

Nghiên cứu đặc điểm thực vật, đặc điểm vi học và tác dụng ức chế gốc tự do DPPH và SOD của các phân đoạn từ cây chổi xuể (*Baeckea frutescens* L.)

Đỗ Thị Thúy Hòa*, Nguyễn Việt Thân
Trường Đại học Dược Hà Nội

Summary

For confirmation of the taxonomical identification of the plant *Baeckea frutescens* L.; the botanical samples of the plant collected Bac Giang province (in North Vietnam) were investigated in view of morphological characteristics and anatomical features. The antioxidant effect of all fractions of *Baeckea frutescens* L. was also assessed. The ethyl acetate and n-butanol fractions exhibited fairly strong antioxidant activity on the DPPH (IC_{50} was 8.70 and 11.30 $\mu\text{g/ml}$, respectively) and SOD (IC_{50} was 1.89 and 3.20 $\mu\text{g/ml}$, respectively).

Keywords: *Baeckea frutescens* L., Myrtaceae, DPPH, SOD, antioxidant.

Đặt vấn đề

Baeckea frutescens L. được mô tả trong Thực vật chí Đông Dương [1] là loài duy nhất thuộc chi *Baeckea* L., họ Sim (Myrtaceae), có tên thường gọi là chổi xuể (tên khác: Chổi, chổi sể, chổi trện, thanh hao, hanh hao); phân bố ở các vùng đồi núi có độ dốc cao và bãi cát ven biển Bắc và Trung Bộ. Theo một số tài liệu về cây thuốc, cây chổi xuể được dùng làm thuốc chữa phong thấp, đau xương, rối loạn tiêu hóa, kinh nguyệt không đều, các bệnh viêm nhiễm phụ khoa, chữa cảm cúm, nhức đầu, bằng cách đốt xông khói hoặc nấu nước xông, dùng ngoài để sát trùng các vết thương, mụn nhọt, chàm da [2, 4]. Với mục đích cung cấp một số tư liệu giúp tiêu chuẩn hóa dược liệu và thăm dò tác dụng chống oxy hóa của các phân đoạn chiết từ cây chổi xuể, trong nghiên cứu này chúng tôi giới thiệu các kết quả nghiên cứu về đặc điểm hình thái, đặc điểm hiển vi, kết quả giám định tên khoa học và tác dụng chống gốc tự do của các phân đoạn chiết từ phần trên mặt đất của cây chổi xuể.

Chịu trách nhiệm: Đỗ Thị Thúy Hòa
Email: thuyhoa1107@gmail.com
Ngày nhận: 28/11/2020
Ngày phân biện: 18/12/2020
Ngày duyệt bài: 22/01/2021

Nguyên vật liệu, phương tiện và phương pháp nghiên cứu

Nguyên vật liệu

Toàn cây chổi xuể được thu hái tại tỉnh Bắc Giang vào tháng 10/2017.

Phương tiện nghiên cứu

Dụng môi và hóa chất

- Dung môi cồn 90%, n-hexan, ethylacetat, n-butanol, nước cất.

- Nitroblue tetrazolium (NBT), xanthin oxidase từ sữa bò (0,8 U/mg protein, 13 mg protein/ml), xanthin \geq 99% (Hãng Sigma Aldrich). Quercetin (90,32%, Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương). Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , HCl, NaOH, DMSO (Hãng Merck).

Dụng cụ và thiết bị nghiên cứu

- Máy ảnh kỹ thuật số Sony a6000.
- Kính hiển vi quang học Leica DM500.
- Cân phân tích AY 220 (SHIMADZU); máy đo pH (EUTECH).
- Hệ thống ELISA gồm máy đọc khay vi tinh thể (Hãng Biotek, Hoa Kỳ) và máy ủ lác khay (Hãng Awareness, Hoa Kỳ).
- Đĩa UV 96 giếng đáy phẳng Costar 3596 (Corning).
- Micropipet đơn kênh và đa kênh các loại.

Phương pháp nghiên cứu

Hình thái thực vật: Đặc điểm hình thái của mẫu nghiên cứu tại thực địa và trong

phòng thí nghiệm theo phương pháp của Nguyễn Nghĩa Thìn [5]. Xác định tên khoa học bằng phương pháp so sánh hình thái, đối chiếu với khóa phân loại thực vật, các bộ thực vật chí tra cứu tài liệu với các khóa phân loại.

Đặc điểm vi học: Nghiên cứu về đặc điểm vi học được tiến hành theo phương pháp thường quy.

Thăm dò hoạt tính chống oxy hóa của cao toàn phần và cao các phân đoạn từ cây chổi xuể

Chuẩn bị mẫu thử

Phần trên mặt đất cây chổi xuể sau khi phơi sấy khô được chiết bằng ethanol 90% bằng phương pháp ngâm (3 lần x 24 giờ), cất thu hồi dung môi thu được cao toàn phần (BF1). Cao thu được phân tán trong 2 lít nước, lọc lần lượt với các dung môi n-hexan, ethylacetat, n-butanol và cao nước còn lại. Cất thu hồi dung môi thu được các cao tương ứng là BF2, BF3, BF4, BF5.

Các chất thử và chất đối chứng quercetin được hòa tan trong dung môi DMSO để được dung dịch gốc có nồng độ 10 mg/ml, sau đó pha loãng với dung môi dung dịch đệm carbonat (pH 10,2) tương ứng với thử nghiệm trên gốc tự do DPPH hoặc SOD để thu được dung dịch thử có nồng độ phù hợp.

Đánh giá hoạt tính quét gốc tự do DPPH:

Tiến hành trên đĩa 96 giếng (costar 3596 - Corning, Mỹ) theo phương pháp được mô tả trong tài liệu [6, 7]. Tác dụng dọn gốc tự do DPPH được đánh giá thông qua tỷ lệ giảm mật độ quang (OD) của mẫu thử đo ở bước sóng 517 nm so với mẫu chứng.

Đánh giá hoạt tính quét gốc tự do SOD:

Quy trình thử được mô tả bởi Charles Beauchamp và CS. [8] có một số thay đổi phù hợp với điều kiện thí nghiệm.

Xác định nồng độ có tác dụng dọn 50% gốc tự do DPPH của mẫu thử và nồng độ ức chế 50% hoạt độ xanthin oxidase của mẫu thử và chất đối chiếu dựa trên tỷ lệ phần trăm ức chế tại các nồng độ khác nhau (5-6 nồng độ/mẫu), sử dụng phương pháp hồi quy phi tuyến với mô hình phù hợp trên phần mềm Graphpad Prism 5.0.

Kết quả nghiên cứu

Đặc điểm hình thái

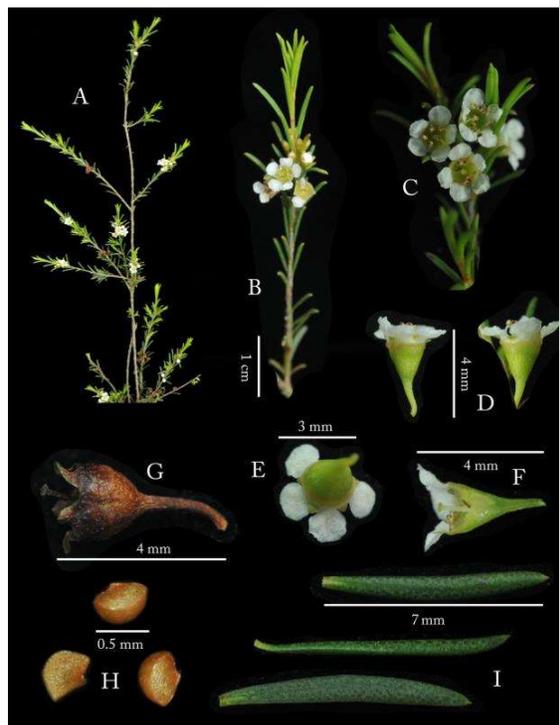
Cây bụi, thân phân nhánh từ gốc, phân nhiều nhánh, thân già có màu nâu, thân và

cành non màu xanh lá, cao 0,2 - 0,5 m.

Lá đơn, mọc đối. Phiến lá hình kim, hẹp, dài từ 0,7 - 1,2 cm, bề mặt nhẵn bóng, có nhiều điểm tuyến trong phần mô mềm, phiến có một gân chính; lá không cuống. Lá dễ rụng khi phơi khô.

Hoa mọc đơn độc ở nách lá. Hoa lưỡng tính. Hoa màu trắng, nhỏ. Bao hoa hai lớp gồm có lá đài dính liền thành ống đài, chia 4 - 5 thùy; 5 cánh tràng rời, xếp xen kẽ với lá đài, tràng có phần phiến tròn, móng dài và hẹp. Nhị 8 - 10 rời, bao phần 2 ô, dính lưng, nứt dọc. Bầu dưới 3 ô, mỗi ô chứa nhiều lá noãn. Quả nang. Hạt có cạnh.

Đối chiếu với đặc điểm mô tả trong các tài liệu phân loại thực vật [1, 4], được GS.TS. Phan Kế Lộc và Ths. Nguyễn Anh Đức - Bảo tàng Thực vật (HNU), Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên giám định tên khoa học là *Baeckea frutescens* L.. Tiêu bản được lưu tại Bảo tàng thực vật thuộc Khoa Sinh học - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên với số hiệu là HNU 023994.



Hình 1. Hình thái thực vật cây chổi xuể
A, B, C: Cành mang lá, hoa; D, E, F: Hoa;
G: Quả; H: Hạt; I: Lá

Đặc điểm vi học

Đặc điểm vi phẫu lá

Mặt cắt ngang của lá: Có hình bầu dục, nhọn ở 2 đầu, có cấu tạo đối xứng hai bên qua một gân ở chính giữa. Bao bọc phía ngoài cùng là một lớp tế bào biểu bì (1) xếp đều đặn, sát nhau, vách ngoài hóa cutin. Dưới lớp biểu bì có các túi tiết tinh dầu (6).

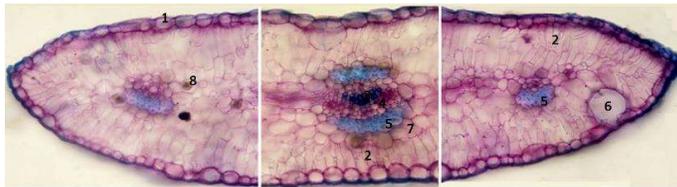
Phân gân lá: Dưới lớp biểu bì trên và dưới có 1 - 2 lớp tế bào mô mềm đồng hóa (2) cấu tạo bởi các tế bào hình chữ nhật xếp thẳng góc. Phía trong là một lớp tế bào mô mềm (7) gồm các tế bào hình đa giác, kích thước không đều nhau. Bó libe - gỗ nằm chính giữa của gân chính, với libe (4) ở dưới, gỗ (3) ở trên.

Phân phiến lá: Cấu tạo bởi 2 lớp tế bào mô mềm đồng hóa (2) hình chữ nhật, xếp thẳng góc

ngay dưới biểu bì. Chính giữa của phiến lá có đám tế bào cứng (5) làm nhiệm vụ nâng đỡ. Ở các tế bào sát với mô cứng đôi khi chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai (8).

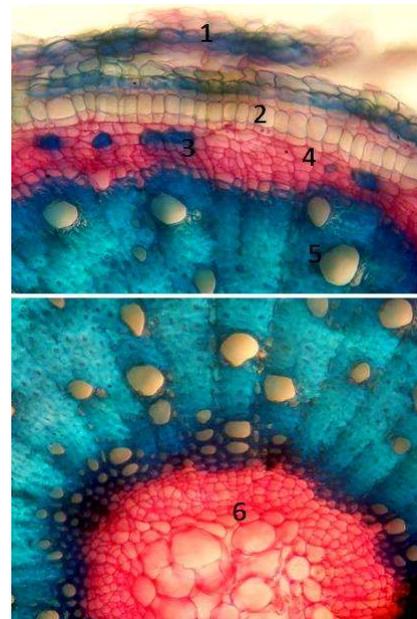
Đặc điểm vi phẫu thân

Vi phẫu thân có cấu tạo đối xứng tỏa tròn, từ ngoài vào trong gồm có: lớp vỏ (1) thường bong ra cùng với mô mềm. Mô mềm vỏ cấu tạo gồm 2 - 3 lớp tế bào có kích thước lớn, thành mỏng (2). Libe cấp 2 (3) tạo thành vòng gần như liên tục, rải rác trong libe có các tế bào cứng hoặc đám tế bào cứng, đôi khi libe bị cắt bởi tia ruột (4). Gỗ cấp 2 (5) cấu tạo bởi các mạch gỗ kích thước không đều nhau, mô mềm gỗ hóa mô cứng. Mô mềm ruột (6) với 4 - 5 lớp tế bào mô mềm sát gỗ có kích thước nhỏ, phía trong các tế bào có kích thước lớn.



Hình 2. Vi phẫu lá chổi xuế

1. Biểu bì; 2. Mô mềm đồng hóa; 3. Gỗ;
4. Libe; 5. Đám tế bào cứng; 6. Túi tiết tinh dầu;
7. Mô mềm; 8. Tinh thể calci oxalat



Hình 3. Vi phẫu thân chổi xuế

1. Vỏ; 2. Mô mềm vỏ;
3. Libe cấp 2; 4. Tia ruột; 5. Gỗ cấp 2;
6. Mô mềm ruột

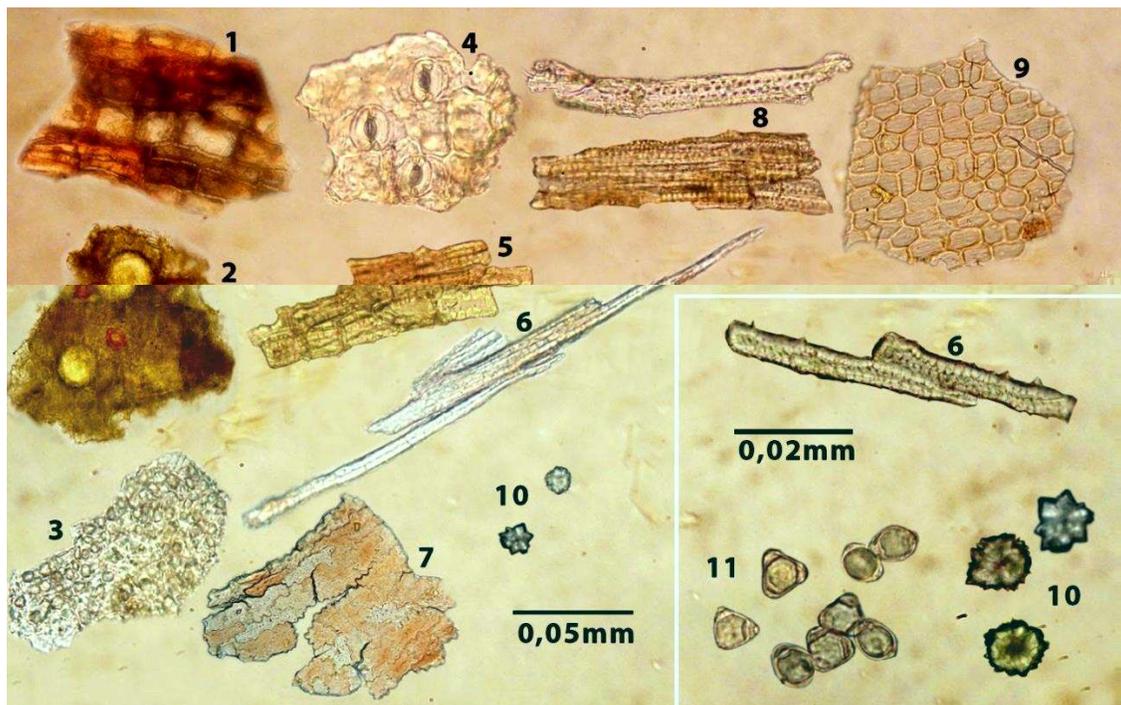
Đặc điểm bột

Bột màu vàng nâu, vị hơi đắng, mùi thơm đặc trưng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bản cấu tạo bởi các tế bào hình chữ nhật, thành dày,

màu nâu (1). Mảnh biểu bì cánh hoa có thành mỏng (2). Các mảnh vỏ quả (3). Mảnh biểu bì mang lỗ khí (4). Mảnh mô mang túi tiết tinh dầu chứa các túi tiết tinh dầu kiểu dung sinh (5),

các túi tiết tinh dầu đứng riêng lẻ (11) có đường kính 0,045 - 0,050 mm. Mảnh mạch điểm (6). Tế bào cứng xếp thành tầng đám, cấu tạo bởi các tế bào có thành dày, khoang hẹp (7). Mảnh mô mềm cánh hoa cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng, hình đa giác, xếp sát nhau (8). Sợi và

các bó sợi (9). Hạt phấn hoa hình tam giác, có 3 lỗ nảy mầm ở đỉnh, khoảng cách từ đỉnh tới đáy là 0,014 - 0,016 mm, thấy rõ hai lớp vỏ. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai có đường kính khoảng 0,028 - 0,032 mm (12).



Hình 4. Đặc điểm bột phần trên mặt đất cây chó đẻ
 1. Mảnh bần; 2. Mảnh mô mang túi tiết tinh dầu; 3. Mảnh vỏ quả;
 4. Mảnh biểu bì mang lỗ khí; 5. Mô cứng; 6. Sợi, bó sợi; 7. Mảnh biểu bì cánh hoa;
 8. Mảnh mạch; 9. Mảnh mô mềm; 10. Tinh thể calci oxalat

Tác dụng chống oxy hóa

Bảng 1. Giá trị ức chế 50% (IC_{50}) gốc tự do DPPH và SOD của các mẫu thử

Mẫu thử	Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) DPPH	Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) SOD
Quercetin	2,10 \pm 0,69	1,23 \pm 0,12
BF1	12,81 \pm 5,76	3,93 \pm 2,65
BF2	74,11 \pm 14,67	10,93 \pm 5,99
BF3	8,70 \pm 4,99	1,89 \pm 1,83
BF4	11,30 \pm 5,32	3,20 \pm 1,53
BF5	30,91 \pm 10,88	4,05 \pm 1,77

Bàn luận

Về thực vật: Đặc điểm hình thái đã được mô tả chi tiết, so sánh với các tài liệu, đã giám định được tên khoa học của loài nghiên cứu là *Baeckea frutescens* L. thuộc họ Sim (Myrtaceae). Các hình ảnh về hình thái, vi phẫu, đặc điểm của bột dược liệu đã được mô tả chi tiết và chụp ảnh. Đây là đóng góp mới bổ sung các dữ liệu trực quan để xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu.

Tác dụng chống oxy hóa: Qua kết quả thử hoạt tính chống gốc tự do DPPH và SOD của dịch chiết toàn phần và các phân đoạn, cho thấy

hoạt tính chống gốc tự do theo thứ tự như sau: phân đoạn ethylacetat > phân đoạn n-butanol > cao toàn phần > phân đoạn nước > phân đoạn n-hexan. Trong đó phân đoạn ethylacetat và n-butanol thể hiện tác dụng chống oxy hóa mạnh trên mô hình thử nghiệm dọn gốc tự do DPPH (với IC_{50} của các mẫu thử lần lượt là 8,70 và 11,30 $\mu\text{g/ml}$) và SOD (IC_{50} tương ứng là 1,89 và 3,20 $\mu\text{g/ml}$) khi so với mẫu chứng là quercetin. Trong đó, tác dụng dọn gốc tự do DPPH có kết quả tương đồng với nghiên cứu trước đó^[9]. Đây là lần đầu tiên tác dụng chống gốc tự do SOD của các phân đoạn chiết xuất của cây chó đẻ (*Baeckea frutescens* L.) được đánh giá. Từ kết quả đánh giá trên, có thể lựa chọn 2 phân đoạn ethylacetat và n-butanol để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

Kết luận

Đã giám định được tên khoa học của loài nghiên cứu là *Baeckea frutescens* L. thuộc họ Sim (Myrtaceae), tên thường gọi là chó đẻ. Các đặc điểm chi tiết về hình thái thực vật và vi học đã được mô tả và chụp ảnh làm tư liệu. Phân đoạn ethylacetat và n-butanol được chiết xuất từ phần trên mặt đất của loài nghiên cứu thể hiện tác dụng chống oxy hóa mạnh trên mô hình thử nghiệm dọn gốc tự do DPPH (với IC_{50} của các mẫu thử lần lượt là 8,70 và 11,30 $\mu\text{g/ml}$) và SOD (IC_{50} tương ứng là 1,89 và 3,20 $\mu\text{g/ml}$).

Giám định được tên khoa học của loài nghiên cứu là *Baeckea frutescens* L. thuộc họ Sim (Myrtaceae).

Tài liệu tham khảo

1. Lecomte M. H. (1921), "Myrtaceae", *Flore Générale de L'Indochine*, Vol. 2, pp. 788-864.
2. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập 1, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 441-443.
3. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập 1, NXB Y học, tr. 447.
4. Đỗ Tất Lợi (1999), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, tr. 643-644.
5. Nguyễn Nghĩa Thìn (2007), *Các phương pháp nghiên cứu thực vật*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
6. Chen, Y. C., Y. Sugiyama, N. Abe, R. Kuruto-Niwa, R. Nozawa, and A. Hirota (2005), "DPPH radical-scavenging compounds from dou-chi, a soybean fermented food", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 69, pp. 999-1006.
7. Saito, S., Y. Okamoto, and J. Kawabata (2004), "Effects of alcoholic solvents on antiradical abilities of protocatechuic acid and its alkyl esters", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 68, pp. 1221-1227.
8. Beauchamp. C. and I. Fridovich (1971), "Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels", *Anal Biochem.*, Vol. 44, pp. 276-287.
9. Navanesan. S., N. A. Wahab, S. Manickam and K. S. Sim (2015), "Evaluation of selected biological capacities of *Baeckea frutescens*", *BMC Complement Altern Med.*, Vol. 15, pp. 186.