

# PHÂN TÍCH HOẠT CHẤT SINH HỌC VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA CỦA DỊCH TRÍCH CÂY DÂY CỐC (*Tinospora crispa* Miers)

Nguyễn Phạm Tuấn<sup>1</sup>, Bằng Hồng Lam<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Bảo Trân<sup>3</sup>, Nguyễn Phạm Tú<sup>4</sup>

## BIOACTIVE COMPOUNDS ANALYSIS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Tinospora crispa* MIERS STEM EXTRACT

Nguyen Pham Tuan<sup>1</sup>, Bang Hong Lam<sup>2</sup>, Nguyen Thi Bao Tran<sup>3</sup>, Nguyen Pham Tu<sup>4</sup>

**Tóm tắt** – Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân tích hợp chất có hoạt tính sinh học và khả năng kháng oxy hóa của cao chiết thân cây dây cóc. Kết quả nghiên cứu là tiền đề cho quá trình sản xuất các sản phẩm có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh. Cao chiết thân cây dây cóc được thực hiện theo phương pháp ngâm dầm với các dung môi (nước, ethanol 80°, methanol) và kết hợp với sóng siêu âm. Khả năng kháng oxy hóa được tiến hành bằng phương pháp DPPH và hàm lượng phenolic, flavonoid, polysaccharide, tannin được xác định bằng phương pháp quang phổ. Kết quả cho thấy, độ ẩm của thân cây dây cóc đạt 61,09% và hiệu suất trích cao của thân cây dây cóc trong khoảng 3,69% – 6,95%. Cao chiết của thân cây dây cóc có sự hiện diện của các hợp chất sinh học như alkaloid, saponin,

flavonoid, steroid, tannin và phenol. Hàm lượng phenolic, flavonoid, polysaccharide và tannin của thân cây dây cóc lần lượt là 318,91 mg gallic acid/g, 36,71 mg quercetin/g cao khô, 10,38 mg GE/g cao khô và 38,42 mg tannic acid/g cao khô. Cao chiết thân cây dây cóc có khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH với giá trị IC<sub>50</sub> của nước, ethanol 80°, methanol lần lượt là 113,69 µg/mg, 89,12 µg/mg, 62,19 µg/mg. Nghiên cứu này cho thấy, thân cây dây cóc chứa nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học và có khả năng kháng oxy hóa. Đây là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho các nghiên cứu và ứng dụng.

**Từ khóa:** dây cóc, flavonoid, kháng oxy hóa, phenolic, polysaccharide.

**Abstract** – The study was conducted to analyze some of the bioactive compounds and the antioxidant capacity of *Tinospora crispa* stem extract. *Tinospora crispa* stem extract is a prerequisite for the production of products capable of supporting and treating diseases. *Tinospora crispa* stem extract is made by immersion method with solvents (water, ethanol 80° and methanol)

<sup>1,4</sup>Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang

<sup>2,3</sup>Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 06/9/2020; Ngày nhận kết quả bình duyệt: 16/10/2020; Ngày chấp nhận đăng: 25/12/2020

Email: ngphamtuan1983@gmail.com

<sup>1,4</sup>An Giang Biotechnology center

<sup>2,3</sup>An Giang University, Viet Nam National University Ho Chi Minh City

Received date: 06<sup>th</sup> September 2020; Revised date: 16<sup>th</sup> October 2020; Accepted date: 25<sup>th</sup> December 2020

and combined with ultrasound. Antioxidant activities were tested using DPPH methods and phenolic, flavonoid, polysaccharide, tannin content were determined by the spectrophotometer method. The results showed that the moisture content was 61.09% and high extraction efficiency of *Tinospora crispa* stem were between 3.69% and 6.95% respectively. The extract of *Tinospora crispa* stem contains the presence of biological compounds such as alkaloids, flavonoids, saponin, steroids, tannins and phenols. The phenolic, flavonoid, polysaccharide and tannin content of *Tinospora crispa* stem were 318.91 mg gallic acid/g dry; 36.71 mg quercetin/g dry; 10.38 mg GE/g dry and 38.42 mg tannic acid/g dry respectively. *Tinospora crispa* stem has antioxidant ability by DPPH method with  $IC_{50}$  value of water, ethanol 80° and methanol 113.69  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ; 89.12  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ; 62.19  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , respectively. Thus, the *Tinospora crispa* stem extract had bioactive compounds and antioxidant activities, is a potential source of raw materials for research and applications.

**Keywords:** antioxidant, flavonoid, phenolic, polysaccharide, *Tinospora crispa*.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây thảo dược đã được sử dụng như một nguồn dược liệu trong hỗ trợ, điều trị bệnh và được truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác. Các sản phẩm tự nhiên có trong cây thuốc đã được sử dụng làm nguồn dược liệu trong y học cổ truyền. Một số cây thảo dược đã được chứng minh là có hiệu quả trong hỗ trợ và điều trị bệnh theo phương pháp khoa học [1]. Trong những năm gần đây, việc sử dụng các chất chống oxy hóa

có nguồn gốc tự nhiên đã được quan tâm nghiên cứu do các chất chống oxy hóa tổng hợp không còn an toàn [2]. Chất chống oxy hóa đóng một vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tế bào chống lại những tổn thương bởi phản ứng oxy hóa và làm giảm tác dụng phụ của các gốc tự do đối với các chức năng sinh lí bình thường ở người. Các hợp chất phenolic là các chất chống oxy hóa, có thể hoạt động như chất khử gốc tự do và khả năng khử làm giảm nhóm hydroxyl [3]. Hoạt động chống oxy hóa của phenolic chủ yếu là do tính oxy hóa khử và cho phép chúng hoạt động như các chất khử, chất khử hydro và chất khử oxy nhóm đơn. Dây cóc (*Tinospora crispa*) là dây leo bằng thân quấn, dài tới 6 – 7 m và được sử dụng để hỗ trợ và điều trị bệnh theo kinh nghiệm dân gian. Thân dây cóc được sử dụng để điều trị các bệnh khác nhau như tiểu đường, tăng huyết áp, kích thích sự thèm ăn và được xem như một chất chống kí sinh trùng ở cả người và động vật nuôi [4]. Dây cóc được người dân sử dụng theo kinh nghiệm dân gian từ rất lâu. Tuy nhiên, việc nghiên cứu và công bố xác định về các hoạt chất có hoạt tính sinh học cũng như khả năng kháng oxy hóa của thân dây cóc chưa được quan tâm rộng rãi. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm: (i) phân tích hàm lượng phenolic, flavonoid, polysaccharide, tannin; (ii) khả năng kháng oxy hóa của cao chiết thân dây cóc và (iii) góp phần tạo nguồn nguyên liệu cho quá trình sản xuất các sản phẩm có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh.

## II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Chất kháng oxy hoá là chất giúp ngăn chặn các phản ứng oxy hoá của các gốc tự do xảy ra trong tế bào. Gốc tự do là nguyên

nhân gây ra các bệnh như tiểu đường, đục thủy tinh thể, Alzheimer, các bệnh về tim mạch và ung thư [5]. Chất kháng oxy hoá được tổng hợp từ hai nguồn: nhân tạo và tự nhiên. Các chất kháng oxy hoá nhân tạo như BHA và BHT thường được sử dụng trong công nghiệp thực phẩm và mỹ phẩm. Tuy nhiên, các chất này sẽ gây ra tác dụng phụ nếu sử dụng trong thời gian dài. Do đó, người ta đang hướng tới sử dụng các chất kháng oxy hoá có nguồn gốc tự nhiên không có tác dụng phụ để thay thế các chất tổng hợp. Chất kháng oxy hoá tự nhiên được tìm thấy ở thực vật, động vật, tảo.

### III. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### A. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu thân dây cóc được tiến hành thu thập tại nhà lưới của Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang. Hóa chất và thiết bị gồm máy đo quang phổ (Human, Hàn Quốc), máy đông khô (Christ, Đức), máy cô quay chân không (Eyala, Nhật Bản), quercetin, gallic acid, glucose (Sigma, Mỹ), hóa chất và thiết bị cần thiết khác.

#### B. Phương pháp nghiên cứu

1) *Phương pháp tạo cao chiết thân dây cóc*: Thân dây cóc tươi thu về từ nhà lưới được rửa sạch và đông khô bằng máy đông khô chân không. Sau đó, mẫu thân dây cóc được nghiền thành bột mịn, 200 g bột thân dây cóc được ngâm dầm với các loại dung môi khác nhau (ethanol 80%, methanol và nước) với tỉ lệ dung môi và nguyên liệu 1 : 10 (w/v), đánh sóng siêu âm ở nhiệt độ 50°C trong 12 giờ và để yên trong tối 36 giờ. Sau 72 giờ, hỗn hợp được tiến hành

lọc và li tâm với tốc độ 5.000 vòng/phút trong 20 phút, thu phần dịch và bỏ phần cặn. Phần dịch được tiến hành cô quay chân không để đuổi dung môi bằng máy cô quay chân không ở nhiệt độ 50°C, đông khô bằng máy đông khô thu cao khô và bảo quản ở nhiệt độ -20°C, sau đó tiến hành thí nghiệm.

2) *Định tính một số hợp chất sinh học có trong cao chiết thân dây cóc*: Tiến hành xác định một số hợp chất trong cao chiết thân dây cóc theo Yadav [6] như alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, terpenoid, tanin và phenol.

3) *Phân tích hàm lượng flavonoid tổng của cao chiết thân dây cóc*: Hàm lượng flavonoid tổng được tiến hành theo mô tả của Pieme [7]: lấy 10 mg quercetin hòa tan trong 1 mL ethanol 80%, sau đó pha loãng ra các nồng độ 25 – 400 µg/mL. Hút 0,1 mL quercetin, thêm vào 0,3 mL nước cất, 0,03 mL NaNO<sub>2</sub> 5%. Ủ 05 phút ở 25°C, thêm 0,03 mL AlCl<sub>3</sub> 10%. Ủ thêm 05 phút, sau đó cho thêm 0,2 mL NaOH 1 mM. Thêm nước cất để tổng thể tích là 1 mL. Đo ở bước sóng 510 nm. Tiến hành tương tự với cao chiết thân dây cóc. Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo công thức:  $C = c * V / m$

C: hàm lượng flavonoid tổng (mg quercetin/g chiết xuất), c: giá trị x từ đường chuẩn với quercetin (mg/mL), V: thể tích dịch chiết (mL), m: khối lượng cao chiết có trong V (g).

4) *Phân tích hàm lượng phenolic tổng của cao chiết thân dây cóc*: Hàm lượng phenolic tổng được xác định theo mô tả của Yadav and Agarwala [8]: chuẩn bị dung dịch gallic acid chuẩn (nồng độ 0 – 100 µg/mL). Lần lượt cho 1 mL dung dịch gallic acid vào 2,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và để phản ứng trong 05

phút; sau đó, thêm tiếp vào 2 mL dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2%. Sau 45 phút phản ứng ở nhiệt độ phòng, độ hấp thụ được xác định bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 765 nm. Tương tự, các mẫu cao chiết được thực hiện tương tự. Hàm lượng phenolic tổng được tính theo công thức:  $P = a \times V/m$

P: hàm lượng phenolic tổng (mg gallic acid/g cao chiết), a: giá trị x từ đường chuẩn với gallic acid ( $\mu\text{g/mL}$ ), V: thể tích dung dịch cao chiết (mL), m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

5) *Phân tích hàm lượng polysaccharide tổng của cao chiết thân dây cóc*: Hàm lượng polysaccharide của cao chiết thân dây cóc được xác định dựa theo Dubois [9]. Hàm lượng polysaccharide được tính toán dựa trên đường chuẩn glucose. Sử dụng glucose làm chất chuẩn đối chiếu (0, 0,2, 0,4, 0,6 và 0,8 mg/mL). Phản ứng được tiến hành bằng cách cho 1 mL dung dịch glucose thêm 5 mL dung dịch phenol 5%. Sau đó, thêm vào hỗn hợp 5 mL dung dịch  $\text{H}_2\text{SO}_4$  đậm đặc, phản ứng trong 10 phút và tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng  $\lambda = 490$  nm. Tiến hành tương tự đối với mẫu cao chiết thân dây cóc.

### C. Phân tích hàm lượng tannin của cao chiết thân dây cóc

Hàm lượng tannin của cao chiết thân dây cóc được xác định dựa theo phương pháp của Kavitha and Indira [10] và có sự hiệu chỉnh. Sử dụng tannic acid làm chất chuẩn đối chiếu (0, 20, 40, 60, 80 và 100  $\mu\text{g/mL}$ ). Phản ứng được tiến hành bằng cách cho 0,1 mL dung dịch tannic acid bổ sung thêm 7,5 mL nước cất và 0,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, thêm 1 mL dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  35% và bổ sung thêm nước cất đủ 10 mL, để phản ứng ở nhiệt

độ phòng trong 30 phút. Tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng  $\lambda = 700$  nm. Hàm lượng tannin được tính theo công thức:  $P = a \times V/m$

P: hàm lượng phenolic tổng (mg tannic acid/g cao chiết), a: giá trị x từ đường chuẩn với tannic acid ( $\mu\text{g/mL}$ ).

V: thể tích dung dịch cao chiết (mL); m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

1) *Phân tích khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH*: Phương pháp khảo sát khả năng ức chế gốc tự do DPPH của cao chiết thân dây cóc được thực hiện theo phương pháp của Shekhar and Anju [11] và được hiệu chỉnh như sau: 1 mL cao chiết ở các nồng độ khác nhau phản ứng với 1 mL dung dịch DPPH 0,1 M. Hỗn hợp phản ứng trong điều kiện nhiệt độ phòng trong 30 phút và trong điều kiện tối để tránh hiện tượng oxy hoá. Sau đó, hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng  $\lambda = 517$  nm. Khả năng ức chế gốc tự do DPPH của cao chiết thân dây cóc được xác định theo công thức sau:  $AA\% = (A_o - A_1/A_o) \times 100$

Trong đó, AA%: phần trăm ức chế gốc tự do DPPH.

$A_o$ : độ hấp thụ quang phổ của mẫu đối chứng,  $A_1$ : độ hấp thụ quang phổ của mẫu cao chiết. Vitamin C là chất chuẩn được thực hiện tương tự mẫu cao chiết.

### D. Phương pháp thống kê

Các số liệu được xử lí bằng phần mềm Excel và phần mềm Statgraphics 16.0. Kiểm tra sự khác biệt giữa các giá trị trung bình theo phép thử Duncan và LSD.

#### IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

##### A. Phương pháp tạo cao chiết thân dây cóc

Để đánh giá hiệu quả của phương pháp trích cao trích, thông thường chúng ta dựa trên hiệu suất trích cao. Hiệu suất trích cao phản ánh sự tối ưu của việc kết hợp các điều kiện khác nhau trong phương pháp li trích. Quy trình trích cao chiết thân dây cóc được thực hiện với nguyên liệu ban đầu là 200 gram (khô). Độ ẩm của thân dây cóc là 61,09% (Bảng 1). Hiệu suất trích li của cao chiết có sự khác biệt giữa các dung môi sử dụng nghiên cứu. Hiệu suất chiết cao nước đạt 3,95%. Trong khi đó, hiệu suất chiết cao ethanol, methanol đạt 5,88% và 6,95%. Quá trình tạo cao chiết từ các loại dung môi khác nhau cho hiệu suất trích li khác nhau là do dung môi ethanol 80% được sử dụng cho quá trình li trích, nguyên nhân là nếu sử dụng nước làm loại dung môi để li trích thì mẫu trích nhiễm nhiều tạp chất như các acid hữu cơ, đường và protein tan trong nước ảnh hưởng tới quá trình định tính hay định lượng các hợp chất thiên nhiên. Ngoài ra, nếu sử dụng cồn tuyệt đối sẽ giảm hiệu suất chiết cao do ethanol khó thấm vào mẫu. Vì vậy, việc sử dụng ethanol 80% làm dung môi sẽ tạo một môi trường tối ưu cho việc li trích, tăng sự tiếp xúc mẫu và dung môi, tăng hiệu suất trích li và bảo quản mẫu khỏi các vi sinh vật [12]. Trong khi đó, dung môi methanol là dung môi có khả năng hòa tan nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học và được sử dụng nhiều trong quá trình li trích các hợp chất có hoạt tính sinh học từ thực vật nên hiệu suất trích cao đạt cao nhất.

Bảng 1: Kết quả phân tích độ ẩm, hiệu suất trích cao của thân dây cóc

Chỉ tiêu theo dõi	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
Khối lượng mẫu tươi (g)	1.000	1.000	1.000
Độ ẩm (%)	61,09	61,09	61,09
Khối lượng mẫu khô (g)	200	200	200
Khối lượng cao khô (g)	7,38	11,76	13,90
Hiệu suất chiết (%)	3,69	5,88	6,95

##### B. Định tính một số hợp chất sinh học có trong cao chiết thân dây cóc

Kết quả định tính của cao chiết thân dây cóc bằng phương pháp hóa học cho thấy, cao chiết thân dây cóc có chứa các hợp chất như alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tannin và phenol (Bảng 2). Kết quả tương tự nghiên cứu của Sensen [13], Harwoko and Warsinah [14]. Cả hai công trình này đều cho rằng, dịch trích thân dây cóc có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học như alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tannin và phenol.

Bảng 2: Kết quả phân tích định tính các hợp chất sinh học trong cao chiết thân dây cóc

STT	Hoạt chất	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
1	Alkaloid	-	+	+
2	Flavonoid	+	+	+
3	Saponin	+	-	-
4	Steroid	-	+	+
5	Terpenoid	+	+	+
6	Tannin và phenol	+	+	+

(Ghi chú: "++": dương tính; "-": âm tính)

### C. Phân tích hàm lượng phenolic tổng của cao chiết thân dây cóc

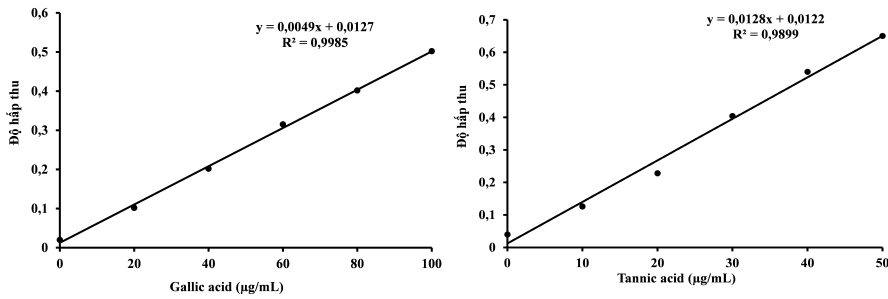
Những hợp chất phenolic là một trong những nhóm lớn, chúng có tác dụng chống ung thư, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng oxy hóa, bảo vệ tim mạch; đồng thời, nó giúp tiêu thụ tốt thức ăn [15]. Hàm lượng phenolic tổng được phân tích bằng phương pháp quang phổ và đường chuẩn  $y = 0,0049x + 0,0127$  với hệ số  $R^2 = 0,9985$  (Hình 1a). Hàm lượng phenolic tổng có sự khác biệt giữa các loại dung môi khi trích li tạo cao chiết thân dây cóc (Bảng 3). Hàm lượng phenolic thể hiện thấp nhất ở cao chiết thân dây cóc bằng nước và hàm lượng phenolic đạt 183,17 mg gallic acid/g cao chiết, kế đến, hàm lượng phenolic ở cao chiết thân dây cóc bằng ethanol và hàm lượng phenolic đạt 283,21 mg gallic acid/g cao chiết và cao nhất hàm lượng phenolic thể hiện ở cao chiết thân dây cóc bằng methanol và hàm lượng phenolic đạt 318,91 mg gallic acid/g cao chiết (Bảng 3). Kết quả nghiên cứu cho thấy, cao chiết thân dây cóc bằng methanol cho hàm lượng phenolic đạt cao nhất bởi vì methanol là dung môi thích hợp nhất trong việc chiết xuất các hợp chất phenolic do khả năng ức chế phản ứng của enzyme polyphenol oxyase gây ra quá trình oxy hóa phenolic và dễ dàng bay hơi hơn so với nước [16].

Kết quả nghiên cứu cao hơn nghiên cứu của Heida [17]. Heida [17] cho rằng, hàm lượng phenolic ở cao chiết thân dây cóc đạt cao nhất với hàm lượng 64,67 mg gallic acid/g cao chiết khi tiến hành trích li bằng dung môi methanol của thân dây cóc được thu thập ở Malaysia. Sự khác biệt về hàm lượng phenolic so với nghiên cứu Heida [17] có thể là do sự khác nhau về nguồn

gốc cây trồng và phương pháp trích li có sự hỗ trợ của sóng siêu âm.

### D. Phân tích hàm lượng flavonoid tổng của cao chiết thân dây cóc

Flavonoid là chất có cấu tạo với khung stilben và khung flavonoid. Flavonoid được biết là chất có tác dụng hạ đường huyết và phục hồi tế bào  $\beta$  của tuyến tụy, chống viêm, kháng khuẩn, kháng virus, chống dị ứng, các bệnh thoái hóa thần kinh, kháng oxy hóa. Các hợp chất thực vật thuộc nhóm flavonoid có trong cây có khả năng kháng viêm cũng như kháng oxy hóa tốt [18]. Hàm lượng flavonoid tổng được phân tích bằng phương pháp quang phổ và đường chuẩn  $y = 0,0054x + 0,0185$  với hệ số  $R^2 = 0,9992$  (Hình 2a). Hàm lượng flavonoid tổng của cao chiết thân dây cóc từ các dung môi khác nhau cho hàm lượng khác nhau (Bảng 3). Cụ thể, hàm lượng flavonoid tổng thể hiện cao nhất ở cao chiết thân dây cóc bằng methanol và hàm lượng flavonoid tổng đạt 36,71 mg quercetin/g cao chiết; kế đến, cao chiết thân dây cóc bằng ethanol và hàm lượng flavonoid tổng đạt 26,89 mg quercetin/g cao chiết và thấp nhất, cao chiết thân dây cóc bằng nước và hàm lượng flavonoid tổng đạt 13,91 mg quercetin/g cao chiết. Kết quả nghiên cứu thấp hơn nghiên cứu của Zulkhairi [19]. Zulkhairi [19] cho rằng, cao chiết nước của thân dây cóc thu thập tại Malaysia có hàm lượng flavonoid tổng đạt 29 mg quercetin/g cao chiết. Các hợp chất phenolic và polyphenolic tạo thành lớp chính của các chất chống oxy hóa tự nhiên có trong thực vật, thực phẩm và đồ uống. Các kết quả nghiên cứu đã chỉ ra mối tương quan giữa tổng



Hình 1: Đường chuẩn gallic acid (a) và đường chuẩn tannin acid (b)

Bảng 3: Kết quả phân tích hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng, polysaccharide và tannin tổng của cao chiết thân dây cóc

Hoạt chất	Mẫu cao chiết		
	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
Hàm lượng phenolic (mg gallic acid/g cao chiết)	183,17 <sup>a</sup> ±0,03	283,21 <sup>b</sup> ±0,06	318,91 <sup>a</sup> ±0,03
Hàm lượng flavonoid (mg quercetin/g cao chiết)	13,91 <sup>a</sup> ±0,15	26,89 <sup>b</sup> ±0,13	36,71 <sup>a</sup> ±0,14
Hàm lượng polysaccharide (mg GE/g cao chiết)	3,95 <sup>b</sup> ±0,09	7,61 <sup>b</sup> ±0,24	10,38 <sup>a</sup> ±0,18
Hàm lượng tannin (mg tannic acid/g cao chiết)	18,50 <sup>a</sup> ±0,17	29,05 <sup>b</sup> ±0,11	38,42 <sup>a</sup> ±0,07

(Ghi chú: Kết quả  $\pm$  với độ lệch chuẩn của từng giá trị. Các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một hàng khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.)

hàm lượng phenol và hoạt tính chống oxy hóa của nguyên liệu thực vật [20].

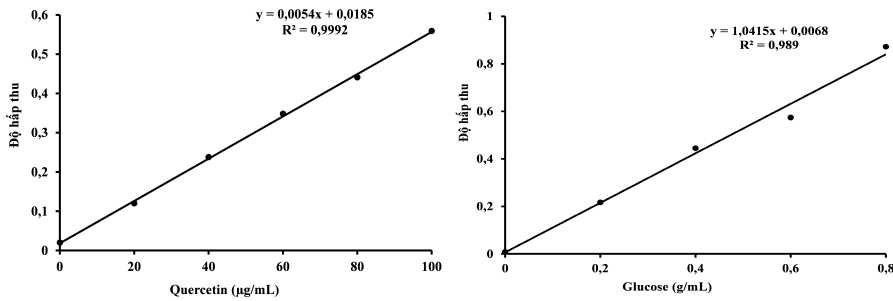
#### E. Phân tích hàm lượng polysaccharide tổng của cao chiết thân dây cóc

Những nhóm hợp chất polysaccharide có tác dụng chống ung thư, giảm đường trong máu, ngăn ngừa thoái hóa tế bào, thiết lập hệ thống miễn dịch, giải độc cơ thể [21]. Hàm lượng polysaccharide tổng được phân tích bằng phương pháp quang

phổ và đường chuẩn  $y = 1,0415x + 0,0068$  với hệ số  $R^2 = 0,989$  (Hình 2b). Hàm lượng polysaccharide tổng của cao chiết thân dây cóc từ các dung môi khác nhau cho hàm lượng khác nhau (Bảng 3). Cụ thể, hàm lượng polysaccharide tổng thể hiện cao nhất ở cao chiết thân dây cóc bằng methanol và hàm lượng polysaccharide tổng đạt 10,38 mg GE/g cao chiết, kế đến, cao chiết thân dây cóc bằng ethanol và hàm lượng polysaccharide tổng đạt 7,61 mg GE/g cao chiết và thấp nhất, cao chiết thân dây cóc bằng nước và hàm lượng polysaccharide tổng đạt 3,95 mg GE/g cao chiết.

#### F. Phân tích hàm lượng tannin của cao chiết thân dây cóc

Tannin: đặc trưng bởi vị đắng và chát, do đó, những dịch chiết từ cây có tannin luôn có vị không dễ chịu này. Ngoài ra, hợp chất tannin có khả năng kháng *E. coli* và những vi khuẩn Gram dương gây hại trong đường tiêu hóa. Đây là một đặc tính nổi bật của tannin. Tannin có nhiều đặc tính sinh học cao như hiệu quả chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng virus, chống gây đột biến, chống đái tháo đường và có vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa bệnh mãn



Hình 2: Đường chuẩn quercetin (a) và đường chuẩn glucose (b)

tính [22]. Hàm lượng tannin tổng được phân tích bằng phương pháp quang phổ và đường chuẩn  $y = 0,0128x + 0,0122$  với hệ số  $R^2 = 0,9899$  (Hình 1b). Hàm lượng tannin tổng có sự khác biệt giữa các loại dung môi khi tiến hành trích li tạo cao chiết thân dây cóc (Bảng 3). Hàm lượng tannin thể hiện thấp nhất ở cao chiết thân dây cóc bằng nước và hàm lượng tannin đạt 18,50 mg tannic acid/g cao khô; kế đến, hàm lượng tannin ở cao chiết thân dây cóc bằng ethanol và hàm lượng tannin đạt 29,05 mg tannic acid/g cao khô và cao nhất hàm lượng tannin thể hiện ở cao chiết thân dây cóc bằng methanol và hàm lượng tannin đạt 28,42 mg g tannic acid/g cao khô.

### G. Phân tích khả năng kháng oxy hóa của cao chiết thân dây cóc

DPPH là một gốc tự do có chứa nguyên tử nitrogen bền ở trung tâm. Vì vậy, nó có thể nhận electron hay gốc hydrogen để hình thành một phân tử nghịch từ bền. Hợp chất có hoạt động kháng oxy hoá càng mạnh khi khả năng cho hydrogen càng cao. Gốc DPPH phản ứng với các chất khử phù hợp và nhận electron. Từ đó, màu của dung dịch DPPH bị mất dần từ tím sang

vàng phụ thuộc vào số electron nhận được [23].

Vitamin C được sử dụng như chất chuẩn vì vitamin C là một chất kháng oxy hóa mạnh, có khả năng loại bỏ các gốc tự do cao. Hiệu quả khử gốc tự do của vitamin C được thực hiện ở các nồng độ khác nhau (0 – 0,1 µg/mL). Phần trăm khử gốc tự do của vitamin C đạt cao nhất ở nồng độ 100 µg/mL, đạt hiệu quả 85,27%. Kế đến là nồng độ 80 µg/mL với hiệu suất 71,15% và thấp nhất là nồng độ 20 µg/mL, phần trăm khử gốc tự do là 23,28% (Bảng 4). Tiến hành vẽ đường biểu diễn thể hiện của phần trăm ức chế gốc tự do, phương trình đường chuẩn  $y = 0,8383x + 3,2718$ ; suy ra giá trị  $IC_{50}$  của vitamin C là 55,73 µg/mL. Hiệu quả khử gốc tự do của cao chiết nước thân dây cóc được thực hiện ở các nồng độ khác nhau (0 – 300 µg/mL). Phần trăm khử gốc tự do của cao chiết nước đạt cao nhất ở nồng độ 300 µg/mL, đạt hiệu quả 86,26%. Kế đến là nồng độ 250 µg/mL với hiệu suất 78,25% và thấp nhất là nồng độ 50 µg/mL, phần trăm khử gốc tự do là 29,76% (Bảng 5). Tiến hành vẽ đường biểu diễn thể hiện của phần trăm ức chế gốc tự do và phương trình đường chuẩn  $y = 0,2831x + 17,815$  và có  $R^2 = 0,9784$ ; suy ra, giá trị  $IC_{50}$  của cao chiết nước thân dây



Bảng 4: Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH của vitamin C

Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kháng oxy hóa	Phương trình
0	0,0 <sup>f</sup>	
20	23,28 <sup>e</sup> $\pm$ 0,12	
40	37,19 <sup>d</sup> $\pm$ 0,05	
60	54,22 <sup>c</sup> $\pm$ 0,21	Y = 0,8383x+3,2718
80	71,15 <sup>b</sup> $\pm$ 0,19	R <sup>2</sup> = 0,9948
100	85,27 <sup>a</sup> $\pm$ 0,13	
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	55,73	

(Ghi chú: Nếu các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.)

cóc là 113,69  $\mu\text{g/mL}$ .

Trong khi đó, hiệu quả khử gốc tự do của cao chiết ethanol thân dây cóc được thực hiện ở các nồng độ khác nhau (0 – 300  $\mu\text{g/mL}$ ). Phần trăm khử gốc tự do của cao chiết ethanol đạt cao nhất ở nồng độ 300  $\mu\text{g/mL}$ , đạt hiệu quả 94,19%. Kế đến là nồng độ 250  $\mu\text{g/mL}$  với hiệu suất 84,07% và thấp nhất là nồng độ 50  $\mu\text{g/mL}$ , phần trăm khử gốc tự do là 37,59% (Bảng 5). Tiến hành vẽ đường biểu diễn thể hiện của phần trăm ức chế gốc tự do và phương trình đường chuẩn  $y = 0,2506x + 27,675$  và có  $R^2 = 0,9707$ ; suy ra, giá trị IC<sub>50</sub> của cao chiết ethanol thân dây cóc là 89,12  $\mu\text{g/mL}$ . Cuối cùng, hiệu quả khử gốc tự do của cao chiết methanol thân dây cóc được thực hiện ở các nồng độ khác nhau (0 – 300  $\mu\text{g/mL}$ ). Phần trăm khử gốc tự do của cao chiết methanol đạt cao nhất ở nồng độ 300  $\mu\text{g/mL}$ , đạt hiệu quả 98,99%. Kế đến là nồng độ 250  $\mu\text{g/mL}$  với hiệu suất 88,71% và thấp nhất là nồng độ 50  $\mu\text{g/mL}$ ,

Bảng 5: Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH cao chiết thân dây cóc

Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Mẫu cao chiết		
	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
0	0,0 <sup>g</sup>	0,0 <sup>g</sup>	0,0 <sup>g</sup>
50	29,76 <sup>f</sup> $\pm$ 0,09	37,59 <sup>e</sup> $\pm$ 0,10	43,19 <sup>d</sup> $\pm$ 0,06
100	48,08 <sup>e</sup> $\pm$ 0,22	55,83 <sup>d</sup> $\pm$ 0,11	60,98 <sup>c</sup> $\pm$ 0,13
150	62,99 <sup>d</sup> $\pm$ 0,17	66,90 <sup>c</sup> $\pm$ 0,30	70,99 <sup>b</sup> $\pm$ 0,19
200	71,97 <sup>c</sup> $\pm$ 0,31	75,66 <sup>b</sup> $\pm$ 0,20	81,13 <sup>a</sup> $\pm$ 0,22
250	78,25 <sup>b</sup> $\pm$ 0,21	84,07 <sup>b</sup> $\pm$ 0,18	88,71 <sup>b</sup> $\pm$ 0,27
300	86,23 <sup>a</sup> $\pm$ 0,14	94,19 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	98,99 <sup>a</sup> $\pm$ 0,28
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	113,69	89,12	62,19
Phương trình	Y = 0,2831x+17,815 R <sup>2</sup> = 0,9784	Y = 0,2506x+27,675 R <sup>2</sup> = 0,9707	Y = 0,2128x+36,765 R <sup>2</sup> = 0,9806

(Ghi chú: Nếu các mẫu tự theo sau các giá trị trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.)

phần trăm khử gốc tự do là 43,19% (Bảng 5). Tiến hành vẽ đường biểu diễn thể hiện của phần trăm ức chế gốc tự do và phương trình đường chuẩn  $y = 0,2128x + 36,765$  và có  $R^2 = 0,9806$ ; suy ra, giá trị IC<sub>50</sub> của cao chiết ethanol thân dây cóc là 62,19  $\mu\text{g/mL}$ .

Giá trị IC<sub>50</sub> mà tại đó ức chế 50% gốc tự do DPPH của cao chiết thân dây cóc và vitamin C được xác định và trình bày trong Bảng 6. Giá trị IC<sub>50</sub> của cao chiết thân dây cóc cao hơn 2,04, 1,60 và 1,12 lần so với giá trị IC<sub>50</sub> của vitamin C, điều này có thể lí giải rằng vitamin C là sản phẩm thương mại có độ tinh sạch cao, trong khi cao chiết thân dây cóc đã qua quá trình lọc nhưng vẫn còn chứa nhiều tạp chất trong quá trình li trích nên hiệu quả thấp hơn. Kết quả nghiên cứu này thấp hơn nghiên cứu của Zulkhairi [20]. Zulkhairi [20] cho rằng, cao chiết nước của thân dây cóc thu thập tại Malaysia có khả năng

Bảng 6: Giá trị IC<sub>50</sub> của vitamin C và cao chiết thân dây cóc bằng phương pháp

DPPH		
STT	Mẫu	Giá trị IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	Vitamin C	55,73
2	Cao chiết nước thân Dây cóc	113,69
3	Cao chiết ethanol thân Dây cóc	89,12
4	Cao chiết methanol thân Dây cóc	62,19

kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH với giá trị IC<sub>50</sub> là 2.500  $\mu\text{g/mL}$  đạt hiệu quả 86,51%. Trong khi đó, Tatang [24] cho rằng, cao chiết thân dây cóc có khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 33,75  $\mu\text{g/mL}$  và 52,29  $\mu\text{g/mL}$  đối với dung môi ethanol và phân đoạn với nước cất. Trong khi đó, Haque [5] cho rằng, cao chiết thân dây cóc có khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH khi trích li với methanol và phân đoạn với petroleum ether, chloroform, carbon tetrachloride và nước cho giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 49  $\mu\text{g/mL}$ , 70  $\mu\text{g/mL}$ , 75  $\mu\text{g/mL}$ , 30  $\mu\text{g/mL}$  và 70  $\mu\text{g/mL}$ .

Cao chiết thân dây cóc có khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH là do cao chiết có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học như flavonoid, alkaloid, tannin và phenol. Các nhóm hợp chất flavonoid hoạt động thông qua quá trình khử hoặc chelating [25]. Trong khi đó, các hợp chất phenolic thể hiện hoạt động chống oxy hóa bằng một số cơ chế như cho nguyên tử hydro cho các gốc tự do, khử các phản ứng khác như OH<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, ONOOH and HOCl. Một số phenolic, chủ yếu là di-phenol và polyphenol, có thể phản ứng với

O<sub>2</sub><sup>-</sup> hoặc bằng cách liên kết các ion kim loại chuyển tiếp (đặc biệt là sắt và đồng), hình thành các dạng hoạt động kém trong các phản ứng gốc tự do và có thể cản trở sự hấp thu của kim loại [26].

## V. KẾT LUẬN

Thân cây dây cóc là nguồn nguyên liệu có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học và có khả năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực. Hàm lượng phenolic, flavonoid, polysaccharide và tannin của thân cây dây cóc lần lượt là 318,91 mg gallic acid/g, 36,71 mg quercetin/g cao khô, 10,38 mg GE/g cao khô và 38,42 mg tannic acid/g cao khô. Cao chiết thân cây dây cóc có khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH với giá trị IC<sub>50</sub> của nước, ethanol 800, methanol lần lượt là 113,69  $\mu\text{g/mg}$ , 89,12  $\mu\text{g/mg}$ , 62,19  $\mu\text{g/mg}$ .

## LỜI CẢM ƠN

Chân thành cảm ơn Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh An Giang đã tạo điều kiện để thực hiện nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nascimento MA, Silva AK, França LCB, Quignard ELJ, López JA, Almeida MG. Turnera ulmifolia L. (Turneraceae): Preliminary study of its antioxidant activity. *Biore-sources Technology*. 2006; 97:1387–1391.
- [2] Diplock AT. Will the 'good fairies' please proves to us that Vitamin E lessens human degenerative of diseases. *Free Radical Research*. 1997; 27:511–532.
- [3] Shahidi F. Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*. 2000; 44:158–163.

- [4] Haque AM, Ashraful SM, Mohammad S. Antimicrobial, cytotoxicity and antioxidant activity of *Tinospora crispa*. *Journal of Phar and Biomed Sciences*. 2011; 13(13):1–4.
- [5] Yang X, Yan F, Huang S, Fu C. Antioxidant activities of fractions from longan pericarps. *Food Science and Technology (Campinas)*. 2014; 34(2):341–345.
- [6] Yadav M, Chatterji S, Watal G. Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014; 6(5):539–542.
- [7] Pieme C, Joseph N, Claude N, Bruno M, Borgia N, Vicky M, Jacqueline M, Jeanne N. Syzyguim guineense Extracts Show Antioxidant Activities and Beneficial Activities on Oxidative Stress Induced by Ferric Chloride in the Liver Homogenate. *Antioxidants*. 2014; 3(3):618–635.
- [8] Yadav RNS, Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*. 2011; 3(12):10–14.
- [9] Dubois M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*. 1956; 28:350–356.
- [10] Kavitha CCI, Indira G. Quantitative estimation of total phenolic, flavonoids, tannin and chlorophyll content of leaves of *Strobilanthes Kunthiana* (Neelakurinji). *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2016; 4(4):282286.
- [11] Shekhar TC, Anju G. Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *American Journal of Ethnomedicine*. 2014; 1(4):244–249.
- [12] Bandar H, A. Hijazi, H. Rammal, A. Hachem, Z. Saad, B Badran. Techniques for the extraction of bioactive compounds from Lebanese *Urtica Dioica*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 2013; 6:507–513.
- [13] Harwoko H, Warsinah W. 2020. Phytochemical analysis and evaluation of purified extract of *Tinospora crispa* stem for in vivo antihyperuricemic effect. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*. 2020; 9:46–51.
- [14] Sensen Chi, Gaimei She, Dan Han, Weihua Wang, Zhao Liu, and Bin Liu. Genus *Tinospora*: Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Pharmacology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016; Article ID 9232593:32 pages.
- [15] Han X, Shen T, Lou H. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2007; 8:950–988.
- [16] Yao LH, Jiang YM, Datta N, Singanusong R, Liu X, Duan J, Raymont K, Lisle A, Y Xu. HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea (*Camellia sinensis*) grown in Australia. *Food Chemistry*. 2004; 84(2):253–263.
- [17] Heida NZ, Jamaludin M, Zainal A. Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Tinospora crispa* and *Tabernaemontana corymbosa*. *Sains Malaysiana*. 2013; 42(6):697–706.
- [18] Harleen KS, Bimlesh K, Manoj S, Pardeep S. A Review of Phytochemistry and Phar-

- macology of Flavonoids. *International Pharmaceutica Scientia*. 2011; 1(1):25–35.
- [19] Turkoglu, E.M. Duru, I.K. Mercan and K. Gezer. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*. 2007; 101:267–273.
- [20] Zulkhairi A, H Bahari, S Isemail, N Amalina Ismail, Zamree Md Shah, MS Arsyad. Nutritional Composition, Antioxidant Ability and Flavonoid Content of *Tinospora crispa* stem. *Advances in Natural and Applied Sciences*. 2009; 3(1):88–94.
- [21] Nguyễn Văn Bình, Phạm Thị Phương, Nguyễn Tá Lợi. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly hàm lượng polysaccharide toàn phần trong nấm linh chi đỏ. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*. 2018; 180(04): 3–8.
- [22] Kunwar RM, Shrestha KP, Bussmann RW. Traditional herbal medicine in far-west Nepal: a pharmacological appraisal. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2010; 6:35.
- [23] Patel RM, Patel NJ. 2011. In vitro antioxidant activity of coumarin compounds by DPPH, Super oxide and nitric oxide free radical scavenging methods. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*. 2011; 1:52–68.
- [24] Tatang I, Andayana P, Machwiyyah L, Rabhani HR. The activity of radical scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (dpph) by ethanolic extracts of Mengkudu leaves (*Morinda citrifolia* L.), Brotowali stem (*Tinospora crispa* L.), its water fraction and its hydrolyzed fraction. *Traditional Medicine Journal*. 2015; 20 (3):140–148.
- [25] Hwang SJ, Yoon WB, Lee OH, Cha SJ, Kim JD. Radical-scavenging-linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. *Food Chem*. 2014; 146:71–77.
- [26] Zin ZM, Hamid AA, Osman A, Saari N. 2006. Antioxidative activities of chromatographic fractions obtained from root, fruit and leaf of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Food Chem*. 2006; 94:169–178.