

TẠO CẶN CHIẾT VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA LOÀI XƯƠNG QUẠT (*DIANELLA ENSIFOLIA*)

PREPARATION OF THE EXTRACTS AND THEIR BIOLOGY ACTIVITIES FROM *DIANELLA ENSIFOLIA*

Trần Như Quyết, Vũ Minh Tân,
Trịnh Thị Hải, Lê Thị Hồng Nhung*

TÓM TẮT

Từ loài Xương quạt (*Dianella ensifolia*), bằng phương pháp chiết đã tạo được 4 cặn chiết hexan, chloroform, ethyl axetat, butanol. Khảo sát hoạt tính sinh học của các cặn chiết hexan, ethyl axetat, butanol cho thấy nhiều hoạt tính đáng chú ý: hai mẫu M2B và M2H có hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và không gây độc cho tế bào ở cả 2 nồng độ thử nghiệm 3µg/mL và 10µg/mL, đặc biệt ở 10µg/mL khả năng ức chế của M2E và M2B tương ứng là 71,74% và 65,22%; hai cặn chiết (M2E, M2B) đều có khả năng chống oxy hóa ở nồng độ 500µg/mL, trong đó M2E với IC₅₀ = 107,40 ± 2,06µg/mL.

Từ khóa: *Dianella ensifolia*; kháng viêm; chống oxy hóa.

ABSTRACT

Preparation of four extracts from *Dianella ensifolia* (*n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol) by extraction method. Investigating the biological activity of the hexane, ethyl acetate, butanol extracts showed many remarkable activities: the hexane and butanol extracts have activity to inhibit NO production and not toxic to cells in both concentrations 3µg/mL and 10µg/mL tests, especially at 10µg/mL of inhibitory capacities of the ethyl acetate and butanol extracts are 71.74% and 65.22% respectively; Two extraction residues (the ethyl acetate, butanol extracts) are both antioxidant at a concentration of 500µg/mL, of which the ethyl acetate extract with IC₅₀ = 107.40 ± 2.06µg/mL.

Keywords: *Dianella ensifolia*; anti-inflammatory; antioxidant.

Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: nhunglth82@gmail.com

Ngày nhận bài: 03/9/2019

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 03/10/2019

Ngày chấp nhận đăng: 24/6/2020

1. GIỚI THIỆU

Xương quạt (*Dianella ensifolia*) thuộc họ Liliaceae là loài có thân rễ nằm ngang, thân cao chừng 40 - 50cm, có thể tới 1m. Lá mọc so le, ôm lấy thân theo hai bên thân hình nan quạt giấy trông như chiếc quạt hay quân bài. Xương quạt phân bố chủ yếu ở Ấn Độ, Nam Nhật Bản, Trung Quốc và các nước Đông Nam Á, Australia, Nepal, Châu Phi và các đảo Thái Bình Dương. Ở Việt Nam, chúng phân bố hầu khắp từ Bắc đến Nam [1-3]. *Dianella ensifolia* (L.) DC có vị cay, tính ấm và độc. Trong dân gian, người ta sử dụng loài này để điều trị mụn nhọt, lở loét, khử độc, sát trùng và rễ của nó được sử dụng trong các bệnh về thận và đau bụng [4].

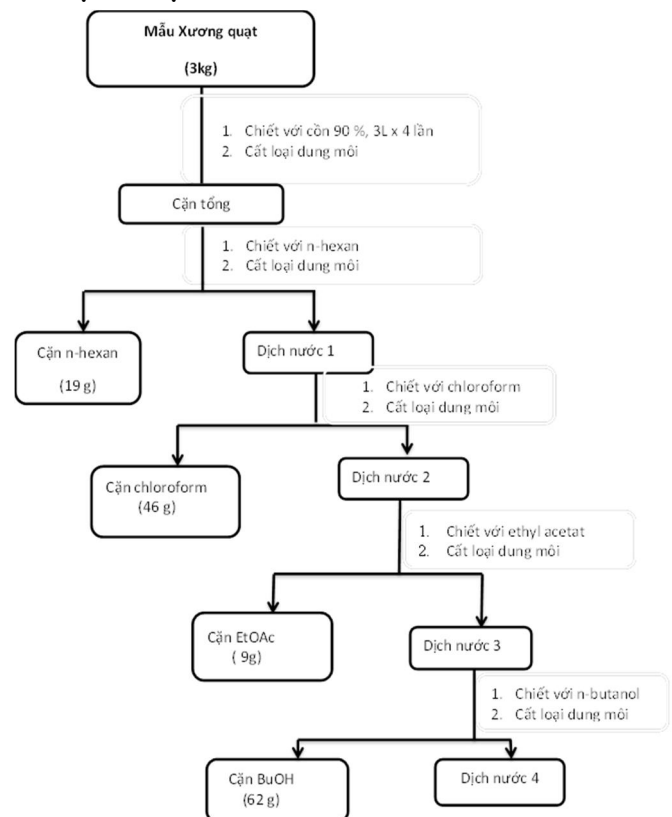
Theo các nghiên cứu đã công bố, *Dianella ensifolia* có thành phần hóa học chủ yếu là các hợp chất triterpen, flavan, dẫn xuất benzoid [5-7].

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mẫu nguyên liệu

Mẫu Xương quạt được thu hái ở Lâm Đồng vào tháng 5/2017, tên khoa học do CN. Trần Thái Vinh - Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên xác định.

2.2. Tạo các cặn chiết



Sơ đồ 1. Quy trình chiết mẫu Xương quạt

Mẫu sau khi thu hái được rửa sạch, sấy khô (3,0kg), nghiền nhỏ và ngâm chiết bốn lần trong hỗn hợp EtOH/nước (90:10), ở nhiệt độ phòng. Sau khi cắt loại dung môi EtOH dưới áp suất giảm, dịch nước còn lại được chiết phân lớp lần lượt với *n*-hexan, chloroform, ethyl axetat và

n-BuOH (mỗi loại chiết 1,5l x 3lần). Cát loại dung môi của các dịch chiết thu được dưới áp suất giảm thu được các cặn chiết tương ứng cặn 19g *n*-hexane (**M2H**), 46g cặn chloroform (**M2C**), 9g cặn ethyl axetat (**M2E**), 62g cặn *n*-BuOH (**M2B**) (*Sơ đồ 1*).

2.3. Khảo sát hoạt tính sinh học

Tiến hành thử các hoạt tính sinh học của các cặn chiết tạo được tại Trung tâm tiên tiến về hóa sinh hữu cơ, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định (VSVKĐ) của các cặn chiết được thử nghiệm bằng phương pháp pha loãng nồng độ. Đây là phương pháp thử hoạt tính kháng VSVKĐ và nấm (được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm Vệ sinh an toàn thực phẩm quốc gia) nhằm đánh giá mức độ kháng khuẩn mạnh yếu của các mẫu thử thông qua các giá trị thể hiện hoạt tính là MIC (nồng độ ức chế tối thiểu) [8].

Khả năng kháng viêm được đánh giá thông qua phương pháp xác định hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxid (NO) trên tế bào RAW264.7 (được nuôi cấy ở Viện Hóa sinh biển) [9]

Hoạt tính chống oxi hóa được thực hiện theo phương pháp quét gốc tự do DPPH [10].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Tiến hành khảo sát hoạt tính sinh học 3 cặn chiết **M2H, M2E, M2B** của loài Xương quạ: hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định (VSVKĐ), hoạt tính kháng viêm, hoạt tính chống oxi hóa.

3.1. Khả năng kháng vi sinh vật kiểm định

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các cặn chiết được thử nghiệm trên 3 chủng vi khuẩn Gram (-) (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella enterica* ATCC13076), 3 chủng Gram (+) (*Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC 13245), 1 chủng Nấm men *Candida albicans* ATCC10231.

Bảng 1. Kết quả hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

TT	Mẫu	Tên chủng						
		Gram (+)			Gram (-)			Nấm men
		<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginos</i>	<i>S. enterica</i>	<i>C. albicans</i>
MIC(µg/ml)								
1	M2B	-	-	-	-	-	-	128
2	M2H	-	-	-	-	-	-	128
3	M2E	-	-	-	-	-	-	128
Kháng sinh	^a Streptomycin	256	256	128	32	256	128	-
	^b Cyclohexamide							32

^a Chất đối chứng cho các chủng vi khuẩn

^b Chất đối chứng cho nấm

(-) Không có hoạt tính

Kết quả hoạt tính kháng VSVKĐ được đưa ra ở *Bảng 1*, cho thấy các mẫu cặn chiết thử nghiệm không thể hiện hoạt tính trên các dòng vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Chỉ duy nhất đối với chủng nấm men *C. albicans* (ATCC10231) là có thể hiện hoạt tính yếu.

3.2. Khả năng kháng viêm

Gốc tự do nitric oxide (•NO) được sản sinh ở nhiều loại tế bào khác nhau. Dạng •NO xuất tiết có mặt ở các tế bào như đại thực bào, nguyên bào sợi hay tế bào gan thường được sản sinh với lượng lớn khi xuất hiện các đáp ứng viêm [11]. Vì vậy, việc xác định khả năng kháng viêm được đánh giá thông qua phương pháp xác định hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxid (NO) trên tế bào RAW264.7. Kết quả thử trên các cặn chiết ở hai nồng độ thử nghiệm 3µg/mL và 10µg/mL được đưa ra ở *bảng 2*.

Bảng 2. Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các cặn chiết

Tên mẫu	Nồng độ	% Ức chế	% Tế bào sống
M2E	3µg/mL	39,13	> 100,00
	10µg/mL	56,52	> 100,00
M2B	3µg/mL	52,17	> 100,00
	10µg/mL	71,74	99,59
M2H	3µg/mL	63,04	> 100,00
	10µg/mL	65,22	91,84
Cardamonin*	0,3µM	17,12	99,62
	3µM	93,45	81,35

* Chuẩn đối chứng dương

Kết quả ở cả hai nồng độ thử nghiệm 3µg/mL và 10µg/mL, hai mẫu **M2B** và **M2H** có hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và không gây độc cho tế bào. Còn mẫu **M2E** chỉ có hoạt tính ức chế sự sản sinh NO tốt và không làm ảnh hưởng đến sự sống sót của tế bào ở nồng độ thử nghiệm 10µg/mL.

3.3. Khả năng chống oxi hóa

1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) là một gốc tự do bền, có màu tím và có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 517nm. Khi có mặt chất chống oxi hóa, nó sẽ bị khử thành 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazine (DPPH-H) có màu vàng. Đo độ giảm hấp thụ ở bước sóng 517nm để xác định khả năng khử gốc DPPH của chất chống oxi hóa.

Tiến hành xác định khả năng quét gốc tự do DPPH ở các nồng độ 100 và 500µg/mL của các cao chiết kết quả cho thấy cao chiết **M2E, M2B** có hoạt tính tốt ở nồng độ thử nghiệm 100µg/mL. Hai mẫu này được tiếp tục tiến hành thử nghiệm để xác định giá trị IC₅₀ (*bảng 3*).

Bảng 3. Kết quả hoạt tính chống oxi hóa quét gốc tự do DPPH của các cao chiết

STT	Tên mẫu	Nồng độ thử (µg/mL)	% Ức chế	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)
1	M2E	100	39,19	107,40 ± 2,06
		500	83,60	
2	M2B	100	15,14	290,67 ± 2,76
		500	61,62	

3	M2H	100	4,14	>500
		500	36,04	
Ascorbic acid*		10	44,95	11,49 ± 0,85
		50	93,64	

* Chất đối chứng

Với các kết quả thu được, cao chiết **M2E** có giá trị IC_{50} tốt nhất ($107,40 \pm 2,06 \mu\text{g/mL}$).

4. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

Từ mẫu cây Xương quạt (*Dianella ensifolia*) thu hái ở Lâm Đồng đã tiến hành chiết tạo ra 4 cặn chiết hexan (**M2H**), chloroform (**M2C**), ethyl axetat (**M2E**), butanol (**M2B**).

Khảo sát hoạt tính sinh học của ba cặn chiết tạo được **M2H**, **M2E**, **M2B** cho thấy với chủng nấm men *C. albicans* thì cả ba cặn chiết cho hoạt tính rất yếu. Thử khả năng kháng viêm, hai mẫu **M2B** và **M2H** có hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và không gây độc cho tế bào ở cả hai nồng độ thử nghiệm $3 \mu\text{g/mL}$ và $10 \mu\text{g/mL}$, đặc biệt ở $10 \mu\text{g/mL}$ khả năng ức chế của **M2E** và **M2B** tương ứng là 71,74% và 65,22%. Bên cạnh đó, hai cặn chiết (**M2E**, **M2B**) đều có khả năng chống oxi hóa ở nồng độ $500 \mu\text{g/mL}$, đáng chú ý là **M2E** với $IC_{50} = 107,40 \pm 2,06 \mu\text{g/mL}$.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của đề tài NAFOSTED (mã số 104.01-2016.30).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. <https://www.tropicos.org>.
- [2]. Phạm Hoàng Hộ. *Cây cỏ Việt Nam, Tập 1,2,3*. NXB trẻ.
- [3]. Đỗ Tất Lợi, 2006. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Y học.
- [4]. Christophe Wiat, 2012. *Medicinal Plants of China, Korea, and Japan, Bioresources for Tomorrow's drugs and cosmetics*.
- [5]. Vitchu Lojanapiwatha, Kovit Chancharoen et al, 1982. *Chemical constituents of Dianella ensifolia Redoute*. Jour Sci Soc Thailand 8, p.95-102.
- [6]. Tang BQ, Huang SS, Liang YE, Ma Y, Zeng B, Lee SM, Lu JL, 2017a. *Two new flavans from the roots of Dianella ensifolia (L.) DC.*. Nat Prod Res. 31, p. 1561-1565.
- [7]. Tang B.Q., Li C.W., Sun J.B., Chang Y., Chan J.Y.-W., Lee S.M.-Y., Zeng B., 2017b. *A new cycloartane-type triterpenoid from the roots of Dianella ensifolia (L.) DC.*. Nat.Prod. Res. 31, p. 966-971.
- [8]. Hadacek F., Greger H., 2000. *Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice*. Phytochemical analysis 11(3), 137-147.
- [9]. Dirsch V.M., H. Stuppner, A.M. Vollmar, 1998. *The Griess assay: suitable for a bioguided fractionation of anti-inflammatory plant extracts*. Planta med, 64(5), 423-426.

[10]. Okawa M., et al., 2001. *DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants*. Biol Pharm Bull 24(10): 1202-1205.

[11]. Nathan C., 1992. *Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells*. Faseb j, 6(12), p. 3051-64.

AUTHORS INFORMATION

Tran Nhu Quyet, Vu Minh Tan, Trinh Thi Hai, Le Thi Hong Nhung

Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry