



## HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT TỪ THÂN RỄ CÂY THIÊN LIỀN (*Kaempferia galanga* L.)

Trần Thanh Mến<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Huyền Anh<sup>1</sup>, Huỳnh Kim Yến<sup>2</sup>, La Thị Kim Tú<sup>1</sup>, Huỳnh Hồng Phiến<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Tuân<sup>1</sup> và Đái Thị Xuân Trang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Khoa Khoa học biển và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Kiên Giang

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đái Thị Xuân Trang (email: dtxtrang@ctu.edu.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 04/03/2020

Ngày nhận bài sửa: 28/04/2020

Ngày duyệt đăng: 29/06/2020

### Title:

Antioxidant activity of ethanol extract from rhizome of *Kaempferia galanga* L.

### Từ khóa:

ABTS, DPPH, kháng oxy hóa, RP, ruồi giấm CS, thiên liên

### Keywords:

ABTS, antioxidant activity, DPPH, *Drosophila melanogaster* CS, *Kaempferia galanga* L., RP

### ABSTRACT

*Kaempferia galanga* L. is considered as a medicinal plant used in folkloric medicine and used in anti-inflammatory, analgesic, and anti-cancer,... Moreover, the essential oils from leaves is an ingredients for medicines, perfumery, cosmetics, spices and mouthwash thanks to their antioxidant and antibacterial properties. The study is aimed to evaluate antioxidant activity in vitro and in vivo conditions of the ethanolic extract from rhizomes of *Kaempferia galanga* L. The results showed that the ethanolic rhizomes extract displayed in vitro antioxidant activities using DPPH, ABTS<sup>+</sup> and RP method, with the EC<sub>50</sub> (effective concentration) values are 151.6±2.5 µg/mL, 2404.8±55 µg/mL and 116.5±4.8 µg/mL, respectively. In addition, *D. melanogaster* given extract-supplemented feed had resistance to stress conditions induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and paraquat better than those grown with standard food. Total polyphenol and flavonoid content were 54.42 mg GAE/g and 56.96 mg QE/g, respectively. These findings indicated that *Kaempferia galanga* L. is a very potential herb containing natural antioxidant compounds.

### TÓM TẮT

Các đặc điểm dược tính quý của cây thiên liên (*Kaempferia galanga* L.) ở Việt Nam hiện nay vẫn chưa được khảo sát nhiều. Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa in vitro và in vivo của cao chiết ethanol từ thân rễ cây thiên liên. Hoạt tính kháng oxy hóa in vitro được đánh giá theo ba phương pháp là DPPH, ABTS và RP. Ruồi giấm hoang dại đồng CS (*Drosophila melanogaster*) được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa in vivo. Kết quả cho thấy, cao chiết thiên liên thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa tốt khi khảo sát cả ba phương pháp ABTS, DPPH và RP, với giá trị EC<sub>50</sub> (effective concentration) lần lượt là 151,6±2,5 µg/mL; 2404,8±55 µg/mL và 116,5±4,8 µg/mL. Đồng thời, ruồi giấm sống trong môi trường có bổ sung cao chiết ethanol từ thân rễ cây thiên liên có khả năng chống chịu tốt với điều kiện stress gây ra bởi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và paraquat tốt hơn so với ruồi giấm được nuôi trong môi trường tiêu chuẩn. Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong cao chiết thiên liên được xác định là 54,42 mg GAE/g cao chiết và 56,96 mg QE/g cao chiết. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, thiên liên là một dược liệu tiềm năng chứa nhiều các hợp chất kháng oxy hóa.

Trích dẫn: Trần Thanh Mến, Nguyễn Thị Huyền Anh, Huỳnh Kim Yến, La Thị Kim Tú, Huỳnh Hồng Phiến, Nguyễn Trọng Tuân và Đái Thị Xuân Trang, 2020. Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết từ thân rễ cây thiên liên (*Kaempferia galanga* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên)(2): 41-47.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Các dạng oxy hoạt động (reactive oxygen species-ROS) là nguyên nhân gây ra nhiều bệnh tật nguy hiểm như ung thư, bệnh tim mạch, đục thủy tinh thể, hen suyễn, viêm gan, tổn thương gan và các bệnh suy giảm miễn dịch (Lee *et al.*, 2004). Các hợp chất chống oxy hóa như polyphenol và flavonoid có tác dụng làm sạch các gốc tự do như peroxide, hydroperoxide hoặc lipid peroxide và do đó ức chế các cơ chế oxy hóa dẫn đến các bệnh thoái hóa (Wu *et al.*, 2011). Thiên liên (*Kaempferia galangal* L.) là một loài thực vật đa niên, thân thấp, mọc sát đất, thuộc họ Gừng (*Zingiberaceae*). Phân bố phổ biến trong các khu rừng ở Việt Nam nhưng thiên liên cũng được trồng làm cảnh và được cho là một vị thuốc dùng trong y học cổ truyền có tác dụng kháng viêm, điều trị một số bệnh dạ dày và hệ tiêu hóa (Đỗ Huy Bích và *ctv.*, 2004). Các nghiên cứu trước đây cho thấy tinh dầu của các loài thực vật thuộc chi thiên liên có tác dụng kháng một số vi khuẩn như *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* (Norajit *et al.*, 2007), dịch trích từ thiên liên đã được chứng minh có tác dụng ức chế một số loài trùng biến hình (Chu *et al.*, 1998), các hợp chất chiết từ thân rễ cây thiên liên có khả năng xua đuổi một số loại muỗi (Kim *et al.*, 2008), thân rễ thiên liên có tác dụng ức chế sự kích hoạt của Epstein-Barr virus (Vimala *et al.*, 1999),... Vì vậy, việc nghiên cứu hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* và *in vivo* là cần thiết để chứng minh tiềm năng dược liệu của cây thiên liên.

Ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) là động vật bậc thấp được sử dụng trong phòng thí nghiệm từ năm 1991. Bier (2005) cho rằng có khoảng 75% gen gây bệnh trên người có trong ruồi giấm, điều đó cho thấy ruồi giấm là động vật thí nghiệm lí tưởng để nghiên cứu về các bệnh ở người. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Trần Thanh Mến và *ctv.* (2019) đã xây dựng thành công mô hình ruồi giấm để nghiên cứu dược liệu có hoạt tính kháng oxy hóa *in vivo*.

**Bảng 1: Thí nghiệm định tính hợp chất tự nhiên**

Định tính Thí nghiệm	Nhận diện
Alkaloid 2 mL cao chiết + 3-4 giọt thuốc thử Mayer	Kết tủa trắng đục
Flavonoid 1 mL cao chiết + 3-4 giọt H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> đậm đặc	Kết tủa màu cam đến đỏ hoặc có màu xanh
Saponin 1 mL cao chiết + 5 mL nước cất + 3-4 giọt ethanol. Lắc mạnh và để yên 15 phút	Cột bọt trắng bền vẫn còn sau khi để yên 15 phút
Tannin 2 mL cao chiết + 5 giọt Gelatin	Kết tủa bông trắng
Phenolic 2 mL cao chiết + 2 ml H <sub>2</sub> O + 2-3 giọt FeCl <sub>3</sub> (10%)	Tủa màu xanh đen hoặc đỏ cam

**Định lượng polyphenol tổng:** Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp Singleton *et al.* (1999) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản

Trong nghiên cứu này sử dụng mô hình ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) như đề xuất của Trần Thanh Mến và *ctv.* (2019) để khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa *in vivo* của cao chiết từ thân rễ cây thiên liên.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện

**Vật liệu thí nghiệm:** Thân rễ cây thiên liên được thu tại huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang được định danh bởi ThS. Phùng Thị Hằng, Bộ môn Sinh học, Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ theo hệ thống phân loại Cây cỏ Việt Nam (Phạm Hoàng Hộ, 2003).

**Đối tượng thí nghiệm:** Ruồi giấm hoang dại *Drosophila melanogaster* chủng Canton S (CS) được cung cấp từ phòng thí nghiệm Biofunctional Chemistry (Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản).

**Hóa chất:** ABTS (2,2'-azinobis 3ethylbenzothiazonline-6-sulfonate), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), gallic acid, quercetin, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, Folin-Ciocalteu, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, Cl<sub>3</sub>CCOOH, paraquat (CQ) (Merck, Đức), AlCl<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub>, NaOH và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Trung Quốc) và một số hóa chất khác.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

**Điều chế cao chiết:** Thân rễ cây thiên liên sau khi thu về được rửa sạch, cắt nhỏ và phơi khô. Mẫu sau khi phơi khô đến khối lượng không đổi được cho vào trong túi vải và ngâm trong ethanol. Mẫu được ngâm 5 lần, mỗi lần ngâm khoảng 24 giờ, dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, lọc qua giấy lọc và cô quay (Heidolph, Đức) tách dung môi thu được cao chiết ethanol thân rễ thiên liên.

**Định tính các hợp chất tự nhiên:** Việc định tính các hợp chất tự nhiên của cao chiết từ thân rễ cây thiên liên thực hiện theo Jasuja *et al.* (2013) có hiệu chỉnh, được trình bày ở Bảng 1.

ứng gồm 250 µL cao chiết thiên liên trong 250 µL nước và 250 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu (1:4), lắc đều. Sau đó, thêm vào 250 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10% rồi ủ 30

phút ở 40°C. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng polyphenol tổng trong cao chiết ethanol từ thân rễ cây thiên liên được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid.

**Định lượng flavonoid tổng:** Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định theo Bag *et al.* (2015) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 200  $\mu\text{L}$  dung dịch cao chiết thân rễ cây thiên liên được pha trong ethanol (500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 200 mL nước và 40  $\mu\text{L}$   $\text{NaNO}_2$  5% lắc đều rồi để yên 5 phút. Sau đó, hỗn hợp được tiếp tục thêm 40  $\mu\text{L}$   $\text{AlCl}_3$  10%, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút được thêm 400  $\mu\text{L}$   $\text{NaOH}$  1 M và nước cho đủ 1 mL. Dung dịch phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong các cao chiết ethanol thiên liên được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin.

**Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa in vitro:**

**Khảo sát hoạt tính trung hòa gốc tự do theo phương pháp 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH):** Khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết ethanol từ thân rễ cây thiên liên được xác định theo miêu tả của Sharma *et al.* (2009). Hỗn hợp phản ứng gồm 100  $\mu\text{L}$  DPPH ( $6 \times 10^{-4}$  M) và 100  $\mu\text{L}$  cao chiết ethanol từ thân rễ cây thiên liên (ở các nồng độ: 0, 250, 500, 1000, 2000 và 4000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong thời gian 60 phút; sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm. Chất đối chứng dương được sử dụng là gallic acid ở các nồng độ khảo sát: 0, 2, 4, 6, 8, và 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Tỷ lệ giảm độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm khi có và không có chất kháng oxy hóa được xác định để tính hiệu suất phản ứng. Hiệu quả kháng oxy hóa 50% ( $\text{EC}_{50}$ : effective concentration of 50%) được tính dựa vào đường chuẩn  $y = ax + b$ . Hoạt tính kháng oxy hóa của mẫu càng cao, thể hiện qua giá trị  $\text{EC}_{50}$  loại bỏ gốc tự do càng nhỏ (Miliauskas *et al.*, 2004).

**Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do  $\text{ABTS}^+$ :**  $\text{ABTS}^+$  là một gốc tự do bền, màu xanh, có độ hấp thụ cao nhất tại 734 nm. Khi cho chất kháng oxy hóa vào dung dịch chứa  $\text{ABTS}^+$ , các chất kháng oxy hóa sẽ khử ion  $\text{ABTS}^+$  thành  $\text{ABTS}$  làm cho dung dịch mất màu xanh. Hoạt động loại bỏ gốc tự do được xác định bằng phương pháp khử màu  $\text{ABTS}^+$  mô tả bởi Nikolaos *et al.* (2004). Dung dịch  $\text{ABTS}^+$  được chuẩn bị bằng cách cho 2 mL dung dịch  $\text{ABTS}^+$  7 mM và 2 mL dung dịch  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  2,45 mM. Ủ dung

dịch trong bóng tối 16 giờ, sau đó pha loãng bằng ethanol (khoảng 50 lần), điều chỉnh độ hấp thụ của dung dịch ở bước 734 nm có mật độ quang phổ là  $0,7 \pm 0,05$ . Tiến hành khảo sát hoạt động trung hòa gốc tự do  $\text{ABTS}^+$  bằng cách cho 990  $\mu\text{L}$   $\text{ABTS}^+$  vào 10  $\mu\text{L}$  cao chiết ethanol thiên liên (ở các nồng độ: 0, 10, 25, 50, 100, 200 và 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Hỗn hợp phản ứng được ủ trong thời gian 6 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm.

**Khảo sát năng lực khử sắt (RP: reducing power):** Phương pháp khử sắt dựa trên nguyên tắc khi có sự hiện diện của chất kháng oxy hóa thì  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  sẽ phản ứng với chất kháng oxy hóa tạo thành phức  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ . Sau đó,  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  tiếp tục phản ứng với  $\text{FeCl}_3$  tạo thành  $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  phức này được phát hiện ở bước sóng 700 nm. Năng lực khử sắt của cao chiết ethanol thiên liên được thực hiện theo phương pháp Oyaizu (1986) và Padma *et al.* (2013). Hỗn hợp phản ứng lần lượt gồm 0,5 mL cao chiết ethanol thiên liên ở các nồng độ khảo sát (0, 30, 70, 130 và 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 0,5 mL dung dịch đệm phosphate (0,2 M, pH = 6,6) và 0,5 mL  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  1%. Sau khi hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 0,5 mL  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  10% rồi ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch sau khi ly tâm được lấy 0,5 mL lớp trên cho vào 0,5 mL nước và 0,1 mL  $\text{FeCl}_3$  0,1%, lắc đều. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm (Thermo Scientific, Phần Lan). Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương.

**Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa trên in vivo trên ruồi giấm**

Thí nghiệm được thực hiện theo miêu tả của Trần Thanh Mến và *ctv.* (2019). Ruồi giấm đực mới nở trong vòng 48 giờ nuôi trong điều kiện môi trường thức ăn tiêu chuẩn được lựa chọn để thực hiện thí nghiệm này. Thành phần môi trường thức ăn ở thí nghiệm khảo sát có bổ sung cao chiết từ thân rễ cây thiên liên ở nồng độ 0,5 mg/mL thức ăn. Các thí nghiệm thí nghiệm được lặp lại 5 lần (mỗi lần lặp lại là một lọ thí nghiệm với 20 ruồi giấm). Thí nghiệm thức đối chứng sử dụng thức ăn tiêu chuẩn không bổ sung cao chiết. Sau 10 ngày thì ruồi giấm được cho vào các lọ có giấy thấm paraquat 20 mM hoặc  $\text{H}_2\text{O}_2$  10% để khảo sát khả năng chống chịu với stress. Chỉ tiêu theo dõi là số lượng ruồi còn sống sau mỗi 4 giờ trong thời gian thí nghiệm.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Kết quả định tính và định lượng các hợp chất tự nhiên

Kết quả định tính cho thấy, cao chiết cây thiên liên có chứa các hợp chất như phenolic, alkaloid,

tanin và flavonoid thể hiện ở Bảng 2. Tuy nhiên, kết quả khảo sát trong nghiên cứu này cho thấy trong

cao chiết ethanol từ thân rễ cây thiên liên không có hợp chất saponin.

**Bảng 2: Kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên của cao chiết thân rễ thiên liên**

Hợp chất	Phenolic	Alkaloid	Saponin	Tanin	Flavonoid
Hiện diện	có hiện diện	có hiện diện	không hiện diện	có hiện diện	có hiện diện

Gallic acid là một acid hữu cơ thuộc nhóm polyphenol. Đường chuẩn gallic acid được sử dụng để xác định sự hiện diện của nhóm chất polyphenol có hệ số  $R^2 = 0,9975$  và phương trình đường chuẩn  $y = 0,0778x + 0,0255$  (trục y tương ứng giá trị quang phổ hấp thụ (OD: optical density), trục x tương ứng nồng độ chất chuẩn gallic acid). Trong khảo sát này, giá trị OD của mẫu cao chiết thiên liên đo được là 0,13, giá trị này được đưa vào phương trình đường chuẩn của gallic acid và hàm lượng polyphenol tổng số có trong cao chiết thân rễ thiên liên được xác định là 54,42 mg/g cao chiết.

Quercetin là một hợp chất thuộc nhóm flavonoid. Đường chuẩn quercetin được sử dụng để xác định sự hiện diện của nhóm chất flavonoid có hệ số  $R^2 = 0,99$  và phương trình đường chuẩn  $y = 0,0046x + 0,0218$  (trục y tương ứng giá trị quang phổ hấp thụ (OD), trục x tương ứng nồng độ chất chuẩn quercetin). Trong khảo sát này, giá trị OD của mẫu cao chiết thiên liên đo được là 0,048, giá trị này được đưa vào phương trình đường chuẩn của quercetin và hàm lượng flavonoid tổng số có trong cao chiết thân rễ thiên liên được xác định là 56,96 mg/g cao chiết.

Nhiều nghiên cứu chứng minh rằng polyphenol và flavonoid có hoạt tính kháng oxy hóa, chống lão hóa và có nhiều hoạt tính chữa bệnh trên người (Nahid, 2013). Williams et al. (2004) cho rằng nhiều chất thuộc nhóm flavonoid và polyphenol có khả năng ức chế các quá trình oxy hóa và được phân loại là các chất kháng oxy hóa. Kết quả định lượng ghi nhận trong cao chiết từ thân rễ cây thiên liên có sự hiện diện của hai hợp chất polyphenol (54,42 mg/g cao chiết) và flavonoid (56,96 mg/g cao chiết), đây là các hợp chất có hoạt tính kháng oxy hóa tốt. So với các loài thực vật cùng họ thì hàm lượng polyphenol tổng trong thân rễ thiên liên cao hơn thân rễ riêng nếp (*Alpinia galanga*) (39 mg/g cao chiết) nhưng thấp hơn thân rễ nghệ (*Curcuma longa*) (94 mg/g cao chiết) (Eric et al., 2011). Các nghiên cứu tiếp theo được thực hiện để khảo sát tiềm năng kháng oxy hóa từ loài dược liệu này.

**3.2 Kết quả thử hoạt tính kháng oxy hóa in vitro**

Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH: Dung dịch DPPH có màu tím có độ hấp thụ

cao nhất ở bước sóng 517 nm, khi có sự hiện diện của các chất kháng oxy hóa ở nồng độ thích hợp, dung dịch sẽ chuyển sang màu vàng. Do đó, giá trị OD đo được ở bước sóng 517 nm càng thấp chứng tỏ khả năng trung hòa gốc tự do của chất kháng oxy hóa càng cao. Kết quả thực nghiệm cho thấy rằng cao chiết thiên liên có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH. Kết quả về khả năng trung hòa gốc tự do DPPH được trình bày ở Bảng 3.

**Bảng 3: Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol thân rễ thiên liên**

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH (%)
0	0 <sup>a</sup> ± 0
250	6,61 <sup>d</sup> ± 2,08
500	9,89 <sup>d</sup> ± 0,21
1000	23,91 <sup>c</sup> ± 1,99
2000	48,80 <sup>b</sup> ± 0,39
4000	78,14 <sup>a</sup> ± 2,02

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Kết quả cho thấy, hiệu suất loại bỏ gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol thiên liên tăng tuyến tính với nồng độ cao chiết, khi nồng độ cao chiết tăng từ 250 µg/mL đến 4000 µg/mL, hiệu suất loại bỏ gốc tự do cũng tăng dần từ 6,61±2,08% đến 78,14±2,02%. Ở nồng độ 2404,8±55 µg/mL, cao chiết thiên liên có hiệu quả trung hòa 50% gốc tự do DPPH (EC<sub>50</sub>). So với EC<sub>50</sub> của gallic acid là 3,63 µg/mL, hiệu quả làm sạch gốc tự do DPPH thấp hơn chất chuẩn khá nhiều. Trong nghiên cứu của Eric et al. (2011) trên cao chiết từ lá và thân của các loài thực vật thuộc họ Gừng (*Zingiberaceae*) như riêng nếp, nghệ, và cây đa lộc (*Etilingera elatior*) cho thấy có chứa các hợp chất thuộc nhóm polyphenol, nghiên cứu này cũng chứng minh các loài thực vật này có khả năng kháng oxy hóa khi khảo sát bằng phương pháp DPPH. Một nghiên cứu khác của Tanvir et al. (2017) chứng minh rằng cao chiết từ củ nghệ ở các vùng khác nhau của Bangladesh đều có khả năng kháng oxy hóa theo phương pháp DPPH và FRAP (ferric-reducing antioxidant power).

Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp ABTS: Sự giảm độ hấp thụ của dung dịch ABTS<sup>•+</sup>

bước sóng 734 nm phản ánh khả năng kháng oxy hóa của chất khảo sát khi không có và có sự hiện diện của cao chiết thiên liên ở các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy, hiệu suất loại bỏ gốc tự do của cao chiết ethanol thân rễ thiên liên tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết, khi nồng độ cao tăng từ 25 µg/mL đến 300 µg/mL, hiệu suất loại bỏ gốc tự do cũng tăng dần từ 13,88±0,62% đến 89,53±0,26% (Bảng 4). Giá trị EC<sub>50</sub> được xác định trong phương pháp này là 151,6±2,5 µg/mL, giá trị này cao hơn so với gallic acid (EC<sub>50</sub>=0,47 µg/mL), đồng nghĩa là cây thiên liên có khả năng kháng oxy hóa kém hơn chất chuẩn. Tuy nhiên, chất chuẩn là gallic acid có độ tinh sạch cao. Cao chiết thân rễ thiên liên là cao tổng có thể còn chứa một số hợp chất không có khả năng kháng oxy hóa khác nên giá trị EC<sub>50</sub> cao hơn khá nhiều so với với chuẩn. Các loài thực vật khác thuộc họ Gừng như *Etilingera belalongensis*, *Etilingera velutina*, *Zingiber vinosum* và *Zingiber pseudopungens* đã được nghiên cứu và chứng minh là có hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH, ABTS và FRAP (Farrawati *et al.*, 2012).

**Bảng 4: Hoạt tính trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup> của cao chiết ethanol thân rễ thiên liên**

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS (%)
0	–
25	13,88 <sup>±</sup> 0,62
50	24,27 <sup>d</sup> ±2,05
100	38,11 <sup>c</sup> ±2,1
200	66,43 <sup>b</sup> ±0,84
300	89,53 <sup>a</sup> ±0,26

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

**Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp RP:** Hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết ethanol thân rễ thiên liên dựa trên năng lực khử sắt được tính tương đương µg/mL gallic acid. Kết quả được trình bày trong Bảng 5. Hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong cao chiết ethanol thiên liên được tính tương đương với gallic acid dựa vào đường chuẩn  $y = 0,0758x - 0,0004$  ( $R^2 = 0,991$ ). Kết quả cho thấy, nồng độ cao chiết tăng từ 30 µg/mL đến 200 µg/mL, hàm lượng chất kháng oxy hóa tăng dần tương ứng từ 0,19±0,05 đến 1,23±0,08 µg/mL (Bảng 5). Kết quả này cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết.

**Bảng 5: Hiệu quả khử sắt của cao chiết ethanol thân rễ thiên liên**

Nồng độ cao chiết (µg/mL)	Khả năng khử sắt (%)	Hàm lượng gallic acid tương đương (µg/mL)
0	–	–
30	12,54 <sup>d</sup> ± 3,43	0,19 <sup>d</sup> ± 0,05
70	24,28 <sup>c</sup> ± 2,37	0,35 <sup>c</sup> ± 0,02
130	61,13 <sup>b</sup> ± 2,09	0,88 <sup>b</sup> ± 0,02
200	85,16 <sup>a</sup> ± 4,07	1,23 <sup>a</sup> ± 0,08

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết thiên liên ở các nồng độ khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Kết quả này cho thấy rằng hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết thiên liên (EC<sub>50</sub>= 116,5±4,8 µg/mL) thấp hơn khả năng kháng oxy hóa của chất chuẩn là gallic acid (EC<sub>50</sub>=0,71 µg/mL). Tuy nhiên, cao chiết thiên liên có khả năng hấp thu gốc tự do cao hơn dịch trích lá xoài non (*Mangifera indica* L., EC<sub>50</sub>=313,9 µg/mL) khi khảo sát cùng phương pháp RP (Nguyễn Thị Ái Lan và Đái Thị Xuân Trang, 2018).

### 3.3 Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa *in vivo*

Khả năng kháng oxy hóa *in vivo* của cao chiết từ thân rễ thiên liên được trình bày ở Bảng 5. Kết quả khảo sát cho thấy cao chiết từ thân rễ cây thiên liên có khả năng kháng oxy hóa khá tốt. Với nghiệm thức ruồi được nuôi 10 ngày có bổ sung cao chiết thiên liên ở nồng độ 0,5 mg/mL thức ăn và sau đó bố trí thí nghiệm trong điều kiện có H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hoặc PQ đều làm tăng thời gian sống sót so với nghiệm thức không bổ sung cao chiết.

Trong điều kiện có PQ và có bổ sung cao chiết thiên liên, thời gian sống sót trung bình của nghiệm thức có bổ sung 0,5 mg/mL là 15,63 giờ cao hơn so với đối chứng là 11,2 giờ. Tương tự, thời gian còn 50% sống sót khi bổ sung thêm cao thiên liên ở nồng độ 0,5 mg/mL cao hơn so với đối chứng. Thời gian sống sót tối đa khi có mặt PQ cũng là một tiêu chí đánh giá khả năng kháng oxy hóa của cao chiết từ thiên liên. Đây cũng là thời gian còn 10% số ruồi sống sót. Ở nghiệm thức có bổ sung cao chiết thời gian còn 10% sống sót cao hơn so với đối chứng (25,17 giờ so với 21 giờ) (Bảng 6).

**Bảng 6: Hiệu quả kháng oxy hóa *in vivo* của cao chiết thiên liên trong điều kiện có PQ**

Nghiệm thức	Thời gian trung bình sống sót (giờ)	Thời gian còn 50% sống sót (giờ)	Thời gian còn 10% sống sót (giờ)
Đối chứng	11,20 ± 1,64 <sup>b</sup>	8,00 ± 3,46 <sup>b</sup>	21,00 ± 2,59 <sup>a</sup>
0,5 mg/mL cao chiết	15,63 ± 1,88 <sup>a</sup>	13,33 ± 2,31 <sup>a</sup>	25,17 ± 5,01 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng t-test.

Trong điều kiện có H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và có bổ sung cao chiết thiên liên thì thời gian sống sót trung bình của nghiệm thức có bổ sung 0,5 mg/mL là 37,53 giờ cao hơn so với đối chứng là 20,87 giờ. Tương tự, thời gian còn 50% sống sót và thời gian sống sót tối đa (thời gian còn 10% số ruồi sống sót) khi có mặt H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

là các tiêu chí đánh giá khả năng kháng oxy hóa của cao chiết từ thiên liên. Ở nghiệm thức có bổ sung 0,5 mg/mL, thời gian còn 50% và 10% sống sót cao hơn đối chứng và có khác biệt về mặt thống kê. Thời gian còn 50% và 10% sống sót lần lượt gấp 1,96 và 1,69 lần so với đối chứng (Bảng 7).

**Bảng 7: Hiệu quả kháng oxy hóa *in vivo* của cao chiết thiên liên trong điều kiện có H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Nghiệm thức	Thời gian trung bình sống sót (giờ)	Thời gian còn 50% sống sót (giờ)	Thời gian còn 10% sống sót (giờ)
Đối chứng	20,87±1,90 <sup>a</sup>	15,33± 0,58 <sup>a</sup>	35,33±0,78 <sup>a</sup>
0,5 mg/mL cao chiết	37,53± 0,64 <sup>b</sup>	30,00± 2,65 <sup>b</sup>	59,67± 0,51 <sup>b</sup>

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng t-test.

Các khảo sát trước đây đã chứng minh rằng các hợp chất từ thực vật thuộc nhóm phenolic, alkaloid, flavonoid và tanin có hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* và *in vivo* (Lee *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2011). Nghiên cứu này đã chứng minh cao chiết từ thân rễ thiên liên có hiện diện các hợp chất kể trên và có tác dụng kháng oxy hóa tốt thông qua thí nghiệm trong điều kiện *in vitro* và *in vivo*. Do vậy, kết quả của nghiên cứu là phù hợp với các công trình nghiên cứu trước đây.

#### 4 KẾT LUẬN

Từ các kết quả khảo sát cho thấy, cao chiết ethanol từ thân rễ cây thiên liên có hiện diện các hợp chất hóa học có dược tính tốt. Kết quả khảo sát *in vitro* (sử dụng ba phương pháp DPPH, ABTS và RP) và *in vivo* (sử dụng mô hình ruồi giấm hoang dại) cho thấy thiên liên có hoạt tính kháng oxy hóa khá tốt. Nghiên cứu *in vivo* đã cung cấp thêm bằng chứng cụ thể về khả năng kháng oxy hóa của thiên liên trên cơ thể sống. Từ đó cho thấy, thiên liên là loài thảo dược có nhiều tiềm năng cho các nghiên cứu về các dược chất có tác dụng kháng oxy hóa trên người.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bag, G.C., Devi P.G. and Bhaigyabati T., 2015. Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* species of Manipur valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 30(1): 154-159.

Bier, E., 2005. *Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics. *Nat Rev Genet*. 6(1): 9-23.

Chu, D.M., Miles H., Toney D., Nguyen C. and Marciano-Cabral F., 1998. Amebicidal activity of plant extracts from Southeast Asia on *Acanthamoeba* spp. *Parasitology Research*. 84(9): 746-752.

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương *et al.*, 2004. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Tập I. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

Eric, W.C., Voon P.N., Vi V.T. and Yin Y.L., 2011. Antioxidant and antibacterial properties of *Alpinia galanga*, *Curcuma longa*, and *Etilingera elatior* (Zingiberaceae). *Pharmacognosy Journal*. 3(22): 54-61.

Sabli, F., Mohamed, M., Rahmat, A., Ibrahim, H., and Abu Bakar, M.F., 2012. Antioxidant properties of selected *Etilingera* and *Zingiber* species (Zingiberaceae) from Borneo island. *International Journal of Biological Chemistry*. 6(1): 1-9.

Jasuja, N.D., Sharma, S.K., Saxena, R., Choudhary, J., Sharma, R. and Joshi, S.C., 2013. Antibacterial, antioxidant and phytochemical investigation of *Thuja orientalis* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(25): 1886-1893.

Kho, Y.S., Vikineswary S., Abdullah N., Kuppasamy U.R. and Oh H.I., 2009. Antioxidant capacity of fresh and processed fruit bodies and mycelium of *Auricularia auricula-judae* (Fr.) Quel. *Journal Medicinal Food*. 12(1): 167-174.

- Kim, N.J., Byun S.G., Cho J.E., Chung K. and Ahn Y.J., 2008. Larvicidal activity of *Kaempferia galanga* rhizome phenylpropanoids towards three mosquito species. *Pest Management Science*, 64(8): 857-62.
- Lee, J., Koo, N. and Min, D.B., 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 3(1): 21-33.
- Miliauskas, G., Venskutonis P.R. and Beek T.A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*. 85: 231-237.
- Nahid, P., 2013. Phenolic Compounds as Potential Antioxidant. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 8(4): 149-150.
- Nguyễn Thị Ái Lan và Đái Thị Xuân Trang, 2018. Khả năng kháng oxy hóa và bảo vệ tế bào MIN6 tụy tạng của dịch trích methanol lá xoài non (*Mangifera indica* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 54(7A): 85-93.
- Nikolaos, N., Wang, L.F., Tsimidou, M. and Zhang, H.Y., 2004. Estimation of scavenging scitivity of phenolic compounds using the ABTS<sup>+</sup> assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(15): 4669-4674.
- Nor, A.M.O., Noorlidah, A., Umah, R., Kuppusamy, M., Ameen, A. and Vikineswary, S., 2011. Nutritional composition, antioxidant activities, and antiulcer potential of *Lentinus squarrosulus* (Mont.) Mycelia extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011: 8.
- Norajit, K., Laohakunjit, N. and Kerchoechuen, O., 2007. Antibacterial effect of five Zingiberaceae essential oils. *Molecules*. 12(8): 2047-2060.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Society of Nutrition and Dietetics*. 44: 307-31.
- Padma, R., Parvathy N.G., Renjith V. and Kalpana P.R., 2013. Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrical*. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 4(1): 73-77.
- Phạm Hoàng Hộ, 2003. *Cây cỏ Việt Nam (Quyển II)*, Nxb Trẻ Thành phố Hồ Chí Minh.
- Sharma, O.P. and Bhat T.K., 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*. 113(4): 1202-1205.
- Singleton, V. L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R. M., 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299C(1): 152-178.
- Tanvir, E.M., Hossen, M.S., Hossain, F., Afroz, R., Siew, H.G., Khalil, I. and Karim, N., 2017. Antioxidant properties of popular turmeric (*Curcuma longa*) varieties from Bangladesh. *Journal of Food Quality*. 2017: 8 pages.
- Trần Thanh Mến, Nguyễn Đình Hải Yến, Huỳnh Thị Kim Nguyên, Huỳnh Kim Yến, Nguyễn Phương Anh Thư và Đái Thị Xuân Trang, 2019. Xây dựng mô hình ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) để nghiên cứu dược liệu có hoạt tính kháng oxy hóa. *TNU Journal of Science and Technology*. 202(09): 165-171.
- Vimala, S., Norhanom A.W. and Yadav M., 1999. Anti-tumor promoter activity in Malaysian ginger rhizomeused in traditional medicine. *British Journal of Cancer*. 80: 110-116.
- Williams, R.J., Spencer, J.P. and Rice-Evans, C., 2004. Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules?. *Free Radic Biol Med*. 36(7): 838-849.
- Wu, Y.Y., Li, W., Xu, Y., Jin, E.H. and Tu, Y.Y., 2011. Evaluation of the antioxidant effects of four main theaflavin derivatives through chemiluminescence and DNA damage analyses. *Journal of Zhejiang University Science B*. 12(9): 744-751.