

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG OXI HÓA VÀ KHÁNG VIÊM *IN VITRO* CỦA CAO CHIẾT PHẦN TRÊN MẶT ĐẤT CỦA CÂY RAU NGỔ (*Enhydra fluctuans* Lour.)

Nguyễn Thị Bích Ngọc¹, Trần Chí Linh² và Nguyễn Thị Hồng Hạnh^{3*}

¹Sinh viên, Khoa Sư phạm Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

²Sinh viên, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

³Khoa Sư phạm Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Email: nthhanh@dthu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 11/06/2020; Ngày nhận chỉnh sửa: 28/08/2020; Ngày duyệt đăng: 28/09/2020

Tóm tắt

Ở Việt Nam, cây rau ngổ phân bố rất phổ biến và được nhiều người xem như là một loại thức ăn dân dã. Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa và kháng viêm *in vitro*, cũng như định tính sơ bộ thành phần hóa học của cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ. Hiệu quả kháng oxi hóa của cao ethanol xác định dựa trên khả năng trung hòa gốc tự do DPPH, ABTS⁺; năng lực khử (RP). Khả năng kháng viêm của cao chiết được khảo sát thông qua hoạt động ức chế sự biến tính protein. Kết quả cho thấy, phần trên mặt đất cây rau ngổ có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH, ABTS⁺ và năng lực khử RP tương ứng với giá trị IC₅₀ lần lượt là 53,36±0,68, 66,36±1,47 và 74,17±2,27 µg/mL. Bên cạnh đó, cao ethanol của phần trên mặt đất cây rau ngổ có hoạt tính kháng viêm *in vitro* với giá trị IC₅₀=66,19±3,10 µg/mL. Thành phần hóa học phần trên mặt đất cây rau ngổ gồm alkaloid, flavonoid, steroid, tannin và glycoside. Hàm lượng flavonoid và polyphenol trong cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ đã được xác định cho giá trị lần lượt là 16,73±1,37 mg GAE/g và 138,30±1,89 mg QE/g cao chiết. Riêng hợp chất saponin thì không phát hiện ở cây. Điều này cho thấy, phần trên mặt đất cây rau ngổ sẽ có nhiều tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực dược liệu về hợp chất kháng oxi hóa hỗ trợ điều trị các bệnh có nguyên nhân từ stress oxi hóa và viêm.

Từ khóa: Cây rau ngổ, kháng oxi hóa, kháng viêm.

DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.10.3.2021.871>

Trích dẫn: Nguyễn, T. B. N., Trần, C. L., & Nguyễn, T. H. H. (2021). Khảo sát hoạt tính kháng oxi hóa và kháng viêm *in vitro* của cao chiết phần trên mặt đất của cây rau ngổ (*Enhydra fluctuans* Lour.). *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 10(3), 84-92. <https://doi.org/10.52714/dthu.10.3.2021.871>.

STUDYING THE ANTIOXIDANT AND ANTI- INFLAMMATORY ACTIVITY OF THE ETHANOL EXTRACT FROM THE UPPER PARTS OF *ENHYDRA FLUCTUANS* LOUR. *IN VITRO*

Nguyen Thi Bich Ngoc¹, Tran Chi Linh² and Nguyen Thi Hong Hanh^{3*}

¹Student, Faculty of Natural Science Teacher Education, Dong Thap University, Vietnam

²Student, College of Natural Sciences, Can Tho University, Vietnam

³Faculty of Natural Science Teacher Education, Dong Thap University, Vietnam

*Corresponding author: Nguyen Thi Hong Hanh, Email: nthhanh@dthu.edu.vn

Article history

Received: 11/06/2020; Received in revised form: 28/08/2020; Accepted: 28/09/2020

Abstract

In Vietnam, *Enhydra fluctuans* Lour (*E. fluctuans* L.) is very popular and considered as a common food. This study was aimed to assess antioxidant and anti-inflammatory activity in vitro as well as initially identifying the chemical composition of the extract from the upper parts (i.e. stem and leaves) of this vegetable. The antioxidant efficacy of the ethanol extract was determined based on its ability to neutralize free DPPH, ABTS^{•+} radicals and the reducing power (RP). The anti-inflammatory ability of the extract was investigated through the activity of inhibition in protein denaturation. The results showed that the upper parts of *E. fluctuans* was able to neutralize free DPPH, ABTS^{•+} radicals and RP corresponding to IC₅₀ values, respectively 53.36±0.68, 66.36±1.47 µg/mL and 74.17±2.27 µg/mL. The compounds of ethanol extract have the anti-inflammatory activity in vitro of IC₅₀=66.19±3.10 µg/mL. The chemical composition of the upper parts include alkaloids, flavonoids, steroids, tannins and glycosides. The total flavonoid and polyphenol contents in the extract from the upper parts were found with the values of 16.73±1.37 mg GAE/g and 138.30±1.89 mg QE/g, respectively. However, saponin compounds were not detected. This shows that the upper parts of *E. fluctuans* have many potential applications in the field of medicinal herbs on antioxidant compounds helping the treatment of diseases caused by oxidative stress and inflammation.

Keywords: *Enhydra fluctuans* Lour., Asteraceae, antioxidant, anti-inflammatory.

1. Đặt vấn đề

Viêm là một phản ứng sinh lý của cơ thể cho mục đích loại bỏ các chất có hại ngoại sinh và nội sinh được tạo ra bởi các kích thích gây tổn thương và là một phần của quá trình chữa lành trong các mô bị thương (Nathan, 2002). Tuy nhiên, phản ứng viêm nếu không được kiểm soát có thể tiến triển thành một loạt các bệnh viêm mãn tính (Gaestel & cs., 2009). Bạch cầu đa nhân trung tính đóng một vai trò quan trọng trong việc bắt đầu quá trình viêm với các phân tử khác có tên là chất trung gian gây viêm được giải phóng bởi một số tế bào như cytokine, endotoxin, leukotrien, prostaglandin và các loại oxi phản ứng (Reactive Oxygen Species, ROS) (Maryem & cs., 2017). Đồng thời, sự gia tăng ROS quá mức sẽ dẫn đến stress oxi hóa (là hệ quả của sự cân bằng chênh lệch giữa sản xuất ROS và chất kháng oxi hóa trong cơ thể sinh vật). Sự gia tăng của ROS làm tăng tính nghiêm trọng của nhiều bệnh tật như ung thư, tổn thương gan, đái tháo đường, hình thành đục thủy tinh thể và bệnh Alzheimer (Bertrand & cs., 2014). Cơ thể sinh vật có khả năng điều hòa hàm lượng ROS nhờ vào các enzyme kháng oxi hóa, bao gồm superoxide effutase (SOD), catalase (CAT) và glutathione peroxidase (GPx) trong các mô. Tuy nhiên, hệ thống kháng oxi hóa tế bào nếu bị lỗi sẽ khiến các sinh vật phát triển một loạt các bệnh liên quan đến viêm hoặc ác tính (Valko & cs., 2006). Như vậy giữa ROS và viêm có mối liên hệ mật thiết với nhau. Chính vì vậy, mà nghiên cứu này tập trung đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa và kháng viêm nhằm làm cơ sở ban đầu cho các nghiên cứu chuyên sâu về thực phẩm chức năng có tác dụng điều trị các bệnh do viêm và ngăn ngừa oxi hóa. Hiện nay, con người dần có xu hướng ưa chuộng các sản phẩm dược liệu từ thiên nhiên. Bởi lẽ, các chất kháng oxi hóa tự nhiên trong thực vật là những chất kháng viêm tiềm năng và đang thu hút sự chú ý trong những năm gần đây (Zhao & cs., 2018). Rau ngổ (*Enydra fluctuans* Lour.) là một loại cây thân thảo được xem là một loại thức ăn dân dã nhưng bên cạnh

đó cũng là một vị thuốc trong dân gian có tính giải độc và điều trị một số bệnh như viêm, bệnh về da, thủy đậu (Kirtikar & Basu, 2002). Trên thế giới, hiện nay cũng có một số công trình khoa học công bố về những công dụng nổi bật của rau ngổ. Một số nghiên cứu về hoạt tính sinh học cho thấy cây rau ngổ có tính kháng sinh, bảo vệ gan, kháng oxi hóa, hạ huyết áp, giảm đau và kháng tiêu chảy (Joshi & Kamat, 1972; Rahman & cs., 2002; Uddin & cs., 2005; Sannigrahi & cs., 2010; Huỳnh & cs., 2017a). Bên cạnh đó, các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy trong cây rau ngổ có chứa gibberelin, các dẫn xuất cholesterol, cocquiterpene, D-limonen, phytol, ceramide, beta-sitosterol-3-O-b-D-glucopyranoside (Ganguly & cs., 1972; Krishnaswamy & Prasanna, 1975; Krishnaswamy & Ramji, 1995; Huỳnh & cs., 2017b). Tại Việt Nam, việc khảo sát thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học trên cao ethanol của loài cây này chưa có nhiều nghiên cứu. Vì vậy, việc định tính và định lượng thành phần hóa học cũng như xác định một số hoạt tính kháng oxi hóa và kháng viêm của cây rau ngổ để bổ sung cơ sở khoa học về nguồn dược liệu triển vọng tạo ra các sản phẩm phòng ngừa và điều trị một số bệnh ở người.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Phần trên mặt đất của cây rau ngổ khoảng 45 ngày tuổi được thu tại thành phố Cao Lãnh, Đồng Tháp vào ngày 12 tháng 3 năm 2020. Mẫu thực vật được định danh dựa trên các đặc điểm mô tả hình thái theo bộ sách Cây cỏ Việt Nam của Phạm Hoàng Hộ (1999).

2.2. Hóa chất

Dung môi: ethanol (Việt Nam), Folin-Ciocalteu (Sigma), sodium carbonate (Trung Quốc), gallic acid (Trung Quốc), sodium nitrite (Trung Quốc), aluminium chlorohydrate hexahydrate (Trung Quốc), sodium hydroxide (Trung Quốc), quercetin (Trung Quốc), ABTS-2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (Merck), kali persulfate (Merck),

trolox (Merck), potassium ferricyanide (Merck), trichloroacetic acid (Merck), iron (III) chloride (Merck), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma), albumin huyết thanh bò (Himadia), diclofenac (Himadia) và một số hóa chất khác.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Điều chế cao ethanol của phần trên mặt đất cây rau ngổ

Phần trên mặt đất của cây rau ngổ được loại bỏ phần hư, rửa sạch, để ráo nước và phơi khô tự nhiên. Sau đó, mẫu được cắt thành từng khúc nhỏ và xay nhuyễn để dùng cho quá trình nghiên cứu. Mẫu (2 kg) được ngâm dầm trong ethanol (2 L) mỗi lần 24 giờ, sau 3 lần thì mẫu đã được chiết kiệt. Dịch ngâm được lọc qua giấy lọc và tiến hành cô đuổi dung môi thu được cao chiết ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ (22 g) có mùi khăng, màu xanh đậm, dạng rắn.

2.3.2. Định tính thành phần hóa học của phần trên mặt đất cây rau ngổ

Thành phần hóa học của cao ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ gồm: alkaloid, flavonoid, glycoside, tannin, steroid, saponin được định tính sơ bộ bằng các phương pháp định tính các nhóm hợp chất thiên nhiên theo mô tả của Nguyễn Kim Phi Phụng (2007).

2.3.3. Định lượng polyphenol và flavonoid toàn phần trong cao tổng ethanol

Định lượng polyphenol tổng bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu

Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp của Singleton & cs. (1999) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 250 μ L cao chiết trong 250 μ L nước và 250 μ L thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều. Sau đó, thêm vào 250 μ L Na_2CO_3 10% rồi ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Gallic acid được sử dụng như chất chuẩn để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng polyphenol trong cao ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid.

Phương pháp định lượng flavonoid

Hàm lượng flavonoid được xác định bằng phương pháp so màu AlCl_3 của Bag & cs. (2015) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL cao chiết ở nồng độ khảo sát pha trong 1 mL nước cất rồi lắc đều. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 200 μ L NaNO_2 5%, để yên 5 phút tiếp tục thêm 200 μ L AlCl_3 10%, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút được thêm 2 mL NaOH 1M. Cuối cùng nước được thêm vào cho đủ 5 mL và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn Quercetin.

2.3.4. Khảo sát hoạt động kháng oxi hóa của cao ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ

Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH (2, 2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)

Khả năng kháng oxi hóa của cao ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ được xác định nhờ phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH (Sharma & cs., 2009) có hiệu chỉnh được tóm tắt như sau: Hỗn hợp phản ứng gồm 40 μ L DPPH (1000 μ g/mL) và 960 μ L cao chiết. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối 30°C trong thời gian 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm. Tinh chất trolox được sử dụng như chất đối chứng dương.

Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} (2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))

Hoạt tính kháng oxi hóa được xác định bằng phương pháp khử màu $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Nenadis & cs., 2004) tóm tắt như sau: $\text{ABTS}^{\bullet+}$ được tạo ra bởi phản ứng ABTS 7 mM với 2,45 mM kali persulfate. Hỗn hợp được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng 12-16 giờ trước khi sử dụng. Sau đó, hỗn hợp được pha loãng và đo mật độ quang ở bước sóng 734 nm là $0,70 \pm 0,05$. Tiến hành khảo sát bằng cách cho 10 μ L cao chiết phản ứng với 990 μ L $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ở nhiệt độ phòng trong 6 phút.

Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm. Tinh chất trolox được sử dụng như đối chứng dương.

Khảo sát hiệu quả kháng oxi hóa của phần trên mặt đất cây rau ngổ dựa trên hoạt động khử sắt

Hoạt tính kháng oxi hóa của cao ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ được xác định dựa trên khả năng khử Fe^{3+} trong phức $Fe(CN)_6^{3-}$ thành Fe^{2+} trong phức $Fe(CN)_6^{4-}$ khi có mặt của chất kháng oxi hóa, sau đó phức $Fe(CN)_6^{4-}$ tiếp tục phản ứng với Fe^{3+} trong $FeCl_3$ để tạo thành phức $Fe[Fe(CN)_6]$ có màu xanh được đo ở bước sóng 700 nm. Khả năng khử sắt của cao chiết được thực hiện theo phương pháp của Oyaizu (Oyaizu, M, 1986). Hỗn hợp phản ứng lần lượt gồm 500 μ L cao chiết, 500 μ L đệm phosphate (0,2 M, pH=6,6) và 500 μ L $K_3Fe(CN)_6$ 1%. Sau khi hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 500 μ L CCl_3COOH 10% rồi ly tâm 3000 vòng/ phút trong 10 phút. Phần dịch sau khi ly tâm được rút 500 μ L cho vào 500 μ L nước và 100 μ L $FeCl_3$ 0,1%, lắc đều. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm. Tinh chất trolox được sử dụng như đối chứng dương.

Hoạt tính kháng oxi hóa của cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ được đánh giá thông qua hàm lượng chất kháng oxi hóa tương đương μ g/mL trolox và giá trị IC_{50} ($OD_{0,5}$) dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính của tinh chất trolox và cao chiết theo mô tả của Piaru & cs. (2012).

Khảo sát hoạt tính kháng viêm in vitro của cao chiết

Khả năng kháng viêm của cao chiết được khảo sát thông qua hoạt động ức chế sự biến tính protein được thực hiện theo phương pháp của Shah & cs. (2017) có hiệu chỉnh như sau: Hỗn hợp phản ứng gồm 150 μ L cao chiết với 150 μ L dung dịch albumin huyết thanh bò (BSA) 5%. Sau đó, hỗn hợp được ủ ở 27°C trong 15 phút. Sự biến tính protein được gây ra bằng cách giữ hỗn hợp phản ứng ở 60°C trong 10 phút. Sau khi làm mát, tiến hành đo mật độ quang tại bước sóng

660 nm. Diclofenac được sử dụng như đối chứng dương. Khả năng ức chế sự biến tính protein được xác định theo công thức sau: Phần trăm ức chế (%) = $100 \times (1 - V_t/V_c)$. Trong đó, V_t : mật độ quang của mẫu thử có chứa cao chiết hoặc chất chuẩn, V_c : mật độ quang của mẫu chứa đệm phosphate. Đồng thời, cao chiết và diclofenac cũng được xác định giá trị IC_{50} dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính.

2.3.5. Phân tích và xử lý số liệu

Tất cả các phép thử nghiệm được thực hiện ba lần và kết quả được biểu thị bằng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn. Các kết quả được phân tích sâu hơn bằng ANOVA (thử nghiệm Fisher) sử dụng phần mềm Minitab 16.0. Kết quả được coi là có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thành phần hóa học cao chiết

Những hoạt chất tự nhiên trong thực vật cho thấy một loạt các tính chất được lý chống lại các bệnh, rối loạn cấp tính và mãn tính khác nhau (Arulselvan & cs., 2014; Gothai & cs., 2016). Do đó, nhu cầu xác định thành phần hóa học trong cây dược liệu là cần thiết. Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học có trong cao ethanol được chiết từ phần trên mặt đất cây rau ngổ cho thấy sự hiện diện của các thành phần có hoạt tính sinh học khác nhau như: flavonoid, alkaloid, steroid, tannin, saponin, glycoside. Trong những nhóm hợp chất trên thì flavonoid thuộc polyphenol được xem góp phần tích cực vào các hoạt động kháng oxi hóa của các hợp chất tự nhiên (Arulselvan & cs., 2016). Các chất kháng oxi hóa dựa trên hợp chất thiên nhiên đóng vai trò phòng ngừa trong việc bảo vệ chống lại sự tạo ra các gốc tự do và do đó chất kháng oxi hóa tự nhiên là một trong những tác nhân trị liệu có giá trị hơn để giảm các bệnh do stress oxi hóa (Ravipati & cs., 2012). Bên cạnh việc có các hoạt động kháng oxi hóa, flavonoid và các hợp chất thuộc nhóm polyphenol cũng có vai trò hiệu quả là các yếu tố kháng viêm. Các hoạt động kháng viêm của các hợp chất thiên nhiên đã được báo cáo trong một số nghiên cứu và đã được quan sát thấy trong nhiều nghiên cứu

tiền lâm sàng (Ravipati & cs., 2012). Những phát hiện từ nghiên cứu kháng viêm đã chứng minh rằng các hợp chất thiên nhiên ngăn chặn hai con đường truyền tín hiệu lớn như NF- κ Kinase protein B và mitogen (MAPKs) có vai trò chính trong việc sản xuất các chất trung gian gây viêm khác nhau. Chính vì những lý do trên, hàm lượng flavonoid và polyphenol trong cao chiết phần trên

mặt đất cây rau ngổ đã được xác định cho giá trị lần lượt là $16,73 \pm 1,37$ mg GAE/g cao chiết và $138,30 \pm 1,89$ mg QE/g cao chiết. Điều này cho thấy, phần trên mặt đất cây rau ngổ sẽ có nhiều tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực dược liệu về hợp chất kháng oxy hóa hỗ trợ điều trị các bệnh có nguyên nhân từ stress oxy hóa và viêm.

Bảng 1. Thành phần hóa học có trong cao ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ

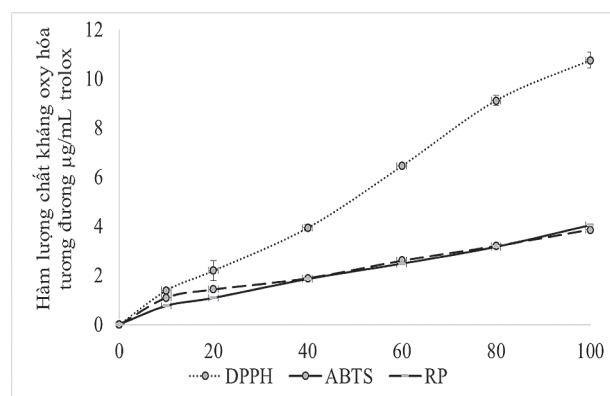
Nhóm chức	Thuốc thử	Hiện tượng	Kết luận
Flavonoid	FeCl ₃ 1%	Kết tủa xanh đen	+
	H ₂ SO ₄ đậm đặc	Kết tủa màu vàng	+
Alkaloid	Wagner	Kết tủa nâu	+
Steroid	Liebermann-Burchard	Xuất hiện một màu xanh lá cây hoặc xanh lục sau một vài phút	+
Saponin	Lắc mạnh 1 phút với nước	Tạo bọt	-
Tannin	Gelatin mặn	Kết tủa bông trắng	+
Glycoside	Keller - Killiani	Vòng màu tím hay nâu đỏ	+

Chú thích: Dấu (+) có hiện diện; (-) không hiện diện.

3.2. Hiệu quả kháng oxy hóa của phần trên mặt đất cây rau ngổ

Nhiều phương pháp đã được sử dụng để xác định khả năng kháng oxy hóa của các chiết xuất thực vật. Trong số các phương pháp này, các hoạt động chelating kim loại RP, DPPH và ABTS⁺ được sử dụng thường xuyên nhất (Gülçin, 2011). Xét nghiệm trung hòa gốc tự do DPPH là một trong những phương pháp lâu đời nhất để xác định hoạt tính kháng oxy hóa (Roginsky & Lissi, 2005). Phương pháp DPPH dựa trên thực tế là các gốc tự do này được chuyển đổi thành DPPH-H, dạng khử của các gốc DPPH, khi được nhận hydro từ chất kháng oxy hóa (Elmastas, 2006). Khi hàm lượng chất kháng oxy hóa tăng lên lượng gốc tự do của DPPH giảm tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết. Trong nghiên cứu của chúng tôi, cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ có hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương $\mu\text{g/mL}$ trolox tăng dần từ $1,39 \pm 0,10$ $\mu\text{g/mL}$ ở nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$ lên $10,75 \pm 0,33$ $\mu\text{g/mL}$ ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ (Hình 1). Đồng thời, giá trị IC₅₀, DPPH của cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ là $66,36 \pm 1,47$ $\mu\text{g/mL}$ cho thấy hoạt tính

trung hòa gốc DPPH thấp hơn so với tinh chất trolox ($7,23 \pm 0,17$ $\mu\text{g/mL}$) là 9,18 lần (Bảng 1).



Hình 1. Hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ

Ở phương pháp này, khả năng trung hòa gốc tự do ABTS⁺ của cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ cũng có liên quan đến hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong cao chiết. Kết quả nghiên cứu trong Hình 1 cho thấy, hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương $\mu\text{g/mL}$ trolox của phần trên mặt đất cây rau ngổ tăng từ $1,10 \pm 0,04$ $\mu\text{g/mL}$ ở nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$ lên $3,86$ $\mu\text{g/mL}$ ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$. Khả năng trung hòa gốc tự do của cao

chiết đối với các gốc tự do ABTS^{•+} còn được thể hiện thông qua giá trị IC₅₀. Cụ thể, cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ có IC₅₀^{ABTS} = 53,36 ± 0,68 µg/mL, kém hơn trolox (2,40 ± 0,02 µg/mL) 22,23 lần được trình bày trong Bảng 1. Như vậy, hợp chất ABTS bị oxy hóa bởi các chất oxy hóa thành cation ABTS^{•+} có màu xanh dương đậm, nhờ vào các chất kháng oxy hóa có trong phần trên mặt đất cây rau ngổ đã khử màu của ABTS^{•+}.

Năng lực khử (RP) là một cơ chế khác để xác định khả năng cho điện tử của cao chiết. Sự hiện diện của các chất cho điện tử trong cao chiết dẫn đến việc khử Fe³⁺ thành Fe²⁺. Lượng Fe²⁺ sau đó có thể được theo dõi bằng cách đo sự hình thành của màu xanh ở bước sóng 700 nm. Tăng độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm cho thấy sự gia tăng khả năng khử. Hình 1 cho thấy hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương µg/mL trolox của cao chiết cho thấy khả năng khử của các chất chiết xuất được nghiên cứu. Kết quả cho thấy khả năng khử của cao chiết tăng tương quan với nồng độ của nó. Tuy nhiên, dựa vào giá trị IC₅₀ vẫn cho thấy cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ có năng lực khử yếu hơn trolox, khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê (p < 0,05).

Bảng 2. Giá trị IC₅₀ của các phương pháp kháng oxy hóa

Mẫu thử	Giá trị IC ₅₀		
	ABTS ^{•+}	DPPH	RP
Cao chiết	53,36 ^a ± 0,68	66,36 ^a ± 1,47	74,17 ^a ± 2,27
Trolox	2,40 ^b ± 0,02	7,23 ^b ± 0,17	3,05 ^b ± 0,27

Ghi chú: Các ký tự theo sau trong cùng một cột giống nhau khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê.

So với một nghiên cứu khác về hoạt tính kháng oxy hóa của cây rau ngổ được trồng ở Ấn Độ của Sannigrahi & cs. (2010). Trong nghiên cứu này, phần trên không của cây rau ngổ được ly trích qua nhiều phân đoạn dung môi khác nhau. Mà trong đó hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của phân đoạn methanol có giá trị IC₅₀ = 66,5 µg/mL, kết quả này có sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Nhiều nghiên

cứ khác cũng cho thấy rằng rau ngổ là nguyên liệu tiềm năng trong việc sử dụng làm thuốc kháng oxy hóa, định hướng tác dụng bảo vệ gan (Huỳnh & cs., 2017a).

3.3. Hiệu quả kháng viêm in vitro của cao chiết

Sau khi khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* của phần trên mặt đất cây rau ngổ tiếp tục dùng cao ethanol để khảo sát khả năng kháng viêm thông qua hoạt động ức chế sự biến tính protein. Sự biến tính protein là quá trình trong đó protein mất đi cấu trúc cấp ba dưới các tác động cơ học, hóa học hoặc nhiệt. Sự biến tính của protein là một trong những nguyên nhân gây viêm đã được chứng minh (Leelaprakash & Mohan, 2011). Hầu hết các protein sinh học mất chức năng sinh học khi bị biến tính. Hoạt tính kháng viêm của cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ được khảo sát thông qua hoạt động ức chế sự biến tính của albumin huyết thanh bò (BSA) kết quả được trình bày trong Bảng 2. Khả năng ức chế sự biến tính protein của cao chiết ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ tỉ lệ thuận với nồng độ, tăng từ 16,34 ± 0,37% ở nồng độ 10 µg/mL lên 66,34 ± 2,00% ở nồng độ 100 µg/mL (Bảng 2).

Bảng 3. Hiệu suất kháng viêm của cao chiết ethanol phần trên mặt đất cây rau ngổ

Nồng độ (µg/mL)	Hiệu suất kháng viêm (%)
3,125	16,34 ^f ± 0,37
6,25	20,25 ^e ± 0,83
12,5	25,27 ^d ± 1,89
25	31,70 ^c ± 1,21
50	41,59 ^b ± 1,48
100	66,34 ^a ± 2,00

Ghi chú: Xem Bảng 2.

Dựa trên phương trình hồi quy tuyến tính của cao chiết phần trên mặt đất cây rau ngổ và chất chuẩn diclofenac theo hiệu suất xác định được nồng độ ức chế được 50% sự biến tính BSA (IC₅₀). Như vậy, phần trên mặt đất cây rau ngổ có giá trị IC₅₀ = 66,19 ± 3,10 µg/mL yếu hơn 25,56 lần so với diclofenac (IC₅₀ = 2,59 ± 0,14 µg/mL). Nhiều

nghiên cứu đã chỉ ra rằng giữa hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm có mối tương quan tích cực với nhau. Những hợp chất tự nhiên giàu hoạt tính kháng oxy hóa sẽ sở hữu khả năng kháng viêm mạnh (Moreno-Quirós & cs., 2017).

4. Kết luận

Nghiên cứu cho thấy, cao chiết ethanol phân trên mặt đất cây rau ngổ thể hiện các hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm khá tốt. Sự biểu hiện các hoạt tính này có thể là do cao chiết có chứa nhiều hợp chất tự nhiên có tác dụng sinh học cao như flavonoid, alkaloid, steroid, tannin và glycoside. Các nghiên cứu tiếp theo về thành phần hóa học của cao chiết đang được tiếp tục để xác định hợp chất quy định những hoạt tính trên./.

Tài liệu tham khảo

- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, (2016), 1-15.
- Arulselvan, P., Ghofar, H. A. A., Karthivashan, G., Halim, M. F. A., Ghafar, M. S. A., & Fakurazi, S. (2014). Antidiabetic therapeutics from natural source: a systematic review. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(4), 607-617.
- Bag, G. C., Devi, P. G., & Bhaigyabati, T. H. (2015). Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* species of Manipur Valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 30(1), 154-159.
- Sagnia, B., Fedeli, D., Casetti, R., Montesano, C., Falcioni, G., & Colizzi, V. (2014). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Extracts from *Cassia alata*, *Eleusine indica*, *Eremomastax speciosa*, *Carica papaya* and *Polyscias fulva*. *Medicinal Plants Collected in Cameroon*, 9(10), 112573.
- Elmastas, M., Turkekul, I., Ozturk, L., Gulcin, I., Isildak, O., & Aboul-Enein, H. Y. (2006). Antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*) from North Turkey. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 9(6), 443-448.
- Gaestel, M., Kotlyarov, A., & Kracht, M. (2009). Targeting innate immunity protein kinase signalling in inflammation. *Nature*, 8(6), 480-499.
- Ganguly, S. N., Ganguly, T., & Sircar, S. M. (1972). Gibberelins of *Enhydra fluctuans*. *Phytochemistry*, (11), 3433-3434.
- Gothai, S., Arulselvan, P., Tan, W. S., & Fakurazi, S. (2016). Wound healing properties of ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* in normal human dermal fibroblasts. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(1), 1-6.
- Gülçin, İ. (2011). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391.
- Huỳnh, A. D., Bùi, M. L., & Lâm, T. N. G. (2017a). Khảo sát độc tính cấp và tác dụng bảo vệ gan của cao chiết Rau ngổ (*Enhydra fluctuans* Lour., Asteraceae) trên chuột nhắt trắng. *Tạp chí Y dược học Cần Thơ*, (9), 41-47.
- Huỳnh, A. D., Bùi, M. L., & Lâm, T. N. G. (2017b). Khảo sát thành phần hóa học cây Rau ngổ (*Enhydra fluctuans* Lour., Asteraceae). *Tạp chí Dược học*, (492), 53-56.
- Joshi, B. S., & Kamat, V. N. (1972). Structure of enhydrin, a germacrolide from *Enhydra fluctuans*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, (10), 771-776.
- Kirtikar, K.R., & Basu, B. D. (2002). *Indian Medicinal Plants*. Delhi: Sri Satguru Publications.
- Krishnaswamy, N. R., & Ramji, N. (1995). Sesquiterpene lactones from *Enhydra fluctuans*. *Phytochemistry*, (38), 433-435.
- Krishnaswamy, N. R., & Prasanna, S. (1975). Cholesterol from *Enhydra fluctuans*. *Phytochemistry*, (14).
- Leelaprakash, G., & Dass, S. M. (2011). In-vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International*

- Journal of Drug Development and Research*, (3), 185-196.
- Ben Salem, M., Affes, H., Athmouni, K., Ksouda, K., Dhouibi, R., Sahnoun, Z., Hammami, S., & Zeghal, K. M. (2017). Chemicals Compositions, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Cynara scolymus* Leaves Extracts, and Analysis of Major Bioactive Polyphenols by HPLC. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-14.
- Moreno-Quirós, C. V., Sánchez-Medina, A., Vázquez-Hernández, M., Hernández Reyes, A. G., & García-Rodríguez R. V. (2017). Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive potential of *Ternstroemia sylvatica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(11), 1047-1053.
- Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846-852.
- Nenadis, N., Wang, L.F., Tsimidou, M., & Zhang, H. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS⁺ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (52), 4669-4674.
- Nguyễn, K. P. P. (2007). *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. Thành phố Hồ Chí Minh: NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, 80-147.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-316.
- Piaru, S. P., Mahmud, R., Majid, A. M. S. A., & Nassar, Z. D. M. (2012). Antioxidant and antiangiogenic activities of the essential oils of *Myristica fragrans* and *Morinda citrifolia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(4), 294-298.
- Phạm Hoàng Hộ. (1999). *Cây cỏ Việt Nam 1* (Quyển 3). NXB Trẻ.
- Rahman, M. T., Begum, N., Alimuzzaman, M., & Khan, M. O. F. (2002). Analgesic activity of *Enhydra fluctuans*. *Fitoterapia*, (73), 77-79.
- Ravipati, A. S., Zhang, L., Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Reddy, N., Bartlett, J., ... & Vysetti, B. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected Chinese medicinal plants and their relation with antioxidant content. *Complementary and Alternative Medicine*, (12).
- Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92(2), 235-254.
- Sannigrahi, S., Mazuder, U. K., Pal, D. K., Parida, S., & Jain, S. (2010). Antioxidant Potential of Crude Extract and Different Fractions of *Enhydra fluctuans* Lour. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9(1), 75-82.
- Shah, M., Parveen, Z., & Khan, M. R. (2017). Evaluation of antioxidant, antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of the stem bark of *Sapindus mukorossi*. *Complementary and Alternative Medicine*, (17), 526.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, (113), 1202-1205.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*, (299), 152-178.
- Uddin, S. J., Ferdous, M. M., Rouf, R., Alam, M. S., Sarkar, M. A. M., & Shilpi, J. A. (2005). Evaluation of anti-diarrhoeal activity of *Enhydra fluctuans*. *Journal of Medicine Science*, (5), 324-327.
- Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, (160), 1-40.
- Zhao, Y., Chen, S., Wang, Y., Wang, J., & Lu, J. (2018). Effect of drying processes on prenylflavonoid content and antioxidant activity of *Epimedium koreanum* Nakai. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 796-806.