

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYM α -GLUCOSIDASE CỦA MỘT SỐ CÂY THUỐC ĐỒNG THÁP

Đến tòa soạn 16 - 6 - 2015

Nguyễn Xuân Hải, Nguyễn Thị Thanh Mai

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên-ĐHQG Tp. HCM

SUMMARY

STUDY ON α -GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY OF MEDICINAL PLANTS FROM DONG THAP

*Study on α -glucosidase inhibitory activity of 20 methanolic extracts of medicinal plants from Dong Thap. The results showed that 17 extracts displayed activity at $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, 16 extracts showed an inhibition rate greater than 50 % at $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, 9 extracts had over 50 % at $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, 7 extracts possessed more than 50 % at $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, 5 extracts showed over 50 % at $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ and 2 extracts had greater than 50 % at $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Among them, the MeOH extracts from the stems of *Ceiba pentandra* and the stems of *Morus alba* exhibited the most strong α -glucosidase inhibitory activity, with IC_{50} values of 4.8 and $6.1 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectively, which were stronger than a positive control acarbose with an IC_{50} values of $138.4 \mu\text{g mL}^{-1}$.*

Keywords: Dong Thap, medicinal plants, α -glucosidase, *Ceiba pentandra*, *Morus alba*.

1. GIỚI THIỆU

Bệnh đái tháo đường là bệnh đặc trưng bằng mức đường trong máu cao, nguyên nhân là do thiếu insulin có kèm hoặc không kèm theo kháng insulin với các mức độ khác nhau. Những người mắc bệnh không những có lượng đường trong máu cao, mà cả trong nước tiểu nên còn gọi là bệnh đái tháo đường. Bên cạnh đó, bệnh đái tháo đường còn gây ra các biến chứng nguy hiểm về tim mạch, tai biến mạch máu não, suy thận, ... Bệnh đái tháo đường gồm có

hai loại, trong đó loại 2 chiếm khoảng 90 % trong tổng số trường hợp bị bệnh. [1]

Trong cơ thể, màng tế bào ruột non tiết ra enzym α -glucosidase có vai trò thủy phân carbohydrat từ thức ăn thành các oligosaccarit, rồi thủy phân oligosaccarit thành glucose và thẩm thấu vào máu qua màng ruột non để nuôi các tế bào của cơ thể. Khi cơ thể bị rối loạn chuyển hóa carbohydrat thì lượng đường trong máu cao, do đó sẽ dẫn đến bệnh tiểu đường. Bằng cách ức chế hoạt động của enzym α -glucosidase có thể làm chậm quá trình thủy

phân của carbohydrat và làm giảm lượng đường trong máu [1]. Do đó, việc tìm kiếm các cây thuốc cũng như các hợp chất mới có khả năng ức chế enzym α -glucosidase có ý nghĩa rất lớn nhằm hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành sàng lọc hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của một số cây thuốc Đồng Tháp để định hướng trong nghiên cứu.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Chuẩn bị mẫu

20 mẫu cây thuốc nghiên cứu được thu hái thuộc Tỉnh Đồng Tháp vào cuối tháng 8/2009 (bảng 1) và được định danh bởi Thạc sĩ Hoàng Việt, khoa Sinh Học, Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh. Các mẫu cây thuốc này được lựa chọn theo tiêu chí dân gian được dùng để điều trị bệnh đái tháo đường, tài liệu tham khảo và lựa chọn ngẫu nhiên. Các mẫu được liệu khô được xay nhỏ rồi đun hoàn lưu 3 lần với dung môi metanol trong 3 giờ, các dịch trích được gom lại và đuổi dung môi thu được cao metanol.

2.2. Quy trình thử hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase

2.2.1. Cơ sở phương pháp

Enzym α -glucosidase xúc tác cho quá trình chuyển hoá *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosid thành α -D-glucose và *p*-nitrophenol có màu vàng nhạt, hấp thụ quang cực đại tại bước sóng 401 nm [2]. Khi có mặt chất ức chế enzym, cường độ hấp thụ của dung dịch sẽ giảm. Dựa vào cường độ hấp thụ của dung dịch khi có và không có mẫu thử sẽ tính được phần trăm ức chế enzym α -glucosidase của mẫu thử.

Dạng đường biểu diễn giữa phần trăm ức chế và nồng độ chất ức chế sẽ xác định được giá trị IC_{50} là nồng độ của mẫu mà tại đó ức chế 50 % enzym. Mẫu có hoạt tính càng cao thì giá trị IC_{50} sẽ càng thấp.

2.2.2. Hoá chất

- Dung dịch đệm phosphat 0,01 M có pH = 7,0
- Dung dịch enzym α -glucosidase 0,2 U mL⁻¹
- Dung dịch nền *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosid 3,0 mM
- Dung dịch Na₂CO₃ 0,1 M

2.2.3. Quy trình thử hoạt tính

Mẫu được hoà tan trong đệm phosphat, thêm 100 μ L enzym, lắc đều, ủ ở 37 °C trong 5 phút, sau đó thêm 100 μ L dung dịch nền, lắc đều, ủ ở 37 °C trong 15 phút, cuối cùng thêm 1500 μ L dung dịch Na₂CO₃ và đo mật độ quang tại bước sóng 401 nm. Tiến hành thử hoạt tính trên các mẫu thử với nhiều nồng độ khác nhau từ 250 đến 10 μ g mL⁻¹, chất đối chứng dương được sử dụng là acarbose.

3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của 20 cây thuốc Đồng Tháp được trình bày trong bảng 2. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong 20 mẫu được liệu thì 17 cây thuốc có hoạt tính ức chế tại nồng độ 250 μ g mL⁻¹, 16 mẫu cây có phần trăm ức chế lớn hơn 50 % tại nồng độ 250 μ g mL⁻¹, 9 mẫu cây có phần trăm ức chế lớn hơn 50 % tại nồng độ 100 μ g mL⁻¹, 7 mẫu cây có phần trăm ức chế lớn hơn 50 % tại nồng độ 50 μ g mL⁻¹, 5 mẫu cây có phần trăm ức chế lớn hơn 50 % tại nồng độ 25 μ g mL⁻¹ và 2 mẫu cây có phần trăm ức chế lớn hơn 50 % tại nồng độ 10 μ g mL⁻¹; trong

đó, thân cây Gòn và thân cây Dâu có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase mạnh nhất nên được thử tiếp ở các nồng độ thấp hơn, giá trị IC_{50} của hai mẫu cây này lần lượt là 4,8 và 6,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, mạnh hơn nhiều so chất đối chứng dương acarbose có giá trị IC_{50} là 138,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Cây Dâu tằm có tên khoa học là *Morus alba* (L.) thuộc họ Dâu tằm (Moraceae). Lá của cây này đã được nghiên cứu rất nhiều trên thế giới, trong khi rễ và thân cũng có một vài nghiên cứu cho thấy thành phần hoá học chủ yếu là các hợp chất polyphenol như flavonoid, stilben, benzofuran, ...[3,4]. Đối với cây Gòn, tên khoa học là *Ceiba pentandra* (L.) thuộc họ Cói (Cyberaceae) chỉ có một vài nghiên cứu trên thế giới cho thấy thành phần hoá học của rễ và thân cây chứa các hợp chất polyphenol như flavonoid, naphthoquinon và dẫn xuất lacton [5,6]. Như vậy, các hợp chất ức chế enzyme α -glucosidase có thể là do các hợp chất polyphenol như flavonoid, stilben hay các quinon mà trước đây đã có nhiều tài liệu công bố về các hợp chất polyphenol có khả

năng ức chế enzyme α -glucosidase cũng như có tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường loại 2 [7].

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của 20 cây thuốc Đồng Tháp cho thấy, 2 mẫu cây có giá trị $IC_{50} < 10 \mu\text{g mL}^{-1}$, 8 mẫu cây có giá trị IC_{50} từ 10 đến 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 6 mẫu cây có giá trị IC_{50} từ 250 đến 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ và 4 mẫu cây có giá trị $IC_{50} > 2500 \mu\text{g mL}^{-1}$. Phương pháp này dùng chất đối chứng dương là acarbose và trong 20 mẫu được liệu khảo sát thì có 14 mẫu có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase mạnh hơn chất đối chứng dương, đặt biệt là thân cây Gòn và cây Dâu. Những kết quả nghiên cứu thu được tạo cơ sở cho các nghiên cứu phân lập các hoạt chất từ các cây có hoạt tính mạnh nhằm góp phần trong việc hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường có nguồn gốc thảo dược để làm giảm các phản ứng phụ so với các hoạt chất từ tổng hợp.

Bảng 1. Danh mục 20 cây thuốc Đồng Tháp

STT	Tên thường dùng	Tên khác	Tên khoa học	Họ	Bộ phận dùng	Công dụng
1	Cỏ bạc đầu		<i>Kyllinga monocephala</i> Rottb.	Cói (Cyberaceae)	Toàn cây	Hạ nhiệt, hạ sốt
2	Gòn	Cây bông gòn	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn. Var. <i>indica</i> (DC.) Bakh	Gạo (Bombaceae)	Thân	Trị bệnh về tiết niệu, bệnh về thận, về tóc, về phổi, ỉa chảy, đái tháo đường
3	Dâu	Dâu tằm	<i>Morus alba</i> (L.)	Dâu tằm (Moraceae)	Thân	Trị phong tê thấp, đau thắt lưng, đau nhức các đầu xương, cước khí, chân tay co quắp
4	Dây đậu xương	Tục cốt đằng	<i>Tinospora sinensis</i> Merr. (<i>Tinospora tomentosa</i> Miers.)	Tiết dê (Menispermaceae)	Dây và lá	Chữa bệnh phong thấp, đau nhức gân cốt, đau dây thần kinh hông, đòn ngã chấn thương và để bổ sức
5	Ngải bươm	Đậu cánh dơi	<i>Christia vespertilionis</i> (L.f.) Bakh.f.	Đậu (Fabaceae)	Toàn cây	Thuốc lợi tiểu, đau mắt đỏ, yếu tim, đau tim
6	É tía	Hương nhu tía	<i>Ocimum sanctum</i> L.	Hoa mô (Lamiaceae)	Thân lá	Trị cảm nắng, sốt nóng, nhức đầu, đau bụng đi ngoài, tức ngực, nôn mửa, chuột rút, cước khí, thủy thũng, bệnh đường hô hấp, long đờm, thấp khớp
7	Thạch học	Kim thạch học, tuyết mai, hắc tiết thảo, hoàng thảo, lan rừng	<i>Dendrobium crumenatum</i> Sw.	Lan (Orchidaceae)	Rễ	Chữa liệt dương, đau nhức, ra mồ hôi trộm

STT	Tên thường dùng	Tên khác	Tên khoa học	Họ	Bộ phận dùng	Công dụng
8	Thiên niên kiện	Sơn phục, thần phục	<i>Homalomena occulta</i> (Lour.) Schott	Ráy (Araceae)	Rễ	Phong hàn, nhức mỏi, đau dạ dày, đau bụng kinh, bổ gân cốt, đau khớp xương
9	Dây thảo bạc	Bạc thau, bạc sau	<i>Argyreia acuta</i> Lour.	Khoai lang (Convolvulaceae)	Thân mang lá	Trị bí tiểu tiện, đi đái ít một rất buốt, nước tiểu đục, bạch đới, ngứa lở, mụn nhọt, ho, viêm phế quản cấp và mãn tính
10	Giăng xay	Cối xay	<i>Abutilon indicum</i> (L.) Sweet	Bông (Malvaceae)	Toàn cây	Điếc, ù tai, đau tai, sổ mũi, sốt cao, đau đầu dữ dội, viêm tuyến mang tai truyền nhiễm, lao phổi, giảm niệu
11	Bòng bong	Thòng bong	<i>Lygodium flexuosum</i> (L.) Sw.)	Bòng bong (Lygodiaceae)	Dây mang lá	Chữa chứng đái rất, đái buốt ra máu, đái tiện, táo bón, chấn thương ứ máu, lợi tiểu, lợi sữa, vết loét, mụn rộp, đau tai, đau màng óc, lậu, chớ dái cản
12	Dây mơ	Dây mơ lông, dây mơ tròn, thối đít, nguru bì đóng	<i>Paederia tomentosa</i> L.	Cà phê (Rubiaceae)	Lá	Chữa lỵ, xoa bóp chữa tê thấp, sỏi thận, bí tiểu tiện
13	Mạch lạc	Cây đuôi chuột, giả mã tiên	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (L.) Vahl	Cỏ roi ngựa (Verbenaceae)	Toàn cây	Trị nhiễm trùng đường tiết niệu, đau gân cốt do thấp khớp, viêm kết mạc cấp, viêm hầu, lỵ, ỉa chảy, cảm lạnh, ho
14	Ngà voi	Nanh heo, ngải ngà	<i>Sansevieria cylindrica</i> Bojer	Bòng bong (Dracaenaceae)	Lá	Lá dùng giả đắp chữa sưng tấy, sai xương

STT	Tên thường dùng	Tên khác	Tên khoa học	Họ	Bộ phận dùng	Công dụng
15	Ngái		<i>Ficus hispida</i> L.f.	Dâu tằm (Moraceae)	Thân, vỏ	Chữa cảm mạo, viêm phế quản, tiêu hoá kém, lỵ, thấp khớp, đau nhức xương, đòn ngã tổn thương, cụm nhọt ở nách
16	Nhàu	Nhàu lớn, nhàu núi, nhàu rừng	<i>Morinda citrifolia</i> L.	Cà phê (Rubiaceae)	Lá	Lá giã nát đắp vết thương, mụn nhọt, mau lên da non, chữa ỉa chảy, sốt, đau nhức, chân tay nhức mỏi, huyết áp cao
17	Gừa		<i>Ficus microcarpa</i> L.f.	Dâu tằm (Moraceae)	Rễ, lá	Cảm mạo, sốt cao, viêm amidan, đau nhức khớp xương, đòn ngã chấn thương
18	Sen		<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	Sen (Nelumbonaceae)	Bông	Đái tháo đường, bị thương, chảy máu, chốc lở
19	Thù lù	Thù lù cạnh, lồng đèn, tầm bóp	<i>Physalis angulata</i> L.	Cà (Solanaceae)	Toàn cây bỏ rễ	Trị cảm sốt, vết hầu sưng đau, ho nhiều đờm, hạ khí, thanh nhiệt, lợi tiểu
20	Hoa trinh nữ	Cây mắc cỡ, cây thẹn, hàm tu thảo	<i>Mimosa pudica</i> L.	Trinh nữ (Mimosaceae)	Toàn cây	Dùng làm thuốc ngủ, dịu thần kinh, chữa bệnh nhức xương

Bảng 2. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của 20 mẫu cây thuốc Đồng Tháp

STT	Tên cây	PHẦN TRĂM ỨC CHẾ				IC ₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
		10 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	5 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	2,5 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
1	Gòn	58,0 $\pm$ 2,2	52,1 $\pm$ 2,1	30,1 $\pm$ 1,6	19,2 $\pm$ 1,7	4,8
2	Dâu	63,3 $\pm$ 3,2	46,3 $\pm$ 2,1	19,3 $\pm$ 2,2	14,9 $\pm$ 1,9	6,1
		100 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	50 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	25 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	10 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	

STT	Tên cây	PHẦN TRĂM ƯC CHẾ					IC ₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
		10 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	5 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	2,5 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	1 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
3	Dây đậu xương	89,5 $\pm$ 3,3	84,1 $\pm$ 3,1	66,9 $\pm$ 2,6	36,7 $\pm$ 1,3		16,6
4	Cò bạc đầu	80,3 $\pm$ 7,1	80,7 $\pm$ 1,4	61,2 $\pm$ 5,0	23,1 $\pm$ 1,9		20,6
5	Thiên niên kiện	85, 3 $\pm$ 2,8	53,8 $\pm$ 8,2	52,3 $\pm$ 2,1	38,2 $\pm$ 2,0		22,7
6	Ngải bương	67,1 $\pm$ 1,4	65,2 $\pm$ 2,2	49,3 $\pm$ 3,0	38,0 $\pm$ 1,4		26,4
7	É tía	67,1 $\pm$ 2,8	60,7 $\pm$ 2,2	43,4 $\pm$ 1,8	20,5 $\pm$ 1,3		34,5
8	Thạch hộc	89,0 $\pm$ 2,8	45,2 $\pm$ 3,7	34,5 $\pm$ 3,7	12,5 $\pm$ 2,3		55,5
9	Thảo bạc	69,4 $\pm$ 2,1	43,0 $\pm$ 1,0	34,0 $\pm$ 1,1	—		63,3
10	Dây mơ	48,0 $\pm$ 1,3	32,4 $\pm$ 1,6	18,0 $\pm$ 1,5	13,1 $\pm$ 2,3		~100
		250 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	100 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	50 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	25 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
11	Mạch lạc	96,3 $\pm$ 1,3	43,2 $\pm$ 1,6	24,3 $\pm$ 1,5	16,8 $\pm$ 1,9		119,9
12	Bòng bong	99,0 $\pm$ 1,3	38,4 $\pm$ 1,7	8,8 $\pm$ 0,8	—		128,7
13	Ngà voi	89,2 $\pm$ 1,5	40,0 $\pm$ 2,2	23,4 $\pm$ 1,7	15,4 $\pm$ 1,8		130,5
14	Rễ gừa	83,5 $\pm$ 2,5	40,1 $\pm$ 1,9	22,2 $\pm$ 1,8	18,8 $\pm$ 2,2		136,3
15	Thù lù	97,5 $\pm$ 1,3	31,4 $\pm$ 1,6	6,9 $\pm$ 1,8	—		142,2
16	Sen	50,5 $\pm$ 1,1	29,2 $\pm$ 1,9	22,1 $\pm$ 2,3	8,7 $\pm$ 1,7		~250
17	Ngái	24,6 $\pm$ 1,0	12,6 $\pm$ 1,3	7,6 $\pm$ 0,6	4,3 $\pm$ 0,4		> 250
18	Giảng xây	—	—	—	—		> 250
19	Nhàu	—	—	—	—		> 250
20	Trinh nữ	—	—	—	—		> 250
	Acarbose						138,4

— : phần trăm ức chế < 1 %

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn T. K., Diệp T. T. B., Đặng T. B. T., Lại T. P. Q., Trần Q. K., (2006) Nội tiết học, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh, nhà xuất bản Y Học.
- [2] Nguyen H.T., Kim S.M., (2009) Three compounds with potent α -glucosidase inhibitory activity purified from sea cucumber *Stichopus japonicus*, *SPISE*, 112-122.
- [3] Zhang M., Chen M., Zhang H.Q., Sun S., Xia B., Wu F.H., (2009) *In vivo* hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba*, *Fitoterapia*, 80, 475-477.
- [4] Du J, He Z. D., Jiang R. W., Ye W. C., Xu H. X., But P. P. H., (2003) Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L., *Phytochemistry*, 62, 1235-1238.
- [5] Rao K. V., Sreeramulu K., Gunasekar D., (1993) Two new sesquiterpene lactones from *Ceiba pentandra*, *Journal Natural Product*, 56, 2041-2045.
- [6] Noreen Y., El-Seed H., Perera P., Bohlin L., (1998) Two new isoflavones from *Ceiba pentandra* and their effect on cyclooxygenase-catalyzed prostaglandin biosynthesis, *Journal Natural Product*, 61, 8-12.
- [7] De Melo E. B., Gomes S. A., Carvalho I., (2006) α - and β -Glucosidase inhibitors: Chemical structure and biological activity, *Tetrahedron*, 62, 10277-10302.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KIỂM SOÁT ĐƯỜNG HUYẾT(tiếp theo tr. 288)

16. Park M. Y., Kwon H. J., Sung M. K. (2011) Dietary aloin, aloesin, or aloe-gel exerts anti-inflammatory activity in a rat colitis model. *Life Sciences*, 88(11, 12), 486-492.
17. Horsfall A.U., Olabiyi O., Aiyegbusi A., Noronha C.C., Okanlawon A.O., (2008) *Morinda citrifolia* fruit juice augments insulin action in Sprague-Dawley rats with experimentally induced diabetes. *Nig. Q. J. Hosp. Med.*, 18 (3), 162-167.
18. Shen S.C., Cheng F.C., Wu N.J. (2008) Effect of guava (*Psidium guajava* Lnn.) leaf soluble solids on glucose metabolism in type 2 diabetic rats. *Phytother Res.*, 22(11), 1458-1464.
19. Soman S., Rauf A.A., Indira M., Rajamanickam C. (2010) Antioxidant and antiglycative potential of ethyl acetate fraction of *Psidium guajava* leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 65 (4), 386-391.
20. Chis I.C., Ungureanu M.I., Marton A., Simedrea R., Muresan A., Postescu I.D., Decea N.. (2009) Antioxidant effects of a grape seed extract in a rat model of diabetes mellitus. *Diabetes & Vascular research*. 6 (3), 200 – 204.