phản xạ ánh sáng và âm thanh tốt

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy ở tất cả các lô đều không có chuột bị chết dù được uống ở nồng độ cao 10000 mg/kg thể trọng chuột. Theo dõi sự biểu hiện chức năng của chuột thí nghiệm, nhận thấy chuột ở tất cả các lô thí nghiệm đều khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, không có hiện tượng xù lông, di chuyển chậm. Như vậy, cao chiết toàn phần cây Bù dẻ tía không thể hiện độc tính cấp ở các liều nghiên cứu và với liều cực đại có thể cho chuột uống được 10000 mg/kg thể trọng chuột. Như vậy kết quả chưa xác định độc tính cấp, giá trị LD₅₀ của dược liệu nghiên cứu.

4. BÀN LUẬN

Hiện nay, việc tìm kiếm các dược liệu có khả năng chống oxy hóa nhằm ngăn chặn các bệnh gây ra do tác nhân oxy hóa là hướng nghiên cứu của nhiều nhà khoa học. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy cao chiết toàn phần của Bù dẻ tía có tác dụng chống oxy hóa trung bình. Trên mô hình quét gốc tự do DPPH, cao chiết toàn phần của phần trên mặt đất thể hiện tác dụng chống oxy hóa với IC₅₀ là 88,49 µg/ml. Nghiên cứu của Noushin và cộng sự cho thấy, khả năng dập tắt gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol từ lá của Bù dẻ tía thu hái tại Malaysia ở nồng độ 50 µg/ml là 65,41% [5]. Sự khác nhau này có thể do vị trí địa lý của cây trồng khác nhau, mặt khác bộ phận dùng của hai nghiên cứu cũng khác nhau. Khi tiến hành sàng lọc trên các phân đoạn cao chiết của bù dẻ tía thu hái tại Việt Nam, kết quả cho thấy phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính quét gốc tự do DPPH *in vitro* mạnh nhất. Điều này có thể giải thích do trong phân đoạn này chứa nhiều các hợp chất phenolic như flavonoid.

Tổng quan tài liệu cho thấy trong thành phần hóa học các loài thuộc họ Na thường chứa alcaloid. Đây là một nhóm chất có tác dụng sinh học mạnh nhưng độc tính cũng khá cao. Liều LD₅₀ của cao chiết phân

đoạn ethanol từ vỏ rễ loài *Uvaria chamae* là 166mg/kg thể trọng chuột [7], của cao chiết nước từ lá loài *Annona muricata* là 155 ± 20 mg/kg thể trọng chuột [8]. Một nghiên cứu ở Ấn Độ đã xác định liều an toàn trên chuột của cao chiết từ hạt *Annona squamosa* là 300mg/kg thể trọng, đồng thời chỉ ra rằng cao chiết hạt *A. squamosa* độc gấp 7 lần so với cao chiết hạt *Pongamia pinnata* (cây Đậu dầu- họ Đậu) [3]. Như vậy có thể thấy một số loài thuộc họ Na có độc tính ở một mức độ nhất định.

Tuy nhiên, cao chiết toàn phần cây Bù dẻ tía trong nghiên cứu này không thể hiện độc tính cấp ở các mức liều đã nghiên cứu và với liều lớn nhất có thể cho chuột uống được 10000 mg/kg thể trọng chuột, chưa xác định được giá trị LD₅₀. Kết quả này cho thấy Bù dẻ tía là một dược liệu khá an toàn về mặt độc tính cấp trên động vật thử nghiệm.

Ở các nghiên cứu trước đây dược liệu này cho thấy có hoạt tính ức chế tế bào ung thư mạnh, có khả năng ức chế 6 dòng tế bào ung thư bao gồm ung thư gan, biểu mô, phổi, dạ dày, vú và ruột kết với các giá trị IC₅₀ thấp từ 0,62–7,51 µg/mL [1]. Cùng với tác dụng chống oxy hóa ở mức độ trung bình, khá an toàn về mặt độc tính cấp, bù dẻ tía là một dược liệu có triển vọng cho các nghiên cứu tiếp theo trong định hướng để phát triển thành thuốc hoặc các sản phẩm phục vụ công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

5. KẾT LUẬN

- Về tác dụng chống oxy hóa trên hệ DPPH: cao chiết toàn phần và cao chiết phân đoạn ethyl acetat của dược liệu bù dẻ tía có tác dụng chống oxy hóa ở mức trung bình với giá trị IC₅₀ lần lượt là 88,49 µg/ml và 65,57 µg/ml.

- Về độc tính cấp: cao chiết toàn phần cây Bù dẻ tía không thể hiện độc tính cấp ở liều 10000 mg/kg thể trọng chuột, chưa xác định được giá trị LD₅₀.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hồ Việt Đức, Lê Thị Bích Hiền, Phan Văn Kiêm, Đỗ Thị Thảo, Nguyễn Thị Hoài (2013), Tác dụng gây độc tế bào ung thư của dịch chiết các phân đoạn và các hợp chất polyoxygenated cyclohexen từ Bù dẻ tía (*Uvaria grandiflora*), *Tạp chí Dược học*, 446, 7–12.
2. Abraham W.B. (1978), "Techniques of animal and clinical toxicology", *Med Pud Chicago*, pp. 55 – 68.
3. Aneela S. , Somnath de, Lakshmi kanta Kanthal, Choudhury N.S.K., Lohi das B., Vidya Sagar K. (2011), "Acute oral toxicity studies of *Pongamia pinnata* and

Annona squamosa on Albino Wister rats", *International journal of research in pharmacy and chemistry*, 1(4), pp. 820-824.

4. Kedare S. B., Singh R. (2011), Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay, *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), pp.412-422.
5. Noushin Aminimoghadamfaroui, Alireza Nematollahi, Christophe Wiart (2011), Anti bacterial, antioxidant activity and phytochemical study of *Uvaria*

grandiflora: A rare species of Annonaceae, *Journal of Pharmacy Research*, 4(4), pp. 954-955.

6. Soepadmo E. (1988), *Malaysian traditional medicine: proceedings of the Seminar on Malaysian Traditional Medicine*, pp. 84.

7. Sridevi Ankisetty, Hala N. ElSohly, Xing Cong Li, Shabana I. Khan, Babu L. Tekwani, Troy Smillie, and Larry Walker (2006), "Aromatic Constituents of *Uvaria grandiflora*", *Journal of Natural Products*, 69(4), pp. 692-694.

8. Stephen O. Adewole, John A.O. Ojewole (2009),

"Protective Effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Serum Lipid Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats", *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6(1), pp. 30-41.

9. Tuner A.R. (1965), "Screening methods in pharmacology", *Academic Press. New York and London*, pp. 60-68.

10. Wiart Christophe (2006), *Medicinal Plants of the Asian- Pacific: Drugs for the future?*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., pp. 24-26.