

**KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG
OXY HÓA CỦA LÁ VỎI (*CLEISTOCALYX OPERCULATUS* ROXB.),
MYRTACEAE**

*Lý Hồng Hương Hà**, *Trần Thị Thu Hằng*, *Võ Thị Bích Ngọc*
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng
*Email: halhh@hiu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Lá cây Vối *Cleistocalyx operculatus* Roxb., họ Sim (Myrtaceae) từ lâu đã được dùng làm thức uống truyền thống của người dân Việt Nam. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh cây Vối có tác dụng trong điều trị các bệnh như đầy bụng, tiêu chảy, mụn nhọt, viêm đại tràng mạn tính, lỵ trực trùng. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và các hoạt tính sinh học của lá Vối. **Mục tiêu nghiên cứu:** Phân tích sơ bộ thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính chống

oxy hóa của cao chiết lá Vối bằng phương pháp DPPH. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Lá Vối được phân tích thành phần hóa học theo phương pháp Ciulei. Bột nguyên liệu khô được chiết ngấm kiệt với cồn 70% và lọc phân bố với các dung môi n-hexan, cloroform, ethyl acetat thu cao toàn phần và các cao phân đoạn. Hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá bằng thử nghiệm bắt gốc tự do DPPH. **Kết quả:** Thành phần hóa học của lá Vối có sự hiện diện của các nhóm hợp chất flavonoid, polyphenol, tinh dầu, chất khử, triterpenoid tự do, hợp chất polyuronic, acid hữu cơ và carotenoid. Các cao chiết đều có hoạt tính bắt gốc tự do DPPH và cao phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính cao nhất (82,05%). **Kết luận:** Lá Vối chứa các nhóm hợp chất hữu cơ flavonoid, polyphenol, tinh dầu, chất khử, triterpenoid tự do, hợp chất polyuronic, acid hữu cơ và carotenoid. Các cao chiết từ lá Vối, đặc biệt cao ethyl acetat đã được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa mạnh bằng thử nghiệm quét gốc tự do DPPH.

Từ khóa: Vối, hóa thực vật, flavonoid, chống oxy hóa, DPPH.

ABSTRACT

PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL SCREENING, ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE LEAF EXTRACT FROM (CLEISTOCALYX OPERCULATUS ROXB.), MYRTACEAE

Ly Hong Huong Ha, Tran Thi Thu Hang, Vo Thi Bich Ngoc
Hong Bang International University

Background: In Viet Nam, leaves of *Cleistocalyx operculatus* Roxb. is a popular medicinal herb used for preparing traditional beverages or decoction. Extracts from these medicinal plants were demonstrated effectively in treatment of dyspepsia, diarrhea, abscess, chronic colitis, and dysentery. There are not many studies on the chemical compositions and the pharmacological activities of the leaves of this plant. **Objectives:** Preliminary analysis of phytochemical composition and survey antioxidant activity of the *Cleistocalyx operculatus* leaf extracts by the DPPH method. **Materials and methods:** The leaves of *Cleistocalyx operculatus* were analyzed phytochemical composition by the Ciulei method. Dried and ground to coarse powders, extracted with ethanol 70%, partitioned with increasing polar solvents (n-hexane, chloroform, ethyl acetate) to obtain extract and its fractions. The antioxidant activity was evaluated by DPPH scavenging assay. **Results:** The *Cleistocalyx operculatus* leaves contain flavonoids, polyphenols, essential oils, triterpenoids, polyuronics, phenolic acids, carotenoids. All of the extracts exhibited high antioxidant activity. Among them ethyl acetate fraction possessed higher levels of activity (82.05%). **Conclusion:** The leaf extracts of *Cleistocalyx operculatus* contain flavonoids, polyphenols, essential oils, triterpenoids, polyuronics, phenolic acids, carotenoids. All extracts, especially ethyl acetate extract, showed an antioxidant effect on the DPPH method.

Keywords: *Cleistocalyx operculatus* leaves, phytochemicals, flavonoids, antioxidant, DPPH.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vối (*Cleistocalyx operculatus* Roxb., Myrtaceae) là cây thuốc dân gian mọc tự nhiên ở Việt Nam, Trung Quốc, Lào, Campuchia... Lá Vối từ lâu đã được dùng làm thức uống truyền thống của người dân địa phương, dân gian còn dùng lá, vỏ, thân, nụ hoa làm thuốc chữa đầy bụng, tiêu chảy, mụn nhọt, viêm đại tràng mạn tính, lỵ trực trùng [1]. Điều này cho thấy Vối là một dược liệu có giá trị và công dụng chữa bệnh là rất lớn. Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học của Vối bao gồm flavonoid, diterpenoid, tanin, tinh dầu và polysaccharid [2], [5], các nghiên cứu đa số tập trung trên nụ Vối về hoạt tính chống oxy hóa, chống viêm nhiễm, kháng vi sinh vật...[4]. Tại Việt Nam chưa nhiều các công bố sâu về tác dụng sinh học và hóa học của lá Vối [5], [7]. Do đó, nghiên cứu tiến hành “Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính sinh học theo hướng tác dụng chống oxy hóa của lá cây Vối (*Cleistocalyx*

operculatus Roxb., Myrtaceae)” để góp phần làm tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo về thành phần hóa học và khả năng điều trị bệnh của một cây trồng phổ biến tại Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Nguyên liệu

10kg lá của cây Vối thu hái tại quận Thủ Đức, TP. HCM. Mẫu dược liệu đã được TS. Võ Văn Chi, nguyên giảng viên Bộ môn Dược liệu, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, xác định tên khoa học là *Cleistocalyx operculatus* Roxb., thuộc họ Sim (Myrtaceae). Mẫu nghiên cứu hiện đang được lưu giữ tại Bộ môn Dược liệu, khoa Dược, Đại học Quốc tế Hồng Bàng. Bột nguyên liệu khô được chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt và chiết lỏng-lỏng thu cao toàn phần và các cao phân đoạn.

Hóa chất: Ethanol, n-hexan, cloroform, ethyl acetat, methanol, nước cất, DPPH (Sigma), acid ascorbic (Sigma).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Sơ bộ về thành phần hóa học thực vật

Lá Vối được khảo sát sơ bộ thành phần hóa học theo phương pháp Cuilei cải tiến.

- Phương pháp chiết xuất

10 kg lá Vối được chiết ngâm kiệt với ethanol 70%, thu được 7 L dịch chiết, cô quay áp suất giảm thu được 1,05 kg cao đậm đặc. Cao được đem pha loãng với nước, chiết phân bố lỏng-lỏng với các dung môi có độ phân cực tăng dần là n-hexan, cloromethan, ethyl acetat. Khảo sát tác dụng chống oxy hóa của 4 loại cao chiết: Cao n-hexan, cao cloroform, cao ethyl acetat và cao nước.

- Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa

Các chất nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa theo cơ chế bắt gốc tự do sẽ làm giảm màu của DPPH, xác định khả năng này bằng cách đo quang ở bước sóng 517 nm.

Chuẩn bị dung dịch DPPH bằng cách pha dung dịch DPPH 0,5 mM trong methanol. Pha dung dịch đối chiếu acid ascorbic nồng độ: 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18 µg/ mL trong MeOH để xác định IC₅₀ và so sánh kết quả với mẫu thử. Khảo sát hoạt tính đánh bắt gốc tự do DPPH của 5 mẫu cao gồm toàn phần (TP), n-hexan (HE), cloroform (CF), ethyl acetat (EA), nước (N). Các mẫu cao được pha ở cùng nồng độ 18 µg/mL trong methanol.

Khảo sát động học sẽ xác định thời gian phản ứng giữa dung dịch thử và dung dịch DPPH đến khi xảy ra hoàn toàn, độ hấp thụ ổn định. Mẫu đo thực hiện phản ứng đựng trong lọ màu nâu. Các phản ứng phải thực hiện ở chỗ tối, sau 30 phút đến khi ổn định thì đo quang ở bước sóng 517nm.

Bảng 1. Cách pha mẫu đo của phương pháp DPPH

Ổng	Dung dịch thử (mL)	Dung môi MeOH (mL)	Dung dịch DPPH (mL)
Trắng	0	4	0
Chứng	0	3,5	0,5
Thử	1	2,5	0,5

Tính toán kết quả: Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) của dung dịch thử được tính theo công thức: $HTCO (\%) = [(Abs_{Schứng} - Abs_{Thử}) / (Abs_{Schứng} - Abs_{Trắng})] \times 100$. Abs: Độ hấp thụ đo được ở 517nm.

- **Xử lý số liệu:** Số liệu được biểu thị bằng giá trị trung bình Mean ± SEM (Standart error of the mean: Sai số chuẩn của giá trị trung bình).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Sơ bộ thành phần hóa học

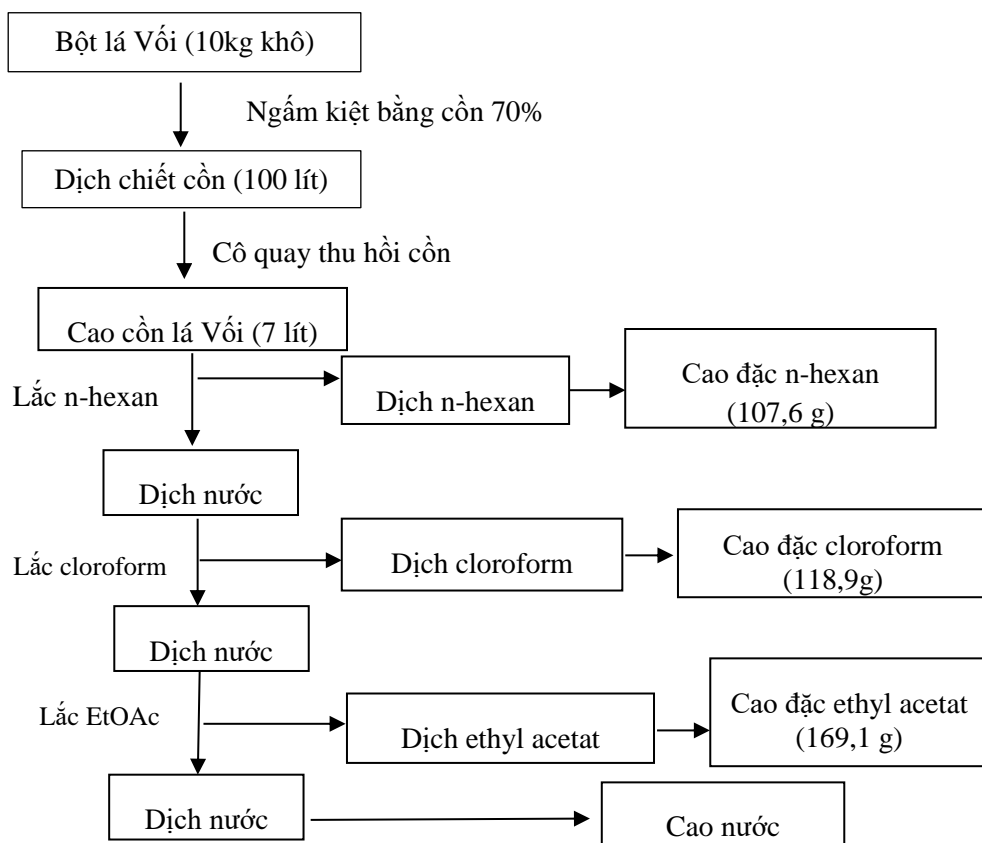
Phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật lá Vối bằng phương pháp Ciulei cải tiến cho thấy ở phân đoạn kém phân cực có sự hiện diện của các nhóm chất bao gồm carotenoid, tinh dầu, triterpenoid tự do, các phân đoạn phân cực trung bình đến rất phân cực phát hiện được các nhóm hợp chất gồm flavonoid, tannin, saponin, acid hữu cơ, chất khử, hợp chất polyuronic.

Bảng 2. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật lá Vối

Nhóm hợp chất	Thuốc thử/ Cách phát hiện	Kết quả
Carotenoid	TT Carr-Price, H ₂ SO _{4dd}	+
Tinh dầu	Mùi thơm của dịch chiết cô tới cạn	++
Triterpenoid tự do	TT Liebermann-Burchard	++
Flavonoid	Mg/ HCl _{dd}	++
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	++
Tannin	FeCl ₃ , Dung dịch gelatin muối	+++
Saponin	TT Liebermann-Burchard, Thử nghiệm tạo bọt	+
Chất khử	TT Fehling	++
Polyuronid	Kết tủa trong cồn 96%	++

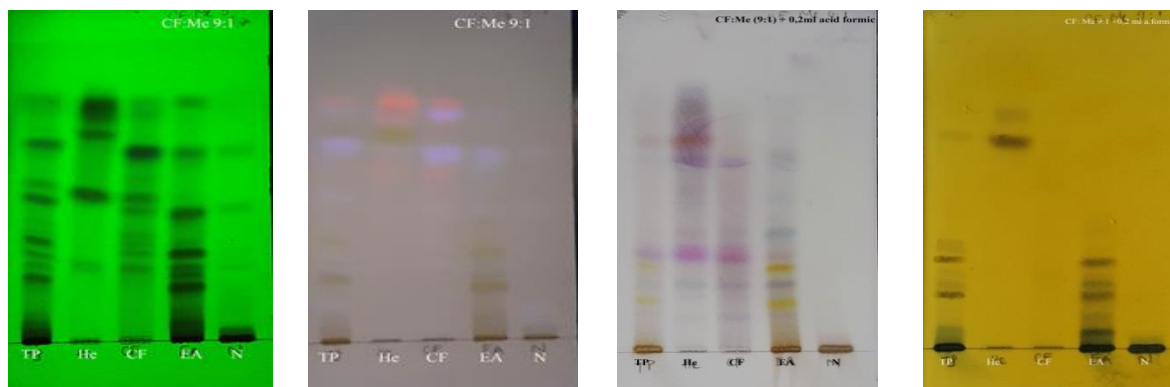
Chú thích: (+++) có nhiều; (++) có; (+) có ít

Chiết xuất cao toàn phần và các cao phân đoạn: Dược liệu được chiết ngâm kiệt để thu cao toàn phần và chiết phân bố lỏng-lỏng để thu các cao phân đoạn được trình bày ở (Hình 1).

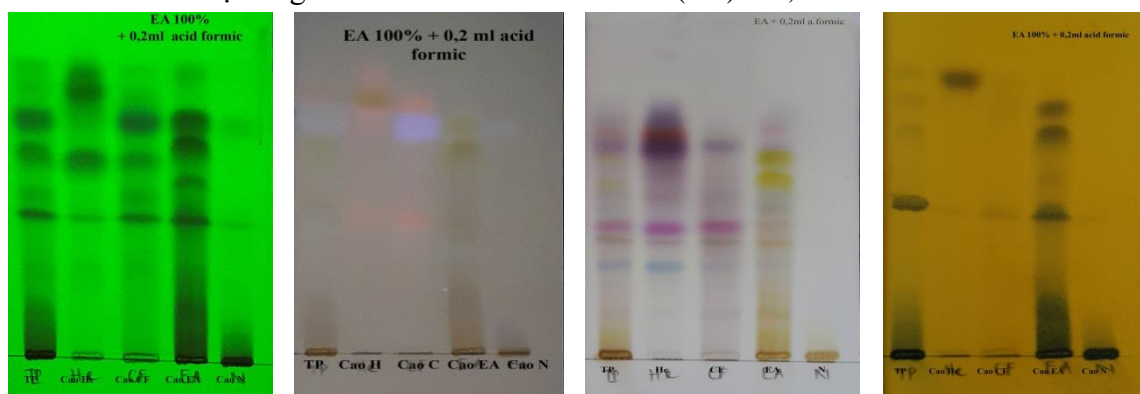


Hình 1: Kết quả chiết xuất cao toàn phần và các cao phân đoạn từ lá Vối

Kiểm tra các cao phân đoạn bằng SKLM trên bản silicagel F₂₅₄, với hai hệ dung môi: Chloroform - methanol (9:1) + 0,2 mL acid formic và hệ ethyl acetat (100%) + 0,2 mL acid formic, lần lượt phát hiện bằng đèn UV 254 nm (a), 365 nm (b), TT VS (c), TT FeCl₃ 10% (d). Kết quả ghi nhận được từ cao còn 70% gồm rất nhiều thành phần phức tạp (các thành phần có độ phân cực khác nhau nhiều) qua lắc phân bố lỏng - lỏng đã phân tách được thành 4 nhóm (mỗi nhóm có thành phần đơn giản hơn và có độ phân cực khác nhau) tạo điều kiện thuận lợi cho việc phân tách bằng sắc ký cột sau này. Trong số các cao này, cao ethyl acetat có ít tạp, nhiều thành phần và chiếm khối lượng lớn nhất (Hình 2).



Hệ dung môi: Cloroform – methanol (9:1) + 0,2 mL acid formic



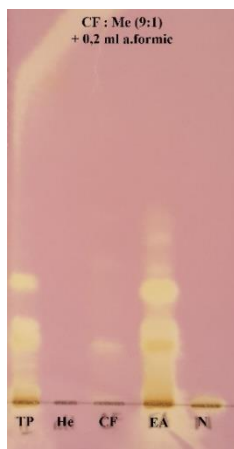
Hệ dung môi: Ethyl acetat(100%) + 0,2 mL acid formic
(a) (b) (c) (d)

Hình 2: Sắc ký lớp mỏng kiểm tra các cao phân bố

Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết

Kiểm tra trên SKLM

Với 5 cao thử gồm cao toàn phần (cao TP), cao n-Hexan (cao He), cao Chloroform (cao CF), cao ethyl acetat (cao EA), cao nước (cao N). Các mẫu được chấm đồng lượng trên bản mỏng silicagel. Dung môi khai triển là cloroform - methanol (9:1) + 0,2 mL acid formic. Phát hiện bằng dung dịch DPPH/MeOH (0,5 mM). Phản ứng để trong tối trong 30 phút.



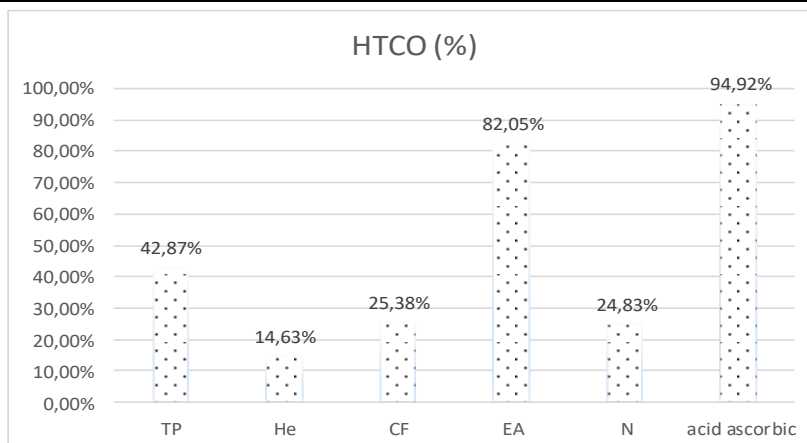
Hình 3: Sắc ký đồ của các cao phân đoạn lá Vối với TT DPPH

Kết quả trên cho thấy sắc ký đồ cao ethyl acetat có tác dụng chống oxy hóa mạnh do làm mất màu DPPH rõ hơn các cao còn lại (Hình 3).

Kết quả này được khẳng định một lần nữa thông qua thử nghiệm như đã mô tả ở phần phương pháp thực nghiệm, cho thấy hoạt tính chống oxy hóa giảm dần theo thứ tự là cao ethyl acetat (82,05%) > cao toàn phần (42,87%) > cao chloroform (25,38%) > cao nước (24,83%) > cao n-Hexan (14,63%). Trong số này, cao ethyl acetat là cao có khả năng ức chế gốc tự do DPPH tốt nhất. Đây cũng là cơ sở để lựa chọn cao ethyl acetat cho các nghiên cứu sau này.

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm HTCO bằng phương pháp DPPH trên các mẫu cao

STT	Mẫu	Abs mẫu đo				HTCO (%)
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
1	Chứng	0,723	0,718	0,726	0,722	-
2	Cao TP	0,403	0,411	0,424	0,413	42,87%
3	Cao He	0,604	0,627	0,619	0,617	14,63%
4	Cao CF	0,541	0,537	0,539	0,539	25,38%
5	Cao EA	0,125	0,126	0,138	0,130	82,05%
6	Cao N	0,569	0,523	0,537	0,543	24,83%
7	Vit C	0,037	0,035	0,038	0,037	94,92%



Hình 4: Biểu đồ kết quả thử HTCO của các phân đoạn cao chiết

IV. BÀN LUẬN

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật cho thấy lá Vối có chứa các hợp chất như flavonoid, tannin, triterpenoid, acid hữu cơ, carotenoid, tinh dầu và hợp chất polyuronic. Các nhóm hợp chất này được báo cáo có nhiều hoạt tính sinh học, trong đó chiếm hàm lượng lớn là các polyphenol [6], [8], [9], [10]. So sánh với các kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Hoàng Thị Trúc Quỳnh (2017) và Bùi Thị Hồng Chiên (2020) cho thấy hầu hết có sự tương đồng [2], [3].

Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết toàn phần và các cao phân đoạn từ lá Vối. Từ những kết quả thu được cho thấy, cao phân đoạn ethyl acetat thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao nhất. Do đó cao ethyl acetat là cao tiềm năng từ lá Vối để có thể tiến hành phân tích thành phần hóa học, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các chất tinh khiết trong dược liệu trong các thí nghiệm về sau. Nghiên cứu cho thấy hiệu quả của cao chiết toàn phần và các cao phân đoạn từ lá Vối thu hái tại quận Thủ Đức đều thể hiện khả năng bắt gốc tự do DPPH, tuy có sự khác biệt về khả năng chống oxy hóa nhưng các cao chiết đều thể hiện tác dụng chống oxy hóa khá rõ rệt. Điều đó chứng tỏ các thành phần phân cực như flavonoid, tannin, các acid hữu cơ... trong lá Vối đều góp phần vào tác dụng chống oxy hóa của dược liệu này [2], [3]. Kết quả thu được là cơ sở cho việc lựa chọn dung môi chiết xuất phù hợp để nghiên cứu thành phần hóa học của cao chiết tiềm năng cũng như phát triển các sản phẩm từ cao lá Vối ứng dụng trong phòng và/hoặc điều trị các bệnh do gốc tự do gây ra.

V. KẾT LUẬN

Lá Vối được thu hái tại quận Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh đã được xác định có chứa các thành phần hóa học như flavonoid, tannin, triterpenoid, acid hữu cơ, carotenoid, tinh dầu và hợp chất polyuronic. Cao chiết toàn phần và các cao chiết phân đoạn từ lá Vối có hoạt tính chống oxy hóa theo cơ chế bắt gốc tự do DPPH, trong đó cao chiết phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính cao nhất (82,05%). Kết quả đã cung cấp dữ liệu về hoạt tính chống oxy hóa của lá Vối, cho thấy việc lựa chọn lá Vối làm thức uống có hoạt tính chống oxy hóa là hợp lý, góp phần quan trọng cho cơ sở sử dụng dược liệu này một cách hợp lý, an toàn và phát triển nghiên cứu thành phần hóa học của lá Vối theo định hướng tác dụng sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi (2004), Từ điển thực vật thông dụng, tập 2, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr.1065-1067.
2. Bùi Thị Hồng Chiên, Nguyễn Văn Hương, Lâm Phạm Phước Hùng, Nguyễn Thị Vân Anh, Cao Ngọc Huyền và cộng sự (2020), Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của acid Masilinic phân lập từ lá vối (*Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr. And Perry, *Tạp chí Công nghệ sinh học Y Dược*, tr.770-775.
3. Hoàng Thị Trúc Quỳnh, Nguyễn Thị Minh Thôi, Trần Thị Thu Hương (2017), Đánh giá hiệu quả hỗ trợ trích ly polyphenol từ lá vối bằng hai phương pháp: siêu âm và xử lý bằng enzyme cellulase, *Tạp chí khoa học Đại học Văn Hiến*, tập 5 số 4, tr.100-105.
4. Alhakmani F, Kumar S, Khan SA (2013). Estimation of total phenolic content, *in-vitro* antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pac J Trop Biomed*, 3(8):623-627.
5. Dung N. T., Bajpai V. K., Yoon J.I., Kang S.C. (2009), Anti – inflammatory effects of essential oil isolated from the bud of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr., et Perry, *Food and Chemical toxicology* 47 (2), pp.449-453.
6. Lee MT, Lin WC, Yu B, Lee TT (2017). Antioxidant capacity of phytochemicals and their

- potential effects on oxidative status in animal – A review. *Asian – Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(3):299-308.
7. Min B.-S., Thu C.V., Dat N. T., Dang N. H., Jang H.-S., Hung T.M. (2008), Antioxidative flavinoids from *Cleitocalyx operculatus* buds, *Chemical pharmaceutical Bulletin* 56(12), pp.1725-1728.
 8. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5:e47.
 9. Sen, S., Chakraborty, R. (2011), *The role of antioxidants in human health*, p1-37.
 10. Xu DP, Li Y, Meng X, Zhou T, Zhou Y, Zheng J, Zang JJ, Li HB (2017). Natural antioxidants in foods and medical plants: extraction, assessment and resource. *International Journal of Molecular Sciences*; 18(1):96.
- (Ngày nhận bài: 14/6/2021 – Ngày duyệt đăng: 17/8/2021)
-