

# NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA, BẢO VỆ TẾ BÀO GAN CHUỘT (*Mus musculus* Var. *Albino*) CỦA CAO DỊCH CHIẾT METHANOL TỪ QUẢ DỨA ĐẠI VIỆT NAM (*Pandanus odoratissimus*)

STUDY ON THE OXIDATION RESISTANCE AND LIVER-PROTECTION ACTIVITIES OF *Mus musculus* Var. *Albino* OF METHANOL EXTRACT FROM PANDANUS FRUITS (*Pandanus odoratissimus*)

*Nguyễn Công Thùy Trâm*

Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

Email: ncthttram@gmail.com

## TÓM TẮT

Trên cơ sở kế thừa những kinh nghiệm của các bài thuốc dân gian và kết quả về nghiên cứu về thành phần hóa học của loài Dứa đại (*Pandanus odoratissimus*), thuộc chi *Pandanus* họ *Pandanaceae*, chúng tôi tiến hành khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao dịch chiết từ quả Dứa đại trên tế bào gan của chuột nhắt trắng. Kết quả nghiên cứu cho thấy cao dịch chiết quả Dứa đại đã có tác dụng làm giảm hàm lượng MDA trong dịch đồng thể gan của chuột nhắt trắng và có tác dụng bảo vệ tế bào gan trên chuột bị gây nhiễm độc gan bằng Paracetamol. Tác dụng bảo vệ tế bào gan của cao dịch chiết giảm dần từ liều 0,1 g/kg đến liều 0,5 g/kg thể trọng.

**Từ khóa:** *Pandanus odoratissimus*; chuột nhắt trắng; MDA; hoạt tính chống oxy hóa; tế bào gan.

## ABSTRACT

Based on the experience from folk remedies and results of the research on chemical components of pandanus fruits (*Pandanus odoratissimus*) belonging to genus *Pandanus*, family *Pandanaceae*, this study was carried out to investigate the oxidation-resistance activity of extract from such pandanus in liver cell of *Mus musculus* Var. *Albino*. The results showed that the pandanus extract helped decrease the MDA volume in identical liver humour of *Mus musculus* Var. *Albino* and protect liver cells of Paracetamol-intoxicated mouse. The effects of high doses of the extract decreased from 0.1 g/kg to 0.5 g/kg body weight.

**Key words:** *Pandanus odoratissimus*; *Mus musculus* Var. *Albino*; MDA; oxidation-resistance activity; liver cell.

## 1. Đặt vấn đề

Trong cơ thể người và động vật, gốc tự do rất kém bền nên dễ dàng tham gia nhiều phản ứng hóa học với các hợp chất như lipid, protein, AND... dẫn đến sự rối loạn, mất cân bằng sinh hóa, đây là một tác nhân độc hại gây ra nhiều bệnh lý. Việc nghiên cứu tìm ra những hợp chất để chống lại gốc tự do hoặc ức chế quá trình sản sinh gốc tự do đang được nhiều nhà khoa học quan tâm [12].

Cây Dứa đại (*Pandanus odoratissimus*) thuộc chi *Pandanus*, họ *Pandanaceae* là cây thuốc được sử dụng nhiều trong dân gian, hỗ trợ điều trị các bệnh cảm mạo, viêm thận, viêm tiết niệu, viêm gan, xơ gan, viêm kết mạc... [2],[3],[4]. Với ưu điểm là nguồn nguyên liệu có sẵn trong tự nhiên, giảm giá thành trong hỗ trợ điều trị bệnh và ít gây tác dụng phụ, các hợp chất có nguồn gốc từ thiên

nhiên đang được chú ý.

Trong nghiên cứu này, trên cơ sở kế thừa những kinh nghiệm từ các bài thuốc dân gian và kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học của quả Dứa đại, chúng tôi tiến hành khảo sát hoạt tính chống oxy hóa, bảo vệ tế bào gan của cao dịch chiết từ quả Dứa đại trên gan chuột gây nhiễm độc bằng acetaminophen (thuốc Paracetamol).

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Nguyên liệu thực vật: Quả Dứa đại (*Pandanus odoratissimus*) được thu hái tại thôn Tây Sơn Đông, xã Duy Hải, huyện Duy Xuyên, tỉnh Quảng Nam.

- Nguyên liệu động vật: Chuột nhắt trắng (*Mus musculus* var. *albino*) từ 8-10 tuần tuổi có

trọng lượng 18-22 gam (nguồn: Viện Vaccin và Sinh phẩm Nha trang). Số lượng: 60 con.

- Dược liệu sử dụng trong nghiên cứu: Acetaminophen (Paracetamol).

## 2.2. Địa điểm nghiên cứu:

Phòng thí nghiệm Di truyền - Giải phẫu - Sinh lý động vật, khoa Sinh - Môi trường, trường Đại học Sư phạm Đà Nẵng.

## 2.3. Phương pháp thu dịch chiết từ quả Dứa dại

- Mẫu thu được tách chiết các hoạt chất theo phương pháp truyền thống: sấy khô, xay nhỏ...

- Tách chiết mẫu bằng dung môi hữu cơ Methanol và cô quay trong chân không tạo cao dịch chiết.

## 2.4. Phương pháp thử độc tính cấp

Thử độc tính cấp được tiến hành theo phương pháp Litchfield và Wilcoxon (1949): cho chuột thí nghiệm nhịn đói 16 giờ trước khi thí nghiệm sau đó, cho uống dịch chiết với các liều tăng dần từ 0,1g/kg thể trọng đến 0,5g/kg thể trọng, (lượng dịch là 0,5ml/chuột - liều duy nhất trong đợt thực nghiệm). Theo dõi liên tục diễn biến của chuột trong thời gian 24 giờ đầu và theo dõi các biểu hiện sinh lý trong 72 giờ tiếp theo. Ghi nhận thời gian xuất hiện các triệu chứng bất thường.

## 2.5. Phương pháp gây độc bằng acetaminophen (thuốc Paracetamol) trên chuột nhắt trắng

Chuột thí nghiệm được gây độc bằng cách cho chuột uống acetaminophen (Paracetamol) với liều lượng 2g/kg trong 7 ngày liên tục [1].

## 2.6. Phương pháp xác định hàm lượng MDA và hoạt tính chống oxy hóa của cao dịch chiết quả Dứa dại trên dịch đồng thể gan

Sau khi gây độc bằng Acetaminophen (Paracetamol) trên chuột thí nghiệm, tiến hành khảo sát hoạt tính chống oxy hóa bảo vệ tế bào gan. Chuột thí nghiệm được chia thành các lô:

- Lô 1 (đối chứng 1): Chuột không gây độc.
- Lô 2 (đối chứng 2): gây độc bằng Acetaminophen và uống nước cất.

- Các lô thí nghiệm 3,4,5,6 gây độc bằng Acetaminophen và uống cao dịch chiết trong 7 ngày. Tiến hành xác định hàm lượng MDA theo phương pháp Jadwiga Robax- Ba Lan (1987): tách gan chuột thí nghiệm và nghiền đồng thể trong dung dịch đệm KCl 1,15 % theo tỉ lệ 1 : 10 (gan: dung dịch đệm) ở nhiệt độ 0 - 5°C. Lấy 2 ml dịch đồng thể và 1 ml dung dịch đệm Tris - HCl, ủ ở 37°C trong 1 giờ. Bổ sung 1 ml acid tricloacetic 10 % vào hỗn hợp dịch, ly tâm 10000 vòng/phút, lấy 2 ml dịch trong cho vào 1ml acid thiobarbituric 0,8 % ở 100°C trong 15 phút và đo màu ở  $\lambda = 532 \text{ nm}$ .

Hàm lượng MDA được tính theo công thức:

$$\text{MDA} = 28,4 \times \text{OD}.$$

Hoạt tính chống oxy hóa dựa vào công thức:

$$\text{HTCO\%} = [(\text{OD}_C - \text{OD}_T) / \text{OD}_C] \times 100$$

Trong đó:

OD: mật độ quang

OD<sub>C</sub>: mật độ quang của đối chứng

OD<sub>T</sub>: mật độ quang của lô thực nghiệm

## 2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thực nghiệm được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học, sử dụng công cụ phân tích số liệu (data analysis) của Microsoft excel. Kết quả thí nghiệm được biểu thị bằng (M ± SD) & (M ± SE). Đánh giá, so sánh giá trị trung bình giữa các lô thí nghiệm bằng phương pháp thống kê sử dụng chuẩn t-Student. Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Xác định liều lượng gây độc tính cấp của cao dịch chiết quả Dứa dại trên chuột nhắt trắng

Kết quả khảo sát liều lượng gây độc tính cấp của cao dịch chiết trên chuột thí nghiệm được ghi nhận ở Bảng 1.

Qua Bảng 1 cho thấy, với liều lượng cao dịch chiết từ 0,1g/kg thể trọng đến liều 0,4g/kg thể tỷ lệ chuột sống sót là 100% và không thấy các biểu hiện bất thường.

Ở liều 0,5g/kg thể trọng ghi nhận tỷ lệ sống sót của chuột là 40% (2/3). Ghi nhận ở chuột thí nghiệm có các biểu hiện sinh lý bất thường: run

rầy, kém linh hoạt sau gây độc 72 giờ.

Như vậy liều gây chết 50% trên chuột thí

nhệm ( $LD_{50}$ ) của cao dịch chiết quả Dứa dại là 0,5g/kg thể trọng.

**Bảng 1.** Kết quả thử độc tính cấp của cao dịch chiết Methanol quả Dứa dại.

Lô thí nghiệm	Liều dùng (g/kg chuột)	Số chuột thí nghiệm	Số chuột chết	Tỷ lệ chuột chết (%)
1	ĐC	5	0	0
2	0,1	5	0	0
3	0,2	5	0	0
4	0,3	5	0	0
5	0,4	5	0	0
6	0,5	5	3	60

### 3.2. Ảnh hưởng của cao dịch chiết đến hàm lượng MDA trong dịch đồng thể gan chuột nhắt trắng

Sau khi gây độc bằng paracetamol và cho chuột thí nghiệm uống cao dịch chiết. Tiến hành tách gan, xác định hàm lượng MDA trong tế bào gan. Kết quả hàm lượng MDA trong tế bào gan chuột thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 2 và Hình 1.

Kết quả Bảng 2 cho thấy:

- Sau 7 ngày uống paracetamol hàm lượng

MDA trong gan của chuột ở lô đối chứng 2 (lô chuột gây độc bằng Paracetamol) là 27,95 nmol/ml tăng cao hơn so với lô đối chứng 1 (lô không gây độc) 22,4 nmol/ml, mức chênh lệch là 5,55 nmol/ml. Điều đó chứng tỏ rằng, Paracetamol với liều lượng 2g/kg được sử dụng trong 7 ngày đã gây độc lên gan chuột, tăng quá trình peroxy hóa màng tế bào dẫn đến việc làm tăng hàm lượng MDA trong gan.

**Bảng 2.** Kết quả hàm lượng MDA trong gan chuột nhắt trắng

Thứ tự	Lô	Liều uống (g/kg)	Hàm lượng MDA (nmol/ml)	HTCO %
1	ĐC 1		22,4±1,85	
2	ĐC 2		27,95±1,3	
3	Lô 3	0.1	22,95±1,3	17,89
4	Lô 4	0.2	23,27±2,15	16,74
5	Lô 5	0.3	25,41±1.15	9,09
6	Lô 6	0.4	25,95±1,23	7,15

\* Ghi chú:

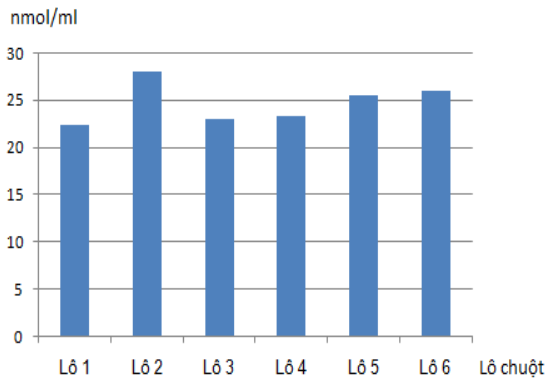
Lô 1: chuột không gây độc Paracetamol và uống nước cất

Lô 2: chuột BỊ gây độc Paracetamol LIỀU và được cho uống nước cất

- Ở các lô gây độc bằng acetaminophen, sau khi cho chuột uống cao dịch chiết trong 7 ngày ở các nồng độ khác nhau (01g/kg thể trọng đến 0,4g/kg thể trọng) thì hàm lượng MDA của các lô thí nghiệm giảm so với lô 2 và mức chênh lệch hàm lượng MDA lớn nhất giữa lô 3 (22.95nmol/ml) so với lô 2 (27.95nmol/ml) là 5nmol/ml.

Kết quả cho thấy cao dịch chiết từ quả Dứa dại đã có tác dụng ức chế quá trình peroxy hóa

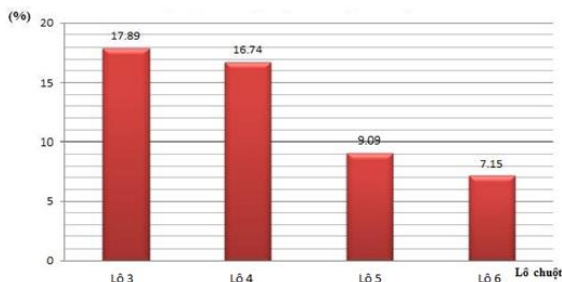
lipid màng tế bào gan bị gây tổn thương bởi acetaminophen, làm giảm hàm lượng MDA. Liều 0,1g/kg trọng lượng là liều có tác dụng tối ưu.



Hình 1. Hàm lượng MDA (nmol/ml) ở gan chuột

### 3.3. Hoạt tính chống oxy hóa của cao dịch chiết quả Dứa Dại ở tế bào gan chuột.

Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao dịch chiết ở gan chuột thí nghiệm được thể hiện qua Bảng 2, Hình 2.



Hình 2. Hoạt tính chống oxy hóa ở gan chuột

Qua Bảng 2 và Hình 2 cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của cao dịch chiết đối với tế bào gan chuột thí nghiệm giảm dần từ 17.89% (lô 3)

đến 7.15% (lô 6). Như vậy, cao dịch chiết có tác dụng đến hoạt tính chống oxy hóa trên tế bào gan chuột thí nghiệm và hoạt tính oxy hóa tỉ lệ nghịch với hàm lượng MDA ở gan chuột thí nghiệm.

Kết quả về hoạt tính chống oxy hóa của cao dịch chiết Dứa quả dại trên tế bào gan chuột thí nghiệm được giải thích do tác dụng của polyphenol có trong thành phần cao dịch chiết. Polyphenol là chất có khả năng kìm hãm các quá trình oxy hóa dây chuyền sinh ra bởi các gốc tự do chống, kháng viêm, chống lại sự phá hủy của tế bào. Chính vì vậy tế bào gan của các nhóm chuột được uống cao dịch chiết quả Dứa dại có khả năng chống lại quá trình oxy hóa màng tế bào bị gây ra bởi acetaminophen [6], [9], [10], [11], [12], [13].

### 4. Kết luận

- Cao dịch chiết methanol từ quả Dứa dại gây chết ở chuột thí nghiệm ở nồng độ 0,5g/kg thể trọng.
- Cao dịch chiết methanol từ quả Dứa dại có ảnh hưởng đến hàm lượng MDA trong dịch đồng thể gan của chuột thí nghiệm trong đó liều 0,1g/kg trọng lượng là liều có tác dụng tối ưu.
- Cao dịch chiết methanol có hoạt tính chống oxy hóa trên tế bào gan chuột thí nghiệm. Trong đó, liều 0,1g/kg trọng lượng là liều hoạt tính chống oxy hóa tốt nhất.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y tế, Vụ khoa học và đào tạo, *Hóa sinh lâm sàng*, NXB Y học, trang 123-124.
- [2] Võ Văn Chi (2004), *Từ điển thực vật thông dụng*, tập II, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
- [3] Nguyễn Văn Đán và cộng sự (1985), *Phương pháp nghiên cứu thành phần hóa học cây thuốc*, NXB Y học, chi nhánh Thành phố Hồ Chí Minh.
- [4] Phạm Hoàng Hộ (2002), *Cây cỏ Việt Nam*, tập III, NXB Trẻ.
- [5] Phạm Thanh Kỳ và cộng sự (2007), *Dược liệu học*, tập II, NXB Y học, Hà Nội.
- [6] Đỗ Tất Lợi (2000), *Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- [7] Panigrahi B.B, Panda P.K., Patro V.J. (2011), "Antitumor and in vitro antioxidant activities of *Pandanus odoratissimus* Linn against ehrlich ascites carcinoma in swiss albino mice", *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*, 8 (2), 202.
- [8] Naveen Singhali, R. Parthsharhi (2013), "Pharmacological Screening for Nootropic and Anti-Oxidant Activity of *Pandanus Odoratissimus* L.F leaves", *Asian Journal of Biocheminical and*

*Pharmaceutical Research Issue 3 (Vol.3)2012.*

- [9] Ramesh Londonkar, Abhaykumar Kamble and V. Chinnappa Reddy (2010), “Antiinflammatory activity of *Pandanus odoratissimus* extract”, *International Journal of Pharmacology*, 6, 311-314.
- [10] Ting-Ting Jong, Shang-Whang Chau (1998), “Antioxidative activities of constituents isolated from *Pandanus odoratissimus*”, *Phytochemistry*, 49 (7), 2145-2148.