

# KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG TINH DẦU, CÁC CHẤT CHIẾT ĐƯỢC VÀ HAI HOẠT CHẤT Z-LIGUSTILIDE, AXIT FERULIC CỦA RỄ CÂY ĐƯƠNG QUY VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG NẤM HẠI CÂY TRỒNG CỦA CHÚNG

INVESTIGATION OF THE CONTENTS OF ESSENTIAL OIL, EXTRACTABLE MATERIALS, Z-LIGUSTILIDE AND FERULIC ACID FROM *ANGELICA ACUTILOBA* AND THEIR ANTIFUNGAL ACTIVITY AGAINST PLANT FUNGI

Vũ Văn Điền<sup>1</sup>, Nguyễn Quang Tùng<sup>2</sup>, Nguyễn Hà Trang<sup>1</sup>, Đỗ Văn Phúc<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thanh Hương<sup>1</sup>, Lê Thị Hương<sup>3</sup>, Nguyễn Hữu Tùng<sup>4</sup>, Lê Đăng Quang<sup>1,\*</sup>

## TÓM TẮT

Cây Đương quy (*Angelica acutiloba*) được di thực vào Việt Nam và được trồng phổ biến ở các tỉnh Tây Bắc như Lào Cai, Hòa Bình, Lai Châu và Tây Nguyên như Đà Lạt, Lâm Đồng. Trong y học cổ truyền, Đương quy được coi là sâm tố nữ và được sử dụng để điều trị các chứng bệnh về nội tiết, đầy hơi và các bệnh về khớp, bệnh ngoài da. Ngoài ra, *A. acutiloba* còn có tác dụng kháng khuẩn và có thể điều trị đau bụng, co thắt cơ và giảm các triệu chứng viêm phế quản. Trong nghiên cứu này, hàm lượng tinh dầu, hàm lượng các chất chiết được bằng các dung môi khác nhau, hàm lượng hai hoạt chất chính Z-ligustilide và axit ferulic trong rễ của các mẫu *A. acutiloba* trồng ở tỉnh Lào Cai đã được khảo sát và so sánh với quy định trong Dược điển Việt Nam về mẫu dược liệu khô. Hàm lượng tinh dầu của rễ *A. acutiloba* nằm trong khoảng 0,06 - 0,19%. Hàm lượng chất chiết xuất được xác định nằm trong khoảng 10,85 - 35,78%. Hàm lượng Z-ligustilide, được xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao HPLC, nằm trong khoảng 83,33 - 198,45µg/g và hàm lượng axit ferulic (130,79 - 488,05µg/g) được phân tích bằng HPLC. Kết quả thử nghiệm đối với ba chủng nấm gây bệnh ở thực vật là *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* và *Colletotrichum orbiculare* cho thấy, các căn chiết thô và tinh dầu có khả năng kháng nấm *in vitro* tương đối mạnh đối với các chủng nấm thử nghiệm. Ở nồng độ 500µg/mL, tinh dầu rễ *A. acutiloba* ức chế mạnh sự phát triển sợi nấm của *S. rolfsii* (100%), *F. oxysporum* (82 - 84%) và *C. orbiculare* (81 - 100%) ở các thời điểm 2 - 4 ngày sau khi điều trị. Các căn chiết từ rễ *A. acutiloba* cũng cho thấy khả năng ức chế khác nhau đối với sự phát triển của các loại nấm thử nghiệm ở nồng độ thử nghiệm 1000µg/mL.

**Từ khóa:** Đương quy, *Angelica acutiloba*, GC-MS, HPLC, Z-ligustilide, axit ferulic, hoạt tính kháng nấm, nấm gây bệnh ở thực vật.

## ABSTRACT

*Angelica acutiloba* was introduced to Vietnam and popularly grown in the Northwest provinces such as Lao Cai, Hoa Binh, Lai Chau and the Central Highlands such as Da Lat, Lam Dong. In traditional medicine, it is considered female ginseng and is used to treat endocrine diseases, flatulence and joint diseases, skin diseases. In addition, *A. acutiloba* has antibacterial effects and can treat abdominal pain, muscle spasms, and relieve symptoms of bronchitis. In this study, the content of essential oils, the content of extracts obtained with different solvents (extract residues), the content of two main active ingredients Z-ligustilide and ferulic acid in the roots of the samples of *A. acutiloba* grown in the province Lao Cai has been surveyed and compared with the provisions of the Vietnamese Pharmacopoeia V. The essential oil content of *A. acutiloba* root is between 0.06 - 0.19%. The content of extracts is determined to be between 10.85 - 35.78%. The Z-ligustilide content was in the range 83.33 - 198.45µg/g (wt/dwt) and ferulic acid content was from 130.79 to 488.05µg/g (wt/dwt) based on the analysis of HPLC. Test results for three fungal strains of plant pathogens, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum orbiculare*, showed that the crude extracts and essential oils were relatively strong against the tested strains of fungi *in vitro*. At a concentration of 500µg/mL, *A. acutiloba* root essential oil strongly inhibited mycelium growth of *S. rolfsii* (100%), *F. oxysporum* (82 - 84%) and *C. orbiculare* (81 - 100%) at 2 - 4 days after treatment. The residues from *A. acutiloba* roots also showed different inhibitory abilities on the growth of tested fungi at 1000µg/mL.

**Keywords:** *Angelica acutiloba*, GC-MS, HPLC, antifungal activity, plant disease.

<sup>1</sup>Trung tâm Nghiên cứu triển khai các Hoạt chất Sinh học, Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

<sup>3</sup>Viện Thổ nhưỡng Nông hóa

<sup>4</sup>Khoa Dược, Trường Đại học Phenikaa

\*Email: ledangquang2011@gmail.com

Ngày nhận bài: 15/01/2021

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 24/6/2021

Ngày chấp nhận đăng: 25/10/2021

## 1. MỞ ĐẦU

Đương quy có tên khoa học là *Angelica acutiloba*, là một loài thực vật có hoa thuộc họ Hoa tán (*Apiaceae*). Loài này đã được (Oliv.) Diels mô tả khoa học lần đầu tiên năm 1900. Đương quy là vị thuốc bắt nguồn từ Trung Quốc, được trồng ở những nơi có khí hậu mát mẻ và độ cao hơn 1000m. Ở Việt Nam, Đương quy được trồng từ những năm 1960, hiện nay loài này được trồng phổ biến ở các tỉnh Tây Bắc như Lào Cai, Hòa Bình, Lai Châu và Tây Nguyên như Đà Lạt, Lâm Đồng.

Đương quy có vị ngọt, hơi đắng, hơi cay, mùi thơm, tính ấm, có tác dụng bổ huyết. Trong y học cổ truyền, Đương quy được coi là sâm tố nữ và được dùng để chữa các bệnh về nội tiết, rối loạn phụ khoa như đau bụng kinh, đau vùng chậu, phục hồi các rối loạn sau khi sinh con. Ngoài ra, Đương quy được sử dụng để bổ huyết trị bệnh thiếu máu, tăng huyết áp, các bệnh tim mạch, viêm nhiễm, nhức đầu, nhiễm trùng, đau thần kinh [1]. Rễ Đương quy có hàm lượng tinh dầu và các axit tự do tương đối cao, được chứng minh là một loại thuốc Đông y hiệu quả giúp giảm đau và có tác dụng chống viêm [1]. Lá cây Đương quy cũng chứa 0,2 - 0,6% tinh dầu, một lượng lớn Z-ligustilide, vitamin B12, vitamin E - hoạt chất có tác dụng chống oxy hóa [1].

Trong bài báo này, chúng tôi tiến hành xác định một số thông số trong cây Đương quy như: hàm lượng tinh dầu, hàm lượng các chất chiết được (cặn chiết), hàm lượng Z-ligustilide, hàm lượng axit ferulic và khảo sát hoạt tính kháng nấm của tinh dầu và các cặn chiết thu được từ rễ Đương quy.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu được sử dụng là 15 mẫu rễ Đương quy được thu hái ở tỉnh Lào Cai. Mẫu được gửi đến phân tích ở Trung tâm Nghiên cứu khoa học các Hoạt chất Sinh học, Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam trong thời gian năm 2019.

Các chủng nấm được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: *Fusarium oxysporum* (gây bệnh héo rũ chết vàng), *Sclerotium rolfsii* (gây bệnh héo rũ gốc mốc trắng, thối thân), *Colletotrichum orbiculare* spp. (gây bệnh thán thư) được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu triển khai các Hoạt chất Sinh học - Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam. Chất chuẩn Z-ligustilide và axit ferulic được cung cấp từ phòng thí nghiệm Hóa Dược, Khoa Dược, Đại học Phenikaa.

### 2.2. Xác định hàm lượng tinh dầu trong mẫu Đương quy [2]

Chuẩn bị 15 mẫu Đương quy theo khối lượng quy định, cân chính xác đến 0,01g. Sử dụng 1ml xylen cho vào nhánh bên của dụng cụ chưng cất. Chuyển phần mẫu nguyên liệu cần chưng cất tinh dầu vào bình cầu, rồi nối lại bình cầu với hệ thống ngưng tinh dầu và sinh hàn ngưng tụ (thiết bị chưng cất tinh dầu Clevenger). Làm nóng bình cầu và điều chỉnh tốc độ chưng cất đến 2ml/phút hoặc 3ml/phút. Tiếp tục chưng cất, tiến hành trong 6h đối với mỗi mẫu xác định tinh dầu. Tháo nguồn nhiệt ra và để nguội. Sau 10 phút, đọc thể tích của pha hữu cơ (hỗn hợp của tinh dầu và xylen) thu được trong ống đong.

Hàm lượng tinh dầu, theo công thức sau:

$$w_{VO} = 100 \cdot \frac{V_1 - V_0}{M} \cdot \frac{100}{100 - w_1}$$

trong đó:

$w_{VO}$ : Tính bằng mililit trên 100g sản phẩm khô;

$V_0$ : Thể tích xylen đo được, tính bằng mililit (ml);

$V_1$ : Tổng thể tích tinh dầu và xylen đo được, tính bằng mililit (ml);

M: Khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam (g);

$w_1$ : Độ ẩm xác định được, tính bằng phần trăm khối lượng.

Xác định độ ẩm: Cân 10g mẫu thử đã chuẩn bị, cho toàn bộ vào hộp lồng và nắp vào tủ sấy ở nhiệt độ 103°C trong 4 giờ. Đậy nắp ngang vào hộp, lấy toàn bộ ra khỏi tủ sấy, để nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm.

Công thức xác định độ ẩm:

$$w_1 = 100 \cdot \frac{G_1 - G_2}{G}$$

Trong đó:

$W_1$ : Độ ẩm xác định được, tính bằng phần trăm khối lượng.

$G_1$ : Khối lượng hộp và nguyên liệu trước khi sấy, tính bằng gam (g).

$G_2$ : Khối lượng hộp và nguyên liệu sau khi sấy, tính bằng gam (g).

G: Khối lượng nguyên liệu trước khi sấy, tính bằng gam (g).

### 2.3. Xác định hàm lượng chất chiết được (cặn chiết) trong các mẫu Đương quy bằng phương pháp chiết lạnh [3]

Cân chính xác 4g bột Đương quy có cỡ bột thô cho vào trong bình nón 250ml. Thêm chính xác 100ml Methanol, đậy kín, ngâm lạnh, thỉnh thoảng lắc trong 6h đầu, sau đó để yên 18h. Lọc qua phễu lọc khô vào 1 bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 20ml dịch lọc cho vào một cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô quay đến khô. Sấy cặn ở 105°C trong 3h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cặn sau khi sấy, tính phần trăm lượng chất chiết được bằng methanol theo khối lượng Đương quy khô.

Công thức tính hàm lượng chất chiết được:

$$w_0 = 100 \cdot \frac{m}{M}$$

Trong đó:

$W_0$ : Hàm lượng chất chiết được, tính bằng phần trăm khối lượng.

M: Khối lượng dược liệu khô đem chiết, tính bằng gam (g).

m: Khối lượng cặn chiết thu được, tính bằng gam (g).

Thao tác tương tự với các dung môi hexan, axeton, etanol và etyl axetat để thu được cặn chiết tương ứng với các loại dung môi hexan, axeton, etanol và etyl axetat.

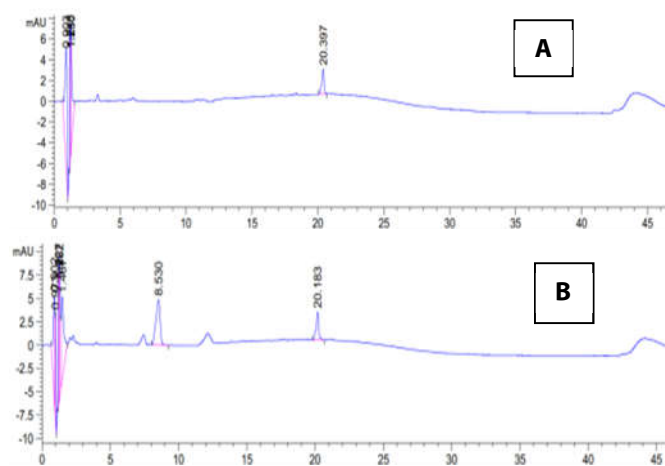
### 2.4. Xác định hàm lượng Z-ligustilide trong các mẫu Đương quy bằng phương pháp HPLC

Sử dụng phương pháp sắc ký HPLC để phân tích đối với các mẫu Đương quy có chứa Z-ligustilide được xây dựng dựa

trên phương pháp phân tích định lượng của Lu và cộng sự [4]. Cân chính xác 2,7mg chất chuẩn Z-ligustilide, hoà tan với 1ml MeOH được dung dịch có nồng độ 2,7mg/ml. Bên cạnh đó, mẫu Đương quy được chuẩn bị bằng cách nghiền nhỏ và cân chính xác 2,0g từng mẫu cho vào bình Soxhlet. Thêm 200ml MeOH và tiến hành chiết tới khi dịch chiết không còn màu. Lọc lấy dịch rồi thu hồi toàn bộ dung môi bằng thiết bị cô quay áp suất giảm thu được cặn. Hòa tan lại cặn bằng 20ml MeOH và cho vào bình định mức 25ml, rồi thêm MeOH đến vạch. Lọc qua màng lọc kích cỡ 0,45µm (bỏ 5ml dịch lọc đầu) được dung dịch tiêm sắc ký.

Khảo sát điều kiện chạy sắc ký: sau khi khảo sát các điều kiện và cuối cùng điều kiện sắc ký được lựa chọn như sau: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1260 Infinity. Cột sắc ký: Agilent Eclipse Plus C18 (φ 4,6 × 100mm; cỡ hạt 3,5µm). Detector DAD phát hiện ở bước sóng 320nm. Tốc độ dòng: 1,0ml/phút. Thể tích bơm mẫu: 10µl. Nhiệt độ: 25°C. Dung môi pha mẫu: methanol. Pha động: acetonitril (kênh A) và sử dụng 1,0% axit acetic/H<sub>2</sub>O (kênh B).

Sắc ký đồ HPLC thu được (hình 1) cho thấy pic của chất Z-ligustilide được tách rõ ràng, có thời gian lưu ở khoảng phút thứ 20 (t<sub>R</sub>~20 phút), nhiễu nền thấp ở cả mẫu chuẩn và mẫu thử. Như vậy có thể dùng các điều kiện sắc ký đã lựa chọn để phân tích định tính, định lượng chất Z-ligustilide trong dược liệu.



Hình 1. Sắc ký đồ mẫu chuẩn ligustilide (A) và mẫu dược liệu (B)

**2.5. Xác định hàm lượng axit ferulic trong các mẫu Đương quy bằng phương pháp HPLC**

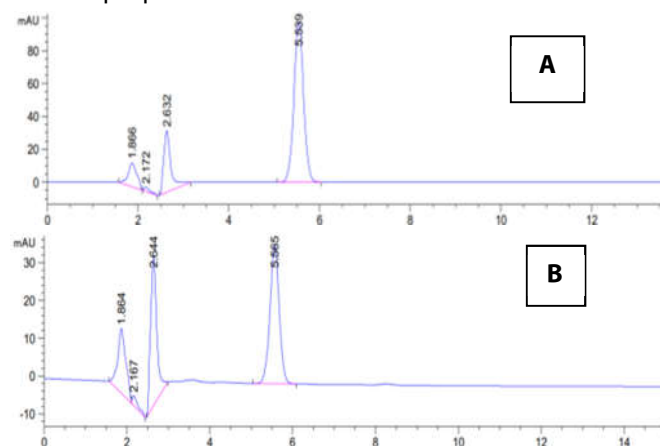
Chuẩn bị mẫu chuẩn: Cân chính xác 1,0mg chất chuẩn axit ferulic, hoà tan với 1ml MeOH được dung dịch có nồng độ 1mg/ml. Sau đó pha loãng mẫu thành các nồng độ 50,0µg/ml; 100,0µg/ml; 250,0µg/ml; 500,0µg/ml và 1000,0µg/ml, lọc qua màng lọc kích cỡ 0,45µm được dãy các dung dịch chuẩn.

Chuẩn bị mẫu thử: Tán nhỏ các mẫu dược liệu. Cân 2,0g từng mẫu bột dược liệu cho vào bình Soxhlet. Thêm 200ml MeOH và tiến hành chiết tới khi dịch chiết không còn màu. Lọc lấy dịch rồi thu hồi toàn bộ dung môi bằng thiết bị cô quay áp suất giảm thu được cặn. Hòa tan lại cặn bằng 20ml MeOH và cho vào bình định mức 25ml, rồi thêm MeOH đến

vạch. Lọc qua màng lọc kích cỡ 0,45µm (bỏ 5ml dịch lọc đầu) được dung dịch tiêm sắc ký.

Khảo sát điều kiện chạy sắc ký: sau khi khảo sát các điều kiện và cuối cùng điều kiện sắc ký được lựa chọn như sau: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1260 Infinity. Cột sắc ký: Agilent Eclipse Plus C18 (φ 4,6 × 100mm; cỡ hạt 3,5µm). Detector DAD phát hiện ở bước sóng 320nm. Tốc độ dòng: 0,5ml/phút. Thể tích bơm mẫu: 10µl. Nhiệt độ: 25°C. Dung môi pha mẫu: Methanol. Pha động: Acetonitril (kênh A); 0,5% axit acetic/H<sub>2</sub>O (kênh B) = 25:75.

Sắc ký đồ HPLC thu được (hình 2) cho thấy pic của chất axit ferulic được tách rõ ràng, có thời gian lưu ở khoảng phút thứ 5 (t<sub>R</sub>~5 phút), nhiễu nền thấp ở cả mẫu chuẩn và mẫu thử. Như vậy có thể dùng các điều kiện sắc ký đã lựa chọn để phân tích định tính, định lượng chất axit ferulic trong dược liệu. Kết hợp với những điều kiện tham khảo cho phân tích định lượng axit ferulic trong Dược điển Việt Nam V [3] với các điều kiện phân tích đã xây dựng, thu được các kết quả phân tích như sau:



Hình 2. Sắc ký đồ của chất chuẩn axit ferulic (A) và mẫu thử 1 (B)

**2.6. Thử nghiệm hoạt tính kháng nấm của tinh dầu và các cặn chiết trong các mẫu Đương quy**

Đánh giá hiệu quả kháng nấm của mẫu thử các cặn chiết trong điều kiện phòng thí nghiệm (*in vitro*): sử dụng phương pháp poisoned food technique [5]. Hoạt tính kháng nấm được thử trên các đĩa thạch petri với môi trường PDA. Các chủng nấm sau khi được phân lập và làm thuần, dùng dụng cụ đục lỗ có đường kính 4mm tiến hành đục vành ngoài đường kính tán nấm sau đó đặt lên môi trường PDA đã trộn với mẫu thử. Mẫu thử cặn chiết được phân tán bằng Tween 0,05% và methanol 2% hoặc DMSO 2% ở các nồng độ thử nghiệm sau đó trộn vào môi trường PDA nóng chảy ở 50°C, đã khử trùng và để nguội. Mỗi nồng độ khác nhau sẽ được thử nhắc lại 3 lần trên môi trường PDA. Chủng nấm sau khi đưa lên trên thạch của đĩa petri được nuôi cấy ở nhiệt độ 25°C. Theo dõi sự phát triển của nấm trong thời gian 1 - 4 ngày. Quan sát sự hình thành vùng kháng nấm và đo đường kính tán nấm. Hiệu quả ức chế được tính theo công thức:

$$C_v (\%) = 100 \times \frac{D_c - D_t}{D_c - 4}$$

Trong đó:  $D_c$ : Đường kính tán nấm trên đĩa petri đối chứng;  $D_4$ : Đường kính khoanh agar-nấm, mm;  $D_t$ : Đường kính tán nấm trên đĩa petri trộn mẫu thí nghiệm, mm.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Hàm lượng và hoạt tính kháng nấm của tinh dầu trong các mẫu Đương quy

##### 3.1.1. Hàm lượng tinh dầu trong các mẫu Đương quy

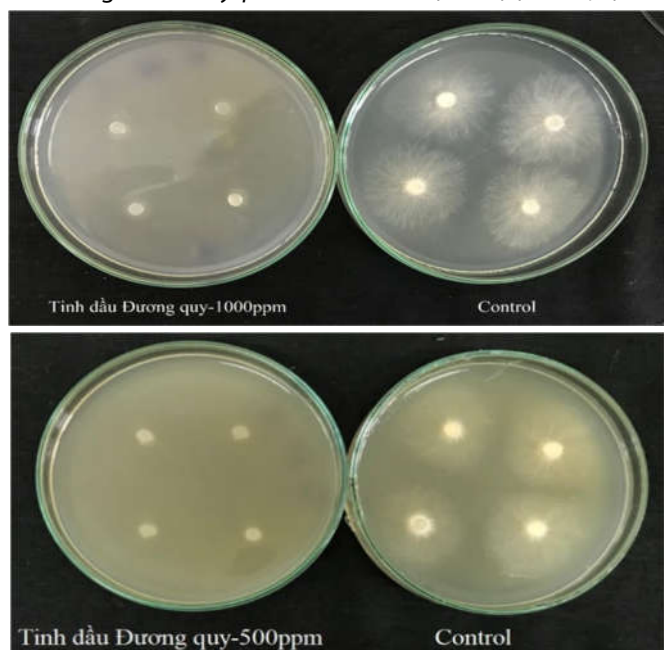


Hình 3. Hàm lượng tinh dầu trong 15 mẫu Đương quy

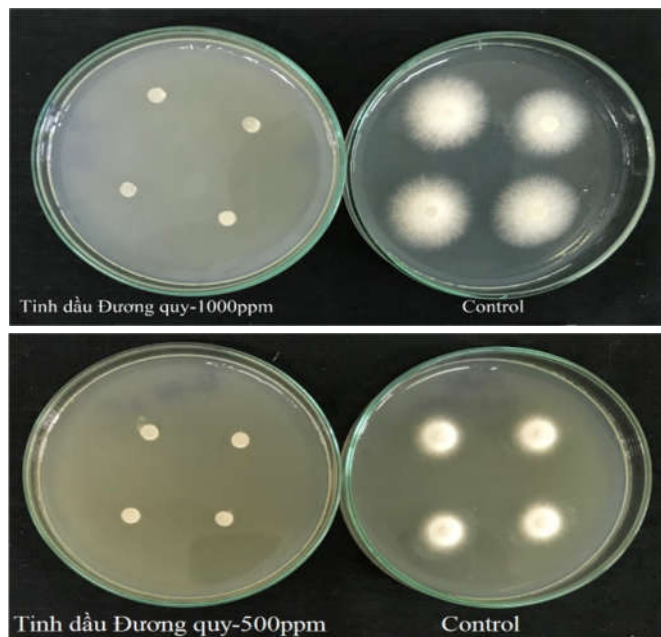
Trong 15 mẫu Đương quy được phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng tinh dầu trung bình đạt  $0,157 \pm 0,013\%$ . Trong đó, mẫu 6 và mẫu 7 có hàm lượng tinh dầu cao nhất đạt  $0,19 \pm 0,01\%$ , mẫu 13 và mẫu 14 có hàm lượng tinh dầu thấp nhất đạt  $0,11 \pm 0,02\%$  (hình 3). Theo một báo cáo của Seong-Kyu Choi và cộng sự (2005) [1], cây Đương quy trồng tại Hàn Quốc có hàm lượng tinh dầu đạt 0,2 - 0,6%, cao hơn nhiều so với hàm lượng tinh dầu trong cây Đương quy trồng tại Việt Nam.

##### 3.1.2. Hoạt tính kháng nấm của tinh dầu Đương quy

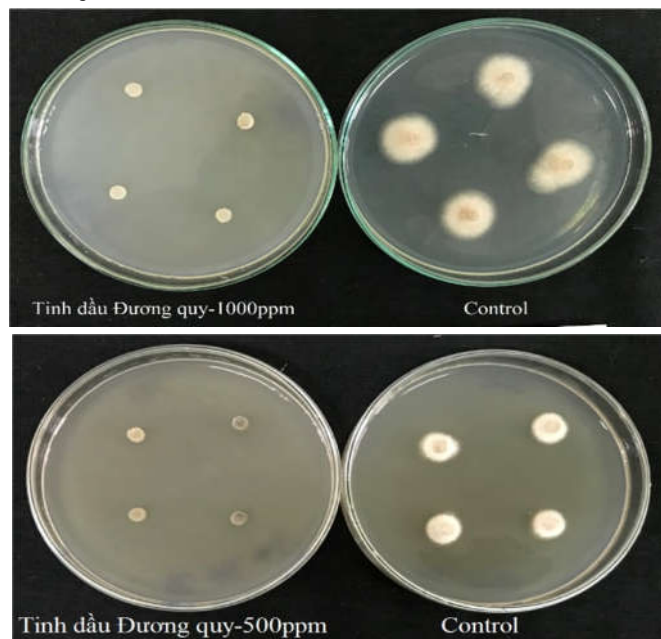
Kết quả trong bảng 1 cho thấy, tinh dầu Đương quy tại nồng độ 500 và 1000ppm ức chế hoàn toàn sự phát triển của hai chủng nấm *F. oxysporum* và *S. rolfsii* (100%) (hình 4, 5).



Hình 4. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *S. rolfsii* của tinh dầu Đương quy tại nồng độ 500 và 1000ppm sau 2 ngày thí nghiệm. Control: đối chứng



Hình 5. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *Fusarium oxysporum* của tinh dầu Đương quy tại nồng độ 500 và 1000ppm sau 2 ngày thí nghiệm. Control: đối chứng



Hình 6. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *C. Orbiculare* của tinh dầu Đương quy tại nồng độ 500 và 1000ppm sau 2 ngày thí nghiệm. Control: đối chứng

Tiến hành nghiên cứu hiệu quả ức chế ở nồng độ 500ppm của mẫu tinh dầu Đương quy với SR-BV, FOAH và COK. Kết quả cho thấy, với SR-BV, hiệu quả ức chế đạt 100% sau 2 và 3 ngày nuôi cấy; với FOAH, hiệu quả ức chế sau 2 và 4 ngày nuôi cấy đạt lần lượt 84% và 82%; với COK, hiệu quả ức chế đạt 100% sau 2 ngày nuôi cấy và đạt 81% sau 4 ngày nuôi cấy. Hiệu quả ức chế sau 4 ngày giảm có thể do cơ chế tự thích ứng của nấm đối với chất thử nghiệm. Từ các kết quả thí nghiệm cho thấy, hiệu quả ức chế tại nồng độ 500ppm với SR-BV đạt cao nhất, với COK tương đối cao và với FOAH cho hiệu quả ức chế kém nhất (bảng 1).



Bảng 1. Hiệu quả ức chế ở nồng độ 500ppm của tinh dầu Đương quy

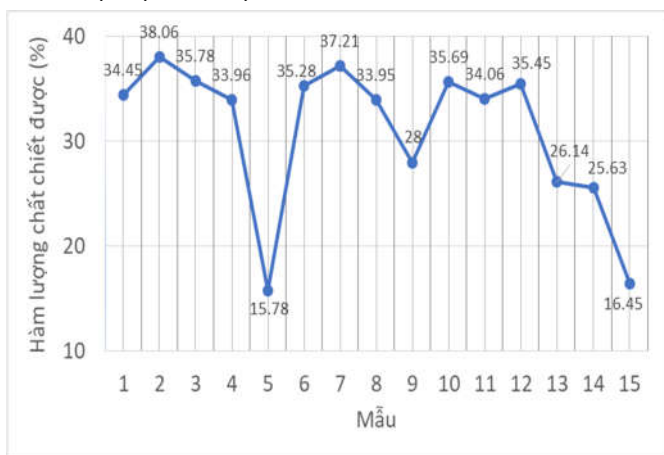
Tên mẫu thử	Hiệu quả ức chế ở nồng độ 500ppm (%)					
	SR-BV		FOAH		COK	
	2 DAT	3DAT	2DAT	4 DAT	2DAT	4 DAT
Tinh dầu Đương quy	100	100	84	82	100	81

DAT: ngày sau khi nuôi cấy; FO-AH: nấm *F. oxysporum*; SR-BV: nấm *S. rolfsii* và COK: nấm *Colletotrichum orbiculare*. SR-BV được xác định sau 2 - 3 ngày do tốc độ phát triển nhanh của nấm.

**3.2. Hàm lượng và hoạt tính kháng nấm của chất chiết được trong mẫu Đương quy**

**3.2.1. Hàm lượng chất chiết được trong mẫu Đương quy**

Trong 15 mẫu cây Đương quy được phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng chất chiết được trong dung môi methanol từ rễ Đương quy trung bình đạt  $31,059 \pm 0,607\%$ . Trong đó, mẫu 5 có hàm lượng chất chiết được thấp nhất đạt  $15,78 \pm 0,41\%$ , mẫu 2 có hàm lượng chất chiết được cao nhất đạt  $38,06 \pm 0,06\%$  (hình 7). Hàm lượng này xấp xỉ so với quy định trong dược điển Việt Nam về hàm lượng chất chiết được trong rễ Đương quy là không ít hơn 40,0% tính theo dược liệu khô kiệt.



Hình 7. Hàm lượng chất chiết được trong dung môi methanol từ rễ của 15 mẫu Đương quy

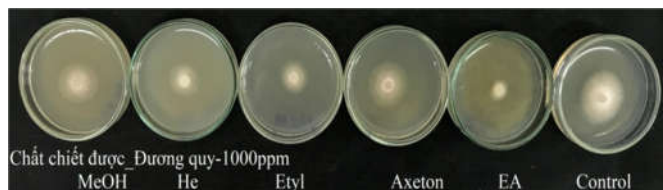
**3.2.2. Hoạt tính kháng nấm của chất chiết được trong các mẫu Đương quy**



Hình 8. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *Sclerotium rolfsii* chất chiết được trong các dung môi methanol, hexan, ethanol, axeton, etyl axetat từ rễ Đương quy tại nồng độ 1000ppm sau 2 ngày thí nghiệm. MeOH: chất chiết được bằng dung môi methanol; He: chất chiết được bằng dung môi hexan; Etyl: chất chiết được bằng dung môi etanol; Axeton: chất chiết được bằng dung môi axeton; EA: chất chiết được bằng dung môi etyl axetat; Control: đối chứng

Tiến hành nghiên cứu hoạt tính kháng nấm *F. oxysporum*, *S. rolfsii* và *C. orbiculare* của chất chiết được từ

Đương quy. Kết quả cho thấy tất cả các mẫu chất chiết được tại nồng độ 1000ppm ức chế tương đối tốt sự phát triển của ba chủng nấm *F. oxysporum*, *S. rolfsii* và *C. orbiculare* (hình 8, 9, 10).



Hình 9. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *Fusarium oxysporum* chất chiết được trong các dung môi methanol, hexan, ethanol, axeton, etyl axetat từ rễ Đương quy tại nồng độ 1000ppm sau 2 ngày thí nghiệm. MeOH: chất chiết được bằng dung môi methanol; He: chất chiết được bằng dung môi hexan; Etyl: chất chiết được bằng dung môi etanol; Axeton: chất chiết được bằng dung môi axeton; EA: chất chiết được bằng dung môi etyl axetat; Control: đối chứng



Hình 10. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng nấm *Collectotrichum orbiculare* chất chiết được trong các dung môi methanol, hexan, ethanol, axeton, etyl axetat từ rễ Đương quy tại nồng độ 1000ppm sau 2 ngày thí nghiệm. MeOH: chất chiết được bằng dung môi methanol; He: chất chiết được bằng dung môi hexan; Etyl: chất chiết được bằng dung môi etanol; Axeton: chất chiết được bằng dung môi axeton; EA: chất chiết được bằng dung môi etyl axetat; Control: đối chứng.

Bảng 2. Hiệu quả ức chế ở nồng độ 1000ppm của chất chiết được từ Đương quy

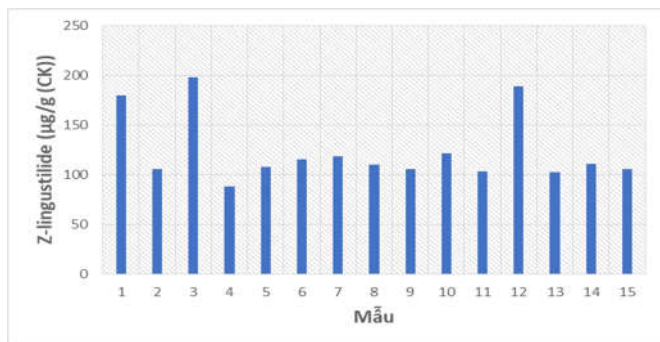
Chất chiết được Đương quy với dung môi	Hiệu quả ức chế ở nồng độ 1000ppm (%)					
	SR-BV		FOAH		COK	
	2DAT	3DAT	2DAT	4DAT	2DAT	4DAT
Chất chiết được bằng dung môi MeOH	64,84	63,60	25,28	19,91	39,92	38,16
Chất chiết được bằng dung môi Hex	86,26	78,44	41,53	39,61	63,12	57,77
Chất chiết được bằng dung môi Etanol	75,27	64,90	35,44	31,28	53,23	52,34
Chất chiết được bằng dung môi Axeton	70,33	61,86	21,44	18,61	43,35	42,68
Chất chiết được bằng dung môi Etyl axetat	91,94	86,46	68,40	57,36	66,92	60,78

DAT: ngày sau khi nuôi cấy; FO-AH: nấm *F. oxysporum*; SR-BV: nấm *S. rolfsii* và COK: nấm *C. orbiculare*

Tiến hành nghiên cứu hiệu quả ức chế ở nồng độ 1000ppm của chất chiết được từ rễ Đương quy với SR-BV, FOAH và COK. Kết quả cho thấy (bảng 2), chất chiết được từ rễ Đương quy thể hiện hiệu quả ức chế tốt nhất với SR-BV sau 2 đến 4 ngày nuôi cấy, với FOAH và COK cho hiệu quả ức chế trung bình. Trong đó, chất chiết được bằng dung môi etyl axetat cho hiệu quả ức chế cao nhất với tất cả các chủng nấm, lần lượt đạt 91,94%, 68,40% và 66,92% với lần lượt các chủng nấm SR-BV, FOAH, COK sau 2 ngày nuôi cấy.

### 3.3. Hàm lượng Z-ligustilide trong mẫu Đương quy

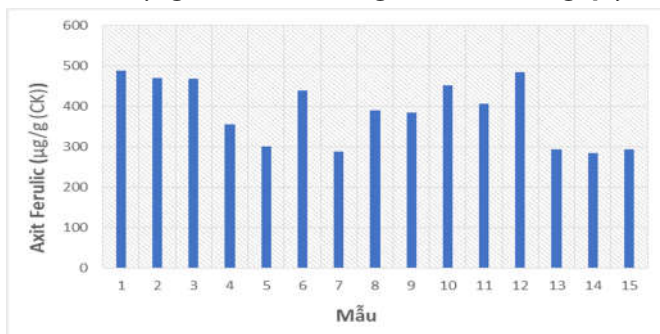
Hàm lượng Z-ligustilide trong mẫu Đương quy được xác định bằng phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao HPLC. Đây là một phương pháp quan trọng trong việc xác định hàm lượng và từ đó đánh giá chất lượng của mẫu cần phân tích. Kết quả thu được thể hiện trong hình 11. Z-ligustilide được biết có trong tinh dầu của Đương quy, nghiên cứu chỉ ra rằng hoạt chất này có tác dụng chống ung thư, chống viêm, chống độc, và tác dụng bảo vệ thần kinh [5].



Hình 11. Hàm lượng Z-ligustilide trong 15 mẫu Đương quy

Trong 15 mẫu Đương quy được phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng Z-ligustilide trung bình là  $124,3 \pm 4,92 \mu\text{g/g}$  (chất khô: CK). Trong đó, mẫu 15 có hàm lượng Z-ligustilide thấp nhất đạt  $105,6 \pm 2,36 \mu\text{g/g}$  (CK), mẫu 3 có hàm lượng Z-ligustilide cao nhất đạt  $198,5 \pm 9,00 \mu\text{g/g}$  (CK). Trong một báo cáo của Kelvin Chan và cộng sự [6] (2004), hàm lượng Z-ligustilide trong cây Đương quy được trồng tại Hàn Quốc trung bình đạt  $285,00 \pm 3,42 \mu\text{g/g}$ , cao hơn nhiều so với hàm lượng Z-ligustilide trong Đương quy được trồng tại Việt Nam.

### 3.4. Hàm lượng axit ferulic trong các mẫu Đương quy



Hình 12. Hàm lượng axit ferulic trong 15 mẫu Đương quy

Tương tự Z-ligustilide, hàm lượng axit ferulic trong mẫu Đương quy được xác định bằng phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao HPLC. Kết quả thu được thể hiện trong hình 12. Axit ferulic có trong tinh dầu của Đương quy, nghiên cứu chỉ ra rằng hoạt chất này có khả năng ức chế sự co mạch do thuốc co mạch gây ra, do đó có hiệu quả trong điều trị các triệu chứng co thắt liên quan đến bệnh về tim mạch [7].

Trong 15 mẫu Đương quy được phân tích, kết quả cho thấy hàm lượng axit ferulic trung bình đạt  $386,9 \pm 13,51 \mu\text{g/g}$  (CK). Trong đó mẫu 7 có hàm lượng axit ferulic thấp nhất đạt  $288,5 \pm 4,28 \mu\text{g/g}$  (CK), mẫu 1 có hàm lượng axit ferulic cao nhất đạt  $488,1 \pm 8,84 \mu\text{g/g}$  (CK). Trong [8],

hàm lượng axit ferulic trong các mẫu Đương quy tại Hàn Quốc được nghiên cứu trung bình đạt 0,14% (tương đương  $140 \mu\text{g/g}$ ), thấp hơn nhiều so với hàm lượng axit ferulic trong cây Đương quy trồng tại Việt Nam.

### 4. KẾT LUẬN

Kết quả khảo sát 15 mẫu Đương quy thu hái ở tỉnh Lào Cai cho thấy các mẫu đều chứa Z-ligustilide với hàm lượng trung bình đạt  $124,3 \pm 4,92 \mu\text{g/g}$  và axit ferulic với hàm lượng trung bình đạt  $288,5 \pm 4,28 \mu\text{g/g}$ . Kết quả khảo sát hoạt tính kháng nấm cho thấy tinh dầu và chất chiết được từ rễ Đương quy có khả năng ức chế tốt các chủng nấm *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* và *Collectotrichum orbiculare* ở nồng độ 500 và 1000ppm. Tinh dầu Đương quy có hoạt tính mạnh hơn so với các loại chất chiết được bằng dung môi. Chất chiết được bằng dung môi etyl axetat thể hiện hoạt tính kháng nấm tới 90% tại các nồng độ thử nghiệm 500ppm và 1000ppm.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Seong-Kyu Choi, Deok-Chun Yang, 2005. *A basic study on utilization of Angelica acutiloba Kitag (Tanggu)*. Korean J. Plant Res. 8(3), 230-234.
- [2]. TCVN 7039:2013. *Determination of volatile oil content (hydrodistillation method)*.
- [3]. *Vietnamese pharmacopoeia Ed. 5th.*, 2018. Medicine Publishing House, Hanoi.
- [4]. Qingxuan Xie, Linlin Zhang, Long Xie, Yu Zheng, Kai Liu, Hailong Tang, Yanmei Liao, Xiaofang Li, 2020. *Z-ligustilide: A review of its pharmacokinetics and pharmacology*. Phytotherapy Research, 1-26.
- [5]. Trang Thi Thu Bui, Quynh Trang Thi Pham, Trung Hieu Pham, Thanh Huong Nguyen, Thoa Thi Vu, Duyen Thi Nguyen, Quang Le Dang, 2020. *Antifungal activity of coumarin and triterpenoid taraxasteryl acetate from the n-hexane soluble fraction of the aerial part of Eupatorium fortune against Sclerotium rolfsii and Rhizoctonia solani*. Vietnam Journal of Science and Technology, 58(6A), 17-25.
- [6]. Guang-Hua Lu, Kelvin Chan, Chi-Leung Chan, Kelvin Leung, Zhi-Hong Jiang, Zhong-Zhen Zhao, 2004. *Quantification of ligustilides in the roots of Angelica sinensis and related umbelliferous medicinal plants by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 13;1046(1-2) 101-107.
- [7]. Yuwei Pan, Guoping Zhao, Zejian Cai, Fengguo Chen, Dandan Xu, Si Huang, Hai Lan, Yi Tong, 2016. *Synergistic effect of ferulic acid and Z-ligustilide, major components of A. sinensis, on regulating cold-sensing protein TRPM8 and TPRA1 in vitro*. Evid Based Complement Alternat Med., 3160247.
- [8]. Lao Sin Cheng, Li Shaoping, Kelvin Kan, Li Peng, Wan Jianbo, Wang Yu-Te, Dong Ting Xia, Tsim Karl Wah Keung, 2004. *Identification and quantification of 13 components in Angelica sinensis (Danggui) by gas chromatography-mass spectrometry coupled with pressurized liquid extraction*. Analytica Chimica Acta, 526, 131-137.

### AUTHORS INFORMATION

**Vu Van Dien<sup>1</sup>, Nguyen Quang Tung<sup>2</sup>, Nguyen Ha Trang<sup>1</sup>, Do Van Phuc<sup>1</sup>, Nguyen Thi Thanh Huong<sup>1</sup>, Le Thi Huong<sup>3</sup>, Nguyen Huu Tung<sup>4</sup>, Le Dang Quang<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>R&D Center of Bioactive Compounds, Vietnam Institute of Industrial Chemistry

<sup>2</sup>Hanoi University of Industry.

<sup>3</sup>Soils and Fertilizers Research Institute

<sup>4</sup>Faculty of Pharmacy, Phenikaa University