

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG KHÁNG OXY HÓA *INVITRO* VÀ *INVIVO* CỦA CAO CHIẾT NẤM VÂN CHI ĐỎ (*Pycnoporus sanguineus*)

Lu Anh Tài^{1*}, Tiêu Ái Linh¹, Phạm Nguyễn Quốc Thông¹, Trần Thanh Tú Nhã¹, Nguyễn Như Yên¹, Lê Đỗ Trúc Ngân¹, Nguyễn Thị Thanh Hiền¹, Nguyễn Ngọc Nhã Thảo¹, Trần Đức Tường², Dương Xuân Chử¹

1. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

2. Trường Đại học Đồng Tháp

*Email: anhtailu0909@gmail.com

Ngày nhận bài: 31/7/2023

Ngày phản biện: 15/10/2023

Ngày duyệt đăng: 03/11/2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Nấm Vân Chi là một trong 25 loài nấm dược liệu chính trên thế giới có giá trị dược tính rất cao, được nhiều người tiêu dùng ở các quốc gia Châu Á Châu Âu, Châu Mỹ... ưa chuộng. Nấm Vân Chi đỏ được biết đến như một loại nấm dược liệu giàu các hoạt chất có hoạt tính sinh học như flavonoid, polyphenol, saponin, tannin, terpenoid, coumarin, alkaloid, steroid, proanthocyanidin.... Tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu tìm hiểu sâu về các tác dụng dược lý của nấm Vân Chi đỏ. **Mục tiêu nghiên cứu:** 1) Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa invitro của cao chiết nấm Vân Chi đỏ bằng phương pháp DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). 2) Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa của cao chiết nấm Vân Chi đỏ trên mô hình chuột nhắt trắng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Cao chiết nấm Vân Chi đỏ (*Pycnoporus sanguineus* MH225776); khảo sát tác dụng kháng oxy hóa invitro của cao chiết bằng phương pháp DPPH; thử tác dụng của cao chiết nấm Vân Chi đỏ với liều 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg trên mô hình chuột nhắt trắng gây stress oxy hóa bằng Paraquat. **Kết quả:** Hoạt tính ức chế DPPH của cao chiết nấm đạt giá trị cao nhất (86,39%) ở nồng độ 100 µg/mL. Giá trị IC50 của chất ức chế là 55,276 µg/mL. Mặt khác, lô chuột dùng cao chiết nấm liều 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg sau khi gây stress oxy hóa bằng Paraquat có hàm lượng Malondialdehyde (MDA) gan chuột thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô chuột dùng nước muối sinh lý sau khi gây stress oxy hóa bằng Paraquat. **Kết luận:** Cao chiết nấm Vân Chi đỏ có tác dụng kháng oxy hóa invitro và cả trên mô hình thực nghiệm gây stress oxy trên chuột nhắt trắng bằng Paraquat.

Từ khóa: Cao chiết nấm Vân Chi đỏ, Kháng oxi hóa, Nấm.

ABSTRACT

RESEARCHING THE ANTIOXIDANT EFFECTS OF PYCNOPORUS SANGUINEUS EXTRACT ON *INVITRO* AND *INVIVO* MODEL

Lu Anh Tai^{1*}, Tiêu Ái Linh¹, Phạm Nguyễn Quốc Thông¹, Trần Thanh Tú Nhã¹, Nguyễn Như Yên¹, Lê Đỗ Trúc Ngân¹, Nguyễn Thị Thanh Hiền¹, Nguyễn Ngọc Nhã Thảo¹, Trần Đức Tường², Dương Xuân Chử¹

1. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

2. Dong Thap University

Background: *Pycnoporus Sanguineus* is one of the 25 main medicinal mushroom species in the world with very high medicinal value, which is favored by many consumers in Asian countries, Europe, America, etc. *Pycnoporus Sanguineus* is known as a medicinal mushroom rich in biologically active substances such as flavonoids, polyphenols, saponins, tannins, terpenoids, coumarins, alkaloids, steroids, proanthocyanidins.... However, there have not been many studies to investigate

deeply the pharmacological effects of *Pycnoporus sanguineus*. **Objectives:** 1) To investigate the invitro antioxidant effect of *Pycnoporus sanguineus* extract by DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method, 2) Investigation of antioxidant effects of *Pycnoporus sanguineus* on a white mouse model of oxidative stress by Paraquat. **Materials and methods:** Extract of *Pycnoporus sanguineus* (MH225776); investigating the in vitro antioxidant effect of the extract by DPPH method; The effect of the extract of *Pycnoporus sanguineus* at doses of 500 mg/Kg and 1000 mg/Kg in white mice model of oxidative stress with Paraquat. **Results:** The DPPH inhibitory activity of the *Pycnoporus sanguineus* extract reached the highest value (86.39%) at the concentration of 100 µg/mL. The IC50 value of the inhibitor was 55,276 µg/mL. On the other hand, the group of mice using the *Pycnoporus sanguineus* extract at doses of 500 mg/Kg and 1000 mg/Kg after inducing oxidative stress with Paraquat had a statistically significant ($p < 0.05$) lower liver Malondialdehyde (MDA) content ($p < 0.05$) compared to the group of mice using the same doses physiological saline after inducing oxidative stress with Paraquat. **Conclusions:** The extract of *Pycnoporus sanguineus* has antioxidant effects in vitro and in an experimental model of oxygen stress on white mice with Paraquat.

Keywords: *Pycnoporus* extract, Antioxidant, Fungi.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pycnoporus sanguineus hay còn gọi là nấm Vân Chi đỏ ở Việt Nam được xếp vào họ Polyporaceae, tức họ nấm lỗ. Về mặt hình thái, nấm *P. sanguineus* là loại nấm mũ, có vân màu cam đỏ đặc trưng [1]. Được mô tả là loài nấm phân hủy gỗ, *P. sanguineus* thường được tìm thấy dễ dàng ở các thân cây gỗ mục. Trong nghiên cứu y sinh, nấm Vân Chi đỏ được chứng minh mang lại hiệu quả cao trong hoạt tính làm giảm mỡ máu trên mô hình chuột tiểu đường [2], kháng viêm [3]. Ngoài ra, loại nấm này còn được dùng để điều trị bệnh bạch huyết, viêm gan mạn tính, viêm nhánh khí quản mạn tính, suy giảm hệ miễn dịch. Các hoạt tính khác của nấm *P. sanguineus* như hoạt tính kháng oxy hóa vẫn chưa được quan tâm nghiên cứu, đặc biệt là các nghiên cứu ở Việt Nam. Đây là cơ sở khoa học cho nhóm nghiên cứu thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: 1. Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa invitro của cao chiết nấm Vân Chi đỏ bằng phương pháp DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). 2. Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa của cao chiết nấm Vân Chi đỏ trên mô hình chuột nhắt trắng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cao chiết nấm Vân Chi đỏ, dược liệu nấm Vân Chi đỏ (*Pycnoporus sanguineus*) được định danh và nuôi trồng tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học Trường Đại học Cần Thơ. Cao chiết được thực hiện theo quy trình của Trần Đức Tường và cộng sự [4].

Chuột nhắt trắng chủng Swiss albino khỏe mạnh, cung cấp bởi Viện vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang, 4 tuần tuổi, trọng lượng trung bình 18-22 g. Chuột được chia lô ngẫu nhiên 8 con/lô nuôi trong điều kiện nhiệt độ phòng ánh sáng tự nhiên. Chuột được nuôi bằng thức ăn viên, nước uống đầy đủ và được nuôi ổn định 1 tuần trước khi tiến hành thí nghiệm trong điều kiện của phòng thí nghiệm Dược lý - Khoa Dược - Trường Đại học Y Dược Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa invitro của cao chiết nấm Vân Chi đỏ bằng phương pháp DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Mẫu thử là cao chiết nấm Vân Chi đỏ được khảo sát với dãy nồng độ lần lượt là 10, 20, 40, 60, 80 $\mu\text{g/mL}$. Đối chứng dương được sử dụng là Vitamin C được khảo sát với dãy nồng độ lần lượt là 10, 20, 40, 60 và 80 $\mu\text{g/mL}$. Mẫu chứng không chứa chất ức chế.

Dung dịch DPPH được pha trong methanol và ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Cho 1 ml dung dịch DPPH phản ứng lần lượt với 1 ml mẫu thử ở các nồng độ khác nhau như đã chuẩn bị sẵn. Hỗn hợp phản ứng được lắc đều trong 15 giây và ổn định trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Đo độ hấp thụ quang phổ của phản ứng màu ở bước sóng 517 nm. Đối chứng dương Vitamin C được tiến hành tương tự như các mẫu thử cao chiết nấm.

Khả năng kháng oxy hóa của chất thử được thể hiện bằng phần trăm ức chế gốc tự do DPPH và giá trị IC₅₀.

Phần trăm ức chế DPPH:

$$\text{IC} (\%) = \left[\frac{(\text{OD}_{\text{Đối chứng}} - \text{OD}_{\text{Thử}})}{\text{OD}_{\text{Đối chứng}}} \right] \times 100$$

Trong đó:

$\text{OD}_{\text{Đối chứng}}$ (nm) là giá trị mật độ quang của mẫu đối chứng;

$\text{OD}_{\text{Thử}}$ (nm) là giá trị mật độ quang của mẫu thử.

Từ IC (%) của các mẫu thử ở các nồng độ khảo sát khác nhau dựng thành phương trình dạng $y=ax+b$. Thay $y=50$, tính được x là IC₅₀ (x là nồng độ mà tại đó khả năng ức chế DPPH đạt giá trị 50%). Hoạt tính của chất thử càng mạnh khi IC₅₀ càng thấp.

Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa của cao chiết nấm Vân Chi đỏ trên mô hình chuột nhắt trắng gây stress oxy hóa bằng Paraquat.

Bố trí thí nghiệm: chia chuột thành 6 lô, 8 con/lô, khảo sát tác dụng kháng oxy hóa của cao chiết nấm Vân Chi đỏ sử dụng chất gây độc là Paraquat (PQ) ở các lô:

Lô 1 chứng sinh lý (sinh lý): chuột được cho uống NaCl 0,9% 0,1 ml/con, 1 lần/ngày x 3 ngày.

Lô 2 chứng dung môi (chứng DM): chuột được cho uống dung dịch DMSO 1% 0,1 ml/con, 1 lần/ngày x 3 ngày.

Lô 3 chứng bệnh (bệnh): chuột được tiêm phúc mô PQ 12 mg/kg, sau đó được cho uống NaCl 0,9% 0,1 ml/con; 1 lần/ngày x 3 ngày.

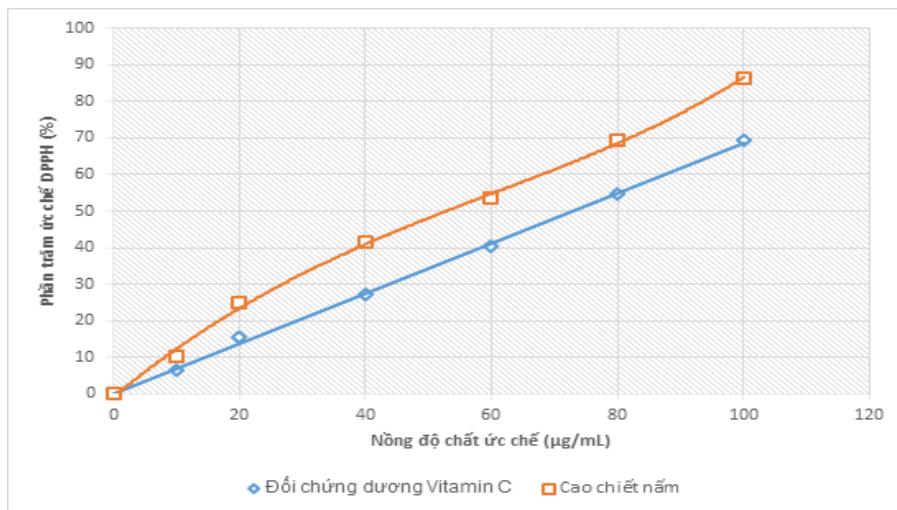
Lô 4-5 thử cao: 2 lô thử được tiêm phúc mô PQ 12 mg/kg, sau đó được cho uống cao liều 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg tương ứng với mỗi lô; 0,1 ml/con; 1 lần/ngày x 3 ngày.

Lô 6 chứng dương: chuột được tiêm phúc mô PQ 12 mg/kg, sau đó được cho uống Vitamin C; 0,1 ml/con; 1 lần/ngày x 3 ngày.

Tiến hành lấy gan chuột ở thời điểm 24 giờ (50% số chuột mỗi lô) và 72 giờ (50% số chuột còn lại ở mỗi lô) sau khi tiêm phúc mô PQ, đem định lượng hàm lượng MDA trong gan chuột.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa *invitro* của cao chiết nấm Vân Chi đỏ bằng phương pháp DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)



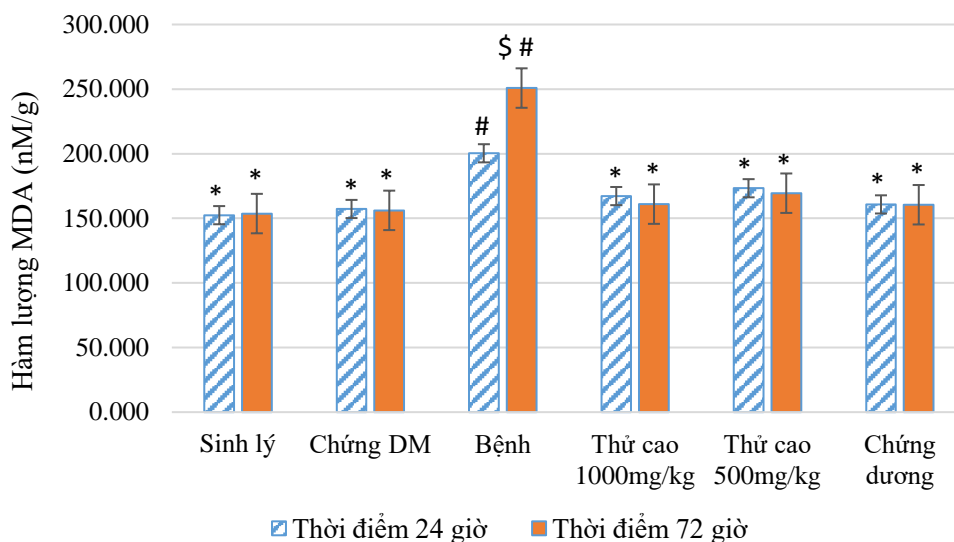
Biểu đồ 1. Khả năng ức chế DPPH của Vitamin C và cao chiết nấm Vân Chi đỏ.

Bảng 1. Giá trị IC50 của Vitamin C, cao chiết nấm Vân Chi đỏ ức chế gốc tự do DPPH với phương trình hồi quy tuyến tính và hệ số tương quan.

Chất ức chế	Giá trị IC50 (trung bình cộng ± độ lệch chuẩn – µg/mL)	Phương trình hồi quy tuyến tính và hệ số tương quan
Vitamin C	7,279 ± 0,08	$y = 0,6837x + 0,2315$ $R^2 = 0,9988$
Cao chiết nấm	55,276 ± 1,55	$y = 0,8357x + 3,8098$ $R^2 = 0,9901$

Nhận xét: Kết quả ở biểu đồ 1 cho thấy khả năng ức chế DPPH của cao chiết nấm Vân Chi đỏ tỷ lệ thuận với dãy nồng độ được khảo sát.

Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa của cao chiết nấm Vân Chi đỏ trên mô hình chuột nhắt trắng gây stress oxy hóa bằng Paraquat



*: Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh ($p < 0,05$)
 #: Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý ($p < 0,05$)
 \$: Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh thời điểm 24 giờ ($p < 0,05$)
 Biểu đồ 2. Hàm lượng MDA gan chuột tại thời điểm 24 giờ và 72 giờ sau khi tiêm Paraquat

Nhận xét: Từ biểu đồ 2 cho thấy hàm lượng MDA gan ở lô chứng dương và 2 lô thử cao thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô bệnh ở cả hai thời điểm 24 giờ và 72 giờ sau khi tiêm Paraquat.

IV. BÀN LUẬN

Hoạt tính ức chế DPPH của vitamin C và cao chiết nấm Vân Chi đỏ đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 100 µg/mL lần lượt là 69,25% và 86,39%. Giá trị IC₅₀ của mỗi chất ức chế lần lượt là 7,729 µg/mL và 55,276 µg/mL. Kết quả này cho thấy cao chiết nấm Vân Chi đỏ có khả năng ức chế tốt gốc tự do DPPH ở tất cả các nồng độ được khảo sát. Điều này cho thấy cao chiết nấm Vân Chi đỏ có khả năng kháng oxy hóa trên mô hình bằng phương pháp ức chế gốc tự do DPPH. Tuy nhiên hoạt tính ức chế này của cao chiết nấm Vân Chi đỏ thấp hơn Vitamin C khoảng 7 lần. Kết quả này là phù hợp với các nghiên cứu trước đó của một số tác giả về hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết nấm Vân Chi đỏ như nghiên cứu của Nguyễn Thị Phương và cộng sự cho thấy cao chiết nấm Vân Chi đỏ có giá trị IC₅₀ thông qua hoạt tính ức chế DPPH là 30,0 ± 0,54 µg/mL và nghiên cứu của Trần Đức Tường và cộng sự có giá trị IC₅₀ thông qua hoạt tính ức chế DPPH là 196,68 µg/mL. Ngoài ra thì cũng có thêm nhiều nghiên cứu thử hoạt tính kháng oxy hóa của các loài dược liệu khác như nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Bạch Tuyết (2023) về hoạt tính kháng oxy hóa của cao Tràu không được xác định theo phương pháp khử gốc tự do DPPH (IC₅₀=8,25 µg/mL) và một số nghiên cứu của các tác giả khác [1], [4], [7].

Do điều kiện nông - lâm nghiệp ở Việt Nam đang rất phát triển. Để kiểm soát các loại cỏ trong nông nghiệp, lâm nghiệp, làm vườn. Việc sử dụng chất diệt cỏ Paraquat ngày

càng trở nên phổ biến. Do độc tính rất mạnh của chất này có ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người, đặc biệt là khi sử dụng mà không có thiết bị bảo hộ cá nhân (PPE) và các biện pháp giảm thiểu rủi ro thích hợp. Vì thế nhóm đã chọn phương pháp gây độc bằng Paraquat để phù hợp hơn với thực nghiệm ở Việt Nam. Từ kết quả ở biểu đồ 2 ta thấy hàm lượng MDA của 2 lô thử và lô chứng thấp hơn rõ rệt (khác biệt có ý nghĩa thống kê) so với lô bệnh chứng tỏ cao chiết nấm Vân Chi đỏ có khả năng kháng oxy hóa trên mô hình thực nghiệm trên chuột nhắt trắng. Hàm lượng MDA của lô chứng sinh lý và lô chứng dung môi chênh lệch không đáng kể chứng tỏ dung môi DMSO không gây ảnh hưởng đến kết quả khảo sát. Hàm lượng MDA cả 2 thời điểm ở 2 lô thử cao liều 500 mg/Kg và 1000 mg/Kg chênh lệch không đáng kể so với lô chứng dương chứng tỏ khả năng kháng oxy hóa của cao chiết nấm Vân Chi đỏ và chứng dương Vitamin C chưa có sự chênh lệch trên mô hình thực nghiệm trên chuột nhắt trắng. Thêm vào đó ta thấy hàm lượng MDA của lô bệnh ở thời điểm 72 giờ sau khi tiêm Paraquat cao hơn hàm lượng MDA của lô bệnh ở thời điểm 24 giờ sau khi tiêm Paraquat. Điều này cho thấy khả năng gây stress oxy hóa của Paraquat cao nhất vào 72 giờ sau khi tiêm chất gây độc này qua đó cũng cho thấy tác dụng của cao chiết ở cả 2 liều đều có tác dụng kháng oxy hóa thông qua việc kiểm soát hàm lượng MDA tốt hơn ở thời điểm 72 giờ so với thời điểm 24 giờ sau khi tiêm Paraquat.

V. KẾT LUẬN

Nhóm đã thử tác dụng kháng oxy hóa của cao chiết nấm Vân Chi đỏ trong việc ức chế DPPH và kháng oxy hóa trên chuột nhắt trắng gây stress oxy hóa bằng Paraquat, kết quả cho thấy cao chiết nấm có tác dụng kháng oxy hóa thông qua hoạt tính ức chế DPPH có giá trị IC₅₀ là $55,276 \pm 1,55 \mu\text{g/mL}$ và hàm lượng MDA ở thời điểm 24 giờ ở liều cao 500 mg/Kg ($173,294 \text{ nM/g}$), liều cao 1000 mg/Kg ($167,233 \text{ nM/g}$) và thời điểm 72 giờ sau khi tiêm Paraquat ở liều cao 500 mg/Kg ($169,449 \text{ nM/g}$), liều cao 1000 mg/Kg ($160,979 \text{ nM/g}$) thấp hơn có ý nghĩa thống kê sau quá trình cho uống cao chiết nấm Vân Chi đỏ so với lô chứng bệnh ở thời điểm 24 giờ ($200,319 \text{ nM/g}$) và thời điểm 72 giờ ($250,806 \text{ nM/g}$) sau khi tiêm Paraquat. Điều đó chứng tỏ cao chiết nấm Vân Chi đỏ có tác dụng kháng oxy hóa *in vitro* thông qua hoạt động ức chế DPPH, kháng oxy hóa *in vivo* trên mô hình chuột nhắt trắng gây stress oxy hóa bằng Paraquat.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Phương, Ngô Nguyên Vũ. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa và kháng viêm của cao chiết nấm Vân Chi đỏ *Pycnoporus sanguineus* phân lập tại Việt Nam. *Tạp chí khoa học đại học mở Thành phố Hồ Chí Minh-kỹ thuật và công nghệ*. 2023. 18(1), <https://doi.org/10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.18.1.2357.2023>.
2. Rech, G., da Silva, L. L., da Silva, K., Silva, T. M., Fontana, R. C., Salvador, M., ... Camassola, M. (2020). Lipid- lowering effect of *Pinus* sp. sawdust and *Pycnoporus sanguineus* mycelium in streptozotocin- induced diabetic rats. *Journal of Food Biochemistry*. 2020. 44(8), 1-12, <https://doi.org/10.1111/jfbc.13247>.
3. Chen, X., Li, M., Li, D., Luo, T., Xie, Y., Gao, L., ... Lai, X. Ethanol extract of *Pycnoporus sanguineus* relieves the dextran sulfate sodium-induced experimental colitis by suppressing helper T cell-mediated inflammation via apoptosis induction. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020. 127(7), Article 110212, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110212>.
4. Trần Đức Tường. Nghiên cứu sản xuất và thử nghiệm hoạt tính sinh học của quả thể nấm Vân Chi đỏ (*Pycnoporus* sp.) từ phụ phế phẩm nông nghiệp. Trường Đại học Cần Thơ. 2021, 55,

120.

5. Chrismis Novalinda Ginting, I Nyoman Ehrich Lister, Ermi Girsang, Dewi Riastawati, Hanna Sari Widya Kusuma, Wahyu Widowati. Antioxidant Activities of Ficus elastica Leaves Ethanol Extract and Its Compounds, *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, 2020. 4 (1), 27-33, <https://doi.org/10.21705/mcbs.v4i1.86>.
 6. Sharma, O. P., & Bhat, T. K. DPPH antioxidant assay revisited, *Food chemistry*, 2009. 113 (4), 1202-1205, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>.
 7. Nguyễn Thị Bạch Tuyết và cộng sự. Khảo sát độc tính cấp, khả năng kháng oxy hóa và kháng viêm của cao Trầu không (Piper betle l. Piperaceae). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 2023. 5(3). 11-11, <https://doi.org/10.55401/jst.v5i3.1174>.
-