

THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA *IN VITRO* CỦA CAO HEXANE CÂY BA KÍCH (*Morinda Officinalis*) Ở TỈNH ĐẮK LẮK

Ngũ Trường Nhân¹, Vũ Thị Thu Lê^{2,*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu thành phần hóa học của cao chiết rễ Ba kích bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS đã xác định được sự có mặt của 23 hợp chất trong đó có một số thành phần chính gồm *n*-hexadecanoic acid (10,53%), 2-methyl-9,10-anthracenedione, (1,39%), 9,12-octadecadienoic acid (*Z,Z*)-(12,77%), oleic acid (4,49%), octadecanoic acid (3,16%), 9,10-anthracenedione, 2-hydroxy-1-methoxy (3,17%), campesterol (4,17%), stigmasterol (5,86%) và sitosterol (14,73%). Kết quả đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết hexane bằng phương pháp DPPH cho thấy, cao chiết thể hiện khả năng thu dọn gốc tự do DPPH rất mạnh, với giá trị $IC_{50} = 1,03 \mu\text{g/mL}$, mạnh hơn rất nhiều so với đối chứng dương acid ascorbic ($IC_{50} = 34,99 \mu\text{g/mL}$).

Từ khóa: Ba kích, Đắk Lắk, GS-MS, hexane, hoạt tính kháng oxy hóa.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ba kích (*Morinda officinalis*), hay còn gọi ba kích thiên (nhàu thuốc, ruột gà), là loài thực vật thuộc chi Nhàu (*Morinda*), họ Cà phê [1]. Các công bố trước đây cho thấy, Ba kích được tìm thấy ở những nơi có độ cao từ 30 m so với mặt nước biển (Khánh Hòa, Ninh Thuận, Quảng Ninh) đến các vùng núi cao nguyên (như Gia Lai, Đắk Lắk, Lâm Đồng) với độ cao khoảng 1.200 m so với mặt nước biển [2].

Những năm gần đây, cùng với một số loại cây dược liệu đang được quan tâm nhờ khả năng tăng cường chức năng sinh dục nam giới thì rễ cây Ba kích đã chứng minh tác dụng tăng cường chức năng sinh dục nam trên mô hình các thử nghiệm sinh học [3, 4, 5].

Theo dân gian, hầu như bộ phận nào của Ba kích cũng đều có thể sử dụng làm dược liệu, bao gồm hoa, quả, lá, rễ, củ. Tuy nhiên, bộ phận có công dụng tốt nhất và được sử dụng nhiều nhất phải kể đến là rễ và củ Ba kích có tác dụng bổ thận, tăng cường gân cốt, tăng sức đề kháng, sức dẻo dai và trị phong thấp, giảm huyết áp, hạ đường huyết, bổ não, giúp ăn ngủ ngon, phụ nữ kinh nguyệt không đều [6, 7].

Một số hợp chất hóa học có trong cây Ba kích (*Morinda officinalis* How.) gồm: 12 α -hydroxyevodol

và friedelan-3-on, morindolide (iridoid lactone), morofficaloside (iridoid glucoside), anthraquinones, monoterpene glycoside, triterpene, lactone [7, 8], iridoid glycoside và monotropein [9, 10], polysaccharide [11, 12], fumaric acid, stigmasterol, daucosterol và anthraquinone-2-carboxylic acid [13], 1,2-dimethoxyanthraquinone, alizarin-2-methyl ether và rubiadin-1-methyl ether [14]. Ngoài ra, Yoon và cs. (2017) đã phân lập và xác định được cấu trúc 10 hợp chất từ rễ cây ba kích ở Kyung-Dong, Seoul, Hàn Quốc gồm: alizarin-1-methyl ether, 1,2-dimethoxy-3-hydroxy anthraquinone, 2-methoxy anthraquinone, 2-hydroxymethyl-3-methoxy anthraquinone, 2-hydroxymethyl-3-hydroxy anthraquinone, rubiadin-1-methyl ether, 1-hydroxy-3-hydroxymethyl anthraquinone, rubiadin, scopoletin, và β -sitosterol [15].

Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây Ba kích cho thấy các hợp chất chính anthraquinon có tác dụng chống loãng xương, chống viêm và cải thiện trí nhớ [16, 17].

Nghiên cứu này tiếp tục khảo sát các thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của bộ phận rễ cây Ba kích nhằm góp phần bổ sung thêm về thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của cây Ba kích được đầy đủ và hệ thống.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Cây Ba kích (*Morinda officinalis*) thu hái tại huyện Chư kuin, tỉnh Đắk Lắk vào thời điểm tháng 01/2020. Mã số: BKH DL, được định danh bởi

¹Trường Đại học Tây Nguyên

²Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

*Email: vuthithule@tuaf.edu.vn

Trương Bá Phong, Bộ môn Sinh học, Trường Đại học Tây Nguyên.

Bộ phận dùng: rễ cây Ba kích.

2.2. Phương pháp tạo cao chiết

Toàn bộ rễ cây Ba kích sau khi thu hái về được rửa sạch, loại bỏ phần hư hỏng, phơi khô. Sau đó mẫu được xay nhỏ và được ngâm chiết kiệt nhiều lần bằng hexane ở nhiệt độ phòng.

Dịch chiết được đuổi kiệt dung môi bằng thiết bị cất quay thu hồi dung môi, thu được cao chiết hexane.

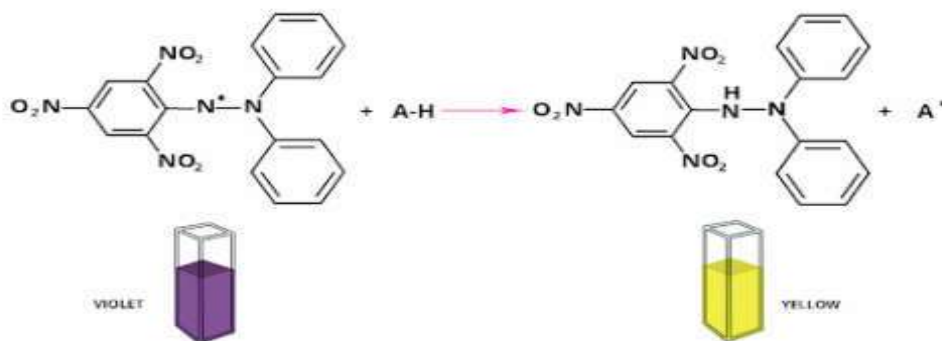
2.3. Phương pháp xác định thành phần hóa học

Thành phần hóa học của rễ cây Ba kích được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry-NIST 17), được đo tại Viện Công nghệ

Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên. Sử dụng máy GC/MS của hãng Thermo Trace GC Ultra – ITQ900. Cột sắc ký TG-SQC với chiều dài 30 m, đường kính trong (ID) = 0,25 mm, lớp phim mỏng 0,25 μm. Khí mang He. Nhiệt độ buồng bơm mẫu (kỹ thuật chương trình nhiệt độ - PTV) 230°C. Nhiệt độ Detector 260°C. Chương trình nhiệt độ buồng điều nhiệt 60°C (2 phút), tăng 4°C/phút cho đến 200°C, dừng ở nhiệt độ này trong 5 phút, tăng 10°C/phút cho đến 260°C, dừng ở nhiệt độ này trong 10 phút.

2.4. Thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa của cây Ba kích được thực hiện tại Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên. Quá trình thử nghiệm được thực hiện theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH, mẫu thử được hòa tan trong methanol.



Hình 1. Sự thay đổi màu sắc trước và sau phản ứng của dung dịch DPPH

Khả năng bắt gốc tự do DPPH được tính theo công thức sau:

$$\%IC = \frac{OD_{\text{Chứng}} - OD_{\text{Thử}}}{OD_{\text{Chứng}} - OD_{\text{Trắng}}} \times 100\%$$

Trong đó: OD chứng là độ hấp thụ của mẫu đối chứng (không chứa mẫu); OD thử là độ hấp thụ của mẫu; OD trắng là độ hấp thụ của mẫu trắng (methanol). Giá trị IC_{50} của mẫu thử và mẫu đối chứng dựa vào phương trình tuyến tính giữa nồng độ và % hoạt tính bắt gốc tự do của chúng, tính theo công thức:

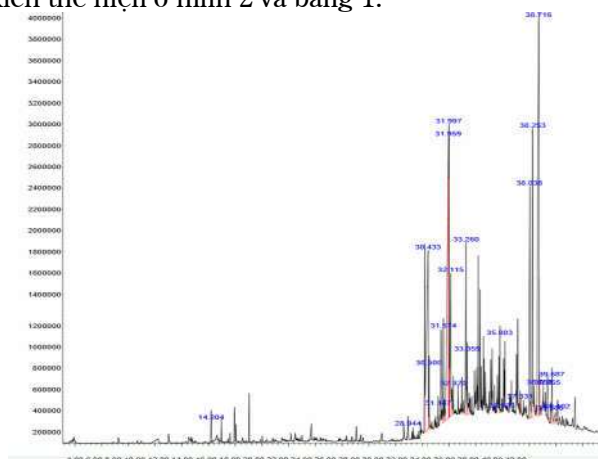
$$IC_{50} = \frac{50 - b}{a}$$

Trong đó: IC_{50} là nồng độ mẫu thử có thể bắt được 50% gốc tự do DPPH; a, b: lần lượt là độ dốc và hệ chặn của phương trình tuyến tính giữa nồng độ và % bắt gốc tự do.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

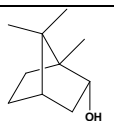
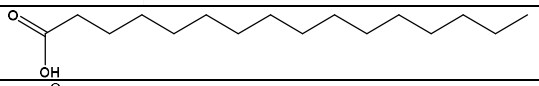
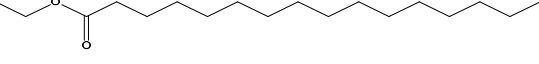
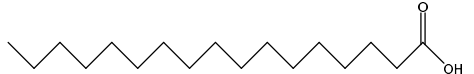
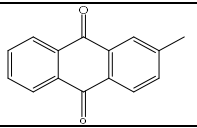
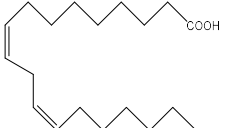
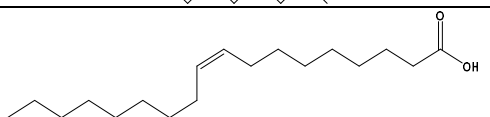
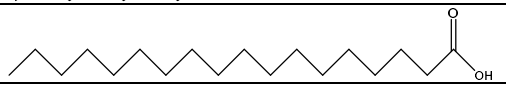
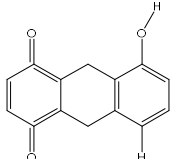
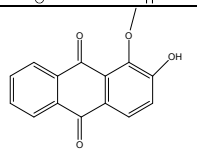
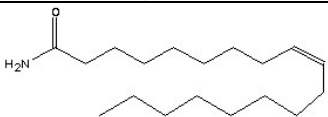
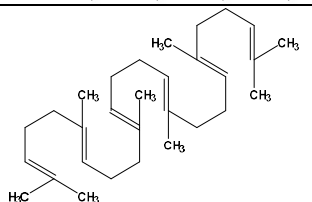
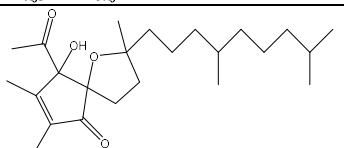
3.1. Thành phần hóa học của cao chiết

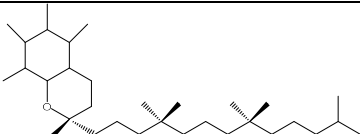
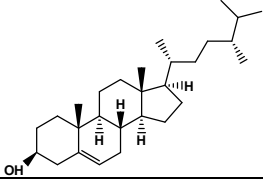
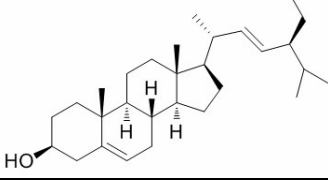
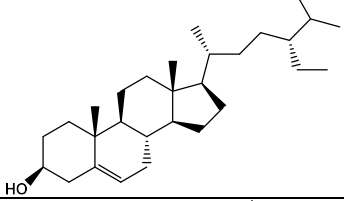
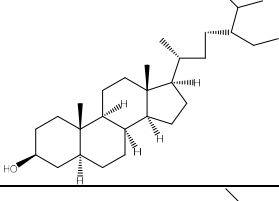
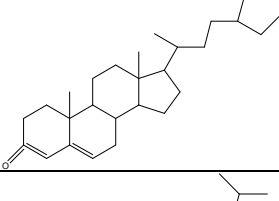
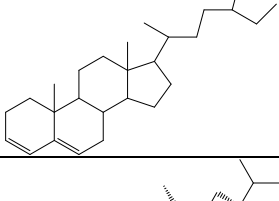
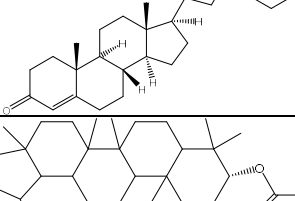
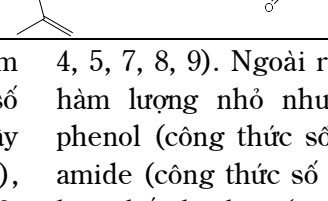
Kết quả phân tích thành phần hóa học bằng phương pháp GC-MS của cao chiết hexane rễ cây Ba kích thể hiện ở hình 2 và bảng 1.



Hình 2. Sắc ký đồ GC-MS cao chiết chiết hexane rễ cây Ba kích

Bảng 1. Thành phần hóa học cao chiết hexane rễ cây Ba kích

TT	Tên các hợp chất	Công thức cấu tạo	Hàm lượng (%)
1	Endo-borneol		0,53
2	Pentadecanoic axit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{COOH}$	0.53
3	<i>n</i> -Hexadecanoic axit		10,53
4	Hexadecanoic axit, ethyl ester		0,98
5	Heptadecanoic axit		0,43
6	2-methyl -9, 10-anthracenedione		1,39
7	9,12-octadecadienoic axit (Z,Z)-		12,77
8	Oleic axit		4,49
9	Octadecanoic axit		3,16
10	1-Hydroxy-4-methylanthraquinone		0,54
11	2-hydroxy-1-methoxy-9,10-anthracenedione-		3,17
12	9-octadecenamide, (Z)-		1,29
13	Squalene		0,82
14	,α -Tocospiro B		0,23

15	Dl- α , γ -Tocopherol		0,27
16	Campesterol		4,17
17	Stigmasterol		5,86
18	Sitosterol		14,73
19	Stigmastanol		0,45
20	Stigmasta-3,5-dien-7-one		0,73
21	Stigmasta-3,5-diene		0,50
22	Stigmast-4-en-3-one		1,23
23	Lup-20(29)-en-3-ol, acetate(3 β)-		0,45

Sử dụng phương pháp sắc ký khí khối phổ kèm thư viện phổ NIST 17 đã xác định được một số thành phần chính có trong cao chiết hexane rễ cây Ba kích gồm anthraquinon (công thức số 6, 10, 11), triterpen (công thức số 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23), alcohol triterpen, axit hữu cơ (công thức số 2, 3,

4, 5, 7, 8, 9). Ngoài ra, còn có một số hợp chất có hàm lượng nhỏ như: bicyclo (công thức số 1), phenol (công thức số 15), ester (công thức số 4), amide (công thức số 12). Bên cạnh đó còn có một hợp chất đặc biệt (công thức số 14) có cấu trúc của một ancol, cấu trúc của ceton và có cấu trúc của một

ether. Kết quả phân tích và xác định thành phần hóa học cho thấy có sự tương đồng với các nghiên cứu trước đây của cây Ba kích [14, 16, 17].

3.2. Hoạt tính chống oxy hóa của cao hexane

Hoạt tính chống oxy hóa của cây Ba kích được thực hiện theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH với chất đối chứng dương là axit ascorbic. Khi có mặt các chất chống oxy hóa thì dung dịch DPPH màu tím sẽ chuyển sang màu vàng trong thí nghiệm đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 517 nm.

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa của cao hexane cây Ba kích

Cao hexane	% thu dọn gốc tự do DPPH		
$\mu\text{g/mL}$	Lần 1	Lần 2	Lần 3
10	89	80	97
5	75	70	81
2,5	84	77	91
1,25	61	59	62
0,625	31	25	38
0,3125	6	9	4
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	1	1	1,1
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) trung bình	$1,03 \pm 0,03$		
Acid ascorbic IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	34,99		

Kết quả thử nghiệm cho thấy, khi nồng độ cao chiết từ 0,3125 $\mu\text{g/mL}$ đến 10 $\mu\text{g/mL}$ thì phần trăm hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH của cao chiết tăng dần từ 6% đến 89% (Bảng 2). Khả năng kháng oxy hóa biểu hiện tốt nhất ở mẫu thử 6 với phần trăm hoạt tính bắt gốc tự do DPPH là 89%. Cao chiết hexane cây Ba kích có khả năng chống oxy hóa rất mạnh với giá trị $\text{IC}_{50} = 1,03 \mu\text{g/mL}$ so với đối chứng dương axit ascorbic ($\text{IC}_{50} = 34,99 \mu\text{g/mL}$). Kết quả này mở ra tiềm năng về khả năng chống oxy hóa của cây Ba kích trong tương lai.

4. KẾT LUẬN

Từ cao chiết hexane rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*) đã xác định được 23 hợp chất hóa học với các thành phần chính gồm: *n*-hexadecanoic axit (10,53%), 2-methyl-9,10-anthracenedione, (1,39%), 9,12-octadecadienoic axit (*Z,Z*)-(12,77%), oleic axit (4,49%), octadecanoic axit (3,16%), 9,10-anthracenedione, 2-hydroxy-1-methoxy (3,17%), campesterol (4,17%), stigmasterol (5,86%) và sitosterol (14,73%).

Qua thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết hexane bằng phương pháp DPPH cho thấy khả năng kháng oxy hóa mạnh thể hiện qua giá trị $\text{IC}_{50} = 1,03 \mu\text{g/mL}$ nhỏ hơn rất nhiều so với chất đối chứng dương axit ascorbic có $\text{IC}_{50} = 34,99 \mu\text{g/mL}$. Kết quả khả quan này cùng với các nghiên cứu sâu hơn sẽ góp phần mở ra tiềm năng khai thác và sử dụng hiệu quả cây Ba kích vào dược phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Viện Dược liệu (2004). Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 1. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 101 – 106.
- Nguyễn Chiêu (2001). Kết quả bước đầu nghiên cứu trồng Ba kích ở Phú Thọ. *Tạp chí Dược học*, 1, trang 6.
- Dương Thị Hương, Trịnh Thị Kim Anh, Nguyễn Thị Hải Hà (2009). Bước đầu đánh giá hoạt tính androgen của rễ cây Bá bệnh (*Eurycoma longifolia* J.) trên chuột thực nghiệm. *Tạp chí Dược học*, 49, 16-20.
- Nguyễn Mạnh Quân, Nguyễn Trần Giáng Hương (2008). Nghiên cứu tác dụng của Ba kích (*Morinda officinalis* How) lên sự phát triển của cơ quan sinh dục chuột cống đực. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, 53(1), 77-84.
- Nguyễn Thanh Tùng, Nguyễn Trần Thị Giáng Hương, Nguyễn Kiều Vân (2008). Nghiên cứu tác dụng của thung dung (*Cistanche deserticola* Y.g. Ma) trên chức năng sinh sản của chuột cống đực non. *Tạp chí Dược học*, 8, 18-22.
- Bộ Y tế (2009). Dược điển Việt Nam IV, chuyên luận dược liệu Ba kích. Nhà xuất bản Y học, 682-683.
- Vũ Đức Lợi, Nguyễn Tiến Vững, Nguyễn Thị Thúy An (2016). Một số hợp chất phân lập từ rễ cây ba kích (*Morinda officinalis* How.) trồng ở tỉnh Quảng Ninh. *Tạp chí Dược học*, 56 (9), 36 – 41.
- Yoshikawa M., Yamaguchi S., Nishisaka H., Yamahara J., Murakami N. (1995). Chemical constituents of Chinese nature medicine, morindae radix, the dried roots of *Morinda officinalis* How: Structures of morindolide and morofficinaloside. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 43(9), 1462-1465.
- Choi, J. W., Lee, K. T., Choi, M. Y., Nam, J. W., Jung, H. J., Park, S. K., Park, H. J. (2005). Antinociceptive anti-inflammatory effect of

monotropein isolated from the root of *Morinda officinalis*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28, 1915–1918.

10. Trần Việt Hùng, Phạm Văn Kiên, Bùi Quốc Thái, Đoàn Cao Sơn, Nguyễn Tiến Đạt, Bùi Hồng Cường (2017). Nghiên cứu chiết xuất, phân lập và tinh chế monotropein từ rễ Ba kích để thiết lập chất chuẩn. *Tạp chí Dược học*, 57 (5), 40 – 42.

11. Zhu, M. Y., Wang, C. J., Gu, Y., He, C. S., Teng, X., Zhang, P., Lin, N (2009). Extraction, characterization of polysaccharides from *Morinda officinalis* and its antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, 78, 497–501.

12. Zhu, M. Y., Wang, C. J., Wang, X., Chen, S. H., Zhu, H., Zhu, H. M. (2011). Extraction of polysaccharides from *Morinda officinalis* by response surface methodology and effect of the polysaccharides on bone-related genes. *Carbohydrate Polymers*, 85, 23-28.

13. Zhang, H. L., Zhang, Q. W., Zhang, X. Q., Ye, W. C., Wang, Y. T. (2010). Chemical constituents from the roots of *Morinda officinalis*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8, 192–195.

14. Liu, Q., Kim, S. B., Ahn, J. H., Hwang, B. Y., Kim, S. Y., Lee, M. K (2012). Anthraquinones from *Morinda officinalis* roots enhance adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Natural Product Research*, 26, 1750–1754.

15. Yoon K. L, Hyo J. B, Jeong B. O, Wan K. W (2017). Bioassay-Guided Isolated Compounds from *Morinda officinalis* Inhibit Alzheimer's Disease Pathologies. *Molecule*, 22, 1638.

16. Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Mai Thanh Tâm, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương (2012). Nghiên cứu tác dụng hướng sinh dục nam của cây Ba kích (*Morinda officinalis* How.). *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*, 16 (1), 192-198.

17. Wei L. J, Lu P., Su W. P. (2006). Tissue culture and rapid propagation of *Morinda officinalis* How. *Plant Physiology Communication*, 42(3), 475.

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES FROM HEXANE EXTRACT OF *Morinda officinalis* COLLECTED IN DAK LAK

Ngũ Trương Nhân¹, Vũ Thị Thu Lê^{2,*}

¹Faculty of Science and Technology, Tay Nguyen University

²Faculty of basic science, Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry

*Email: vuthithule@tuaf.edu.vn

Summary

The *Morinda officinalis* belongs to the *Morinda L* family (Rubiaceae), widely distributed in the country's Central Highlands, Southeast, and other regions. There have been several domestic and foreign studies on this species' chemical composition and activities. However, there are still no reports on the chemical composition and antioxidant activity of *Morinda officinalis* grown in Dak Lak. Therefore, our research objective was to determine the chemical composition and antioxidant activity of *Morinda officinalis* collected in Dak Lak province by steam distillation. In this study, we determined the chemical composition from the hexane extract of the root of *Morinda officinalis* and evaluated the antioxidant activity by the DPPH method. The results of determining the chemical composition from the hexane extract of the root of the *Morinda officinalis* showed that there were 23 components, of which the main components of *Morinda officinalis* were anthraquinone, triterpen, organic acid and alcohol triterpen. The results of evaluating the oxidizing mineral activity from the hexane extract of the root of *Morinda officinalis* by the DPPH method show that this *Morinda officinalis* exhibits very strong antioxidant capacity with IC₅₀ value of 1.03 mg/mL and is much stronger than that of ascorbic acid positive control with IC₅₀ value of 34.99 mg/mL, was 34 times.

Keywords: Chemical composition, Dak Lak, GS-MS, hexane, *Morinda officinalis*.

Người phản biện: PGS.TS. Đỗ Thị Hà

Ngày nhận bài: 20/4/2022

Ngày thông qua phản biện: 13/5/2022

Ngày duyệt đăng: 25/7/2022