

## Khảo sát khả năng chống oxy hóa từ thân cành Cù đèn (*Croton oblongifolius* Roxb.)

### Investigation on the antioxidant activity of stem of (*Croton oblongifolius* Roxb.)

Từ Khởi Thành<sup>a</sup>, Nguyễn Thanh Tùng<sup>a</sup>, Ngô Hoàng Long<sup>a</sup>, Châu Thị Nhã Trúc<sup>b\*</sup>  
Tu Khoi Thanh<sup>a</sup>, Nguyen Thanh Tung<sup>a</sup>, Ngo Hoang Long<sup>a</sup>, Chau Thi Nha Truc<sup>b\*</sup>

<sup>a</sup>Trung tâm VKTech, Viện Kỹ thuật Công nghệ Cao, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>a</sup>VKTech Research Center, NTT Hi-Tech Institute, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>b</sup>Khoa Khoa học Cơ bản, Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh, Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>b</sup>Faculty of Basic Sciences, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam,

(Ngày nhận bài: 08/12/2022, ngày phản biện xong: 06/3/2023, ngày chấp nhận đăng: 15/3/2023)

#### Tóm tắt

Cù đèn (*Croton oblongifolius* Roxb.) là cây dược liệu thuộc họ Euphorbiaceae, được tìm thấy ở nhiều quốc gia nhưng tập trung chủ yếu ở Đông Dương và Ấn Độ. Thân cành Cù đèn được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu trong đề tài này với mục đích để khảo sát thành phần hóa học, hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng; song song đó xác định khả năng chống oxy hóa thông qua các phương pháp bắt gốc tự do DPPH, ABTS và khả năng khử. Kết quả đã cho thấy Cù đèn chứa nhiều các thành phần hóa học có hoạt tính sinh học và hiệu suất chiết của cao nước và cao cồn lần lượt là 3,4% và 2,0%. Trong đó, qua các thực nghiệm định lượng hàm lượng polyphenol và flavonoid cùng với khảo sát hoạt tính *in vitro* về khả năng chống oxy hóa cho thấy cao chiết cồn có tiềm năng vượt trội hơn cao nước. Qua đó, Cù đèn trở thành đối tượng tiềm năng trong việc ứng dụng vào đời sống ở nhiều lĩnh vực như thực phẩm, mỹ phẩm v.v... với khả năng chống oxy hóa tốt.

**Từ khóa:** *Croton oblongifolius*; thành phần hóa học; hàm lượng polyphenol tổng; hàm lượng flavonoid tổng; hoạt tính kháng oxy hóa.

#### Abstract

*Croton oblongifolius* Roxb., is a medicinal plants of the Euphorbiaceae family, found in many countries and growth mainly in Indochina and India. The stem of *C. oblongifolius* was chosen to investigate the phytochemicals, total polyphenol and flavonoid content; determine the antioxidant capacity through DPPH, ABTS free radical scavenging and reducing power assays. The results demonstrate that *C. oblongifolius* includes several bioactive components, with extraction yields of 3.4% and 2.0% for aqueous extracts and ethanol extract, respectively. In particular, quantitative studies on phenolic and flavonoid content, as well as *in vitro* investigations on antioxidant capability, revealed that ethanol extract outperforms aqueous extract. As a result, *C. oblongifolius* becomes a promising object in life applications such as food, cosmetics, and so on, with good antioxidant activity.

**Keywords:** *Croton oblongifolius*; phytochemicals; total phenolic contents; total flavonoid contents; antioxidant activities.

\*Tác giả liên hệ: Châu Thị Nhã Trúc; Khoa Khoa học Cơ bản, Trường Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh, Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: chauthinhattruc@ump.edu.vn

## 1. Giới thiệu

Thực vật và các sản phẩm có nguồn gốc thực vật là nguồn chứa lượng lớn các hợp chất sinh học tự nhiên như hợp chất phenolic, flavonoids, alkaloids, saponins, glycosides. Trong đó, dược liệu hoặc các cây thuốc là những thực vật có đặc điểm tương tự các loại thuốc thông thường; chúng được sử dụng trong những bài thuốc cổ truyền nhằm hỗ trợ điều trị bệnh hoặc giảm các triệu chứng của bệnh gây ra. Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) năm 1982 đã ước tính rằng khoảng 80% dân số trên thế giới phụ thuộc nhiều vào cây thuốc làm nguồn nguyên liệu đáp ứng nhu cầu chăm sóc sức khỏe [1]. Hiện nay, hầu hết các thuốc đều có nguồn gốc từ thực vật, hiện diện một cách trực tiếp hoặc gián tiếp, do những ưu điểm chúng mang lại như gây ít tác dụng phụ, hiệu quả về chi phí sản xuất [2].

Cây Cù Đền có tên khoa học là *Croton oblongifolius* Roxb., thuộc họ Euphorbiaceae, mọc hoang hoặc được trồng ở nhiều nơi, thường tập trung ở Đông Dương và Ấn Độ. *C. oblongifolius* là cây có kích thước trung bình từ 2 - 8m, có nhánh to và phân cành. Lá có chiều dài 12,5 - 25cm và mọc so le, chen chúc về phía cuối của nhánh con. Cù đền được tìm thấy nhiều ở các nước Đông Dương, Ấn Độ và các nước Châu Á khác. Rễ Cù đền *C. oblongifolius* có vị hơi ngọt và được sử dụng trong các bài thuốc nhằm điều hòa cơ thể, thư giãn gân cốt, giảm đau và chữa kiết lỵ. Vỏ rễ và hạt được báo cáo có tác dụng tẩy giun, hỗ trợ điều trị các bệnh về gan và cao huyết áp. Lá Cù đền có đặc tính kháng sinh. Hạt và dầu hạt của cây có tính tẩy mạnh và được xem là có độc cho cơ thể người. Tuy nhiên, hạt vẫn được sử dụng ở Myanmar để làm thuốc trị tiêu chảy, phù thũng và có hiệu quả với tác dụng kháng viêm khi dùng để uống hoặc bôi ngoài da [3]. Ngoài ra Cù đền được chứng minh có các đặc tính chống oxy hóa, kháng khuẩn [4], ức chế sự phát triển của khối u và kháng viêm [5]. Kumar và cộng sự (1997) báo cáo các thành phần hóa

học trong vỏ cây Cù đền chứa nhiều các hợp chất sinh học như steroid, monotерpen, diterpen, sesquiterpen, phenyl propanoid, glycosid và flavonoid [6].

Gốc tự do trong cơ thể là một nguyên tử hoặc phân tử có cấu trúc không ổn định, do việc mất một electron ở lớp ngoài cùng bởi nhiều yếu tố xung quanh. Việc giải phóng hoặc tích tụ các gốc oxy hoạt động (Reactive Oxygen Species-ROS) quá nhiều cũng là một trong những tác nhân gây nên nhiều căn bệnh nguy hiểm như ung thư, các bệnh viêm nhiễm (viêm khớp, viêm dạ dày), tiểu đường, thoái hóa thần kinh, Parkinson [7]. Các hợp chất có khả năng chống oxy hóa trong cơ thể động vật và con người được tạo ra nhằm điều hòa các gốc tự do và giảm khả năng hình thành bệnh. Tuy nhiên, khi hàm lượng các chất chống oxy hóa giảm xuống so với sự gia tăng quá mức của gốc tự do sẽ làm tăng nguy cơ tổn thương và đột biến tế bào [8]. Việc bổ sung các chất chống oxy hóa từ nguồn thực phẩm, dược liệu để ngăn ngừa sự ảnh hưởng bất lợi của ROS đang luôn là mục tiêu được nhắm đến và phát triển ngày nay [6]. Hiện nay, tại Việt Nam vẫn chưa có công bố khoa học về việc khảo sát khả năng chống oxy hóa của cây Cù đền. Chính vì thế, trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung vào khảo sát thành phần và hoạt tính chống oxy hóa của *C. oblongifolius* để bổ sung cơ sở khoa học về nguồn dược liệu tiềm năng nhằm phát triển các sản phẩm bổ sung, phòng ngừa hoặc điều trị bệnh.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Hóa chất

Folin-Ciocalteu, 1,1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl (DPPH), Gallic acid, Quercetin, Ascorbic acid, 2,2' - azino - bis(3-ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid (ABTS), Potassium hexacyanoferrate(III) ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) và Trolox thuộc hãng Sigma - Aldrich, Mỹ. Sodium nitrite ( $NaNO_2$ ), Aluminium chlorid ( $AlCl_3$ ), sodium carbonat ( $Na_2CO_3$ ), Sodium

hydroxid (NaOH), Axit trichloroacetic ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ ) và Ferric chlorid ( $\text{FeCl}_3$ ) được cung cấp bởi hãng Xilong, Trung Quốc.

Các dung môi sử dụng trong các thí nghiệm khảo sát sinh hóa đều đạt tiêu chuẩn hóa phân tích, Việt Nam.

## 2.2. Thu thập và xử lý mẫu

Thân cành Củ đèn sau khi thu nhận được rửa sạch, loại bỏ tạp chất, cắt nhỏ và làm khô ở nhiệt độ phòng ( $25 - 27^\circ\text{C}$ ). Các mẫu thân cành Củ đèn khô sau đó được nghiền nhỏ, rây và bảo quản cho đến thí nghiệm tiếp theo.

## 2.3. Phương pháp

### 2.3.1. Điều chế cao chiết từ thân cành Củ đèn

Chiết xuất cao cồn: sử dụng 300g bột thân cành Củ đèn chiết xuất bằng phương pháp hồi lưu với 2 loại dung môi chiết là ethanol tuyệt đối 96% và nước. Phương pháp được thực hiện trong bình cầu và đun sôi trong 1 giờ, thực hiện chiết 3 lần với tỷ lệ được liệu: dung môi ở mỗi lần chiết là 1: 15. Sau khi làm lạnh ở nhiệt độ phòng, tất cả các dịch chiết được lọc cặn và đem cô quay đuôi dung môi ở nhiệt độ  $45^\circ\text{C}$  đến khi đạt được dạng thể cao đặc (hàm ẩm  $\leq 20\%$ ). Kết quả thu được 2 mẫu cao chiết thân cành Củ đèn ethanol và nước được ký hiệu lần lượt là ECO và ACO. Cao chiết được đem đi cân và tính hiệu suất chiết cao, sau đó cao được đem đi bảo quản trong tủ mát ở nhiệt độ  $5^\circ\text{C}$  để sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.

Hiệu suất chiết cao được tính theo công thức sau:

$$H(\%) = \frac{\text{Khối lượng cao chiết trừ ẩm}}{\text{Khối lượng bột được liệu}} \times 100\%$$

### 2.3.2. Phân tích sơ bộ thành phần hóa học

Khảo sát sơ bộ các thành phần hóa học trong cao chiết Củ đèn được tham khảo và cải tiến từ phương pháp của Thite và cộng sự (2013) [9, 10]. Các mẫu cao chiết được định tính ở nồng độ 10 mg/ml với các hóa chất và thuốc thử có

sẵn trong phòng thí nghiệm. Kết quả được thể hiện là (-): không có, (+): xuất hiện.

### 2.3.3. Xác định hàm lượng polyphenol tổng

Hàm lượng phenol tổng (TPC) của từng cao chiết được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu mô tả bởi Kamtekar và cộng sự với một vài hiệu chỉnh nhỏ [11]. Phương pháp được thực hiện như sau: các cao chiết được pha loãng trong methanol để đạt nồng độ 0,5 mg/ml. Pha loãng Folin-Ciocalteu với nước cất để đạt được nồng độ 0,2mol/L. Sau đó lấy 1ml dịch chiết cho vào bình định mức 10ml, trộn với 5ml thuốc thử Folin-Ciocalteu trong 5 phút ở bể ổn nhiệt. Tiếp tục bổ sung 4ml dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5 g/100ml), lắc đều và giữ ổn định ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Đo mật độ quang của dung dịch sau phản ứng ở bước sóng 754nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đường chuẩn được xây dựng dựa trên dịch chuẩn acid gallic với các nồng độ lần lượt là 10, 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/ml}$ . Hàm lượng TPC của cao chiết được tính dựa trên phương trình  $y = ax + b$  của chất chuẩn acid gallic và được tính bằng công thức dưới đây:

$$TPC = \frac{a \times V}{m} \times N \times H$$

Trong đó:

TPC: Hàm lượng phenol tổng (mg acid gallic (GAE)/g cao chiết)

a : Giá trị x suy ra từ đường chuẩn với acid gallic ( $\mu\text{g/ml}$ )

V : Thể tích dịch chiết (ml)

m : Khối lượng cao chiết (g)

N : Độ ẩm cao chiết

H : Hiệu suất cao chiết (%)

### 2.3.4. Xác định hàm lượng flavonoids tổng

Hàm lượng flavonoids tổng (TFC) được thực hiện theo phương pháp tạo màu với phức hợp  $\text{AlCl}_3$  trong môi trường kiềm và được mô tả bởi

Ribarova và cộng sự (2005) với một số hiệu chỉnh [12]. Quy trình được thực hiện như sau: các cao chiết được pha loãng bằng dung môi methanol và dung dịch chuẩn quercetin nồng độ 10, 20, 40, 80 $\mu$ g/ml. Hút 1ml các mẫu và dịch chuẩn các nồng độ vào 4ml nước cất trong bình đựng mức, lắc đều và tiếp tục bổ sung 0,3ml dung dịch NaNO<sub>2</sub> 5%. Sau 5 phút để ổn định ở nhiệt độ phòng, bổ sung 0,3ml dung dịch AlCl<sub>3</sub> 10% và 2ml dung dịch NaOH 1M. Hỗn hợp sau 6 phút để ổn định được bổ sung 2,4ml nước cất để đạt đủ 10ml, lắc đều. Tiến hành đo quang phổ hấp thụ ở bước sóng 510nm, sau 10 phút ở nhiệt độ phòng. Thí nghiệm được thực hiện 3 lần. Giá trị hấp thụ (Abs) của dịch chuẩn quercetin được ghi nhận và tiến hành vẽ đường chuẩn nhằm xác định hàm lượng flavonoids trong các mẫu cao chiết và được tính theo công thức dưới đây:

$$TFC = \frac{a \times V}{m} \times N \times H$$

Trong đó:

TFC: Hàm lượng flavonoids tổng (mg quercetin (QE)/g cao chiết)

a : Giá trị x được suy ra từ đường chuẩn ( $\mu$ g/ml)

V : Thể tích dịch chiết (ml)

m : Khối lượng cao chiết (g)

N : Độ ẩm cao chiết

H : Hiệu suất cao chiết (%)

### 2.3.5. Khảo sát hiệu quả loại bỏ gốc tự do DPPH

Khả năng kháng oxy hóa của các mẫu cao thân cành Cù đen được xác định nhờ phương pháp loại bỏ gốc tự do DPPH có hiệu chỉnh [13]. Hỗn hợp phản ứng gồm 1ml DPPH (0,8mM, pha trong methanol) vào mỗi ống nghiệm đã chứa 1ml các cao chiết có các nồng độ khác nhau. Cao chiết còn Cù đen được pha loãng với methanol đạt nồng độ 40 - 320 $\mu$ g/ml và cao nước pha loãng có nồng độ 100 - 500 $\mu$ g/ml.

Hỗn hợp được ủ 30 phút trong điều kiện không có ánh sáng, đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 517nm. Đối chứng dương sử dụng dung dịch ascorbic acid có nồng độ 4 - 20 $\mu$ g/ml. Khả năng kháng oxy hóa của một mẫu được thể hiện qua giá trị IC<sub>50</sub> - nồng độ chất kháng oxy hóa mà tại đó có thể ức chế 50% gốc tự do DPPH - được tính toán dựa vào biểu đồ phần trăm khả năng bắt gốc tự do đối với nồng độ cao chiết. Hoạt tính chống oxy hóa được xác định thông qua phần trăm bắt gốc tự do theo công thức sau:

$$DPPH (\%) = \frac{OD_0 - \Delta OD}{OD_0} \times 100\%$$

Trong đó:

OD<sub>0</sub> : Giá trị OD<sub>517</sub> nm của mẫu thử không

$\Delta$ OD : Hiệu của trung bình giá trị OD<sub>517</sub> nm mẫu thử và giá trị OD<sub>517</sub> nm mẫu so màu

### 2.3.6. Khảo sát khả năng bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup>

Khảo sát khả năng bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup> được mô tả theo Nenadis và cộng sự (2004) [14]. Chuẩn bị dung dịch ABTS<sup>+</sup> bằng cách trộn dung dịch kali persulfate 7mM với ABTS 2,45 mM theo tỉ lệ 1:1, ủ trong tối trong khoảng 14 đến 16 giờ trước khi sử dụng. Sau đó, hỗn hợp được pha loãng bằng dung môi ethanol và đo độ hấp thụ trong khoảng 0,7  $\pm$  0.05 ở bước sóng 734nm. Các cao chiết được pha thành các nồng độ khác nhau, hút 0,1ml mẫu thử trộn đều với 0,9ml dung dịch ABTS<sup>+</sup> trong 45 giây và ủ 15 phút ở điều kiện tối ở nhiệt độ phòng. Tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 734nm. Ascorbic acid được sử dụng làm đối chứng dương. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần và giá trị IC<sub>50</sub> được tính toán tương tự phương pháp DPPH đề cập phía trên.

### 2.3.7. Khảo sát khả năng khử

Reducing Power - RP) được thực hiện theo mô tả của Singhal và cộng sự (2014) có một số hiệu chỉnh [15]. Tiến hành pha hỗn hợp phản ứng gồm 0,5ml mẫu thử với các nồng độ khác

nhau, 0,5ml đệm phosphate (0,2 M, pH = 6,0) và 0,5ml dung dịch  $K_3[Fe(CN)_6]$  1%. Ủ hỗn hợp ở 50°C trong 20 phút và để nguội. Bổ sung 0,5ml  $CCl_3COOH$  10% vào hỗn hợp, lắc đều, sau đó ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút. Tiến hành hút 0,5ml dịch nổi vào ống nghiệm chứa 0,5ml nước cất và 0,1ml  $FeCl_3$ . Hỗn hợp được lắc đều và đo độ hấp thụ cực đại ở bước sóng  $\lambda = 700nm$ . Mẫu trắng được thay thế mẫu thử bằng nước khử ion và đối chứng dương sử dụng chất chuẩn Trolox. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với mỗi nồng độ.

### 2.3.8. Xử lý số liệu

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình:  $M \pm SEM$  (Standard Error of the Mean - sai số chuẩn của giá trị trung bình), xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student-Newman-Keuls test bằng phần mềm SigmaStat - 3.5. Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi  $P < 0,05$  so với lô chứng.

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Hiệu suất chiết

Khối lượng cao chiết còn (ECO) và nước (ACO) của 3 lần chiết xuất từ bột dược liệu Cù đèn được thể hiện qua **Bảng 1**.

Ở ACO, khối lượng cao chiết thấp nhất đạt 12,49 g (lần chiết thứ hai) và đạt khối lượng

cao nhất ở lần chiết thứ ba với 12,73 g với hiệu suất lần lượt là 3,376% và 3,421%. Đối với ECO, hiệu suất chiết cao đã trừ ẩm có khối lượng cao thấp nhất và cao nhất lần lượt là 1,915% và 2,072%, tương ứng với khối lượng cao chiết thu được 6,89 g và 7,49 g. Hiệu suất chiết không có nhiều biến động giữa các lần chiết, điều đó chứng tỏ quy trình chiết xuất có tính ổn định.

Tổng khối lượng thu được sau ba lần chiết xuất của ACO là 37,82 g và ECO là 21,58 g, tương đương với hiệu suất chiết trung bình đã trừ ẩm lần lượt đạt được là 3,4% và 2,0%. Nhìn chung, trong cùng điều kiện và phương pháp chiết xuất, cao nước cho hiệu suất chiết cao hơn so với cao còn 96%. Nghiên cứu của Natthida và cộng sự (2012) đã cho thấy khi chiết thân cành *C. oblongifolious* với dung môi cồn 50% đạt được hiệu suất chiết là 6,18%, cao hơn so với kết quả của thí nghiệm [16]. Điều đó chứng tỏ hiệu suất chiết của cây Cù đèn bị ảnh hưởng bởi mức độ phân cực của dung môi chiết xuất, song song còn phụ thuộc vào phương pháp chiết xuất. Kết quả còn được xem là báo cáo đầu tiên về hiệu suất chiết xuất của Cù đèn bằng phương pháp chiết hồi lưu tại Việt Nam. Vì thế, đây là điểm cần quan tâm trong các lần thí nghiệm tách chiết tiếp theo nhằm nâng cao hiệu suất chiết và giảm chi phí sản xuất.

**Bảng 1.** Hiệu suất chiết xuất thân cành Cù đèn

|                          | ACO   |       |       | ECO   |       |       |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Khối lượng dược liệu (g) | 300   | 300   | 300   | 300   | 300   | 300   |
| Khối lượng cao (g)       | 12,6  | 12,49 | 12,73 | 7,2   | 7,49  | 6,89  |
| Độ ẩm cao                | 19,04 | 18,92 | 19,38 | 16,78 | 17,00 | 16,62 |
| Hiệu suất đã trừ ẩm      | 3,400 | 3,376 | 3,421 | 1,997 | 2,072 | 1,915 |

### 3.2. Kết quả định tính và định lượng các hợp chất tự nhiên

Kết quả khảo sát thành phần hóa học sơ bộ của Cù đèn được thể hiện ở **Bảng 2**. Dựa vào kết quả cho thấy trong thân cành Cù đèn chứa

các nhóm hợp chất sinh học khác nhau như polyphenols, flavonoids, saponins, alkaloids, glycosides, tannins, terpenoids, steroids và carbohydrates.

**Bảng 2.** Thành phần hóa học của thân cành Cù đèn

| Số thứ tự | Nhóm hợp chất | Thuốc thử - Cách thực hiện                                    | Phản ứng dương tính                             | <i>C.oblongifolius</i> |
|-----------|---------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------|
| 1         | Alkaloids     | Bouchardat                                                    | Kết tủa nâu đỏ                                  | +                      |
|           |               | Dragendorff                                                   | Kết tủa vàng cam                                |                        |
| 2         | Flavonoids    | Bột Mg/HCl đậm đặc                                            | Dung dịch hồng đỏ tới đỏ                        | +                      |
| 3         | Polyphenols   | Dung dịch FeCl <sub>3</sub>                                   | Dung dịch xanh đậm                              | +                      |
| 4         | Saponins      | Lắc mạnh tạo bọt trong nước                                   | Tạo bọt bền                                     | +                      |
|           |               | Thuốc thử Liebermann                                          | Có vòng nhẫn màu nâu, tím                       | +                      |
| 5         | Glycosides    | Thuốc thử Fehling                                             | Kết tủa đỏ gạch                                 | +                      |
| 6         | Terpenoids    | Acetic anhydride/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> đậm đặc       | Dung dịch hồng                                  | +                      |
| 7         | Steroids      | Acetic anhydride/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> đậm đặc       | Dung dịch chuyển từ tím sang xanh lá/xanh dương | +                      |
| 8         | Carbohydrates | Dung dịch naphthol 10%/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> đậm đặc | Vòng đỏ                                         | +                      |
| 9         | Tannoids      | Dung dịch gelatin muối                                        | Kết tủa trắng bông                              | +                      |

Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Moh Moh Aye và cộng sự (2020), các thành phần có trong vỏ thân của Cù đèn thu nhận tại Thái Lan chứa các nhóm hợp chất sinh học có lợi cho sức khỏe như flavonoid, tannin, polyphenol, glycosid, tuy nhiên hai nhóm hợp chất alkaloid và cyanogenic glycoside không được phát hiện [4]. Qua đó có thể nói vị trí địa lý, bộ phận sử dụng khác nhau là một trong những yếu tố liên quan ảnh hưởng đến sự khác nhau của các thành phần hợp chất.

Hàm lượng phenol tổng (TPC) và flavonoid tổng (TFC) được xác định bởi các phương pháp đã trình bày ở phần trên và được tóm tắt ở **Bảng 3**. Sau khi xử lý số liệu thống kê ANOVA, phương trình đường chuẩn và R<sup>2</sup> của chất chuẩn acid gallic và quercetin được xác định cao hơn 0,9. Thông qua giá trị nội suy giá trị hấp phụ của mẫu cao chiết trên đường thẳng phương trình có thể giúp xác định được TPC, TFC của ECO và ACO lần lượt là 116,85 ±

0,424 và 55,8 ± 0,211 mg GAE/g cao chiết và 177,6 ± 4,626 và 49,9 ± 4,207 mg QE/g cao chiết. Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Moh Moh Aye [4].

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh được rằng nhóm các hợp chất polyphenol và flavonoid có liên quan mật thiết đến khả năng kháng oxy hóa mạnh mẽ trong cơ thể sinh vật, từ đó góp phần ngăn chặn, hỗ trợ điều trị các bệnh lý nguy hiểm. Longjam Shantabi và cộng sự (2014) ghi nhận được *Croton Caudatus* có hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng cao nhất khi các cao chiết lần lượt ở nồng độ 2000 và 4000µg/ml, song song đó cây còn thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa mạnh mẽ [17]. Kết quả cho thấy thân cành Cù đèn có tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực đời sống do chứa những thành phần, các nhóm hợp chất mang đặc tính có lợi cho sức khỏe. Các nghiên cứu tiếp theo được tiến hành nhằm khảo sát tiềm năng chống oxy hóa của các cao chiết Cù đèn.

**Bảng 3.** Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng của cao chiết thân cành Cù đèn

| Mẫu            | Cao chiết ECO  | Cao chiết ACO |
|----------------|----------------|---------------|
| TPC (mg GAE/g) | 116,85 ± 0,424 | 55,8 ± 0,211  |
| TFC (mg QE/g)  | 177,6 ± 4,626  | 49,9 ± 4,207  |

**3.3. Khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH**

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết và chứng dương ascorbic acid được khảo sát trên 5 nồng độ khác nhau, từ đó xác định đường thẳng

tuyến tính giữa nồng độ và khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của từng loại cao chiết, được trình bày ở **Bảng 4**.

**Bảng 4.** Khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH của cao chiết thân cành Cù đèn và ascorbic acid

| Mẫu                         | Cao chiết ECO (µg/ml)  |                        |       |       |       | Cao chiết ACO (µg/ml)  |       |       |       |       |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Nồng độ                     | 40                     | 80                     | 160   | 240   | 320   | 100                    | 200   | 300   | 400   | 500   |
| Hoạt tính bắt gốc tự do (%) | 15,66                  | 30,87                  | 42,86 | 58,68 | 79,23 | 33,63                  | 39,03 | 53,98 | 63,62 | 74,31 |
| Phương trình đường chuẩn    | y = 0,213x + 9,594     |                        |       |       |       | y = 0,106x + 21,129    |       |       |       |       |
|                             | R <sup>2</sup> = 0,987 |                        |       |       |       | R <sup>2</sup> = 0,986 |       |       |       |       |
| IC <sub>50</sub> (µg/ml)    | 189,25                 |                        |       |       |       | 272,36                 |       |       |       |       |
|                             |                        |                        |       |       |       |                        |       |       |       |       |
| Mẫu                         |                        | Ascorbic acid (µg/ml)  |       |       |       |                        |       |       |       |       |
| Nồng độ                     |                        | 2                      |       | 4     |       | 6                      |       | 8     |       | 10    |
| Hoạt tính bắt gốc tự do (%) |                        | 15,77                  |       | 27,34 |       | 42,78                  |       | 58,21 |       | 69,46 |
| Phương trình đường chuẩn    |                        | y = 6,912x + 1,237     |       |       |       |                        |       |       |       |       |
|                             |                        | R <sup>2</sup> = 0,996 |       |       |       |                        |       |       |       |       |
| IC <sub>50</sub> (µg/ml)    |                        | 7,05                   |       |       |       |                        |       |       |       |       |

Kết quả ở **Bảng 4** cho thấy phần trăm bắt gốc tự do DPPH tỷ lệ thuận với nồng độ cao. Cụ thể là đối với ECO, kết quả thể hiện hiệu suất loại bỏ gốc tự do DPPH tỉ lệ thuận với nồng độ tăng từ 40µg/ml đến 320µg/ml tương ứng hiệu suất loại bỏ tự do tăng dần từ 15,66% đến 79,23%. Ở kết quả ACO cho thấy hiệu quả loại bỏ gốc tự do DPPH tăng từ 33,63% đến 74,31% ở nồng độ cao chiết từ 100 - 500µg/ml.

Khả năng kháng oxy hóa của ACO và ECO Cù đèn được đánh giá qua khả năng loại bỏ gốc DPPH và kết quả được thể hiện thông qua giá trị IC<sub>50</sub>. Trong đó, giá trị IC<sub>50</sub> càng nhỏ thì hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh. Kết quả thể hiện giá trị IC<sub>50</sub> ở cả hai cao chiết ECO (189,25µg/ml) và ACO (272,36µg/ml) đều có khả năng loại bỏ gốc tự do DPPH và cao hơn đối chứng dương ascorbic acid lần lượt là 26,4

và 38,6 lần. Trong đó, ECO thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa tốt hơn so với ACO, kết quả tương đồng với nghiên cứu của Moh Moh Aye và cộng sự (2020), với giá trị IC<sub>50</sub> của cao cón và cao nước lần lượt là 5,9 và 18,5µg/ml [4]. Từ những kết quả trên có thể thấy được rằng Cù đèn có hoạt tính kháng oxy hóa là do trong thân cành Cù đèn có chứa nhiều các hợp chất polyphenol, flavonoid, saponin [6] Những chất chống oxy hóa có nguồn gốc từ thực vật, đặc biệt là phenolic và flavonoid được xem là những chất tiềm năng trong việc chống ung thư, đái tháo đường, các bệnh liên quan đến tim mạch và chống lão hóa [18].

**3.4. Khảo sát khả năng bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup>**

Ngoài khả năng bắt gốc tự do DPPH, khả năng khảo sát bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup> của cao chiết Cù đèn cũng được tiến hành khảo sát. Khả

năng kháng oxy hóa khi không có hoặc có cao chiết Cù đèn được phản ánh bởi sự giảm độ hấp phụ của dung dịch ABTS<sup>+</sup> khi đo ở bước sóng 734nm. Kết quả cho thấy hiệu quả loại bỏ gốc tự do của ECO và ACO tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết và giá trị IC<sub>50</sub> được xác định thông qua đường chuẩn của chất chuẩn ascorbic acid lần lượt là  $81,47 \pm 1,36$  và  $122,21 \pm 1,97 \mu\text{g/ml}$ , trong khi đó IC<sub>50</sub> tương ứng của ascorbic acid là  $9,82 \pm 1,20 \mu\text{g/ml}$ . Số liệu kết quả được tóm tắt ở Bảng 5. Điều đó cho thấy khả năng kháng oxy hóa của Cù đèn kém hơn so với chất chuẩn, trong đó cao chiết ECO có khả năng bắt gốc tự do tốt hơn ACO. Điều đó có thể giải thích là do chất chuẩn có độ tinh sạch cao trong khi đó các cao chiết thuộc dạng cao tổng nên có thể chứa các hợp chất không có khả năng kháng oxy hóa

**Bảng 5.** Khả năng loại bỏ gốc tự do ABTS<sup>+</sup> và năng lực khử của cao chiết Cù đèn và ascorbic acid

| Phương pháp | IC <sub>50</sub> (μg/ml) |                   |                 |                  |
|-------------|--------------------------|-------------------|-----------------|------------------|
|             | ECO                      | ACO               | Ascorbic acid   | Trolox           |
| ABTS        | $81,47 \pm 1,36$         | $122,21 \pm 1,97$ | $9,82 \pm 1,20$ | -                |
| RP          | $62,85 \pm 3,49$         | $101,23 \pm 2,98$ | -               | $38,68 \pm 3,41$ |

### 3.5. Khảo sát khả năng khử

Năng lực khử được sử dụng để khảo sát khả năng khử của một hợp chất có khả năng kháng oxy hóa với một tác nhân oxy hóa. Hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết được đánh giá dựa trên khả năng khử sắt khi đo giá trị mật độ quang tại bước sóng 700nm. Kết quả cho thấy được khả năng khử sắt tăng dần theo chiều tăng của nồng độ cao chiết, thể hiện giá trị IC<sub>50</sub> (Bảng 5) của ECO và ACO lần lượt là  $62,85 \pm 3,49$  và  $101,23 \pm 2,98 \mu\text{g/ml}$ . Tuy nhiên, hoạt tính kháng oxy hóa thấp hơn khi so với khả năng kháng oxy hóa của chất chuẩn trolox (IC<sub>50</sub> =  $38,68 \pm 3,41 \mu\text{g/ml}$ ). Qua đó cho thấy các cao chiết có khả năng khử ion Fe<sup>3+</sup> thành ion Fe<sup>2+</sup> trong hỗn hợp phản ứng và khả năng khử phụ thuộc vào nồng độ cao chiết.

khác, qua đó ảnh hưởng đến giá trị IC<sub>50</sub> cao hơn nhiều so với chất chuẩn. Theo nghiên cứu của Caracterização và cộng sự (2022) [19], cao chiết *Croton argyrophylloides* – cùng thuộc họ Euphorbiaceae – thể hiện hoạt tính bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup> ở nồng độ 2 mg/ml là 219716,66 μM Trolox/g. Ngoài ra, *Croton blanchetianus* thu nhận tại Brazil cũng được chứng minh có khả năng bắt gốc tự do mạnh với EC<sub>50</sub> ở cao nước là 26,55 μg/ml [20]. Kết quả cho thấy cao chiết Cù đèn trong thí nghiệm này có hoạt tính bắt gốc tự do ABTS<sup>+</sup> tương đối thấp khi so với cao chiết của dược liệu cùng họ ở Brazil, có thể do nhiều yếu tố ảnh hưởng như quy trình chiết xuất, điều kiện chiết xuất, dung môi sử dụng, vị trí địa lý, khí hậu, điều kiện thổ nhưỡng v.v...

### 4. Kết luận

Từ những kết quả khảo sát cho thấy, Cù đèn có chứa nhiều các hợp chất sinh học như flavonoid, polyphenol, saponin và một số nhóm chất khác. Cao chiết nước có hiệu suất chiết cao so với cao cồn trong cùng điều kiện tách chiết, lần lượt là 3,4% và 2,0%. Trong đó, cao chiết ethanol từ thân cành Cù đèn có hàm lượng polyphenol và flavonoid cùng với khả năng kháng oxy hóa qua các thực nghiệm *in vitro* khá tốt khi so với cao chiết nước. Kết quả này làm tiền đề cho việc phân lập các hợp chất có hoạt tính oxy hóa cũng như định hướng việc tối ưu hóa hiệu suất chiết xuất trong Cù đèn. Từ đó cho thấy, Cù đèn là loài dược liệu có nhiều tiềm năng cho các nghiên cứu về các dược chất có tác dụng kháng oxy hóa trên người và có thể ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như thực phẩm, mỹ phẩm, dược phẩm.

## Tài liệu tham khảo

- [1] Carsten Smith-Hall, Helle Overgaard Larsen, and Mariève Pouliot. (2012). People, plants and health: a conceptual framework for assessing changes in medicinal plant consumption. *Journal of ethnobiology ethnomedicine*, 8(1), 1-11.
- [2] Veeresham Ciddi. (2012). Natural products derived from plants as a source of drugs. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 3(4), 200–201.
- [3] Damrong Sommit, Amorn Petsom, Tsutomu Ishikawa, et al.. (2003). Cytotoxic activity of natural labdanes and their semi-synthetic modified derivatives from *Croton oblongifolius*. *Planta medica*, 69(02), 167-170.
- [4] Moh Moh Aye and Kyi Kyi Khine. (2020). Preliminary phytochemical investigation and screening of antimicrobial and antioxidant activities from the stem bark of *Croton oblongifolius* Roxb.(thak-ring-kri). *Journal of the myanmar academy of arts science*, 18(1C), 171.
- [5] Juthathip Poofery, Bungorn Sripanidkulchai, and Ratana Banjerdpongchai. (2020). Extracts of *Bridelia ovata* and *Croton oblongifolius* induce apoptosis in human MDA-MB-231 breast cancer cells via oxidative stress and mitochondrial pathways. *International Journal of Oncology*, 56(4), 969-985.
- [6] S Kumar, YN Shukla, UC Lavania, et al. (1997). Medicinal and aromatic plants: prospects for India. *J. Med. Arom. Pl. Sc*, 19(2), 361-365.
- [7] Gulam Waris and Haseeb Ahsan. (2006). Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of carcinogenesis*, 5, 14.
- [8] Marian Valko, CJB Rhodes, Jan Moncol, et al.. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- [9] Nguyễn Kim Phi Phụng. (2007). *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*.
- [10] SV Thite, YR Chavan, VT Aparadh, et al. (2013). Preliminary phytochemical screening of some medicinal plants. *International journal of pharmaceutical, chemical biological sciences*, 3(1), 87-90.
- [11] Samidha Kamtekar, Vrushali Keer, and Vijaya Patil. (2014). Estimation of phenolic content, flavonoid content, antioxidant and alpha amylase inhibitory activity of marketed polyherbal formulation. *Journal of applied pharmaceutical Science*, 4(9), 061-065.
- [12] Fanny Ribarova, Maria Atanassova, D Marinova, et al. (2005). Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *JU Chem. Metal*, 40, 255-260.
- [13] Nguyễn Thị Hằng, Nguyễn Thị Thanh Tâm, and Mai Hữu Phương. (2016). Khả năng bắt gốc tự do DPPH và năng lực khử của Nam sâm bò ở Cần Giờ, TP Hồ Chí Minh. *Tạp chí Khoa học*, 12(90), 112.
- [14] Nikolaos Nenadis, Lan-Fen Wang, Maria scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS•+ assay. *Journal of agricultural food chemistry*, 52(15), 4669-4674.
- [15] Manmohan Singhal, Arindam Paul, and Hemendra P Singh. (2014). Synthesis and reducing power assay of methyl semicarbazone derivatives. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(2), 121-127.
- [16] Natthida Weerapreeyakul, Apiyada Nonpunya, Sahapat Barusrux, et al. (2012). Evaluation of the anticancer potential of six herbs against a hepatoma cell line. *Chinese medicine*, 7(1), 1-7.
- [17] Longjam Shantabia, Ganesh Chandra Jagetia, M Ayub Alib, et al. (2014). Antioxidant Potential of *Croton Caudatus* Leaf extract *Invitro*.
- [18] Richard A Dixon, De-Yu Xie, and Shashi B Sharma. (2005). Proanthocyanidins—a final frontier in flavonoid research? *New phytologist*, 165(1), 9-28.
- [19] TS Neri, KWL Silva, LPS Maior, et al. (2021). Phytochemical characterization, antioxidant potential and antibacterial activity of the *Croton argyrophylloides* Muell. Arg. (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Biology*, 83.
- [20] Alisson Macário de Oliveira, Anderson Felipe Soares de Freitas, Wêndeo Kennedy Costa, et al. (2022). Flavonoid-rich fraction of *Croton blanchetianus* Baill. (Euphorbiaceae) leaves: Chemical profile, acute and subacute toxicities, genotoxicity and antioxidant potential. *South African Journal of Botany*, 144, 238-249.