



## CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES FROM ETHYL ACETATE EXTRACT OF MORINDA OFFICINALIS COLLECTED IN DAK LAK

Dam Thi Bich Hanh<sup>1\*</sup>, Ngu Truong Nhan<sup>1</sup>, Truong Ba Phong<sup>1</sup>, Trinh Ngoc Thao Vy<sup>1</sup>, Phan Hoang Thai Bao<sup>1</sup>,  
Dang Thi Thuy My<sup>1</sup>, Nguyen Thi Dung<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tay Nguyen University, Viet Nam

<sup>2</sup>Tan Trao University, Vietnam

Email address: dtbhanh@ttn.edu.vn

DOI: 10.51453/2354-1431/2022/812

### Article info

Received: 30/06/2022

Revised: 15/07/2022

Accepted: 01/08/2022

### Keywords:

*Morinda officinalis*; GS-MS;  
ethyl acetate; antioxidant  
activity; Dak Lak.

### Abstract:

*Morinda officinalis* is a species of herbal plant belonging to the genus *Morinda* L., the coffee family (Rubiaceae), this species is widely distributed in the northern mountainous provinces, the Central Highlands and the province China's Guangxi. Currently, *Morinda officinalis* is propagated and grown in Dak Lak province and is used as a medicine. In this study, we determined the chemical composition of ethyl acetate root extract and evaluated the antioxidant activity of the extract obtained by DPPH method.

The results of determining the chemical composition of the ethyl acetate extract have 15 compounds, the main classes of which are: anthraquinones, triterpenes, organic acids. Evaluation of high oxidizing mineral activity of ethyl acetate extract by DPPH method showed very strong antioxidant capacity with  $IC_{50} = 3.33$  mg/ml, 10.5 times stronger than ascorbic acid positive control ( $IC_{50} = 34.99$  mg/ml).



## THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXI HÓA CỦA CAO ETHYL ACETATE CÂY BA KÍCH (*MORINDA OFFICINALIS*) Ở TỈNH ĐẮK LẮK

Đàm Thị Bích Hạnh<sup>1\*</sup>, Ngũ Trường Nhân<sup>1</sup>, Trương Bá Phong<sup>1</sup>, Trịnh Ngọc Thảo Vy<sup>1</sup>, Phan Hoàng Thái Bào<sup>1</sup>,  
Đặng Thị Thùy My<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Dung<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Trường Đại học Tây Nguyên, Việt Nam

<sup>2</sup> Trường Đại học Tân Trào, Việt Nam

Địa chỉ email: dtbhanh@ttn.edu.vn

DOI: 10.51453/2354-1431/2022/812

Thông tin bài viết	Tóm tắt
<p>Ngày nhận bài: 30/06/2022</p> <p>Ngày sửa bài: 15/07/2022</p> <p>Ngày duyệt đăng: 01/08/2022</p>	<p>Cây Ba kích (<i>Morinda officinalis</i>) là một loài cây thảo dược quý thuộc chi Nhàu (<i>Morinda L.</i>), họ cà phê (<i>Rubiaceae</i>), trong tự nhiên thường phân bố ở các tỉnh miền núi phía Bắc, khu vực Tây Nguyên Việt Nam và tỉnh Quảng Tây của Trung Quốc. Hiện nay, cây Ba kích đang được nhân giống trồng đại trà ở tỉnh Đắk Lắk và được sử dụng rộng rãi như một loại dược liệu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định thành phần hóa học của cao chiết được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS và đánh giá hoạt tính kháng oxi hóa của cao chiết ethyl acetate rễ cây này bằng phương pháp DPPH. Kết quả xác định được 15 hợp chất từ cao chiết ethyl acetate của rễ cây Ba kích (<i>Morinda officinalis</i>), trong đó có các lớp chất chính là: anthraquinon, triterpen, các acid hữu cơ. Kết quả đánh giá hoạt tính khoáng oxi hóa cao chiết ethyl acetate cho thấy cao chiết ethyl acetate có khả năng kháng oxi hóa rất tốt với giá trị <math>IC_{50} = 3,33</math> mg/ml, mạnh hơn 10,5 lần so với chất đối chứng đương acid ascorbic (<math>IC_{50} = 34,99</math> mg/ml).</p>
<p><b>Từ khóa:</b></p> <p>Ba kích, GS-MS, ethyl acetate, hoạt tính kháng oxi hóa, Đắk Lắk.</p>	

### 1. Mở đầu

Cây Ba kích tên khoa học là *Morinda officinalis* (hay còn gọi là *Ba kích thiên*, nhàu thuốc, ruột gà), thuộc chi Nhàu (*Morinda L.*), họ cà phê (*Rubiaceae*). Ba kích là loài cây thân thảo, sống lâu năm, có thể leo bằng thân quấn. Thân cây non màu tím và có nhiều lông. Cảnh cây non có cạnh. Lá đơn nguyên mọc đối chữ thập, tạo thành các lông thân dài từ 5 – 10 cm, rộng từ 2,5 – 6 cm. Phiến lá hình bầu dục thuôn ngược, đầu là ngọn gấp, đuôi lá hình tim hoặc tròn, phiến lá lúc non màu xanh, khi già màu trắng mốc và khi khô có màu nâu tím. Mặt dưới phiến lá đếm có 8 - 9 cặp gân thứ cấp. Cây có lá kèm mỏng, ôm sát vào thân. Hoa cây Ba kích nhỏ. Khi mới nở có màu trắng, về sau màu hơi

vàng. Hoa có chiều dài từ 0,3 – 1,5 cm, thường mọc tập trung thành tán ở đầu cành. Đài hoa có dạng hình ống hoặc hình chén với các lá đài nhỏ, không đều nhau. Mùa hoa thường nở vào tháng 5 – 6. Quả cây có hình cầu, lúc chín có màu đỏ. Quả thường bắt đầu được thu từ tháng 7 và kết thúc vào tháng 10 [1, 2].

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 như 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. Hiện nay cây Ba kích đã được nhân giống và trồng rộng rãi ở nhiều tỉnh thành trong cả nước [3].

Theo dân gian, hầu như các bộ phận của cây Ba kích như: hoa, quả, lá, rễ, củ cũng đều có thể sử dụng làm dược liệu. Tuy nhiên, bộ phận có công dụng tốt nhất và được sử dụng nhiều nhất là rễ và củ của cây. Cây 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, giúp điều trị rối loạn cương dương, phụ nữ kinh nguyệt không đều [1, 4]. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu còn cho thấy, cao chiết rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*) đã chứng minh có tác dụng tăng cường chức năng sinh dục nam trên các mô hình thử nghiệm sinh học [5, 6].

Một vài nghiên cứu hóa học đã phát hiện cây Ba kích (*Morinda officinalis*) có các lớp chất như: anthraquinon, anthranoid, saponin, iridoid, acid hữu cơ và đường khử. Trong đó, đáng chú ý nhất là lớp chất anthraquinon chính với hàm lượng đáng kể [7, 8].

Hiện nay, các nghiên cứu về cây Ba kích (*Morinda officinalis*) ở Việt Nam mới chỉ dừng lại ở cao chiết và một vài hoạt tính sinh học.

Năm 2016, từ cao chiết EtOH 40 % rễ cây Ba kích trồng ở huyện Ba Chẽ, tỉnh Quảng Ninh, nhóm tác giả Vũ Đức Lợi và cộng sự đã tiến hành phân lập và xác định được cấu trúc của 3 hợp chất là: 12 $\alpha$ -hydroxyevodol, friedelan-3-on, daucosterol. Trong đó hai hợp chất: 12 $\alpha$ -hydroxyevodol và friedelan-3-on là những hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ rễ cây ba kích (*Morinda officinalis* How.). Kết quả tiến hành thử nghiệm hoạt tính kháng viêm cho thấy của hai hợp chất này đều có tác dụng chống viêm [4].

Trần Việt Hùng và cộng sự, năm 2017, cũng đã nghiên cứu và chiết xuất được hợp chất monotropein từ rễ Ba kích (*Morinda officinalis* How) thu ở huyện Lục Ngạn, thuộc tỉnh Bắc Giang [9].

Kết quả nghiên cứu của Trần Mỹ Tiên và cộng sự năm 2012 về tác dụng hướng sinh dục nam của cây Ba kích cho thấy trên cơ địa động vật thí nghiệm (chuột) có hiện tượng giảm năng sinh dục, tăng testosterone trong máu, tăng trọng lượng cơ quan sinh dục nhưng không làm tăng thể trọng cơ thể với liều thử nghiệm lần lượt là 50 mg/kg và 100 mg/kg [6].

Các công trình nghiên cứu hóa học về cây ba kích (*Morinda officinalis* How) chủ yếu được tiến hành ở Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản. Các kết quả nghiên cứu đã phân lập được một số thành phần trong cây chủ yếu là polysaccharid, oligosaccharid, anthraquinon và iridoid glycoside anthraquinon. Một số nghiên cứu về hoạt tính sinh học cũng đã được tiến hành và kết quả chỉ ra dịch chiết và các hợp chất tinh khiết của Ba kích (*Morinda officinalis* How) là những tác nhân hiệu quả trong việc điều trị bệnh trầm cảm, loãng xương, tăng khả năng sinh sản, điều trị bệnh Alzheimer, chống thấp khớp, chống mệt mỏi, chống lão hóa, bảo vệ tim mạch, chống oxy hóa, điều hòa miễn dịch và các hoạt động kháng viêm [10].

Tóm lại, cây Ba kích (*Morinda officinalis* How.) là một cây thuốc truyền thống, đã được chứng minh có

hoạt tính tăng testosterone trên chuột, có tác dụng điều trị rối loạn cương dương trên lâm sàng. Tuy nhiên, các kết quả nghiên cứu chỉ mang tính sơ bộ từ cao chiết còn các hợp chất tinh sạch ít được đánh giá hoạt tính. Về mặt hóa học còn rất ít nghiên cứu đánh giá các lớp chất hóa học trên sắc ký bản mỏng TLC với các thuốc thử khác nhau. Ngoài ra, các nghiên cứu trước đó mới chỉ bước đầu phân lập được một số hợp chất từ cao chiết hexane và ethanol mà chưa có nghiên cứu về tác dụng chống oxy hóa và các hoạt chất từ cao chiết ethyl acetate.

Do đó, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành khảo sát các thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết ethyl acetate của bộ phận rễ cây Ba kích nhằm góp phần bổ sung thêm dữ liệu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây Ba kích (*Morinda officinalis*) được đầy đủ và hệ thống. Những kết quả thu được sẽ góp phần làm cơ sở khoa học cho việc khai thác và sử dụng có hiệu quả các loại cây này.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây Ba kích (*Morinda officinalis*) được thu hái tại huyện Chư Kuin, tỉnh Đắk Lắk, Việt Nam vào thời điểm tháng 01 năm 2020. Tiêu bản được định danh bởi ThS. Trương Bá Phong, bộ môn Sinh học và được lưu trữ tại Bộ môn Hóa học, Trường Đại học Tây Nguyên.

Bộ phận dùng: rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*).

### 2.2. Phương pháp tạo cao chiết

Mẫu thực vật sau khi thu hái về được tiến hành rửa sạch, loại bỏ phần hư hỏng và phơi khô. Sau đó mẫu được xay nhỏ và được ngâm chiết kiệt nhiều lần bằng ethyl acetate ở nhiệt độ phòng.

Dịch chiết được đuii kiệt dung môi bằng thiết bị cô quay thu hồi dung môi, sản phẩm thu được là cao chiết ethyl acetate của rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*).

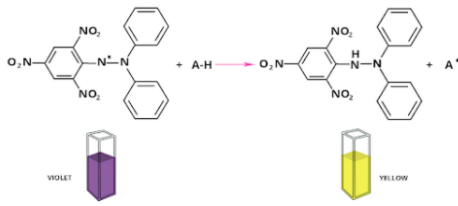
### 2.3. Phương pháp xác định thành phần hóa học

Thành phần hóa học của cao chiết được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) và được đo tại Viện công nghệ sinh học và môi trường của 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  $\mu$ m. Khí mang He. Nhiệt độ buồng bơm mẫu (Kĩ 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. Phương pháp thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa của cây Ba kích (*Morinda officinalis*) được thực hiện tại Viện Công nghệ sinh học và Môi trường của 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.  
Sử dụng chất đối chứng dương là Acid ascorbic.



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:

$$\%IC_{50} = \frac{OD_{Chứng} - OD_{Thử}}{OD_{Chứng} - OD_{Trắng}} \times 100\%$$

Trong đó:

OD chứng: độ hấp thụ của mẫu đối chứng (không chứa mẫu)

OD thử: độ hấp thụ của mẫu

OD trắng: 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:

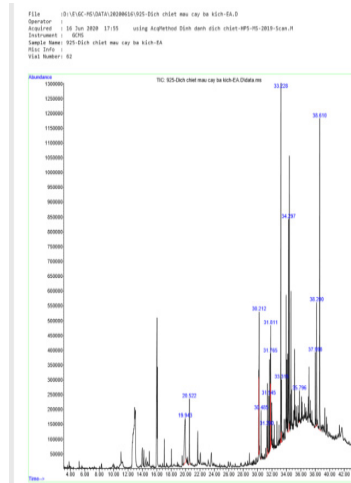
$IC_{50}$ : là nồng độ mẫu thử có thể bắt được 50% gốc tự do DPPH

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 và thảo luận

#### 3.1. Thành phần hóa học của cao chiết

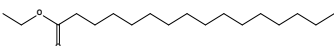

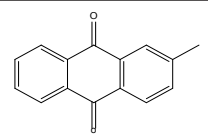
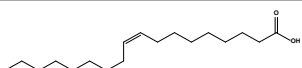

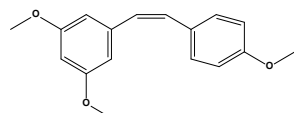
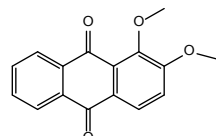
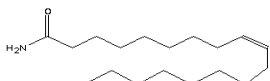
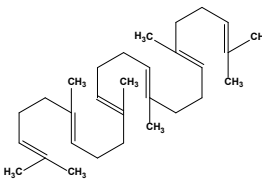
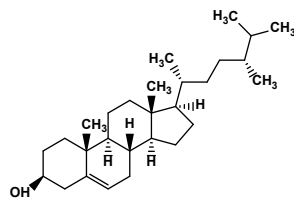
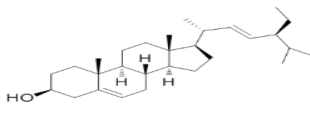
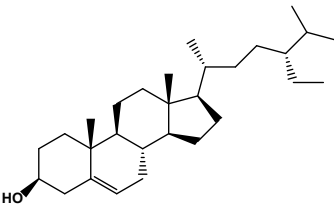
Kết quả phân tích thành phần hóa học cao chiết ethyl acetate rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*) thể hiện ở hình 2 và bảng 1.



Hình 2. Sắc ký đồ GC-MS cao chiết ethyl acetate rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*)

Bảng 1. Thành phần hóa học cao chiết ethyl acetate rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*)

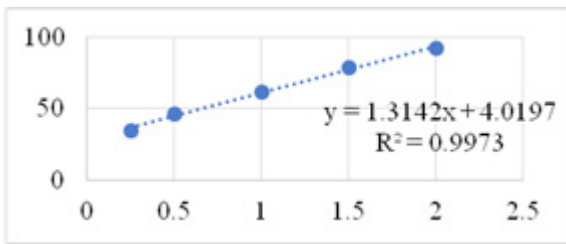
STT	Tên các hợp chất	Công thức cấu tạo	Hàm lượng (%)
1	4H-Pyran-4-one, 5-hidroxy-2-(hydroxymethyl)-		4,83
2	4H-Pyran-4-one, 5-(acetyloxy)-2-(acetyloxy) methyl-		2,07
3	n-Hexadecanoic acid		4,64

STT	Tên các hợp chất	Công thức cấu tạo	Hàm lượng (%)
4	Hexadecanoic acid, ethyl ester		0,82
5	Heptadecanoic acid		0,43
6	9, 10-Anthracenedione,2-methyl		1,03
7	Oleic acid		3,14
8	9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-		
9	Cis-trimethoxyresveratrol		
10	9,10-Anthracenedione, 2-hydroxy-1-methoxy-		7,81
11	9-Octadecenamide, (Z)-		1,40
12	Squalene		0,51
13	Campesterol		1,94
14	Stigmasterol		2,88
15	Sitosterol		9,29

**Nhận xét:** Qua phân tích GC - MS chúng tôi nhận thấy, thành phần hóa học của cao chiết ethyl acetate rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*) có các lớp chất chính là: Anthraquinon (công thức số 6,10); Triterpen (công thức số 12, 13, 14, 15); các acid hữu cơ (công thức số 3, 4, 7, 8). Ngoài ra còn có các thành phần khác như ester của acid hữu cơ (công thức số 4); amide (công thức số 11) nhưng hàm lượng không đáng kể. Kết quả phân tích và xác định thành phần hóa học cho thấy có sự tương đồng với các nghiên cứu trước đây [4, 7, 8, 11].

**3.2. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết ethyl acetate**

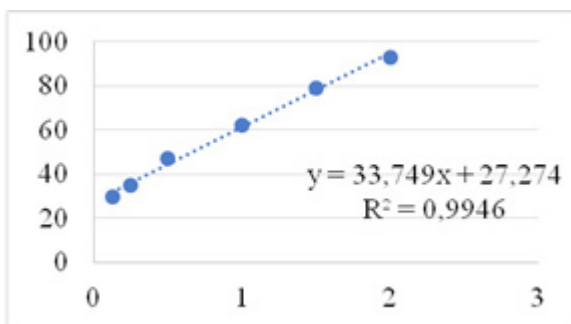
Kết quả thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa của cây Ba kích (*Morinda officinalis*) theo phương pháp bắt gốc tự do DPPH cho thấy: khi nồng độ cao chiết ethyl acetate từ 0,3125 mg/mL đến 10 mg/ml thì phần trăm hoạt tính ức chế gốc tự do DPPH tăng dần từ 4,67% đến 87,0% (Bảng 2). Khả năng kháng oxy hóa biểu hiện tốt nhất ở mẫu thử 6 với phần trăm hoạt tính bắt gốc tự do DPPH là 87,0%.



Đồ thị 1. Biểu đồ đường chuẩn  $y = ax + b$  của acid ascorbic

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa của Acid ascorbic

Acid ascorbic	% BẮT GỐC TỰ DO			IC <sub>50</sub> (mg/ml) trung bình
50	70,87	70,85	70,89	34,99
40	56,11	56,02	56,14	
30	41,95	41,98	42,09	
20	30,17	30,14	30,07	
10	18,17	18,09	18,16	
50	70,87	70,85	70,89	



Hình 3. Biểu đồ đường chuẩn  $y = ax + b$  của cao chloroform

Bảng 3. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết ethyl acetate

Cao ethyl acetate mg/ml	% BẮT GỐC TỰ DO		
	Lần 1	Lần 2	Lần 3
10	87,00	80	94
5	67,00	60	75
2.5	46,00	40	51
1.25	28,00	25	30
0.625	11,00	6	16
0.3125	5,00	1	8
IC <sub>50</sub> (mg/ml)	3,00	4	3
IC <sub>50</sub> (mg/ml) trung bình	3,33		
Acid ascorbic IC <sub>50</sub> (mg/ml)	34,99		

Từ kết quả trình bày trong bảng 3 cho thấy: cao chiết ethyl acetate có khả năng chống oxy hóa rất mạnh với giá trị IC<sub>50</sub> = 3,33 mg/ml và mạnh hơn rất nhiều so với đối chứng dương acid ascorbic (IC<sub>50</sub> = 34,99 mg/ml).

**4. Kết luận**

Từ cao chiết ethyl acetate rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*), qua phân tích thành phần hóa học chúng tôi xác định được 15 hợp chất trong đó các hợp chất chính là: Anthraquinon, Triterpen, các acid hữu cơ.

Qua thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết ethyl acetate rễ cây Ba kích (*Morinda officinalis*) biểu hiện hoạt tính kháng oxy hóa với giá trị IC<sub>50</sub> = 3,33 mg/ml và mạnh hơn rất nhiều so với đối chứng dương acid ascorbic (IC<sub>50</sub> = 34,99 mg/ml) là 10,5 lần. Kết quả khả quan này cùng với các nghiên cứu sâu hơn sẽ góp phần mở ra tiềm năng khai thác cho cây Ba kích vào thực phẩm chức năng và dược phẩm. Từ đó góp phần sử dụng hiệu quả loài cây này.

**REFERENCES**

[1]. Ministry of Health. (2009). *Vietnamese Pharmacopoeia IV*. Medical Publishing House, Vietnam.

[2]. Zhenhua Luo, Zien Chen, Mengyun Liu, Li Yang, Zhimin Zhao, Depo Yang and Ping Ding. (2022). *Phenotypic, chemical component and molecular assessment of genetic diversity and population structure of Morinda ofcinalis germplasm*. Luo et al. BMC Genomics 23:605, P.1-17.

[3] Chieu, N. (2001). Primary results of the investigation of planting Ba kích in Phu Tho, *Journal of Pharmacology*, 297(1):6-9.

[4] Loi, V. D., Vung, N. T., An, N. T. T. (2016). Some compounds isolated from the roots of *Morinda*



- officinalis How grown in Quang Ninh province. *Journal of Pharmacology*, 485(9):36-41.
- [5]. Quan, N. M., Huong, N. T. G. (2008). Study on the effect of *Morinda officinalis* How on the development of male rat genitals, *Medical Research Journal*, 53(1):77-84.
- [6]. Tien, T. M., Tam, N. M. T., Luan, T. C., Huong, N. Thi. T. (2012). Study on the androgenic effect of *Morinda officinalis* How. *Medical Journal of Ho Chi Minh City*, 16 (1):192-198.
- [7] Wu, Y. B., Wu, J. G., Zheng, C. J., Han, T., Qin, L. P., Wu, J. Z., Zhang, Q. Y. (2013). Quantitative and chemical profiles analysis of the root of *Morinda officinalis* based on reversed-phase high performance liquid chromatography combined with chemometrics methods. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(30):2249 - 2258.
- [8] 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.
- [9] Hung, T. V., Kien, P. V., Thai, B. Q., Son, D. C., Dat, N. T., Cuong, B. H. (2017). *Study on extracting, isolating and purifying monotropein from the root of Morinda officinalis to establish standard substances. Journal of Pharmacology*, 57 (5):40 – 42.
- [10]. Zang, J. H., Xin, H. L., Xu, Y. M., Shen, Y., He, . Y. Q., Hsien-Yeh, Lin, B., Song, H. T., Juan-Liu, Yang, H. Y., Qin, L. P., Zhang, Q. Y., Du, J. (2018). [Morinda officinalis How. - A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology.](#) *Journal of Ethnopharmacology*, 213:230-255.
- [11]. 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 morofficaloside. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 43(9):1462-1465.