

TÁC ĐỘNG CHỐNG OXY HÓA IN VITRO CỦA CAO LÁ MUA (MELASTOMA CANDIDUM D.) BẰNG THỬ NGHIỆM DPPH VÀ ABTS

Nguyễn Thanh Tuyền¹, Võ Thị Minh Chân¹, Nguyễn Anh Tuấn¹,
Nguyễn Đăng Tiến¹, Ngô Kiến Đức¹

TÓM TẮT

Căng thẳng oxy hóa là quá trình tạo ra các gốc tự do bao gồm các loại oxy và nitơ phản ứng (ROS và RNS), có liên quan đến sự phát triển của các bệnh, bao gồm ung thư, bệnh tim mạch và thần kinh. Nghiên cứu này nhằm mục đích xác định các hoạt động chống oxy hóa trong ống nghiệm của chiết xuất thô trong ethanol và các phân đoạn của chiết xuất lá *Melastoma candidum* D. Đơn bằng phương pháp DPPH và ABTS. Kết quả cho thấy phân đoạn ethyl acetat có hàm lượng phenolic tổng số và flavonoid tổng số cao nhất. Chiết xuất thô ethanol và tất cả các phân đoạn của chloroform, ethyl acetat, n-butanol, dung dịch nước có hoạt tính chống oxy hóa trong ống nghiệm. Trong đó, phân đoạn ethyl acetat có hiệu quả cao nhất với IC₅₀ là 15,34 ± 0,80 µg/mL khi sử dụng phương pháp DPPH (cao hơn so với phương pháp sử dụng acid ascorbic 4,38 ± 0,36 µg/ml) và IC₅₀ là 4,49 ± 0,12 µg/mL khi sử dụng phương pháp ABTS (cao hơn so với phương pháp acid ascorbic 2,39 ± 0,33 µg/mL). Lá *M. candidum* sở hữu các hoạt động chống oxy hóa tiềm năng có thể là một nguồn chất chống oxy hóa tự nhiên đầy triển vọng.

SUMMARY

IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF LEAF EXTRACT OF MELASTOMA CANDIDUM D. DON USING DPPH AND ABTS METHODS

Oxidative stress is the process of generating free radicals including reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS), which are linked to the development of diseases, including cancer, cardiovascular, and neurological diseases. The present study aims to determine the in vitro antioxidant activities of ethanolic crude extract and the fractions of *Melastoma candidum* D. Don leaf extract using DPPH and ABTS methods. The results showed that ethyl acetate fraction possessed the highest total phenolic content and total flavonoid content. Ethanolic crude extract and all of the fractions of chloroform, ethyl acetate, n-butanol, aqueous had in vitro antioxidant activities. In which, ethyl acetate fraction had the highest effect with IC₅₀ of 15,34 ± 0,80 µg/mL using DPPH method (higher than that of acid ascorbic 4,38 ± 0,36 µg/ml) and IC₅₀ of 4,49 ± 0,12 µg/mL using ABTS method (higher than that of acid ascorbic 2,39 ± 0,33 µg/mL). The *M. candidum* leaves possessed potential

antioxidant activities that could be a promising source of natural antioxidant.

Keywords: *Melastoma candidum* D., antioxidant, DPPH, ABTS.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Stress oxy hóa là quá trình sản sinh ra quá mức gốc tự do, làm phá hủy cấu trúc và chức năng của các cơ quan trong cơ thể, do đó gây ra nhiều tác hại nghiêm trọng trên sức khỏe con người [1]. Để ngăn ngừa tác hại đó, từ lâu con người đã sử dụng các hợp chất chống oxy hóa tự nhiên từ thực vật và chi *Melastoma* thuộc họ Melastomataceae đã được chứng minh có khả năng dập tắt gốc tự do nhờ vào hàm lượng lớn flavonoid, polyphenol, acid hữu cơ,...[2]. Để hiểu rõ hơn tiềm năng và có thêm dữ liệu khoa học cho dược liệu lá cây Mua, đề tài này được thực hiện với mục tiêu đánh giá tác động chống oxy hóa in vitro của cao toàn phần và các cao phân đoạn dịch chiết lá cây Mua (*Melastoma candidum* D.) bằng phương pháp DPPH và ABTS.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng. Lá cây Mua được thu hái tại thôn Phú Quý, xã Tam Phú, thành phố Tam Kỳ, tỉnh Quảng Nam vào tháng 3/2022. Mẫu được định danh bằng phương pháp so sánh đặc điểm hình thái với các tài liệu cho kết quả tên khoa học của loài *Melastoma candidum* D.

Phương pháp nghiên cứu

Điều chế cao toàn phần và các cao phân đoạn lá cây Mua. Dược liệu lá cây sau khi thu hái được phơi khô trong bóng râm, xay thô đến kích thước thích hợp. Chiết xuất 1,0 kg dược liệu bằng phương pháp ngâm kiệt với cồn 80% (tỷ lệ dược liệu - dịch chiết là 1 g : 10 ml) rồi cất loại dung môi thu được 131,6 g cao toàn phần (độ ẩm 2,43%).

Lấy 100,0 g cao toàn phần phân tán trong nước với tỷ lệ 1:1 rồi lắc phân đoạn lần lượt với các dung môi có tính phân cực tăng dần chloroform, ethyl acetat, n-butanol. Trong lắc phân đoạn với các dung môi, mỗi lần lắc với 100 ml dung môi, các dung môi đều không màu, sau khi lắc do sự phân tán hoạt chất vào dung môi nên tạo thành phần dịch có màu (lấy phần này). Quá trình lắc phân đoạn được thực hiện đến khi phần dịch thu được (dung môi) gần như không

¹Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thanh Tuyền

Email: nttuyen@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 2.01.2023

Ngày phản biên khoa học: 20.2.2023

Ngày duyệt bài: 7.3.2023

còn màu, rồi chuyển sang lắ phân đoạn với dung môi phân cực kế tiếp. Các phân đoạn thu được và phần nước còn lại được cất loại dung môi thành cao phân đoạn tương ứng.

Đánh giá tác dụng chống oxy hóa in vitro bằng thử nghiệm DPPH. Cao toàn phần và các cao phân đoạn được pha trong methanol tuyệt đối thành dung dịch gốc có nồng độ 1 mg/ml rồi pha loãng thành các dung dịch thử ở các nồng độ từ 2 – 240 µg/ml.

Vitamin C được sử dụng làm mẫu chứng dương với các nồng độ từ 2 - 4 µg/ml.

Hỗn hợp phản ứng gồm: 0,125 ml dung dịch mẫu thử; 0,125 ml DPPH 0,6 mM; 0,75 ml methanol. Mẫu chứng âm thay dung dịch mẫu thử bằng 0,125 ml methanol. Sau đó để yên hỗn hợp trong bóng tối ở nhiệt độ phòng (25 °C) trong 30 phút. Tiến hành đo quang ở bước sóng 515 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Thí nghiệm được tiến hành 3 lần.

Đánh giá tác dụng chống oxy hóa in vitro bằng thử nghiệm ABTS. Để đo lường khả năng dập tắt gốc tự do, phương pháp thử nghiệm với thuốc thử 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) được tiến hành dựa trên mô tả trong nghiên cứu của Kandi và cộng sự [3].

Cao toàn phần và các cao phân đoạn được pha trong methanol tuyệt đối thành dung dịch gốc có nồng độ 1 mg/ml rồi pha loãng thành các dung

dịch thử ở các nồng độ từ 1,33 – 133,33 µg/ml.

Vitamin C được sử dụng làm mẫu chứng dương với các nồng độ từ 0,33 – 3,00 µg/ml.

Hỗn hợp phản ứng gồm: 0,5 ml dung dịch mẫu thử; 1,0 ml DPPH 0,6 mM. Mẫu chứng âm thay dung dịch mẫu thử bằng 0,5 ml methanol. Sau đó để yên hỗn hợp trong bóng tối ở nhiệt độ phòng (25 °C) trong 20 phút. Tiến hành đo quang ở bước sóng 734 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Thí nghiệm được tiến hành 3 lần.

Xác định khả năng dập tắt gốc tự do

Tỉ lệ phần trăm dập tắt gốc tự do DPPH hoặc ABTS được tính toán theo công thức:

$$\% \text{HTCOX} = \frac{\text{OD}_c - \text{OD}_t}{\text{OD}_c} \times 100\%$$

Trong đó: OD_c là độ hấp thụ của mẫu chứng, OD_t là độ hấp thụ của mẫu thử.

Thiết lập phương trình hồi quy giữa nồng độ và phần trăm hoạt tính chống oxy hóa, từ đó xác định giá trị IC₅₀ hoạt tính chống oxy hóa của các cao và vitamin C.

Phương pháp thống kê. Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Số liệu % HTCOX được trình bày dưới dạng giá trị trung bình (mean). Giá trị IC₅₀ trình bày dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (M ± SD), được tính toán dựa vào đồ thị, phương trình biểu diễn nồng độ và phần trăm hoạt tính chống oxy của các cao ở mỗi thử nghiệm tương ứng.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Tác dụng chống oxy hóa in vitro của cao lá Mua bằng thử nghiệm DPPH

Bảng 1. Phần trăm hoạt tính chống oxy hóa in vitro của các cao bằng phương pháp DPPH

Nồng độ cao (µg/ml)	% Hoạt tính chống oxy hóa					
	Toàn phần	Cloroform	Ethyl acetat	n-butanol	Nước	Vitamin C
2,0	-	-	11,34	-	-	29,09
2,5	-	-	-	-	-	32,94
3,0	-	-	-	-	-	39,25
3,5	-	-	-	-	-	45,07
4,0	-	-	16,57	-	-	49,21
6,0	-	-	22,78	-	-	-
8,0	-	-	29,30	-	-	-
10,0	10,52	14,67	32,54	-	-	-
12,0	-	-	38,95	-	-	-
15,0	-	25,31	-	21,30	-	-
20,0	18,56	33,16	-	29,49	-	-
25,0	-	41,74	-	35,40	-	-
30,0	30,82	-	-	42,11	-	-
35,0	-	-	-	49,11	-	-
37,5	-	60,85	-	-	-	-
40,0	39,48	-	-	-	-	-
50,0	48,56	-	-	-	-	-
80,0	-	-	-	-	24,17	-

120,0	-	-	-	-	33,26	-
160,0	-	-	-	-	45,04	-
200,0	-	-	-	-	51,86	-
240,0	-	-	-	-	60,23	-
IC₅₀ (µg/ml)	56,21 ± 1,42	29,90 ± 2,50	15,34 ± 0,80	34,60 ± 1,40	199,02 ± 10,10	4,38 ± 0,36

Từ kết quả ở **Bảng 1.** cho thấy phần trăm hoạt tính chống oxy hóa của các cao tăng khi nồng độ tăng, chứng tỏ khả năng chống oxy hóa phụ thuộc vào nồng độ cao. Trong đó, cao ethyl acetat của lá Mua thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao nhất với IC₅₀ bằng 15,34 ± 0,80 µg/ml và gấp 3,5 lần IC₅₀ của vitamin C (4,38 ± 0,36 µg/ml). Cao nước cho hoạt tính chống oxy hóa thấp nhất.

Tác dụng chống oxy hóa in vitro của cao lá Mua bằng thử nghiệm ABTS

Bảng 2. Phần trăm hoạt tính chống oxy hóa in vitro của các cao bằng phương pháp ABTS

Nồng độ cao (µg/ml)	% Hoạt tính chống oxy hóa					
	Toàn phần	Cloroform	Ethyl acetat	n-butanol	Nước	Vitamin C
0,33	-	-	-	-	-	11,69
1,00	-	-	-	-	-	26,51
1,33	-	-	24,49	-	-	-
1,67	-	-	-	-	-	42,17
2,33	-	-	-	-	-	58,25
2,67	-	-	34,21	-	-	-
3,00	-	-	-	-	-	68,48
3,33	-	22,64	-	-	-	-
4,0	-	-	43,72	-	-	-
5,33	-	-	54,66	-	-	-
6,67	21,97	34,06	63,36	28,60	-	-
8,0	-	-	75,71	-	-	-
10,0	-	49,21	-	39,04	-	-
13,33	31,38	53,74	-	50,52	-	-
16,67	-	63,98	-	61,80	-	-
20,0	47,28	-	-	67,43	-	-
25,00	-	89,57	-	-	-	-
26,67	61,92	-	-	-	39,68	-
33,33	70,08	-	-	-	-	-
53,33	-	-	-	-	53,71	-
80,0	-	-	-	-	64,73	-
106,67	-	-	-	-	78,96	-
133,33	-	-	-	-	87,98	-
IC₅₀ (µg/ml)	24,76 ± 1,23	10,89 ± 0,33	4,49 ± 0,12	14,66 ± 1,28	50,02 ± 2,28	2,39 ± 0,33

Từ kết quả ở **Bảng 2.** cho thấy phần trăm hoạt tính chống oxy hóa của các cao tăng khi nồng độ tăng, chứng tỏ khả năng chống oxy hóa phụ thuộc vào nồng độ cao. Trong đó, cao ethyl acetat của lá Mua thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao nhất với IC₅₀ bằng 4,49 ± 0,12 µg/ml và gấp 2 lần IC₅₀ của vitamin C (2,39 ± 0,33 µg/ml). Cao nước cho hoạt tính chống oxy hóa thấp nhất.

Trong thử nghiệm DPPH, giá trị IC₅₀ của ethyl acetat là 15,34 ± 0,80 µg/ml, của cloroform, n-butanol và cao toàn phần lần lượt là 29,90 ± 2,50 µg/ml, 34,60 ± 1,40 µg/ml, 56,21 ± 1,42 µg/ml. Thử tự này cũng được tìm thấy trong nghiên cứu của Nakamura và cộng sự về hoạt tính chống oxy hóa của dược liệu lá Nakai Sasa quelpaertensis [4].

Kết quả thực nghiệm HTCOX bằng phương pháp ABTS cho thấy khả năng dập tắt gốc tự do ABTS^{•+} của các mẫu thử cho kết quả theo đúng thứ tự như ở thử nghiệm DPPH, cụ thể, phân đoạn ethyl acetat có hoạt tính mạnh nhất, sau đó đến phân đoạn cloroform, phân đoạn n-butanol, cao toàn phần và cao nước. Trong thử nghiệm ABTS từ nghiên cứu của Yang và cộng sự khi khảo sát hoạt tính chống oxy hóa từ dịch chiết vỏ quả giữa Dimocarpus longan cũng cho thấy giá trị IC₅₀ trong phân đoạn ethyl acetat (0,228 ± 0,003 mg/ml) là thấp nhất và cao nước (2,926 ± 0,044 mg/ml) là cao nhất [5].

Với kết quả thu được này, khả năng chống oxy hóa tốt của cao lá Mua, đặc biệt là phân đoạn ethyl acetat, có thể tiếp tục được nghiên cứu sâu hơn ở các thử nghiệm in vivo để góp

phần nâng cao giá trị sử dụng của dược liệu này trong việc nghiên cứu và bào chế các thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị các bệnh lý liên quan.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đánh giá được hoạt tính chống oxy hóa in vitro của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá cây Mua (*Melastoma candidum* D.). Trong đó, HCOX của phân đoạn ethyl acetat là cao nhất với IC₅₀ thấp nhất, cao gấp 3,5 lần so với mẫu chứng dương acid ascorbic (4,38 ± 0,36 µg/mL) bằng phương pháp DPPH và cao gấp khoảng 2 lần so với mẫu chứng dương (2,39 ± 0,33 µg/mL) bằng phương pháp ABTS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Spector A.** (2000), "Review: Oxidative stress and disease", *Journal of Ocular Pharmacology and*

- Therapeutics*, 16(2): 193–201.
2. **Zheng, W., Ren, Y., Wu, M. et al.** (2020), "A review of the traditional uses, phytochemistry and biological activities of the *Melastoma* genus", *Journal of Ethnopharmacology*, 264: 113322.
3. **Sridhar K., Linton A.** (2019), "In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs", *Food Chemistry*, 275(2): 41-49.
4. **Nakamura M., Ra J. H., Jee Y. et al.** (2017), "Impact of different partitioned solvents on chemical composition and bioavailability of *Sasa quelpaertensis* Nakai leaf extract", *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2): 316–326.
5. **Yang X., Yan F., Huang S. et al.** (2014), "Antioxidant activities of fractions from longan pericarps", *Food Science and Biotechnology*, 34(2): 341–345.

NGHIÊN CỨU KÍCH THƯỚC ĐỘ RỘNG CỦA RĂNG VÀ SỰ SAI BIỆT KÍCH THƯỚC RĂNG HAI HÀM THEO PHÂN TÍCH BOLTON TRÊN SINH VIÊN RĂNG HÀM MẶT TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC CẦN THƠ

Lê Nguyên Lâm¹, Lê Nhựt Tiến¹

Từ khóa: Kích thước độ rộng, tỷ số răng trước, tỷ số toàn bộ, phân tích Bolton.

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định giá trị trung bình kích thước độ rộng của răng và đánh giá sự sai biệt kích thước răng hai hàm theo phân tích Bolton trên sinh viên Răng Hàm Mặt tại Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang mô tả thực hiện trên 110 sinh viên Răng Hàm Mặt tại Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, gồm 57 nam và 53 nữ trong độ tuổi từ 18 – 25. Các đối tượng được lấy dấu, đổ mẫu hàm, sau đó tiến hành đo đạc xác định kích thước độ rộng của răng trên mẫu hàm và tính toán các tỷ số sai biệt theo phân tích Bolton. **Kết quả:** Trung bình kích thước độ rộng các răng và các tỷ số sai biệt ở nam và nữ được xác định. Tỷ số răng trước của nam là 78,53 ± 2,8%, tỷ số toàn bộ của nam là 91,72 ± 2,58%. Tỷ số răng trước của nữ là 77,87 ± 2,57%, tỷ số toàn bộ của nữ là 91,14 ± 2,22%. Tỷ số răng trước của toàn mẫu là 78,21 ± 2,73%, tỷ số toàn bộ của toàn mẫu là 91,44 ± 2,42%. **Kết luận:** Tất cả các răng của nam đều có kích thước độ rộng trung bình lớn hơn các răng của nữ. Tỷ số răng trước và tỷ số toàn bộ của nam và nữ không có khác biệt về mặt thống kê; tỷ lệ đối tượng có sai biệt đáng kể trên lâm sàng ở vùng răng trước chiếm 23,7%, ở toàn cung răng chiếm 14,6%.

SUMMARY

STUDY OF MESIODISTAL CROWN DIAMETERS AND INTERARCH TOOTH-SIZE DISCREPANCIES ACCORDING TO BOLTON'S ANALYSIS AMONG DENTAL STUDENTS OF CAN THO UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY

Objectives: To determine the means of mesiodistal crown diameters and to evaluate the interarch tooth-size discrepancies according to Bolton's analysis among dental students of Can Tho University of Medicine and Pharmacy. **Subjects and methods:** A cross-sectional study on 110 dental students of Can Tho University of Medicine and Pharmacy, including 57 males and 53 females aged from 18 to 25 years old. Study casts of these all students were taken for a measurement to determine the mesiodistal crown diameters and to calculate Bolton's ratios. **Results:** The means of mesiodistal crown diameters and the Bolton's ratios were determined. In males, the anterior ratio was 78,53 ± 2,8%, the anterior ratio was 91,72 ± 2,58%. In females, the ratios were 77,87 ± 2,57% and 91,14 ± 2,22% in turn. In the entire sample, the ratios were 78,21 ± 2,73% and 91,44 ± 2,42% in turn. **Conclusions:** All the teeth of males had larger means of mesiodistal crown diameters in comparison with those of females. There was no significant differences of the ratios between males and females; the proportions of clinically significant discrepancies were

¹Trường Đại Học Y Dược Cần Thơ

Chịu trách nhiệm chính: Lê Nguyên Lâm

Email: lenguyenlam@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 27.12.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.2.2023

Ngày duyệt bài: 28.2.2023