

HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA SAPONIN TRONG CAO CHIẾT TỪ THÂN RỄ CÂY BẢY LÁ MỘT HOA (*Paris polyphylla* Sm.)

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SAPONIN EXTRACTION FROM RHIZOME OF SEVEN LEAVES ONE FLOWER TREE (*Paris polyphylla* Sm.)

TRƯƠNG THẾ QUANG^(*)

TÓM TẮT: Xây dựng quy trình tách chiết và ước lượng hiệu suất thu nhận cao chiết từ thân rễ cây bảy lá một hoa là 22,03%. Phân bố hàm lượng saponin toàn phần trong cây bảy lá một hoa nhiều nhất ở thân rễ 7,19%, ở thân là 0,89% và thấp nhất ở lá 0,49%. Hiệu suất cao chiết từ thân rễ cây bảy lá một hoa đạt 20,03%, độ ẩm của cao chiết 18,02%, độ tro của cao chiết 5,86%, hàm lượng saponin toàn phần trong cao chiết 61,30%. Khảo sát khả năng chống oxy hóa theo nồng độ saponin và ước lượng hoạt tính chống oxy hóa của saponin trong cao chiết bằng phương pháp MDA được $ICS_{50} = 159,35 \mu\text{g/ml}$. Khảo sát khả năng chống oxy hóa theo nồng độ chất chuẩn trolox và ước lượng hoạt tính chống oxy hóa của trolox bằng phương pháp MDA được $ICT_{50} = 562,81 \mu\text{g/ml}$. Hoạt tính chống oxy hóa của saponin trong cao chiết mạnh hơn chất chuẩn trolox 3,53 lần.

Từ khóa: cây bảy lá một hoa; thân rễ; cao chiết; saponin; trolox.

ABSTRACT: The extraction process has been built and the extraction yield from the rhizome of *Paris polyphylla* is estimated at 22.03%. Distribution of total saponin content of *Paris polyphylla* in rhizomes is the highest with 7.19%, while the stem is 0.89% and in the lowest leaf is 0.49 %. Extractation yield of the rhizome of *Paris polyphylla* is 20.03%, the moisture content of extracts is 18.02%, the ash content of extracts is 5.86%, the total saponin content of extracts is 61.30 %. Examination of antioxidant capacity by saponin concentration and estimated antioxidant activity of saponin in extracts by MDA method is $IC_{S50} = 159.35 \mu\text{g/ml}$. Examination of antioxidant capacity by trolox standard concentration and antioxidant activity estimation of trolox by MDA method is $IC_{T50} = 562.81 \mu\text{g/ml}$. The antioxidant activity of saponin in extracts is 3.53 times stronger than that of trolox standard.

Key words: *Paris polyphylla*; rhizome; extracts; saponin; trolox.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

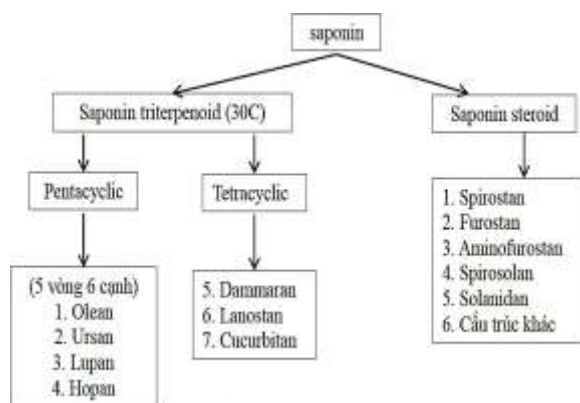
Những tác động từ bên trong hoặc bên ngoài cơ thể con người gây ra sự mất cân bằng của hệ thống chống oxy hóa. Nhiều căn bệnh hiện nay được chứng minh do quy trình stress

oxy hóa. Vì vậy, việc nghiên cứu tạo ra chất chống oxy hóa để bổ sung đã và đang được các nhà khoa học tìm kiếm và phát triển. Những khám phá về hoạt tính chống oxy hóa của một số loại dược liệu và các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên được ưu tiên hàng đầu vì

^(*) TS. Trường Đại học Văn Lang, truongthequang@vanlanguni.edu.vn, Mã số: TCKH11-12-2018

tính năng và độ an toàn, cũng như hiệu quả trong việc ngăn ngừa và chữa trị các loại bệnh như ung thư, xơ vữa động mạch,... Đặc biệt, hợp chất chống oxy hóa ở thực vật chiếm đa số như saponin, carotenoid, flavonoid, vitamin C, vitamin E [9, tr.44-84].

Cây bảy lá một hoa (*Paris polyphylla* Sm.) và những loài thực vật khác cùng chi là những cây thuốc thuộc diện quý hiếm ở Việt Nam được sử dụng để chống khuẩn, chống nấm, chữa rắn cắn, cầm máu,... trong dân gian [3, tr.90-92]. Thành phần của chúng chứa nhiều hợp chất có khả năng chống oxy hóa như saponin được ứng dụng trong lĩnh vực y học.

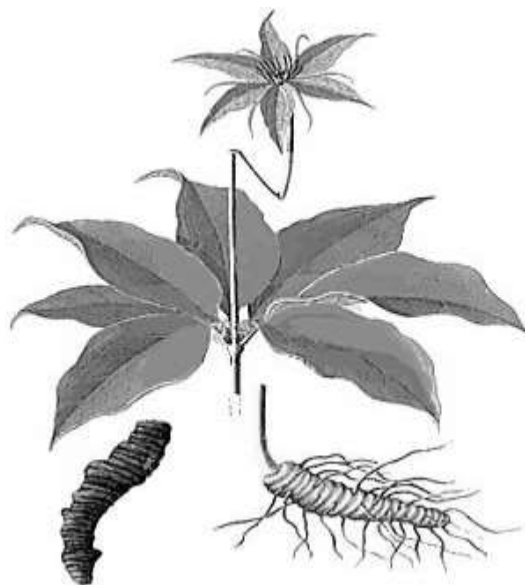


Hình 1. Sơ đồ phân loại saponin [5, tr. 3-15]

Saponin là glycoside phân bố khá rộng trong thực vật. Dựa vào cấu trúc aglycon, người ta chia saponin thành hai nhóm lớn là saponin steroid và saponin triterpenoid. Riêng saponin triterpenoid gồm có pentacyclic (nhóm olean, nhóm ursan, nhóm hopan,...) và tetracyclic saponin (nhóm dammaran, nhóm cucurbitan,...) [4, tr.126-127]. Saponin có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm. Saponin nhóm spirostan có nhiều chất có hoạt tính kháng ung thư. Các glycoside spirostanol có trên bốn đơn vị đường thì thấy có tác dụng chống ung thư rõ rệt. Tác dụng hướng

dục, tác dụng liên hệ thần kinh, tác dụng lên động vật máu lạnh và côn trùng được ứng dụng để chống mối, làm liệt giun,... Saponin steroid được dùng để tổng hợp các nội tiết tố steroid như testosterone, progesteron, cortison [5, tr. 3-15].

Nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của saponin trong cao chiết từ thân rễ cây bảy lá một hoa là cần thiết, nhằm góp phần làm sáng tỏ thành phần hoá học cũng như giá trị về dược liệu chiết xuất từ thân rễ cây này.



Hình 2. Thân rễ cây bảy lá một hoa (*Paris polyphylla* Sm.) [7]

Trong nghiên cứu này, HTCO của saponin trong cao chiết được định nghĩa là nồng độ saponin IC₅₀ (µg/ml) ứng với 50 % khả năng bắt gốc tự do DPPH (1,1 - diphenyl-2 - picrylhydrazyl) hoặc ứng với 50 % khả năng ức chế peroxy hóa lipid tế bào bằng phương pháp MDA (Malonyl Dialdehyd). Khả năng bắt gốc tự do DPPH hoặc khả năng ức chế peroxy hóa lipid tế bào được gọi là khả năng chống oxy hóa và ký hiệu là KNCO (%).

Ở Việt Nam, các đề tài nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng dược lý cây bảy lá một hoa vẫn còn hạn chế. Hiện nay, Viện Dược liệu có lưu trữ một số công trình nghiên cứu về cây bảy lá một hoa nhưng đa số là tài liệu nước ngoài, chủ yếu là các kết quả khảo sát thực trạng và bảo vệ nguồn gene của loài cây này tại Việt Nam [10].

Năm 2007, việc tìm kiếm các sản phẩm tự nhiên hoạt tính sinh học từ thân rễ *Paris polyphylla* của Dekota K. P. và các cộng sự dẫn đến sự cô lập của bốn hợp chất saponin. Cấu trúc hóa học của chúng được xác định bằng cách so sánh quang phổ với các số liệu đã báo cáo. Các chất chiết xuất từ chloroform, ethyl acetate và butanol loài cây này được tìm thấy có tiềm năng ức chế từ nhẹ đến trung bình chống lại enzyme tyrosinase và antileishmanial [2].

Năm 2010, Wang. G. X. và cộng sự đã báo cáo về tiềm năng kiểm soát hoạt động của sán *Dactylogyrus* từ các hợp chất cô lập được trong thân rễ *Paris polyphylla*. Cả hai hợp chất dioscin và polyphyllin D đều thể hiện khả năng kháng đáng kể với *Dactylogyrus* [11, tr.1102-1105].

Năm 2012, Xia Wu và cộng sự đã phân lập được mười một saponin steroid từ thân rễ của *Paris polyphylla*, trong đó có bảy saponin steroid được biết đến. Các hợp chất cô lập đã được thử nghiệm có khả năng gây độc tế bào ung thư biểu mô vòm họng và hiển thị tác dụng ức chế mạnh hơn cisplatin [13, tr.33-143].

Năm 2014, Yan-Shi Wen và cộng sự đã phân lập được chín saponin steroid từ thân rễ của *Paris polyphylla*, bên cạnh bảy hợp chất đã được biết đến, có hai saponin chưa từng được báo cáo trước đó là dianchonglouosides A và B. Ngoài ra,

nhóm tác giả cũng chứng minh rằng các hợp chất được cô lập có độc tính khá mạnh với hai dòng tế bào ung thư ở người HEK293 và HepG2 [14, tr.31-34].

2. MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu nghiên cứu

Khảo sát KNCO theo nồng độ của saponin trong cao chiết từ thân rễ cây bảy lá một hoa, ước lượng HTCO của saponin trong cao chiết và đối chứng với chất chuẩn trolox.

2.2. Nội dung nghiên cứu

Xây dựng quy trình chiết xuất cao cồn từ thân rễ cây bảy lá một hoa, ước lượng một số chỉ tiêu hóa lý của saponin trong cao chiết, khảo sát khả năng chống oxy hóa của saponin trong cao chiết bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH (1,1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl), khảo sát khả năng chống oxy hóa của saponin trong cao chiết qua khả năng ức chế peroxy hóa lipid tế bào bằng phương pháp MDA (Malonyl Dialdehyd), ước lượng HTCO của saponin trong cao chiết so với chất chuẩn trolox.

3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Quy trình chiết cao từ thân rễ cây bảy lá một hoa

Thân rễ cây bảy lá một hoa đem phơi nắng cho khô, sau đó nghiền và rây 3mm để có bột mịn, sau đó trích ly bằng dung môi cồn 80 độ theo tỷ lệ 1:6 và cô đặc chân không thu được cao chiết cồn gọi tắt là cao chiết.

3.2. Phương pháp định lượng saponin tổng số

Hàm lượng saponin tổng số trong cao chiết được ước lượng bằng phương pháp khối lượng. Cân chính xác 0,5 g cao chiết, hòa với 10 ml nước cất và lắc loại tạp với diethyl ether, thu lấy pha nước và lắc tiếp với n-butanol bão hòa nước.

$$X = \frac{A \cdot 100}{M(100 - D)} \quad (1)$$

Trong đó: X: Hàm lượng saponin trong mẫu cao chiết (%); A: Khối lượng căn saponin thu được (g); D: Độ ẩm của mẫu cao chiết (%); M: Khối lượng mẫu cao chiết (g).

Cô bay hơi n-butanol thu được căn saponin. Sấy khô căn saponin ở 105°C đến khối lượng không đổi và cân [1, tr.390-396]. Hàm lượng saponin theo nguyên liệu khô tuyệt đối được tính theo công thức (1).

3.3. Ước lượng khả năng chống oxy hóa của saponin bằng phương pháp DPPH

DPPH là chất màu tím có gốc tự do nhờ vào điện tử chưa ghép đôi. Saponin là chất chống oxy hóa có khả năng bắt gốc tự do của DPPH làm giảm cường độ màu. Vì thế, nồng độ saponin trong mẫu càng cao thì cường độ màu của DPPH càng giảm, được xác định bằng cách đo độ hấp thụ A trên máy quang phổ hấp thụ phân tử UV-VIS ở bước sóng 517 nm [1, tr.390-396]. Khả năng chống oxy hóa KNCO (%) được tính theo công thức (2).

$$KNCO = \left[1 - \frac{A_T}{A_0} \right] \cdot 100 \quad (2)$$

Trong đó: A_T : Độ hấp thụ của mẫu thử; A_0 : Độ hấp thụ của mẫu trắng (chứng dung môi).

3.4. Ước lượng khả năng chống oxy hóa của saponin bằng phương pháp MDA

Ước lượng khả năng chống oxy hóa của saponin trong cao chiết qua khả năng ức chế peroxy hóa lipid màng tế bào bằng việc xác định hàm lượng MDA là sản phẩm của quá trình peroxy hóa lipid.

$$KNCO = \left(1 - \frac{A_T}{A_0} \right) \cdot 100 \quad (3)$$

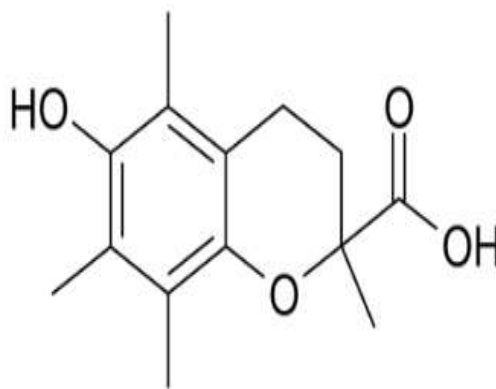
Trong đó: A_T : Độ hấp thụ của mẫu thử; A_0 : Độ hấp thụ của mẫu trắng (chứng dung môi).

MDA có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric để tạo thành phức hợp trimethin màu hồng có bước sóng hấp thụ cực đại 532nm [6, tr. 243-256]. Khả năng chống oxy hóa KNCO (%) được tính theo công thức (3).

3.5. Hoạt tính chống oxy hóa của saponin so với chất chuẩn trolox

Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) là chất chống oxy hóa như vitamin E. Hoạt tính chống oxy hóa của saponin trong cao chiết được tính theo hoạt tính chống oxy hóa của chất chuẩn trolox tương đương, được đo bằng đơn vị trolox gọi là Trolox Unit (TU).

Ước lượng phương trình $KNCO = f(x)$, trong đó KNCO (%) là khả năng ức chế peroxy hóa lipid màng tế bào theo nồng độ x của saponin (hoặc trolox). Sau đó, nội suy ra giá trị HTCO của saponin (hoặc trolox) $x_{50} = IC_{50}$ ứng với khả năng ức chế peroxy hóa lipid KNCO = 50 %, giá trị IC_{50} càng nhỏ tương ứng với HTCO càng lớn. HTCO của saponin IC_{50} sẽ được tính theo đơn vị TU dựa vào IC_{T50} của chất chuẩn trolox.



Hình 3. Cấu tạo hóa học của trolox [12]

4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Phân bố hàm lượng saponin toàn phần trong cây bầy lá một hoa

Phân tích phương sai với mức tin cậy 0,05 hàm lượng saponin toàn phần có trong cây bầy lá một hoa nhiều nhất ở thân rễ 7,19 %, còn ở thân là 0,89 % và thấp nhất ở lá 0,49 % (Bảng 1). Do đó, dùng nguyên liệu là thân rễ cây bầy lá một hoa để chiết xuất cao cần có chứa saponin.

Bảng 1. Phân bố hàm lượng saponin trong cây bầy lá một hoa [8]

Hàm lượng saponin (%)		
Thân rễ	Thân	Lá
7,19 ^a	0,89 ^b	0,49 ^c

4.2. Hàm lượng saponin trong cao chiết từ thân rễ cây bầy lá một hoa

Hiệu suất cao chiết từ thân rễ cây bầy lá một hoa đạt 20,03 %, độ ẩm trung bình của cao chiết 18,02 %, độ tro trung bình của cao chiết 5,86 %, hàm lượng saponin toàn phần trong cao chiết 61,30 %.

4.3. Ước lượng KNCO của saponin trong cao chiết bằng phương pháp DPPH

Phân tích phương sai với mức tin cậy 0,05 cho thấy khả năng chống oxy hóa của saponin trong cao chiết tăng tỷ lệ thuận theo nồng độ saponin. Khả năng chống oxy hóa cao nhất 78,36 % ở nồng độ saponin 2000 µg/ml, khả năng chống oxy hóa thấp nhất 19,89 % ở nồng độ saponin 50 µg/ml, xem Bảng 2.

Bảng 2. Khả năng chống oxy hóa của saponin trong cao chiết theo phương pháp DPPH [8]

Nồng độ saponin x (µg/ml)	2000	1000	500	250	100	50
KNCO (%)	78,36 ^a	50,15 ^b	41,10 ^c	32,68 ^d	29,06 ^e	19,89 ^f

4.4. Ước lượng KNCO của saponin trong cao chiết bằng phương pháp MDA

Phân tích phương sai với mức tin cậy 0,05 cho thấy khả năng chống oxy hóa của saponin trong cao chiết tăng tỷ lệ thuận

theo nồng độ khảo sát. Khả năng chống oxy hóa cao nhất là 89,23 % ở nồng độ saponin 2000 µg/ml, khả năng chống oxy hóa thấp nhất là 27,25 % ở nồng độ saponin 50 µg/ml, xem Bảng 3.

Bảng 3. Khả năng chống oxy hóa của saponin trong cao chiết theo phương pháp MDA [8]

Nồng độ saponin x (µg/ml)	2000	1000	500	250	100	50
KNCO (%)	89,23 ^a	87,25 ^b	78,24 ^c	59,78 ^d	38,02 ^e	27,25 ^f

4.5. Hoạt tính chống oxy hóa của saponin trong cao chiết tính theo đơn vị trolox

Khả năng chống oxy hóa của trolox theo phương pháp MDA được nêu trong

bảng 4, phân tích phương sai với mức tin cậy 0,05 cho thấy KNCO phụ thuộc vào nồng độ trolox.

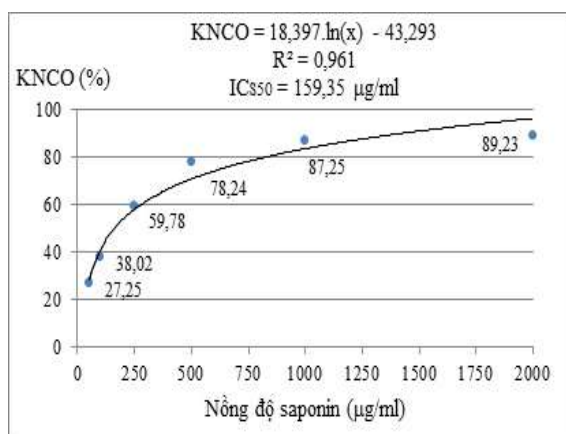
Bảng 4. Khả năng chống oxy hóa của trolox theo phương pháp MDA [8]

Nồng độ trolox x (µg/ml)	2000	1000	500	250	100	50
KNCO (%)	77,70 ^a	63,49 ^b	44,08 ^c	29,96 ^d	14,86 ^e	5,32 ^f

Từ số liệu Bảng 3, ước lượng được phương trình KNCO của saponin trong cao chiết, phương trình (4) với bình phương hệ số tương quan $R^2 = 0,961 \approx 1$.

$$\text{KNCO} = 18,397 \cdot \ln(x) - 43,293 \quad (4)$$

HTCO của saponin trong cao chiết $\text{IC}_{\text{S50}} = 159,35 \mu\text{g/ml}$ ứng với $\text{KNCO} = 50 \%$.

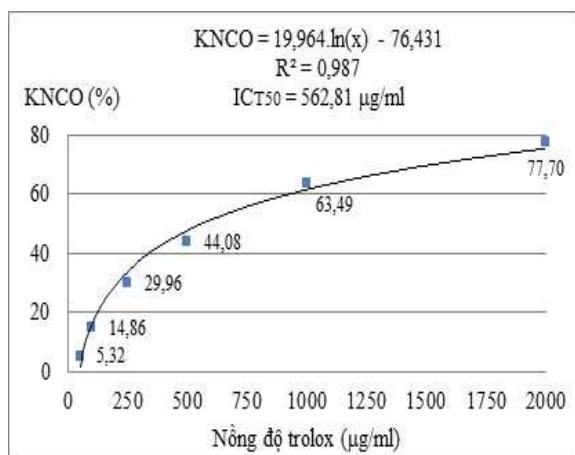


Hình 4. Đồ thị biểu diễn tương quan giữa KNCO (%) và nồng độ ($\mu\text{g/ml}$) của saponin trong cao chiết [8]

Từ số liệu Bảng 4, ước lượng được phương trình KNCO của trolox, phương trình (5) với bình phương hệ số tương quan $R^2 = 0,987 \approx 1$.

$$\text{KNCO} = 19,964 \cdot \ln(x) - 76,431 \quad (5)$$

HTCO của trolox $\text{IC}_{\text{T50}} = 562,81 \mu\text{g/ml}$ ứng với $\text{KNCO} = 50 \%$.



Hình 5. Đồ thị biểu diễn tương quan giữa KNCO (%) và nồng độ ($\mu\text{g/ml}$) của trolox [8]

HTCO_S của saponin trong cao chiết từ thân rễ cây bầy lá một hoa cao hơn trolox 3,53 lần. HTCO_S của saponin trong cao chiết từ thân rễ cây bầy lá một hoa tính theo đơn vị TU:

$$\text{HTCO}_S = \frac{\text{IC}_{\text{T50}}}{\text{IC}_{\text{S50}}} = 3,53 (\text{TU})$$

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

Xây dựng quy trình tách chiết và ước lượng hiệu suất thu nhận cao chiết từ thân rễ cây bầy lá một hoa là 22,03%.

Phân bố hàm lượng saponin toàn phần trong cây bầy lá một hoa nhiều nhất ở thân rễ 7,19 %, còn ở thân là 0,89 % và thấp nhất ở lá 0,49 %.

Hiệu suất cao chiết từ thân rễ cây bầy lá một hoa đạt 20,03 %, độ ẩm của cao chiết 18,02 %, độ tro của cao chiết 5,86 %, hàm lượng saponin toàn phần trong cao chiết 61,30 %.

Khảo sát và ước lượng khả năng chống oxy hóa theo nồng độ saponin trong cao chiết bằng phương pháp DPPH cho thấy khả năng chống oxy hóa tỷ lệ với nồng độ saponin. Phân tích phương sai với mức tin cậy 0,05 cho thấy, khả năng chống oxy hóa cao nhất 78,36% ở nồng độ saponin 2000 $\mu\text{g/ml}$, khả năng chống oxy hóa thấp nhất 19,89 % ở nồng độ saponin 50 $\mu\text{g/ml}$. Khảo sát khả năng chống oxy hóa theo nồng độ saponin và ước lượng hoạt tính chống oxy hóa của saponin trong cao chiết bằng phương pháp MDA được $\text{IC}_{\text{S50}} = 159,35 \mu\text{g/ml}$. Khảo sát khả năng chống oxy hóa theo nồng độ chất chuẩn trolox và ước lượng hoạt tính chống oxy hóa của trolox bằng phương pháp MDA được $\text{IC}_{\text{T50}} = 562,81 \mu\text{g/ml}$.

Hoạt tính chống oxy hóa của saponin trong cao chiết mạnh hơn chất chuẩn trolox 3,53 lần. Như vậy, nếu tính theo đơn vị trolox thì HTCO của saponin trong cao chiết bằng 3,53 TU.

5.2. Kiến nghị

Tiếp tục nghiên cứu quy trình tách chiết, cô lập và xác định cấu trúc hóa học từng loại hợp chất saponin từ thân rễ cây bảy lá một hoa.

Nghiên cứu ứng dụng của cao chiết từ thân rễ cây bảy lá một hoa để phòng và chữa bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Boonchai Pongnaravane, Motonobu Goto, Mitsuru Sasaki, Thitiporn Anekpankul, Prasert Pavasant, Artiwan Shotipruk (2006), *Extraction of anthraquinones from roots of Morinda citrifolia by pressurized hot water: Antioxidant activity of extracts* Original Research Article, The Journal of Supercritical Fluids, Vol 37(3).
- [2] Devkota K. P., Khan M. T., Ranjit R., Lannang A. M., Samreen, Choudhary M. I. (2007), *Tyrosinase inhibitory and antileishmanial constituents from the rhizomes of Paris polyphylla*.
- [3] Đỗ Tất Lợi (2015), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb Hồng Đức.
- [4] Nguyễn Kim Phi Phụng (2007), *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*, Nxb Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- [5] Ngô Văn Thu (1990), *Hóa học saponin*, Nxb Y học Hà Nội.
- [6] Stroev E. A., Makarova V. G. (1998), *Determination of lipid peroxidation rate in tissue homogenate laboratory*, Manual in Biochemistry, Moscow.
- [7] Thuốc vườn nhà (2012), *Cây bảy lá một hoa có tác dụng gì?*, <http://www.thuocvuonnhah.com/c/cay-bay-la-mot-hoa-co-tac-dung-gi/hoi-dap>, Truy cập 16/05/2015.
- [8] Trương Thế Quang, Trần Thị Ngọc Ánh (2016), *Nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ thân rễ cây bảy lá một hoa (Paris polyphylla Sm.)*, Trường Đại học Văn Lang.
- [9] Valko M., et al (2007), *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39.
- [10] Viện Dược liệu (2016), *Danh mục các công trình nghiên cứu về cây bảy lá một hoa (Paris polyphylla var. yunnanensis)*, Trung tâm Thông tin Thư viện.
- [11] Wang G. X., Han J., Zhao L. W., Jiang D. X., Liu Y. T., Liu X. L. (2010), *Anthelmintic activity of steroidal saponins from Paris polyphylla*, Phytomedicine.
- [12] Wikipedia (2017), *Trolox*, <https://en.wikipedia.org/wiki/Trolox>, Truy cập ngày 19/05/2018.
- [13] Xia Wu, Lei Wang, Hui Wang, Yi Dai, Wen-Cai Ye, Yao-Lan Li (2012), *Steroidal saponins from Paris polyphylla var. yunnanensis*, Phytochemistry.
- [14] Yan-Shi Wena, Wei Ni, Xu-Jie Qin, Huan Yan, Chang-Xiang Chen, Yan Hua, Yung-Chi Cheng, Li He, Hai-Yang Liu (2014), *Steroidal saponins with cytotoxic activity from the rhizomes of Paris polyphylla var. yunnanensis*, Phytochemistry Letters.

Ngày nhận bài: 21-5-2018. Ngày biên tập xong: 28-5-2018. Duyệt đăng: 24-9-2018