

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA CỦA LÁ TRÂM MỐC

Lý Hồng Hương Hạ¹, Trần Trung Trính¹,
Đặng Thị Lệ Thủy¹, Võ Thị Bích Ngọc¹, Đỗ Chiêm Tài^{2,*}

TÓM TẮT

Cây Trâm mốc (*Syzygium cumini*), họ Sim (Myrtaceae), còn gọi là cây Vối rừng đã được dùng làm thức uống truyền thống của người dân Việt Nam. Các bộ phận khác nhau của Trâm mốc đều có tác dụng chống viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, chống sốt rét và trị bệnh đái tháo đường. Trong nghiên cứu này, thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết lá Trâm mốc được nghiên cứu. Tiến hành khảo sát sơ bộ các nhóm chất chính theo phương pháp Ciulei cho thấy, lá Trâm mốc có mặt các nhóm chất chính như flavonoid, proanthocyanidin, tanin, triterpenoid, axit hữu cơ, carotenoid, tinh dầu và hợp chất polyuronic. Chiết ngấm kiệt bột nguyên liệu khô từ lá Trâm mốc bằng ethanol 80% và lắc phân bố với các dung môi *n* - hexan, cloroform, ethyl acetat để thu cao toàn phần và các cao phân đoạn. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết được đánh giá bằng thử nghiệm quét gốc tự do DPPH. Kết quả cho thấy, ở mức liều 18 µg/mL, các cao chiết đều có khả năng chống oxy hóa, trong đó, cao phân đoạn etyl acetat có hoạt tính quét gốc tự do DPPH cao nhất 94,50%.

Từ khóa: Chống oxy hóa, DPPH, flavonoid, hóa thực vật, Trâm mốc.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trâm mốc, hay gọi là cây Vối rừng, có tên khoa học là *Syzygium cumini*, họ Sim (Myrtaceae). Cây có nguồn gốc từ Ấn Độ, được trồng nhiều ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Các bộ phận khác nhau của Trâm mốc đều có tác dụng chống viêm, kháng khuẩn, kháng nấm, chống sốt rét và trị bệnh đái tháo đường. Lá Trâm mốc có chứa các flavonoid (catechin, kaempferol, myricetin, myricetin 3 - *O* - β - D - glucuronopyranosid), tanin, anthocyanin, các hợp chất terpene (α - pinen, α - cadinol, pinocarvon, pinocarveol, α - terpeneol, myrtenol, triterpenoid), tinh dầu (α - terpeneol, myrenol, muurolol, α - myrtenal, α - geranyl acetone) [1]. Tannin được bổ sung vào liều uống để bảo vệ niêm mạc dạ dày hoặc giảm tiêu chảy bằng cách ức chế nhu động ruột. Myricetin thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, tác dụng chống ung thư, ức chế sự tăng sinh trong tế bào bạch cầu. Đặc biệt, lá Trâm mốc có chứa polyphenol, được biết đến là một hoạt chất có khả năng chống oxy hóa cao. Tổng hàm lượng phenolic khoảng 2.133 mg GAE - 2.250 mg GAE trên 100 g bột lá khô [2], [3]. Tại Việt Nam, Trâm mốc ít được biết đến, trong khi

đó, đây lại là loại cây có chứa nhiều hoạt tính sinh học quý. Trong nghiên cứu này, lá Trâm mốc được nghiên cứu về thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của cao tổng và cao phân đoạn. Kết quả nghiên cứu tạo tiền đề trong việc phát triển các chế phẩm điều trị bệnh, góp phần nâng cao giá trị của Trâm mốc.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Lá Trâm mốc thu hái tại Củ Chi, thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu dược liệu đã được xác định tên khoa học theo Võ Văn Chi (2015) [11] là *Syzygium cumini* (L.) Skeels., thuộc họ Sim (Myrtaceae). Lá được xay nhuyễn, sấy khô và bảo quản để làm bột nguyên liệu nghiên cứu.

Bột nguyên liệu khô được chiết xuất bằng phương pháp ngấm kiệt và chiết phân bố lỏng - lỏng thu cao toàn phần và các cao phân đoạn.

2.2. Hóa chất

Dung môi ethanol, *n* - hexan, cloroform, ethyl acetat, methanol, thuốc thử DPPH và axit ascorbic do Sigma Aldrich cung cấp. Nước cất hai lần được sử dụng trong suốt quá trình nghiên cứu. Các thuốc thử được sử dụng trong phân tích thành phần hóa học thực vật là: Carr - Price, axit sulfuric đậm đặc, Liebermann - Burchard, Dragendoff, Valse - Mayer,

¹ Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

² Phòng Nghiên cứu Khoa học, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

* Email: taidec@hiu.vn

Bouchardat, Bertrand, axit hydrocloric, kali hydroxyd, natri carbonat, Fehling.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Sơ bộ về thành phần hóa thực vật: Lá Trâm mốc được khảo sát thành phần hóa học theo phương pháp Ciulei cải tiến [4].

2.3.2. Chiết xuất cao toàn phần và cao phân đoạn: 10 kg lá Trâm mốc được chiết ngấm kiệt với ethanol 80%, thu được 90 L dịch chiết, cô quay áp suất giảm thu được 16 L cao toàn phần. 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, cloroform, ethyl acetat. Dịch chiết thu được đem cô quay thì thu được 17,65 g cao đặc *n* - hexan, 81,06 g cao đặc cloroform, 236,26 g cao đặc ethyl acetat

2.3.3. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa trên mô hình in vitro bằng phương pháp DPPH: Các chất nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa theo cơ chế bắt gốc tự do và làm giảm màu của DPPH, xác định khả năng này bằng SKLM và đo quang ở bước sóng 517 nm.

Chuẩn bị dung dịch thuốc thử bằng cách pha DPPH 0,5 mM trong methanol; lưu ý: pha xong dùng ngay, đựng trong lọ thủy tinh màu. Pha dung dịch đối chiếu axit ascorbic nồng độ 0,8 µg/mL, 1,2 µg/mL, 1,6 µg/mL, 2,0 µg/mL, 2,4 µg/mL, 2,8 µg/mL, 3,2 µg/mL trong methanol để xác định IC₅₀ và so sánh kết quả với mẫu thử.

Khảo sát hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của năm mẫu cao gồm cao toàn phần (Côn), cao *n* - hexan (HEX), cao chloroform (CHCl₃), cao ethyl acetat (EA), cao nước (H₂O). Các mẫu cao được pha ở cùng nồng độ 18 µg/mL trong methanol (Bảng 1).

Khảo sát động học sẽ xác định thời gian phản ứng giữa mẫu 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 tiến hành đo quang.

Bảng 1. Cách pha mẫu đo của phương pháp DPPH

Ống	Dung dịch thử (mL)	Methanol (mL)	Dung dịch DPPH (mL)
Trắng	0	4	0
Chứng	0	3,5	0,5
Mẫu 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 (1).

$$HTCO(\%) = \frac{(Abs_c - Abs_m)}{(Abs_c - Abs_t)} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó: Abs_{c, m, t} lần lượt là mật độ quang của chứng, mẫu thử và trắng.

2.3.4. Khảo sát thành phần hóa học cao toàn phần và các cao phân đoạn bằng phương pháp SKLM: Kiểm tra các cao phân đoạn bằng SKLM trên bản silica gel với hệ dung môi: ethyl acetat - axit formic (10:1), phát hiện bằng đèn UV 254 nm, 365 nm, TT VS, TT FeCl₃ 5%.

2.3.5. 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).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sơ bộ khảo sát các nhóm chất chính bằng phản ứng hóa học đặc trưng

Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật lá Trâm mốc bằng phương pháp Ciulei cải tiến cho thấy, ở phân đoạn kém phân cực có sự hiện diện của các nhóm chất bao gồm chất béo, 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, proanthocyanidin, axit hữu cơ, chất khử, hợp chất polyuronic (Bảng 2).

Bảng 2. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật lá Trâm mốc

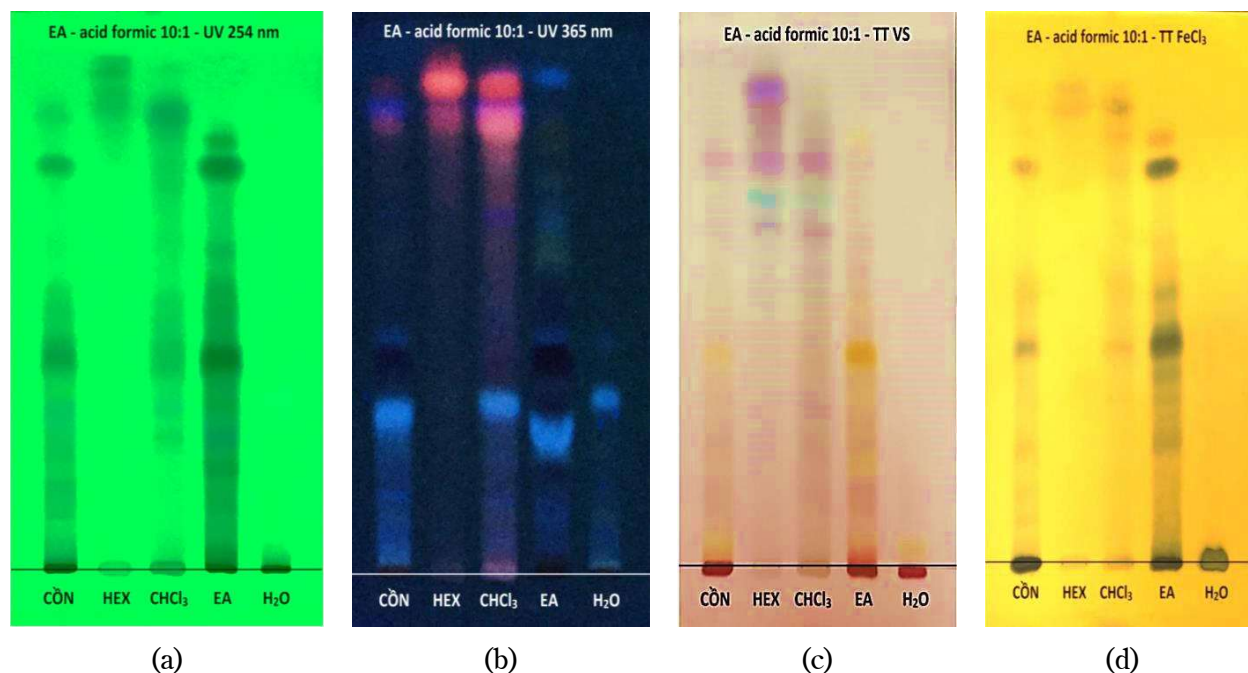
Nhóm hợp chất	Thuốc thử/cách thực hiện	Phản ứng dương tính	Kết quả định tính trên các dịch chiết					Kết luận
			Dịch chiết ether	Dịch chiết cồn		Dịch chiết nước		
				Không thủy phân	Thủy phân	Không thủy phân	Thủy phân	
Chất béo	Nhỏ dung dịch lên giấy	Vết trong mờ	-					-

Carotenoid	Carr - Price	Xanh → đỏ	+					+
	H ₂ SO ₄	Xanh dương hay lục → xanh dương	+					+
Tinh dầu	Bốc hơi tới cẩn	Có mùi thơm	+					-
Triterpenoid tự do	Liebermann - Burchard	Đỏ nâu - tím, lớp trên có màu xanh lục	++					++
Alkaloid	Thuốc thử chung alkaloid	Kết tủa	-	-		-		-
Coumarin	Phát quang trong kiềm	Phát quang mạnh hơn	-	-	-			-
Anthraglycosid	KOH 10%	Dd kiềm có màu hồng tới đỏ	-		-		-	-
Flavonoid	Mg/HCl đun	Dd có màu hồng tới đỏ	-	+++	+++	-	+++	+++
Anthocyanosid	HCl	Đỏ						
	KOH	Xanh		-		-		-
Proanthocyanidin	HCl/to	Đỏ		+++		+++		+++
Tanin	Dung dịch FeCl ₃	Xanh rêu hay xanh đen		+++		+++		+++
	Dung dịch gelatin muối	Tủa bông trắng		+++		+++		+++
Triterpenoid thủy phân	Liebermann - Burchard	Đỏ nâu - tím, lớp trên có màu xanh lục			++		++	++
Saponin	Thuốc thử Liebermann	Có vòng tím nâu		-		-		-
	Lắc mạnh dung dịch nước			-		-		-
Axit hữu cơ	Na ₂ CO ₃	Sủi bọt		++		++		++
Chất khử	Thuốc thử Fehling	Tủa đỏ gạch		++		++		++
Hợp chất polyuronic	Pha loãng với cồn 90%	Tủa bông trắng - vàng nâu				+		+

3.2. Khảo sát thành phần hóa học cao toàn phần và các cao phân đoạn bằng phương pháp SKLM

Bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng với dung môi có độ phân cực tăng dần với mục đích làm giàu các nhóm chất có độ phân cực khác nhau vào các dung môi có độ phân cực khác nhau như cồn 80%, *n*-hexan, cloroform, ethyl acetat, để làm cơ sở lựa chọn phân đoạn phù hợp trong phân lập và tinh chế các hợp chất chính của cây Trâm mốc. Trong số các cao phân đoạn này, cao ethyl acetat có ít tạp, nhiều thành phần và chiếm khối lượng lớn nhất nên được chọn làm cao phân tách sau này (Hình 1).

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học thực vật cho thấy sự hiện diện của các nhóm hợp chất đa dạng với độ phân cực khác nhau, trong đó có sự hiện diện các polyphenol. Các nhóm hợp chất này được báo cáo có nhiều hoạt tính sinh học, có giá trị trong trị liệu. So sánh với các tài liệu trước đây cho thấy có sự tương đồng với kết quả nghiên cứu của Saikat và Raja (2011) [5], Alhakmani và cs (2013) [6], Archana và cs (2016) [7], Xu và cs (2017) [8], Lee và cs (2017) [9]. Tuy nhiên, có một chút khác biệt khi trong nghiên cứu này lại cho thấy, có sự hiện diện của các nhóm hợp chất như chất béo, flavonoid, proanthocyanidin, axit hữu cơ [9], [10], [12].



Hình 1. SKLM cao cồn và các phân đoạn tương ứng

Ghi chú: cồn: cao cồn 80%; HEX: cao phân đoạn *n*-hexan, CHCl_3 : cao phân đoạn Choloform, EA: cao phân đoạn ethyl acetat, H_2O : cao nước. Cách phát hiện vết: (a): UV 254 nm; (b): UV 365 nm; (c): TT VS; (d): TT FeCl_3

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* bằng phương pháp quét gốc tự do DPPH của các cao chiết



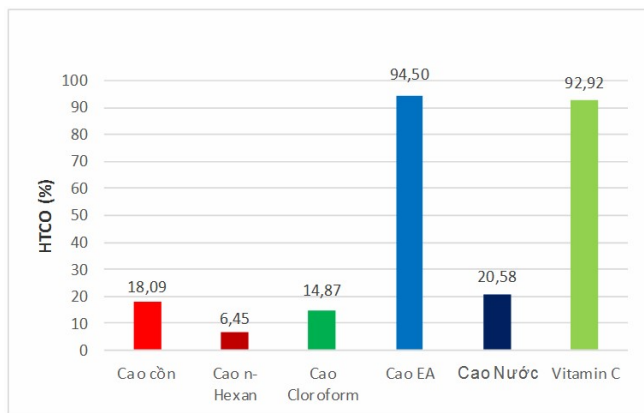
Hình 2. Sắc ký đồ của các cao phân đoạn Trâm mốc với DPPH

Kiểm tra trên SKLM, với năm loại cao thử gồm cao toàn phần (Cồn), cao *n*-hexan (HEX), cao chloroform (CHCl_3), cao ethyl acetat (EA), cao nước (H_2O). Các mẫu được chấm đồng lượng trên bản mỏng silica gel. Bản mỏng tráng sẵn silica gel F_{254} của hãng Merck, không hoạt hóa thêm. Dung môi khai triển là EtOAc - axit formic (10 : 1). Phát hiện bằng dung dịch DPPH/ MeOH (0,5 mM). Phản ứng để trong tối trong 30 phút.

Hình 2 cho thấy, sắc ký đồ cao EA có tác dụng chống oxy hóa mạnh do làm mất màu DPPH rõ hơn các cao còn lại và được đánh giá cụ thể hơn thông qua phương pháp đo quang (Bảng 3, hình 3).

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm HTCO bằng phương pháp DPPH trên các mẫu cao với mức liều 18 µg/mL

STT	Mẫu	Abs mẫu đo				HTCO (%)
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
1	Chứng	0,951	0,951	0,95	0,9507	
2	Cao cồn	0,774	0,775	0,787	0,7787	18,09
3	Cao <i>n</i> -Hexan	0,888	0,89	0,89	0,8893	6,45
4	Cao CHCl ₃	0,809	0,809	0,81	0,8093	14,87
5	Cao EA	0,053	0,052	0,052	0,0523	94,50
6	Cao H ₂ O	0,755	0,755	0,755	0,7550	20,58
7	Axit ascorbic	0,067	0,068	0,067	0,0673	92,92



Hình 3. Biểu đồ kết quả thử HTCO của các phân đoạn cao chiết

Hình 3 cho thấy, ở mức liều 18 µg/mL, hoạt tính chống oxy hóa giảm dần theo thứ tự là cao ethyl acetat (94,50%) > cao nước (20,58%) > cao cồn (18,09%) > cao cloroform (14,87%) > cao *n*-hexan (6,45%). Trong đó, cao ethyl acetat là cao có khả năng quét gốc tự do DPPH tốt nhất, cao hơn so với chất đối chứng axit ascorbic (vitamin C). Do đó, cao ethyl acetat chiết từ lá Trâm mốc có tiềm năng tiến hành phân tích thành phần hóa học, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các chất trong thí nghiệm về sau.

4. KẾT LUẬN

Lá Trâm mốc được thu hái tại huyện Củ Chi, thành phố Hồ Chí Minh đã được xác định có chứa các thành phần hóa học như: flavonoid, proanthocyanidin, tanin, triterpenoid, axit hữu cơ, carotenoid, tinh dầu và hợp chất polyuronic. Cao chiết toàn phần và các cao chiết phân đoạn từ lá Trâm mốc ở mức liều 18 µg/mL 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 (94,50%). Kết quả đã cung cấp dữ liệu về hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của lá Trâm mốc, 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 theo định hướng tác dụng sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Muniappan A. và Pandurangan S. B. (2012). *Syzygium cumini* (L.) Skeels: a review of its phytochemical constituents and traditional uses. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 2 (3), p. 240 - 246.
2. Chhikara N., Kaur R., Jaglan S., Sharma P., Gat Y. Panghal A. I. (2018). Bioactive compounds and pharmacological and food applications of *Syzygium cumini* - a review", *Food & Function*, 9 (12), p. 6096 - 6115.
3. Ganesh C. J., Prakash C. S. and Mamidipudi S. V. (2012). Inhibition of radiation - induced DNA damage by jamun, *Syzygium cumini*, in the cultured splenocytes of mice exposed to different doses of gamma - radiation, *Integr Cancer Ther*, 11 (2), p. 141 - 153.
4. Bộ môn Dược liệu (2015). *Giáo trình phương pháp nghiên cứu dược liệu*. Khoa Dược - Trường Đại học Y dược thành phố Hồ Chí Minh.
5. Alhakmani F., Kumar S. và Khan S. A. (2013). Estimation of total phenolic content, *in-vitro* antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*, *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 3 (8): 623 - 627.
6. Xu D. P., Li Y., Meng X., Zhou T., Zhou Y., Zheng J., Zang J. J. và Li H. B. (2017). Natural antioxidants in foods and medical plants: extraction, assessment and resource, *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (1) p. 96 - 128.
7. Lee M. T., Lin W. C., Yu B. và Lee T. T. (2017). Antioxidant capacity of phytochemicals and their potential effects on oxidative status in animal – A review, *Asian – Australasian Journal of Animal Sciences*, 30 (3), p. 299 - 308.

8. Archana N. P., Diwan A. D. and Chandra S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5 (e47), p. 1 - 15.
9. Saikat S. và Raja C. (2011). The role of antioxidants in human health. *ACS Symposium series*, 1083, p. 1 - 37.
10. Võ Văn Chi (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Tập 2. Nxb Y học, thành phố Hồ Chí Minh.
11. Võ Văn Chi (2015). *Bài thuốc hay từ cây thuốc quý*. Nxb Y học, Hà Nội.
12. Đỗ Huy Bích và cs (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Tập 2. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

**PHYTOCHEMICAL CONSTITUENTS AND ANTI - OXIDANT ACTIVITY
OF THE LEAF EXTRACT FROM *Syzygium cumini* (L.)**

Ly Hong Huong Ha, Tran Trung Trinh,

Dang Thi Le Thuy, Vo Thi Bich Ngoc, Do Chiem Tai

Summary

Leaves of *Syzygium cumini* (L.) Skeels. is a popular medicinal herb, which is used for preparing traditional beverage or decoction. Extracts from that medicinal plant were effectively demonstrated on treatment of dyspepsia, diarrhea, and dysentery. In this study, preliminary analysis of phytochemical composition and antioxidant activity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels. leaf extracts were investigated. The phytochemical composition of the leaves of *Syzygium cumini* (L.) Skeels was analyzed by the Ciulei method, which showed that the leaf of *Syzygium cumini* L. Myrtaceae contains flavonoids, proanthocyanidins, tannins, triterpenoids, polyuronics, phenolic acids, carotenoids, essential oils. Dried and ground to coarse powders of *Syzygium cumini* (L.) was extracted with ethanol 80%, partitioned with *n* - hexane, chloroform, ethyl acetate to obtain extract and its fractions. The antioxidant activity of those extracts was evaluated by DPPH method. The results showed that the extracts have good DPPH free radical scavenging activities, and the ethyl acetate fraction has the highest level at 94.50%.

Keywords: *Antioxidant, DPPH, phytochemicals, flavonoids, Syzygium cumini.*

Người phản biện: PGS.TS. Đỗ Thị Hà

Ngày nhận bài: 10/12/2021

Ngày thông qua phản biện: 10/01/2022

Ngày duyệt đăng: 18/01/2022