

DOI:10.22144/ctujos.2024.350

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG OXI HÓA CỦA CÂY CỎ MỤC (*Eclipta prostrata* (L.) L.)

Lê Thị Bạch^{1*}, Huỳnh Thu Hạnh², Phạm Thị Kim Phương³, Nguyễn Thị Thúy Tâm¹, Tăng Huỳnh Chi¹, Lê Thị Diễm Thùy¹, Lê Ngọc Quang¹, Tăng Bảo Phúc¹, Huỳnh Trần Bảo Trân¹ và Phạm Quốc Nhiên¹

¹Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Bách Khoa, Trường Đại học Cần Thơ

³Khoa Sư phạm, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): ltbach@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 08/04/2024

Sửa bài (Revised): 17/06/2024

Duyệt đăng (Accepted): 18/07/2024

Title: Study on chemical composition and antioxidant activity of *Eclipta prostrata* (L.) L.

Author(s): Lê Thị Bạch^{1*}, Huỳnh Thu Hạnh², Phạm Thị Kim Phương³, Nguyễn Thị Thúy Tâm¹, Tăng Huỳnh Chi¹, Lê Thị Diễm Thùy¹, Lê Ngọc Quang¹, Tăng Bảo Phúc¹, Huỳnh Trần Bảo Trân¹ and Phạm Quốc Nhiên¹

Affiliation(s): ^{1,2} Can Tho University; ³An Giang University, Vietnam National University - Ho Chi Minh City

TÓM TẮT

Cây cỏ mực (*Eclipta prostrata* (L.) L.) thuộc họ Cúc (*Asteraceae*), từ lâu đã được nhiều nơi trên thế giới sử dụng làm thuốc dân gian. Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết khác nhau từ cây Cỏ mực cho thấy cao chiết ethyl acetate có hoạt tính tốt với giá trị IC_{50} lần lượt là 62,02 và 72,41 $\mu\text{g/mL}$ theo hai phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH và ABTS⁺. Từ phân đoạn này, bằng kỹ thuật sắc ký lớp mỏng và sắc ký cột đã phân lập và xác định được cấu trúc của hai hợp chất hóa học bằng phổ NMR đó là protocatechuic acid (1), và 6'-O-crotonyleclalbasaponin A (2). Trong đó, hợp chất 6'-O-crotonyleclalbasaponin A lần đầu tiên được phân lập từ loài cây này và hợp chất protocatechuic acid (1) đã thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa tốt với giá trị IC_{50} tương ứng là 13,24 và 16,23 $\mu\text{g/mL}$ theo phương pháp DPPH và ABTS⁺. Các kết quả này đã chứng minh cây Cỏ mực *E. prostrata* có tiềm năng ứng dụng kháng oxy hóa và có thể ứng dụng trong dược phẩm.

Từ khóa: *Eclipta prostrata* (L.) L., hoạt tính kháng oxy hóa, thành phần hóa học

ABSTRACT

Eclipta prostrata (L.) L. belonging to the *Asteraceae* family has been long used by various local communities in the world as traditional medicine. Antioxidant activity of different extracts from *Eclipta prostrata* (L.) L. revealed that ethyl acetate extract has high activity with the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of 62.02 and 72.41 $\mu\text{g/mL}$ by DPPH and ABTS⁺ method. Processing of this fraction using repeated column and thin layer chromatographic techniques resulted in the isolation of two compounds including protocatechuic acid (1), and 6'-O-crotonyleclalbasaponin A (2), which have identified by NMR. Among them, 6'-O-crotonyleclalbasaponin A is isolated first time from this species and protocatechuic acid has good antioxidant activity with the IC_{50} values of 13.24 and 16.23 $\mu\text{g/mL}$ by DPPH and ABTS⁺ method, respectively. The results demonstrate the beneficial effects of *E. prostrata* as an antioxidant and bioactive compound for medicinal usage.

Keywords: *Eclipta prostrata* (L.) L., antioxidant activity, chemical composition

1. GIỚI THIỆU

Các loài thực vật ngày càng đóng một vai trò quan trọng trong việc bảo vệ sức khỏe của con người và chống lại bệnh tật. Cây cỏ mực (*Eclipta prostrata* (L.) L.) thuộc họ Cúc (Asteraceae), đã được sử dụng từ lâu như một loại thuốc dân gian (Timalsina et al., 2021). Ở các loài thực vật, quá trình sinh tổng hợp những hợp chất hóa học diễn ra liên tục theo những chu trình được thiết lập sẵn. Các chất chuyển hóa thứ cấp này giúp duy trì sự sống, sự đa dạng về khung cấu trúc các hợp chất thiên nhiên và phần lớn quyết định hoạt tính sinh học khác nhau ở mỗi loài được liệt kê. Các công trình nghiên cứu trên thế giới cho thấy các cao chiết từ Cỏ mực có nhiều hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, kháng virus, kháng nấm, kháng khuẩn, chống HIV (Gani AMS & DN Devi Ahmad, 2015; Chung et al., 2017). Các nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy Cỏ mực chứa các nhóm hợp chất như alkaloids, flavonoids, polyacetals, triterpenes và glycosides (Sharma et al., 2017).

Hiện tượng stress oxy hóa và tổn thương tế bào lâu dài sẽ làm phát sinh các bệnh nguy hiểm khác nhau. Tuy cơ thể cũng có các cơ chế để trung hòa các gốc tự do, nhưng để thúc đẩy quá trình này nhanh hơn thì xu hướng hiện nay là đẩy mạnh việc bổ sung chất kháng oxy hóa, nên nhu cầu về việc nghiên cứu hoạt tính kháng oxy hóa của các hợp chất tự nhiên vẫn rất cần được nghiên cứu (Tan et al., 2018).

Hiện nay chưa có nhiều công bố khoa học về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của loài Cỏ mực ở Việt Nam. Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết từ Cỏ mực được đánh giá bằng phương pháp sử dụng gốc tự do DPPH, ABTS^{•+}. Bên cạnh đó, thành phần hóa học của cao chiết ethyl acetate, là cao cho hiệu quả kháng oxy hóa tốt nhất trong các cao khảo sát, cũng được tiến hành nhằm phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất. Tiếp theo, nghiên cứu cũng khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các hợp chất phân lập được nhằm tìm hiểu rõ thêm về mối liên hệ giữa hoạt tính sinh học và cấu trúc hóa học của các hợp chất. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm góp phần cung cấp thêm những thông tin về thành phần hóa học cũng như nâng cao giá trị của loài Cỏ mực ở Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất và thiết bị

Phổ 1D-NMR và 2D-NMR được ghi lại bằng máy cộng hưởng từ nhân Bruker Avance 600 MHz,

được thực hiện tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hóa chất sử dụng cho nghiên cứu này gồm có: *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, methanol và ethanol 96% (Chemsol, Vietnam). Silica gel cỡ 60 (Merck, Đức) dùng cho sắc ký cột; TLC F₂₅₄ (0.063–0.200mm, Merck, Đức) sử dụng cho sắc ký lớp mỏng.

2.2. Đối tượng nghiên cứu và chuẩn bị nguyên vật liệu

Thân và lá Cỏ mực được thu hái tại địa bàn xã Phú Tân, huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang, Việt Nam. Mẫu được định danh bởi TS. Nguyễn Thị Kim Huệ và lưu trữ tại Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, trường Đại học Cần Thơ.

Nguyên liệu tươi được xử lý, sau đó được sấy khô ở nhiệt độ 50°C. Sau khi sấy khô, nguyên liệu được nghiền nhuyễn và bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Độ ẩm được liệt kê được xác định với kết quả là 7,65±1,20% theo hướng dẫn của Dược điển Việt Nam V (Bộ Y tế, 2017).

2.3. Phân lập các hợp chất

Bột nguyên liệu (4.0 kg) được tiến hành ngâm ~~đầm~~ trong dung môi ethanol 96% trong 24 giờ. Dịch chiết được cô quay dưới áp suất kém thu được 420 g cao tổng ethanol Cỏ mực.

Chiết lỏng-lỏng cao tổng ethanol này với các dung môi có độ phân cực tăng dần *n*-hexane, ethyl acetate, và methanol. Dịch chiết được cô quay dưới áp suất kém thu được 126 g, 80 g và 210 g các cao phân đoạn tương ứng.

Cao phân đoạn ethyl acetate (80 g), cho hoạt tính kháng oxy hóa hiệu quả nhất trong các cao khảo sát, được tiến hành tách bằng sắc ký cột nhanh khô với hệ dung môi *n*-hexane: ethyl acetate (3:1 - 0:100) rồi tiếp tục với hệ dung môi ethyl acetate: methanol (80:1 - 0:100) thu được 9 phân đoạn, được kí hiệu EAF1-9. Phân đoạn EAF1.2 (1.5 g) được tiếp tục tiến hành sắc ký cột bằng hệ dung môi *n*-hexane: ethyl acetate (9:1 - 0:100) thu được 5 phân đoạn nhỏ, kí hiệu EAF1.2.1-5. Sắc ký cột phân đoạn EAF1.2.2 (150 mg) thu được hợp chất 1 (23 mg). Tương tự, phân đoạn EAF1.3 (2.5 g) được chia thành 5 phân đoạn nhỏ bằng silica gel, rửa giải bằng CHCl₃: MeOH (20:1 - 0:100). Phân đoạn EAF1.3.4 (478 mg) được xử lý nhiều lần bằng sắc ký cột silica gel để thu được hợp chất 2 (21 mg, rửa giải bằng CHCl₃: MeOH, 80:20).

2.4. Thử nghiệm khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro*

2.4.1. Phương pháp trung hòa gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH):

Thử nghiệm kháng oxy hóa sử dụng gốc tự do DPPH được tiến hành theo phương pháp của Sharma et al. (2009) có thay đổi. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho 100 μL dung dịch gốc DPPH vào 900 μL dung dịch cao chiết được pha trong methanol sao cho nồng độ lúc phản ứng của DPPH là 100 μM và của cao chiết là từ 0-500 $\mu\text{g/mL}$. Sau khi cho DPPH vào, dung dịch được lắc đều rồi được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng 517 nm. Vitamin C được dùng làm đối chứng dương trong thử nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả được biểu diễn bằng giá trị IC_{50} $\mu\text{g/mL}$ (Sharma & Bhat, 2009).

2.4.2. Phương pháp trung hòa gốc tự do 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($\text{ABTS}^{+\cdot}$)

Thử nghiệm kháng oxy hóa sử dụng gốc tự do $\text{ABTS}^{+\cdot}$ được tiến hành theo phương pháp của Nenadis et al. (2004). Chất kháng oxy hóa được cho vào dung dịch chứa $\text{ABTS}^{+\cdot}$, các chất kháng oxy hóa sẽ khử ion $\text{ABTS}^{+\cdot}$ thành ABTS làm cho dung dịch mất màu xanh. Dung dịch gốc tự do $\text{ABTS}^{+\cdot}$ được chuẩn bị bằng cách cho dung dịch ABTS nồng độ 7 mM vào dung dịch $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ nồng độ 2,45 mM với thể tích bằng nhau rồi ủ dung dịch ở bóng tối trong 16 h, sau đó pha loãng bằng ethanol rồi điều chỉnh độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 734 nm đến $0,70 \pm 0,05$. Dung dịch này được dùng cho thử nghiệm. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách thêm 10 μL mẫu thử vào 990 μL dung dịch gốc tự do $\text{ABTS}^{+\cdot}$ và ủ ở nhiệt độ phòng (khoảng 30°C) trong 6 phút. Độ hấp thụ được đo ở 734 nm. Đối chứng dương được sử dụng trong thử nghiệm là trolox với nồng độ sau cùng là 0-15 $\mu\text{g/mL}$. Thử nghiệm được lặp lại 3 lần và kết quả được biểu diễn bằng giá trị IC_{50} $\mu\text{g/mL}$ (Nenadis et al., 2004).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả được trình bày ở dạng giá trị trung bình \pm sai số chuẩn của các giá trị trung bình thực hiện trên Excel 2013.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhận danh hợp chất

Các hợp chất sau khi được phân lập từ cao ethyl acetate của Cỏ mực sẽ được định danh. Cấu trúc của các hợp chất này được trình bày ở Hình 2 đã được

làm sáng tỏ bằng phương pháp phân tích dữ liệu phổ 1D và 2D-NMR, kết hợp so sánh với dữ liệu phổ đã được báo cáo trước đó.

3.1.1. Hợp chất 1

Hợp chất (1) thu được dưới dạng bột màu nâu, nhiệt độ nóng chảy $201-203^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOD, δ , ppm, J/Hz): 7,46 (1H, d , $J = 1,8$ Hz, H-2); 7,44 (1H, dd , $J = 7,8$ Hz và 1,8 Hz, H-6); 6,82 (1H, d , $J = 7,8$ Hz, H-5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, MeOD, δ , ppm, J/Hz): 170,5 (C-7); 151,4 (C-4); 146,0 (C-3); 123,9 (C-5); 123,4 (C-1); 117,8 (C-2); 115,7 (C-6).

3.1.2. Hợp chất 2

Hợp chất 2 là chất bột màu trắng, vô định hình, nhiệt độ nóng chảy $256-258^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOD, δ , ppm, J/Hz): 7,01 (1H, dq , $J = 6,9$ và 15,5 Hz, H-9'); 5,89 (1H, dq , $J = 1,6$ và 15,5 Hz, H-8'); 5,35 (1H, d , $J = 8,0$ Hz, H-1'); 5,32 (1H, m , H-12); 4,52 (1H, m , H-16); 4,38 (1H, dd , $J = 2,5$ và 11,6 Hz, H-6'); 4,32 (1H, dd , $J = 7,0$ và 11,6 Hz, H-6'); 4,30 (1H, d , $J = 7,8$ Hz, H-1'); 3,81 (1H, d , $J = 11,0$ Hz, H-6'); 3,67 (1H, dd , $J = 4,0$ và 11,6 Hz, H-6'); 3,47 (1H, dd , $J = 7,2$ và 9,7 Hz, H-5'); 3,33 (1H, m , H-5'); 3,32 (1H, m , H-3'); 3,32 (1H, m , H-4'); 3,32 (1H, m , H-3'); 3,29 (1H, m , H-2'); 3,25 (1H, dd , $J = 8,9$ và 9,8 Hz, H-4'); 3,20 (1H, dd , $J = 7,8$ và 9,2 Hz, H-2'); 3,10 (1H, dd , $J = 4,2$ và 11,6 Hz, H-3); 2,99 (1H, dd , $J = 4,2$ và 14,4 Hz, H-18); 1,90 (3H, dd , $J = 4,2$ và 6,9 Hz, H-10'); 1,37 (3H, s , H-27); 1,04 (3H, s , H-23); 0,95 (3H, s , H-30); 0,95 (3H, s , H-25); 0,89 (3H, s , H-29); 0,84 (3H, s , H-24); 0,79 (3H, s , H-26).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, MeOD, δ , ppm): 177,3 (C-28); 167,9 (C-7'); 146,6 (C-9'); 144,8 (C-13); 123,5 (C-12); 123,5 (C-8'); 106,7 (C-1'); 94,0 (C-1'); 91,0 (C-3); 78,7 (C-5'); 78,3 (C-3'); 78,2 (C-3'); 75,5 (C-2'); 75,1 (C-5'); 74,9 (C-16); 74,0 (C-2'); 72,2 (C-4'); 71,1 (C-4'); 64,7 (C-6'); 62,4 (C-6'); 57,2 (C-6); 49,6 (C-17); 48,3 (C-9); 47,8 (C-19); 42,3 (C-14); 42,1 (C-18); 40,8 (C-8); 40,1 (C-1); 40,0 (C-4); 37,9 (C-10); 36,4 (C-15); 36,3 (C-21); 34,2 (C-7); 33,3 (C-29); 31,7 (C-22); 31,3 (C-20); 28,5 (C-23); 27,3 (C-27); 27,1 (C-2); 25,0 (C-30); 24,5 (C-11); 19,3 (C-6); 18,2 (C-10'); 17,8 (C-26); 16,9 (C-24); 16,1 (C-25).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất (1) cho thấy có ba tín hiệu proton xuất hiện dưới dạng ABX ở các độ dịch chuyển tại δ_{H} 7,46 (1H, d , 1,8 Hz; H-2); 7,44 (1H, dd , 7,8 và 1,8 Hz; H-6); và 6,82 (1H, d , 7,8 Hz;

H-5) đã thể hiện cấu trúc của một vòng thơm ở ba vị trí thế - 1, 3, 4.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho thấy sự xuất hiện các tín hiệu carbon tương ứng với các phân tích ở phổ $^1\text{H-NMR}$ như sáu tín hiệu carbon vòng thơm, trong đó hai tín hiệu carbon liên kết trực tiếp với nhóm rút điện từ hydroxyl tại δ_{C} 151,4; 146,0 ppm, và một tín hiệu carbon carbonyl tại δ_{C} 170,5 ppm. Thêm vào đó, phổ DEPT đã cho thấy hợp chất có 4 carbon tứ cấp. Hợp chất (1) qua các phân tích có thể định danh là 3,4-dihydroxy benzoic acid và dữ liệu phổ của hợp chất đã được đối chiếu với tài liệu công bố trước đó để kiểm tra độ chính xác (Chang et al., 2009).

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất (2) cho thấy sự hiện diện của một tín hiệu proton mũi ba methine olefin tại δ_{H} 5,32 và bảy tín hiệu proton methyl mũi đơn lần lượt tại δ_{H} 1,37 (3H, s), 1,04 (3H, s), 0,95 (3H, s), 0,95 (3H, s), 0,89 (6H, s), 0,84 (3H, s), 0,79 (3H, s), giúp khẳng định hợp chất (2) là một hợp chất triterpene thuộc khung sườn oleanolic acid. Ngoài ra, phổ $^1\text{H-NMR}$ cũng cho thấy sự hiện diện của 2 proton anomer tại δ_{H} 4,30 (1H, d, 7,8) và 5,35 (1H, d, 8,0), 2 nhóm hydroxymethylene tại [δ_{H} 4,38 (1H, dd, 11,6; 2,5) và 4,32 (1H, dd, 11,6; 7,0); 3,81 (1H, d, 11,0) và 3,67 (1H, dd, 11,6; 4,0)], và các nhóm oxymethine trong vùng từ trường từ δ_{H} 3,20-3,47, giúp xác định hợp chất (2) có mang 2 phân tử đường glucose. Tương quan COSY giúp xác định độ dịch chuyển hóa học của các proton của hai phân tử đường. Mặt khác, phổ $^1\text{H-NMR}$ cũng cho thấy sự hiện diện của 2 tín hiệu proton olefin ghép *trans* với nhau tại δ_{H} 7,01 (1H, dq, 15,5; 6,9) và 5,89 (1H, dq, 15,5; 1,6) và đồng thời ghép cặp với proton methyl tại δ_{H} 1,90 (3H, dd, 6,9; 1,6), giúp xác định sự hiện diện của 1 nhóm thế crotonyl.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất (2) giúp xác định 46 tín hiệu carbon bao gồm 30 tín hiệu carbon của khung aglycon oleanolic acid; 4 carbon của nhóm *trans*-crotonyl, và 12 tín hiệu carbon của 2 phân tử đường glucose.

Tương quan HMBC của 2 nhóm methyl H₃-23 (δ_{H} 1,04) và H₃-24 (δ_{H} 0,84) và của proton anomer H-1' (δ_{H} 4,30) với carbon oxymethine tại δ_{C} 91,0 (C-3) giúp xác định vị trí của phân tử đường thứ nhất tại C-3. Tương quan HMBC của proton H-18 tại δ_{H} 2,99 (dd, 14,4; 4,2) với carbon carbonyl tại δ_{C} 177,3 (C-28) giúp xác định vị trí của nhóm COOH tại C-17. Tương quan của proton anomer tại δ_{H} 5,35 với carbon C-28 giúp xác định vị trí của phân tử đường glucose thứ hai tại C-28. Ngoài ra, tương quan HMBC của proton này với carbon oxymethine tại δ_{C} 74,9 (C-16) và của proton oxymethine H-16 (δ_{H}

4,52) với C-18 và C-28 giúp xác định sự hiện diện của nhóm OH tại C-16. Cuối cùng, hai proton của nhóm hydroxymethylene H₂-6' [δ_{H} 4,38 (1H, dd, 11,6; 2,5) và 4,32 (1H, dd, 11,6; 7,0)] và hai proton olefin tại δ_{H} 7,01 (1H, dq, 15,5; 6,9) và 5,89 (1H, dq, 15,5; 1,6) cùng cho tương quan HMBC với carbon carbonyl tại 167,9 giúp xác định vị trí của nhóm *trans*-crotonyl tại C-6' của phân tử đường thứ nhất (Hình 1).

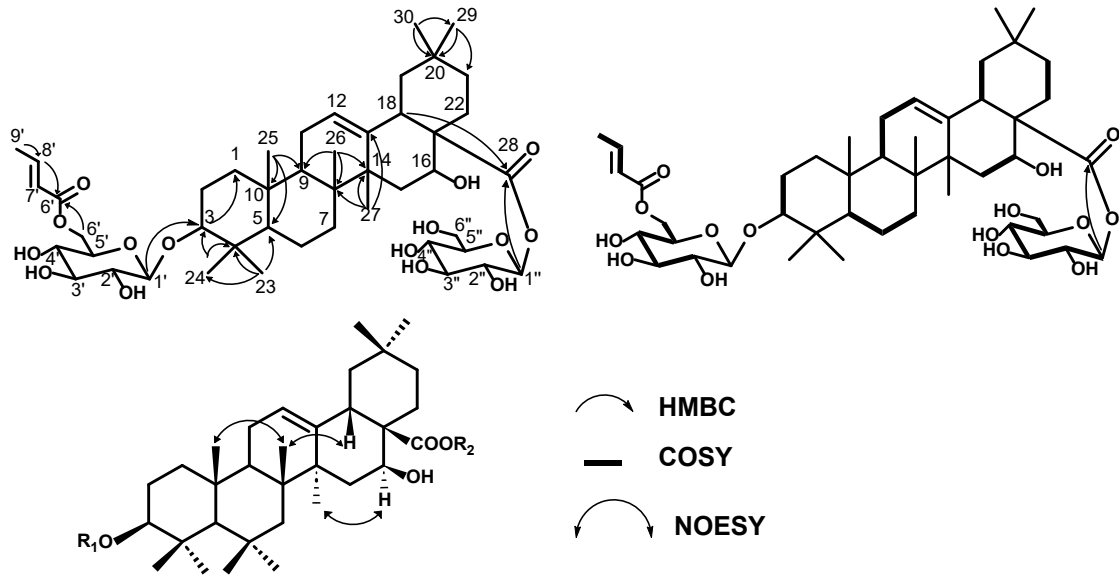
Các dữ liệu trên phù hợp với các dữ liệu phổ NMR của 6'-*O*-crotonyleclalbasaponin A giúp nhận danh hợp chất (2) là 6'-*O*-crotonyleclalbasaponin A. Tuy nhiên, phổ NOESY cho tương quan mạnh giữa H-16 và H-27 giúp xác định rằng 2 nhóm này phải ở cùng phía với nhau. Điều đó giúp xác định H-16 phải ở vị trí *alpha* và cấu hình của C-16 ngược với cấu hình đã công bố trong TLTK (Yu et al., 2020).

3.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng oxi hóa *in vitro*

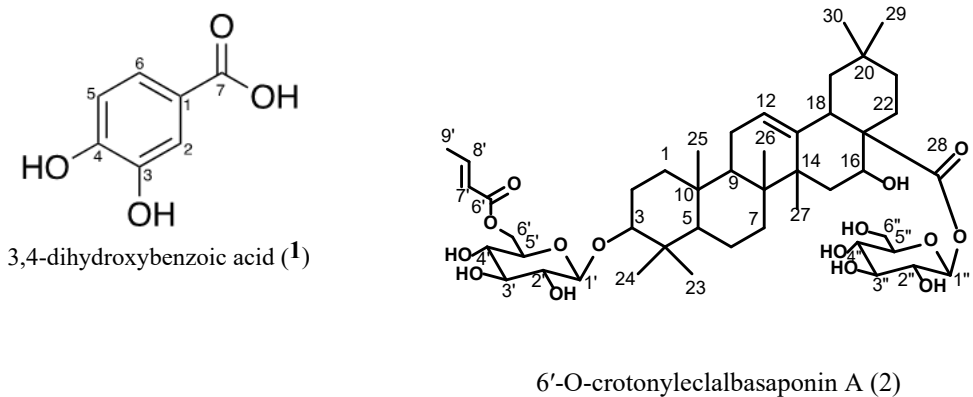
Hoạt tính kháng oxi hóa *in vitro* của các cao chiết Cỏ mực và hợp chất phân lập được đánh giá bằng hai phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH và ABTS^{•+}. Theo kết quả thể hiện ở Bảng 1 ta thấy, trong cả 2 phương pháp, cao ethyl acetate đều thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa tốt nhất trong các cao khảo sát với giá trị IC₅₀ lần lượt là 62,02 $\mu\text{g/mL}$ và 72,41 $\mu\text{g/mL}$ tương ứng với hai phương pháp DPPH và ABTS^{•+}. Đối với hai hợp chất (1) và (2) phân lập được, hợp chất (1) thể hiện hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH và ABTS^{•+} tốt với giá trị IC₅₀ lần lượt là 13,24 $\mu\text{g/mL}$ và 16,23 $\mu\text{g/mL}$. Theo phương pháp DPPH, tuy giá trị IC₅₀ của hợp chất (1) thấp hơn khoảng 3 lần khi so với đối chứng dương là vitamin C (IC₅₀ = 4,39 $\mu\text{g/mL}$) nhưng đã thể hiện hoạt tính tốt. Vitamin C là một sản phẩm được thương mại hóa có độ tinh sạch cao, được biết đến với khả năng kháng oxi hóa mạnh, do đó hiệu quả ức chế gốc tự do cao hơn so với các cao chiết và các hợp chất thử nghiệm (1) và (2). Đối với phương pháp ABTS^{•+}, kết quả nghiên cứu cho thấy giá trị IC₅₀ của Cỏ mực là 16,23 \pm 2,10 $\mu\text{g/mL}$ có khả năng trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} thấp hơn không đáng kể so với của trolox (IC₅₀ = 11,80 \pm 0,17 $\mu\text{g/mL}$). Protocatechuic acid là thành phần có nhiều trong rau quả, là một trong những chất kháng oxi hóa phổ biến. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, các hợp chất phenol có mối quan hệ tuyến tính đến hoạt động kháng oxi hóa và thường xuất hiện trong nhiều loài thực vật (Chang et al., 2007). Tính kháng oxi hóa của các hợp chất phenol sẽ phụ thuộc vào số lượng nhóm hydroxyl do tác dụng thu dọn các gốc tự do của chúng. Tùy thuộc vào số lượng và vị trí tương hỗ của các nhóm -OH

với bộ khung hóa học mà các tính chất lý hóa học hoặc hoạt tính sinh học thay đổi (Marzoug et al., 2011). Lin et al. (2007) đã chỉ ra rằng, hợp chất này có khả năng ngăn ngừa ung thư hoặc sự phát triển của khối u trong thử nghiệm *in vivo*. Trong một nghiên cứu khác được thực hiện bởi Kakkar et al. (2014), kết quả cho thấy khi so sánh với đối chứng dương trolox, tỉ lệ: IC₅₀ (trolox/protocatechuic acid) là 2.8 và 2.3 lần tương ứng theo hai phương pháp DPPH và ABTS⁺, chứng tỏ khả năng kháng oxy hóa của hợp chất này rất hiệu quả.

Xu hướng nghiên cứu gốc tự do và các chất kháng oxy hóa ngày càng được chú trọng trong lĩnh vực y, được nhằm phát hiện những chất kháng oxy hóa mang lại những tác dụng tốt có lợi cho sức khỏe con người, trong đó chất kháng oxy hóa có nguồn gốc thiên nhiên hiện nay được nhiều quốc gia, nhiều nhà khoa học quan tâm do đặc tính ít độc, dễ hấp phụ đối với cơ thể và ít gây ra các phản ứng phụ (Xu et al., 2017).



Hình 1. Một số tương quan HMBC, COSY và NOESY của hợp chất (2)



Hình 2. Cấu trúc hóa học của hợp chất (1) và (2)

Bảng 1. Kết quả hoạt tính kháng oxi hóa của các cao chiết Cỏ mực và hợp chất phân lập

Mẫu thử	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)	
	DPPH	ABTS ^{•+}
Cao tổng ethanol	230,66 ± 5,35	166,94 ± 8,25
Cao <i>n</i> -hexane	325,33 ± 6,42	298,86 ± 9,35
Cao ethyl acetate	62,02 ± 3,18	72,41 ± 4,21
Hợp chất (1)	13,24 ± 2,15	16,23 ± 2,10
Hợp chất (2)	52,65 ± 4,52	41,80 ± 3,57
Đối chứng dương		
Vitamin C	4,39 ± 0,12	-
Trolox	-	11,80 ± 0,17

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Y Tế. (2017). Dược điển Việt Nam V.
 Chang, S. W., Kim, K. H., Lee, I. K., Choi, S. U. Ryu, S. Y., Lee, K. R. (2009). Phytochemical constituents of *Bistorta manshuriensis*. *Natural Product Sciences*, 15 (4), 234–240.
 Chang, H. C., Huang, G. J., Agrawal, D. C., Kuo, C. L., Wu, C. R., & Tsay, H. S. (2007). Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as “Gusuibu.” *Botanical Studies*, 48(4), 397–406. doi:10.1007/s11627-007-9037-6
 Chung, I. M., Rajakumar, G., Lee, J. H., Kim, S. H., & Thiruvengadam, M. (2017). Ethnopharmacological uses, phytochemistry, biological activities, and biotechnological applications of *Eclipta prostrata*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(13), 5247-5257. doi:10.1007/s00253-017-8363-9
 Gani A., Devi, D. (2015). Anti-oxidant activity of methanolic extract of leaves of *Eclipta prostrata* (L.) L. *International Journal of Phytopharmacy*, 5(6), 127-129. doi:10.7439/ijpp
 Kakkar, S., Bais, S. (2014). A review on protocatechuic acid and its pharmacological potential. *ISRN Pharmacol*, 1,1-9. doi: 10.1155/2014/952943
 Lin, H.-H., Chen, J.-H., Huang, C.-C., Wang, C.-J. (2007). Apoptotic effect of 3,4-dihydroxybenzoic acid on human gastric carcinoma xells involving JNK/p38 MAPK signaling activation. *International Journal of Cancer*, 120(11), 2306–16. doi: 10.1002/ijc.22571
 Marzoug, H. N. B., Romdhane, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., Couderc, F., Abderraba, M. & Bouajila, J. (2011). *Eucalyptus oleosa* essential oils: chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy cao chiết ethyl acetate Cỏ mực thể hiện khả năng kháng oxi hóa cao nhất so với các cao chiết thử nghiệm khi được khảo sát bằng phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH, ABTS^{•+}. Từ đó, nghiên cứu đã phân lập được hai hợp chất trong cao phân đoạn ethyl acetate, đó là protocatechuic acid (1), và 6'- crotonyleclalbasaponin A (2). Hợp chất (1) protocatechuic acid đã thể hiện khả năng kháng oxi hóa tốt với giá trị IC₅₀ lần lượt là 13,24 và 16,23 µg/mL theo 2 phương pháp tương ứng DPPH và ABTS^{•+}. Kết quả nghiên cứu này cho thấy Cỏ mực là nguồn dược liệu tiềm năng ứng dụng trong việc ngăn ngừa các bệnh do stress oxi hóa gây nên.

plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). *Molecules*, 16(2), 1695-1709. doi:10.3390/molecules16021695
 Nenadis, N., Wang, L.-F., Tsimidou, M. & Zhang, H.-Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS^{•+} assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52 (15), 4669-4674. doi:10.1021/jf0400056
 Sharma, S., & Richa, H. (2017). Phytochemical and anatomical screening of *Eclipta prostrata* L. An important medicinal herb from Chandigarh. *Journal of Medicinal Plants*, 5(2), 255-258.
 Sharma, O. P. & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205. doi:10.1016/j.foodchem.2008
 Tan, B.L., Norhaizan., M.E., Liew, W.P., Rahman, H. S. (2018). Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases. *Front Pharmacol*, 9, 1-28. doi: 10.3389/fphar.2018.01162
 Timalsina, D., Devkota, H. P. (2021). *Eclipta prostrata* (L.) L. (Asteraceae): Ethnomedicinal uses, chemical constituents, and biological activities. *Biomolecules*. 11(11), 1738. doi: 10.3390/biom11111738
 Xu, D.-P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.-J., Li, H.-B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 1-32. doi:10.3390/ijms18010096
 Yu, S.-J., Yu, J.-H., Yu, Z.-P., Yan, X., Zhang, J.-S., Sun, J., Zhang, H. (2020). Bioactive terpenoid constituents from *Eclipta prostrata*. *Phytochemistry*, 170, 112192, doi: 10.1016/j.phytochem.2019.112192