



Bài báo nghiên cứu

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ LÁ VÀ QUẢ CÂY ĐỪNG ĐÌNH (*Caryota mitis* L.). ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG ĐIỀU HÒA GLUCOSE THÔNG QUA HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYME α -GLUCOSIDASE

Lê Trọng Đức*, Nguyễn Nguyễn Cường Phát, Huỳnh Tiên Sỹ

Trường THPT Hậu Nghia

*Tác giả liên hệ: Lê Trọng Đức – Email: letrongduc.c3haunghia@longan.edu.vn

Ngày nhận bài: 18-11-2019; ngày nhận bài sửa: 25-11-2019; ngày duyệt đăng: 05-12-2019

TÓM TẮT

Hai mẫu cao chiết ethanol từ lá và quả cây đùng đình đã được khảo sát các hoạt tính sinh học và cho kết quả hoạt tính tốt. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hầu hết các hoạt tính sinh học như hoạt tính chống oxy hóa, ức chế enzyme α -glucosidase, gây độc dòng tế bào ung thư gan người (Hep-G2), gây độc dòng tế bào ung thư phổi (A549) và kháng vi sinh vật ở quả biểu hiện tốt hơn ở lá; riêng hoạt tính kháng viêm thì ở lá tốt hơn ở quả 1,13 lần. Hoạt tính tốt nhất phải kể đến là ức chế enzyme α -glucosidase. Với mong muốn cung cấp dữ kiện khoa học cho y học cổ truyền về bệnh đái tháo đường, khả năng điều hòa glucose đã được thực hiện trên chuột nhắt Balb/C. Kết quả cho thấy hai mẫu cao chiết này không gây độc tính và bước đầu có khả năng điều hòa glucose.

Từ khóa: đùng đình; chống oxy hóa; kháng viêm; ung thư gan người; ung thư phổi; α -glucosidase

1. Mở đầu

Ngày nay, việc tìm kiếm các loại thuốc có khả năng phòng và chữa bệnh hiệu quả từ nguồn thảo dược thiên nhiên là mối quan tâm hàng đầu của các nhà hóa sinh và y dược học trên thế giới. Nhưng nhiều cây thuốc được thu hái và chế biến chỉ mới theo kinh nghiệm dân gian mà chưa được tiêu chuẩn hóa cả định tính và định lượng, khó cho phép tạo ra những sản phẩm tốt nhất. Chính vì vậy, việc khảo sát thành phần hóa học và tác dụng sinh học của cây thuốc là tiền đề rất quan trọng để tạo cơ sở khoa học, đánh giá nguồn dược liệu và ứng dụng vào việc phòng và chữa bệnh.

Trong số các loại cây cỏ thiên nhiên phải kể đến một loại cây mà ít có người biết tới với tác dụng chữa bệnh, đó chính là cây đùng đình (*Caryota mitis* L.) – định danh theo tác

Cite this article as: Le Trong Duc, Nguyen Nguyen Cuong Phat, & Huynh Tien Sy (2019). An investigation of some biological activities of fruits and leaves extract from *Caryota mitis* L. plant: Evaluating the ability to control glucose through α -glucosidase activity. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 16(12), 961-974.

giả Phạm Hoàng Ho (Phạm, 2003). Đây là loại cây mà theo dân gian có tác dụng tái tạo sụn nhanh chóng, người ta thường sử dụng nó để ngâm rượu làm thuốc xoa bóp mỗi lần bị đau nhức xương khớp... tuy nhiên vẫn chưa có một tài liệu khoa học nào nêu một cách đầy đủ về hoạt tính của loại cây này.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo về việc định tính các hợp chất trong cây đung đình và công bố kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase, chống oxy hóa, gây độc dòng tế bào ung thư gan người (Hep-G2), gây độc dòng ung thư phổi (A549), kháng viêm và kháng vi sinh vật của hai mẫu cao chiết từ lá và quả của loại cây này. Đồng thời bài báo cũng công bố kết quả đánh giá khả năng điều hòa glucose thông qua hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Mẫu lá và quả của cây đung đình (*Caryota mitis* L.) được thu hái tại huyện Đức Hòa, tỉnh Long An. Trong quá trình thu hái, loại bỏ những lá và quả bị sâu, không đạt chuẩn. Sau khi thu hái mẫu tiến hành phơi khô dưới ánh nắng mặt trời rồi xay nhuyễn thành bột để phục vụ cho việc nghiên cứu.

2.2. Chủng vi sinh vật, các dòng tế bào và chủng chuột

Các chủng vi sinh vật chuẩn được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương bao gồm: vi khuẩn Gram (-): *Escherichia coli* ATCC 8739 và *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; vi khuẩn Gram (+): *Bacillus subtilis* ATCC 6633 và *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; nấm sợi: *Aspergillus niger* ATCC 9763 và *Fusarium oxysporum* ATCC 48112; nấm men: *Candida albicans* ATCC 10231 và *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 16404.

Tế bào RAW 264.7, tế bào ung thư gan người (Hep-G2) và tế bào ung thư phổi (A549) được cung cấp bởi Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Chuột nhắt thuần chủng dòng Balb/C khỏe mạnh, 6-8 tuần tuổi, không phân biệt giống, khối lượng 25 ± 2 gam được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Chăm sóc và Sử dụng Động vật – Viện Tế bào gốc – Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3. Hóa chất

Dimethyl sulfoxide (DMSO), enzyme α -glucosidase, *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside, môi trường Sabouraud 4% Dextrose Agar (SDA), môi trường Tryptic Soy Agar (TSA), môi trường Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), lipopolysaccharide (LPS), thuốc thử Griess, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) có nguồn gốc từ Công ty Merck (Cộng hòa Liên bang Đức). Các hóa chất còn lại sử dụng trong nghiên cứu là hóa chất tinh khiết AR (Trung Quốc).

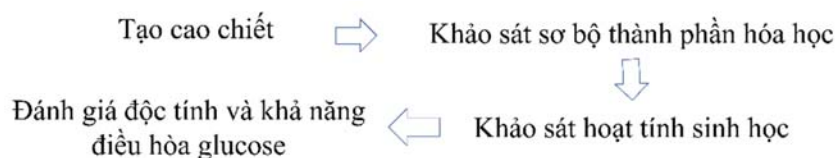
2.4. Thiết bị

Mật độ quang được đo trên máy Infinite F50.

Phổ hồng ngoại (IR) của các chất được đo trên máy Shimadzu FTIR Affinity - 1S theo phương pháp ép viên với KBr.

2.5. Thiết kế thí nghiệm

Quy trình nghiên cứu thực hiện theo sơ đồ Hình 1.



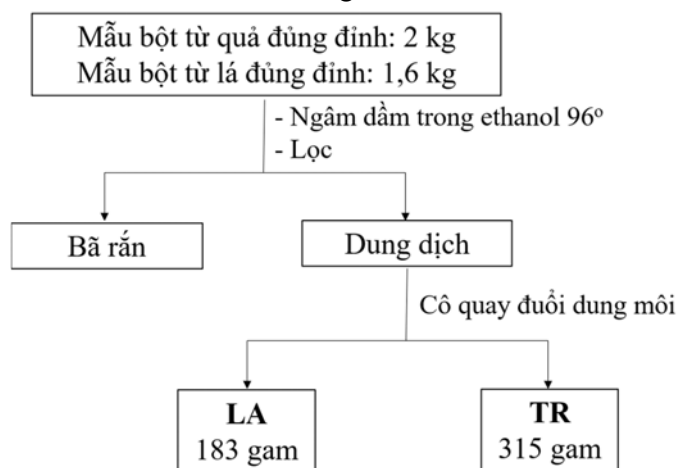
Hình 1. Quy trình nghiên cứu

2.5.1. Tạo cao chiết

Bột từ lá và quả của cây đung đỉnh được ngâm dầm trong dung môi ethanol 96° ở nhiệt độ phòng. Trong suốt thời gian ngâm, mỗi ngày khuấy đều dung dịch một lần nhằm giúp quá trình hòa tan các hợp chất thiên nhiên trong cây diễn ra thuận lợi.

Sau 12 ngày ngâm dầm, dịch chiết ethanol được cô quay đuôi dung môi dưới áp suất kém thu được 2 loại cao từ lá và quả lần lượt được kí hiệu là **LA** và **TR**.

Quy trình chiết cao được thể hiện trong Hình 2.



Hình 2. Quá trình chiết cao từ lá và quả đung đỉnh

2.5.2. Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học

Hai mẫu cao chiết từ lá và quả cây đung đỉnh ở nồng độ 100 mg/mL được định tính với các thuốc thử theo mô tả như trong tài liệu (Vo et al., 2017) và trình bày trong Bảng 1. Kết quả định tính một số hợp chất thiên nhiên có trong hai mẫu cao chiết được báo cáo trong Bảng 2.

Bảng 1. Thí nghiệm định tính một số hợp chất thiên nhiên

Hợp chất được định tính	Thực hiện thí nghiệm	Hợp chất được định tính	Thực hiện thí nghiệm
Phenolic và tanin	50 µL dung dịch cao chiết + 500 µL H ₂ O + 2-3 giọt FeCl ₃ 5%	Coumarin	50 µL dung dịch cao chiết + 750 µL NaOH 10%
Flavonoid	50 µL dung dịch cao chiết + 500 µL Pb(CH ₃ COO) ₂ 10%	Alkaloid	50 µL dung dịch cao chiết + vài giọt thuốc thử Wagner
Quinone	50 µL dung dịch cao chiết + 3-4 giọt dung dịch HCl	Terpenoid	50 µL dung dịch cao chiết + 500 µL CHCl ₃ + 2-3 giọt H ₂ SO ₄ đặc

Phương pháp phổ hồng ngoại (FT-IR) cũng được sử dụng để xác nhận sự có mặt của các loại nhóm chức nhằm khẳng định sự tồn tại của các loại hợp chất bằng việc định tính. Kết quả các tín hiệu đặc trưng trên phổ hồng ngoại (FT-IR) được trình bày ở Bảng 3.

2.5.3. Khảo sát hoạt tính sinh học

a. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Việc khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của hai mẫu cao chiết LA và TR được thực hiện theo mô tả ở tài liệu (Nguyen et al., 2018) và được thực hiện trên phiên vi lượng 96 giếng, thể tích phản ứng là 200 µl/giếng. Các thành phần phản ứng bao gồm: cơ chất *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside 2,5 mM, đệm phosphate 100 mM (pH 6,8), α -glucosidase 0,2 U/mL và mẫu thử (10 µL trong 200 µL hỗn hợp phản ứng) ở các nồng độ khác nhau. Mẫu thử được pha loãng bằng DMSO 100% đến các nồng độ mẫu trong phản ứng lần lượt là 256; 64; 16; 4; 1 µg/mL.

Ở mẫu đối chứng âm, mẫu thử được thay bằng đệm phosphate 100 mM và acarbose được sử dụng làm đối chứng dương. Hỗn hợp phản ứng enzyme được ủ ở 37°, sau 30 phút, phản ứng được dừng bằng Na₂CO₃ 0,1 M. Độ hấp thụ quang của phản ứng được xác định ở bước sóng 405 nm. Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của mẫu thử được xác định qua công thức:

$$\text{Tỉ lệ ức chế (\%)} = [(A_{\text{đối chứng âm}} - A_{\text{mẫu thử}}) / A_{\text{đối chứng âm}}] \times 100\%$$

Giá trị IC₅₀ (nồng độ của chất thử mà tại đó ức chế 50% hoạt động của enzyme α -glucosidase) được xác định bằng phần mềm TableCurve AISN Software.

b. Hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa được xác định bằng khả năng bắt các gốc tự do tạo bởi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) mô tả trong tài liệu (Williams et al., 1995).

Mẫu cao chiết (pha trong DMSO 100% với nồng độ 4 mg/mL) được nhỏ trên phiên vi lượng 96 giếng với dung dịch DPPH để được nồng độ cuối của mẫu thử từ 200 µg/mL

đến 12,5 µg/mL rồi ủ ở 37°C trong 30 phút và đo mật độ quang (OD) tại bước sóng 515nm. Acid ascorbic 5 mM được sử dụng làm chứng dương tính.

Khả năng trung hòa gốc tự do (SC%) được tính theo công thức

$$SC\% = \{ [100 \times (OD_{(\text{thí nghiệm})} - OD_{(\text{DMSO})})] / OD_{(\text{chứng âm})} \} \times 100$$

Giá trị SC₅₀ (nồng độ của chất thử mà tại đó trung hòa được 50% gốc tự do) được xác định bằng phần mềm TableCurve AISN Software.

c. Hoạt tính kháng viêm

Hoạt tính kháng viêm trên tế bào được khảo sát thông qua khả năng ức chế sản sinh NO theo mô tả như trong tài liệu (Le et al., 2017). Tế bào RAW 264.7 được nuôi cấy 48 giờ trong môi trường DMEM ở 37°C, 5% CO₂, 10% FBS (Fetal Bovine Serum). Sau đó dịch tế bào được chuyển lên phiến vi lượng 96 giếng với mật độ 2,5.10⁵ tế bào/giếng. Tế bào được kích thích với 2 µL LPS (0,1 mg/mL) trong 24 giờ và bổ sung chất thử ở các nồng độ lần lượt là 30 µg/mL và 100 µg/mL. Cardamonin được sử dụng làm đối chứng dương. Dịch huyền phù của tế bào được ủ với thuốc thử Griess, NaNO₂ ở các nồng độ khác nhau để xây dựng đường chuẩn. Đo mật độ quang của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 570 nm.

Tỉ lệ ức chế sản sinh NO (UC%) được xác định theo công thức

$$UC\% = ([X_{TB}]_{\text{mẫu}} - [X_{TB}]_{\text{LPS}}) / ([X_{TB}]_{\text{ĐC}} - [X_{TB}]_{\text{LPS}}) \times 100$$

Trong đó [X_{TB}] là nồng độ NO trung bình tính dựa trên đường chuẩn NaNO₂.

Phần tế bào còn lại sau khi đã sử dụng để đánh giá các hoạt tính được bổ sung dung dịch MTT (0,5 mg/mL), ủ 4 giờ trong tủ ấm 5% CO₂ ở 37°C. Sản phẩm chuyển hóa được hòa tan trong DMSO và đo mật độ quang tại 540 nm.

Tỉ lệ sống sót của tế bào (CS%) được tính theo công thức

$$CS\% = (OD_{\text{mẫu}} / OD_{\text{ĐC âm}}) \times 100$$

d. Hoạt tính gây độc dòng tế bào ung thư

Khả năng gây độc tế bào ung thư gan người (Hep-G2) và tế bào ung thư phổi (A549) được thực hiện theo phương pháp MTT mô tả trong tài liệu (Mosmann, 1983). Đây là phương pháp được đánh giá là quy chuẩn và cho hiệu quả sàng lọc nhanh các chất có hoạt tính gây độc hoặc ức chế sự tăng sinh tế bào. Nguyên tắc của phương pháp là gián tiếp xác định hoạt tính của chất thử qua khả năng ức chế enzyme oxidoreductase phụ thuộc NAD(P)H của tế bào. Enzyme trong ti thể này xúc tác phản ứng khử thuốc nhuộm tetrazolium MTT thành dạng formazan không hòa tan, có màu tím, qua đó có thể phản ánh tương quan số lượng các tế bào đang phát triển khi đo ở bước sóng 540/720 nm.

Khả năng ức chế sự tăng sinh tế bào (%) được tính theo công thức

$$Tỉ\ lệ\ ức\ chế\ tế\ bào = [1 - (OD_{\text{mẫu}} / OD_{\text{ĐC âm}})] \times 100$$

e. Hoạt tính kháng vi sinh vật

Hoạt tính kháng vi sinh vật của hai mẫu cao chiết LA và TR được thực hiện theo phương pháp của Vander Bergher và Vlietlinck (1991).

Mẫu được xác định có hoạt tính khi không có sự phát triển của vi sinh vật ở ít nhất một nồng độ thử nghiệm so với chứng âm.

Mẫu biểu hiện hoạt tính được thử nghiệm ở các nồng độ khác nhau để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC, $\mu\text{g/mL}$) – là nồng độ thử nghiệm thấp nhất mà vi sinh vật bị ức chế. Giá trị MIC $\leq 200 \mu\text{g/mL}$ mới được xem là có hoạt tính.

2.5.4. *Đánh giá khả năng điều hòa glucose thông qua hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase*

Chuột nhắt Balb/C được phân 3 lô (BT: chuột bình thường, TR: chuột uống cao TR, LA: chuột uống cao LA) với cỡ mẫu thử nghiệm là 3. Liều sử dụng 0,12 g/kg thể trọng, thời gian sử dụng cao là 10 giờ sáng hằng ngày liên tục trong 2 tuần và đo glucose máu lúc 8 giờ sáng. Kết quả glucose máu được ghi nhận 3 ngày/lần và trình bày ở đồ thị Hình 3 và kết quả dung nạp glucose ở ngày thứ 14 được trình bày ở Bảng 9 và Hình 4.

2.6. *Xử lý số liệu*

Các thí nghiệm đều được lặp lại ít nhất 3 lần và số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 với sai số ý nghĩa $p < 0,05$.

3. **Kết quả và thảo luận**

3.1. *Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học*

Việc khảo sát sơ bộ thành phần hóa học nhằm giúp đánh giá sự tồn tại các loại hợp chất thiên nhiên trong cây, từ đó có những định hướng cho việc nghiên cứu hoạt tính sinh học cũng như những nghiên cứu tiếp theo để cô lập riêng từng hợp chất có trong cây.

Kết quả thí nghiệm định tính thành phần hóa học trong hai mẫu cao chiết được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. *Kết quả định tính một số hợp chất thiên nhiên*

Hợp chất được định tính	Kết quả		Hợp chất được định tính	Kết quả	
	TR	LA		TR	LA
Phenolic và tanin	Kết tủa màu xanh đen	Kết tủa màu xanh đen	Coumarin	-	-
Flavonoid	Kết tủa màu vàng	Kết tủa màu vàng	Alkaloid	Kết tủa màu đỏ	Kết tủa màu đỏ
-Quinone	-	-	Terpenoid	Kết tủa đỏ gạch	Kết tủa xanh lá

Ghi chú: (-): không hiện tượng

Chỉ tiêu đánh giá: quan sát hiện tượng màu sắc trước và sau phản ứng để ghi nhận có hoặc không có các hợp chất tự nhiên trong cao chiết (mẫu không có hiện tượng thì không có hợp chất đó trong cao chiết).

Trên phổ hồng ngoại (FT-IR) của các mẫu cao chiết này xuất hiện các tín hiệu cho biết sơ bộ sự có mặt của các loại nhóm chức và các hợp chất có thể có trong cây. Kết quả các tín hiệu trên phổ của hai mẫu cao chiết này được ghi nhận ở Bảng 3.

Bảng 3. Các tín hiệu trên phổ hồng ngoại

Loại nhóm chức	Dao động hóa trị/biến dạng của liên kết	Mẫu LA (cm ⁻¹)	Mẫu TR (cm ⁻¹)
Phenol	V _{O-H}	3341	3275
Carbonyl	V _{C=O}	1709	-
Alkane	V _{Csp³-H}	2922	2920
Aromatic	V _{Csp²-H (thom)} ; V _{C=C}	3009; 1614	3000; 1607; 1515
Ether	V _{C-O ether}	1036	1034

Phổ hồng ngoại của hai mẫu cao chiết LA và TR đều thể hiện tín hiệu tù và rộng ở khoảng 3200-3300 cm⁻¹ của các loại hợp chất phenol.

Sự có mặt của các hợp chất chứa liên kết đôi được xác nhận thông qua dao động hóa trị của Csp²-H ở 3009 cm⁻¹ với mẫu LA và 3000 cm⁻¹ với mẫu TR. Các dao động này thường có cường độ yếu và dễ bị che lấp bởi các tín hiệu của Csp³-H nên khó có thể quy kết rạch ròi các tín hiệu này.

Các hợp chất carbonyl được tìm thấy ở mẫu LA với tín hiệu sắc nhọn tại 1709 cm⁻¹ còn ở mẫu TR thì không thấy tín hiệu của nhóm carbonyl này. Thay vào đó, tín hiệu nhọn tại 1607 cm⁻¹ ở mẫu TR chứng minh rõ nét sự tồn tại của vòng thom, cùng với dao động biến dạng của liên kết C-H ở 775; 818 cho thấy vòng thom này có 3 nhóm thế. Ở mẫu LA vẫn có sự tồn tại của hợp chất chứa vòng benzen với 2 nhóm thế tại vị trí meta thông qua sự có mặt của 3 tín hiệu ở 721 ÷ 820 cm⁻¹.

Dao động hóa trị của liên kết C-O ether (hoặc C-O ancol) cũng đã được tìm thấy tại 1036 cm⁻¹ với mẫu LA và 1034 cm⁻¹ với mẫu TR. Cùng với sự có mặt của nhóm carbonyl và các tín hiệu của nhóm O-H ở vùng trên 3000 cm⁻¹ cho phép dự đoán mẫu LA có chứa các hợp chất acid còn ở mẫu TR có chứa các hợp chất ancol.

Như vậy, việc xác định sơ bộ cấu trúc của các hợp chất thiên nhiên có trong 2 loại cao chiết LA và TR bằng phổ hồng ngoại giúp nhận định mối liên quan giữa cấu trúc và hoạt tính (chẳng hạn như các hợp chất phenol thường có hoạt tính chống oxy hóa tốt...), từ đó có cơ sở cho việc thăm dò các hoạt tính sinh học trên hai mẫu cao chiết này.

3.2. Khảo sát hoạt tính

3.2.1. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

α -glucosidase là enzyme quan trọng trong quá trình thủy phân carbohydrate tạo glucose trong cơ thể. Do đó, các chất ức chế α -glucosidase có thể làm chậm quá trình giải phóng và hấp thụ glucose, qua đó không làm tăng đường huyết sau ăn. Vì vậy, chất ức chế α - glucosidase như Acarbose đã được sử dụng rộng rãi trong điều trị tiểu đường type 2 (Le et al., 2016)

Kết quả ức chế enzyme α -glucosidase trên hai mẫu cao chiết LA và TR được trình bày ở Bảng 4. Kết quả này cho thấy khả năng ức chế enzyme này ở mẫu cao chiết từ quả

tốt hơn từ lá. So với chất tham khảo đang thực hiện là acarbose ($IC_{50} = 123,5 \mu\text{g/mL}$) thì mẫu TR cho kết quả tốt hơn gấp 69 lần và mẫu LA cho kết quả tốt hơn gấp 11 lần.

Bảng 4. Kết quả hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

STT	Tên mẫu	Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Chất tham khảo	Acarbose	$123,5 \pm 1,21$
1	TR	$1,78 \pm 0,07$
2	LA	$11,1 \pm 0,56$

Từ kết quả trên bước đầu cho thấy tiềm năng ứng dụng trong việc điều trị đái tháo đường thông qua hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các mẫu cao chiết khảo sát.

3.2.2. Hoạt tính chống oxy hóa

Khả năng bắt gốc tự do của hai mẫu cao chiết từ lá và quả cây đùng đình được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa

STT	Kí hiệu mẫu	Khả năng trung hòa gốc tự do (SC, %)	SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	Chứng (+) [acid ascorbic]	$86,53 \pm 0,3$	$12,6 \mu\text{g/mL}$
	Chứng (-) [DPPH/EtOH+DMSO]	$0,0 \pm 0,0$	-
1	TR	$90,21 \pm 1,9$	$28,57 \mu\text{g/mL}$
2	LA	$53,46 \pm 2,3$	$46,8 \mu\text{g/mL}$

Kết quả chỉ ra rằng cả hai mẫu cao chiết LA và TR đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa, trong đó mẫu cao chiết TR cho hoạt tính tốt hơn mẫu LA. Tuy nhiên cả 2 mẫu này đều có hoạt tính kém hơn so với chứng dương tính là acid ascorbic (vitamin C).

Hoạt tính chống oxy hóa này có được có lẽ là do sự có mặt của các hợp chất phenolic và flavonoid trong lá và quả của cây nhưng có thể vì hàm lượng của chúng thấp nên dẫn đến việc biểu hiện hoạt tính không tốt so với chứng dương tính. Hàm lượng phenolic và flavonoid trong cây thấp có thể được lí giải thông qua quá trình thực nghiệm chiết cao. Do bột cây được ngâm dầm rồi lọc lấy dịch lọc đem cô quay thì trong quá trình lọc có thể chưa loại bỏ hết tạp chất hoặc quá trình ngâm dầm chưa chiết kiệt hết các chất có hoạt tính chống oxy hóa còn vitamin C dùng trong nghiên cứu là một sản phẩm đã tinh sạch nên sẽ có hiệu quả chống oxy hóa cao hơn.

Việc bổ sung chất chống oxy hóa tự nhiên rất có lợi với những bệnh nhân đái tháo đường bởi lẽ nguyên nhân chủ yếu dẫn đến kháng insulin, rối loạn lipid máu, rối loạn chức năng tế bào, giảm dung nạp glucose và cuối cùng dẫn đến đái tháo đường type 2 là sự gia tăng các gốc tự do. Các chất chống oxy hóa này có khả năng làm sạch các gốc tự do có hại cho cơ thể và ngăn chặn sự tiến triển của đái tháo đường (Nguyen et al., 2019).

Kết quả ức chế enzyme α -glucosidase và chống oxy hóa này góp phần khẳng định tác dụng chống đái tháo đường từ cao chiết ethanol của lá và quả cây đu đủ đĩnh. Đây là một đóng góp mới, góp phần tạo ra các loại thuốc đặc hiệu đến từ thiên nhiên để điều trị đái tháo đường trong tương lai.

3.2.3. Hoạt tính kháng viêm

Viêm là một đáp ứng bảo vệ cơ thể của hệ miễn dịch đối với các tác nhân có hại. Quá trình viêm quá mức có thể gây ra nhiều loại bệnh như: ung thư, tim mạch, đái tháo đường, suy giảm thần kinh trung ương... Hiện nay, người ta đang mong muốn tìm đến một loại thuốc kháng viêm đến từ thiên nhiên bởi lẽ sử dụng các loại thuốc kháng viêm hiện tại có thể gây ra các tác dụng phụ không mong muốn (Le et al., 2017).

Kết quả (trình bày ở Bảng 6) cho thấy khả năng kháng viêm tốt và không gây độc cho tế bào, trong đó mẫu LA có khả năng kháng viêm tốt hơn mẫu TR 1,13 lần với khả năng ức chế sản sinh NO ở 100 μ g/mL đến 93,81% và tỉ lệ tế bào sống sót lên đến 99,61%. Đây cũng là một tín hiệu tốt cho việc nghiên cứu tiếp theo về các loại thuốc kháng viêm đến từ thiên nhiên cũng như là các loại thuốc điều trị đái tháo đường.

Bảng 6. Kết quả hoạt tính kháng viêm

STT	Tên mẫu	Nồng độ mẫu	Tỉ lệ ức chế sản sinh NO (%)	Tỉ lệ tế bào sống sót (%)
	Đối chứng (-)	-	100,0 \pm 1,3	104,76 \pm 0,15
	Đối chứng (+)	0,3 μ M	25,85 \pm 2,12	86,46 \pm 0,21
	[Cardamonin]	3,0 μ M	86,93 \pm 0,96	71,8 \pm 0,51
	LPS	-	0,0 \pm 0,9	100,0 \pm 0,13
1	LA	30 μ g/mL	28,87 \pm 0,9	99,66 \pm 1,34
		100 μ g/mL	93,81 \pm 0,69	99,61 \pm 2,51
2	TR	30 μ g/mL	60,31 \pm 0,76	99,64 \pm 1,3
		100 μ g/mL	82,99 \pm 0,45	91,39 \pm 1,87

3.2.4. Hoạt tính gây độc các dòng tế bào ung thư

Theo báo cáo của tổ chức Y tế thế giới (WHO), Việt Nam là quốc gia có tỉ lệ ung thư cao với dân số 96 triệu người thì số ca mắc ung thư mới năm 2018 là 164.671 ca, trong đó có 114.871 người chết. Loại ung thư mắc phải phổ biến nhất là ung thư gan (25.335 người – 15,4%) và ung thư phổi (23.667 người – 14,4%) (World Health Organization, 2019).

Chính vì những lí do đó, việc tìm ra các loại thuốc chống ung thư đang là vấn đề được quan tâm hàng đầu hiện nay, kết quả khảo sát khả năng gây độc tế bào ung thư được thực hiện trên tế bào ung thư gan người (Hep-G2) và tế bào ung thư phổi (A549) được trình bày trong Bảng 7

Bảng 7. Kết quả gây độc tế bào ung thư

STT	Kí hiệu mẫu	Tỉ lệ ức chế tế bào (%)	
		Hep-G2	A549
1	TR	52,81 ± 2,1	55,96 ± 1,1
2	LA	35,8 ± 2,8	34,11 ± 2,3

Kết quả trên cho thấy mẫu TR có khả năng gây độc dòng tế bào ung thư gan và phổi còn mẫu LA thì không có. Điều này cũng phù hợp với kinh nghiệm dân gian khi ngâm rượu thuốc uống từ quả đu đủ xanh. Kết quả này cũng cung cấp một bằng chứng khoa học mới để tái khẳng định khả năng chống ung thư của quả đu đủ xanh từ dân gian. Tuy tỉ lệ ức chế tế bào của mẫu TR chỉ khoảng 52-55% nhưng đây cũng là một kết quả đáng khích lệ cho những nghiên cứu tiếp theo về ung thư ở loại cây này.

3.2.5. Hoạt tính kháng vi sinh vật

Ngày nay, việc tìm kiếm các loại thuốc có khả năng kháng khuẩn hiệu quả và quan trọng nhất là chống lại các loại vi khuẩn kháng thuốc đang là vấn đề quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu trong nước và trên thế giới, đặc biệt là việc nghiên cứu dược liệu có nguồn gốc thiên nhiên. Hai mẫu cao chiết từ lá và quả cây đu đủ xanh cũng được khảo sát hoạt tính kháng vi sinh vật và kết quả được trình bày ở Bảng 8.

Bảng 8. Kết quả hoạt tính kháng vi sinh vật

S T T	Kí hiệu mẫu	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: µg/ml)							
		Vi khuẩn Gram (-)		Vi khuẩn Gram (+)		Nấm mốc		Nấm men	
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albican</i>
1	TR	(-)	(-)	100	100	100	100	(-)	100
2	LA	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

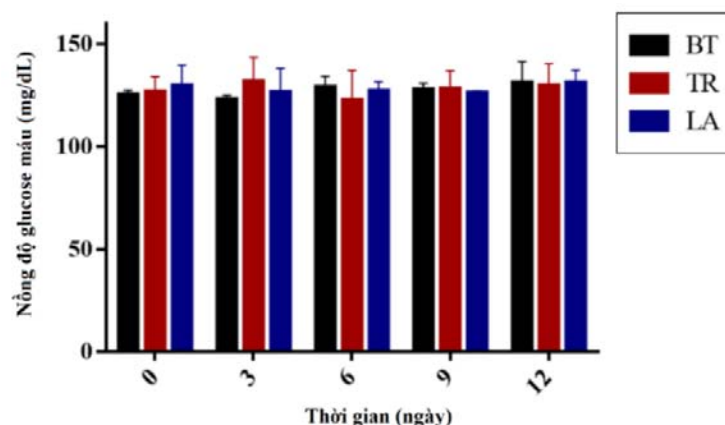
Ghi chú: (-): không biểu hiện hoạt tính (có giá trị MIC > 200 µg/mL)

Ở nồng độ 100 µg/ml, mẫu TR cho kết quả dương tính với 2 chủng vi khuẩn Gram (+): *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, 2 chủng nấm mốc: *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* và 1 chủng nấm men *Candida albican* còn mẫu LA thì không biểu hiện hoạt tính kháng vi sinh vật này.

Kết quả khảo sát cho thấy sự kháng các loại vi khuẩn và vi nấm này tạo được nhiều lợi ích cho con người và cung cấp dữ liệu cho các nghiên cứu sau này về thuốc kháng sinh có nguồn gốc thiên nhiên.

3.2.6. Đánh giá khả năng điều hòa glucose thông qua hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase

Nồng độ glucose máu khi chuột sử dụng hai mẫu cao chiết trong 14 ngày được ghi nhận và trình bày ở Hình 3.



Hình 3. *Nồng độ glucose máu của chuột khi uống cao chiết*

Kết quả trên cho thấy sự thay đổi đường huyết của các nhóm chuột thí nghiệm (uống cao LA và cao TR) ở nồng độ khảo sát không có sự khác biệt thống kê so với lô chuột không uống cao chiết.

Mặt khác, chưa ghi nhận tình trạng tử vong sau khi dùng cao chiết sau 2 tuần sử dụng. Sức sống của chuột không thay đổi sau khi dùng cao, không ghi nhận các biểu hiện như: sốc thuốc (cao chiết), xù lông, rụng lông, sụt cân.

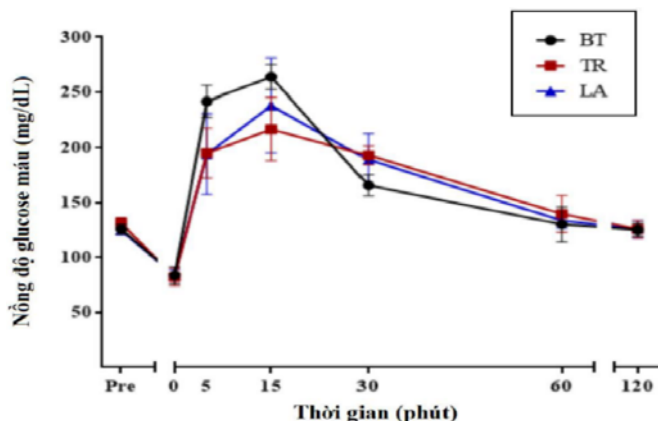
Từ những kết quả trên nhận định rằng, cao chiết LA và TR không gây ảnh hưởng mức glucose bình thường trên chuột, không gây ảnh hưởng đến sức sống và không gây ngộ độc cấp trong 2 tuần sử dụng.

Kết quả dung nạp glucose ghi nhận ở ngày 14 được trình bày ở Bảng 9.

Bảng 9. *Kết quả dung nạp glucose*

	BT	TR	LA
Trước dung nạp	126 ± 4,3	131 ± 5,0	125 ± 4,0
0 phút	84 ± 7,1	82 ± 8,0	84 ± 5,3
5 phút	242 ± 14,5	195 ± 22,6	194 ± 36,5
15 phút	264 ± 11,0	217 ± 28,5	238 ± 42,7
30 phút	166 ± 9,5	193 ± 8,6	189 ± 23,6
60 phút	130 ± 16,0	140 ± 16,8	134 ± 7,2
120 phút	125 ± 5,9	126 ± 7,9	126 ± 8,0

Chuột sử dụng 2 loại cao chiết LA và TR (liều 0,12g/kg) trong 2 tuần chưa cho thấy ảnh hưởng rõ rệt trong thử nghiệm dung nạp glucose khi so sánh thống kê với lô không sử dụng BT (độ tin cậy sử dụng 95%).



Hình 4. Kết quả dung nạp glucose

Theo đồ thị ở Hình 4, bước đầu nhận thấy có sự điều hòa glucose máu khi sử dụng 2 loại cao chiết LA và TR. Trong đó, lô chuột dùng cao TR có lượng đường tăng chậm hơn so với lô chuột dùng cao LA và lô chuột BT. Bên cạnh đó, lượng đường ở lô chuột dùng cao LA và TR được giữ ổn định hơn ở lô chuột BT từ thời điểm 15 phút sau khi ăn đến khi đường huyết trở về bình thường.

Kết quả này cộng với khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của 2 loại cao chiết đã thử nghiệm ở trên cho thấy cao chiết từ lá và quả của cây đung đỉnh có khả năng điều hòa đường huyết theo cơ chế ức chế hoạt động của enzyme thủy phân tinh bột là α -glucosidase. Điều này giúp bổ sung cơ sở khoa học về đại tháo đường từ cây đung đỉnh cho y học cổ truyền.

4. Kết luận

Phân tích định tính và phương pháp phổ hồng ngoại (FT-IR) cho thấy hai mẫu cao chiết ethanol từ lá và quả cây đung đỉnh tồn tại các hợp chất thiên nhiên như: phenolic, tanin, flavonoid, alkaloid và terpenoid. Đồng thời cả hai mẫu cao chiết này đều biểu hiện hoạt tính sinh học phong phú như: hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase, hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính kháng viêm, hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan người (Hep-G2), gây độc tế bào ung thư phổi (A549), hoạt tính kháng vi sinh vật. Tất cả đều cho hoạt tính tốt, trong đó cao chiết từ quả cho hoạt tính tốt hơn từ lá, riêng hoạt tính kháng viêm thì lá tốt hơn quả. Việc thử nghiệm *in vivo* cho thấy cả hai mẫu cao chiết này không gây độc cấp tính và bước đầu có khả năng điều hòa glucose, trong đó mẫu cao chiết từ quả cho kết quả tốt hơn. Đây là một đóng góp mới cho y học cổ truyền về dược tính của lá và quả cây đung đỉnh.

- ❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.
- ❖ **Lời cảm ơn:** Chân thành cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ trong việc thử nghiệm các hoạt tính sinh học. Cảm ơn ThS Bùi Nguyễn Tú Anh – Viện Tế bào gốc đã giúp đỡ trong việc đánh giá khả năng điều hòa glucose trên chuột; ThS Nguyễn Thị Tuyết Hoa đã hỗ trợ trong nội dung nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Le Dinh To, Nguyen Trung Kien, Tran Linh Thuoc, & Dang Thi Phuong Thao (2017). Optimization of an anti-inflammatory screening model on the RAW 264.7 macrophage cell [Toi uu hoa mo hinh sang loc hop chat khang viem tren te bao macrophage RAW 264.7]. *Science & Technology Development Journal*, 5, 18-26.
- Le Quoc Duy, Nguyen Minh Chon, & Nguyen Pham Tuan (2016). Screening α -amylase and α -glucosidase inhibitor activities of traditional medicinal plants in diabetes treatment [Khao sat kha nang uc che enzyme α -amylase và α -glucosidase của một số cây thuốc dân gian điều trị bệnh đại tháo đường]. *Tra Vinh University Journal of Science*, 22, 139-147.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Nguyen Thi Xuan Thu, Dang Duc Long, & Thanh Thi Thu Thuy (2019). Study of antihyperglycaemic activity in streptozotocin induced diabetic mice and antioxidant activities of medicinal plant extracts [Nghien cuu tac dung ha duong huyet và chong oxy hoa của một số cao chiet thuc vat]. *Journal of Biology*, 41(2), 119-128. <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v41n2.13783>
- Nguyen, V. B., Wang, S. L., Nhan, N. T., Nguyen, T. H., Nguyen Phuong, D. N., Do, H. N., & Cuong, N. M. (2018). New records of potent in-vitro antidiabetic properties of dalbergia tonkinensis heartwood and the bioactivity-guided isolation of active compounds. *Molecules*, 23. <https://doi.org/10.3390/molecules23071589>
- Pham Hoang Ho (2003). *Vietnamese plants [Cay co Viet Nam]*, 3, Tre Publishing house.
- VandenBergher, & Vlietinck. (1991). Screening methods for antibacterial and antiviral agent from higher plants. *Methods in Plant Biochemistry, Academic Press., USA*, 6.
- Vo Thi Kieu Ngan, Nguyen Thi Ngoc Mai, Nguyen Thanh Hoang, Trang Hong Duc, & Nguyen Duc Do (2017). Determination of total phenolic and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of ethanolic and methanolic extracts of *Imperata cylindrica* rhizomes and leaves [Khao sat ham luong phenolic tong, flavonoid tong, hoat tinh chong oxy hoa va haot tinh khang khuan của cao chiet ethanol va methanol của lá và thân rễ cây Cỏ tranh (*Imperata cylindrica*)]. *Can Tho University Journal of Science*, 52, 16-22. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2017.119>
- Williams, W. B., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 28, 25-30. <https://doi.org/10.3906/sag-1411-35>
- World Health Organization (2019). *The Global Cancer Observatory*.

**AN INVESTIGATION OF SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES OF FRUITS
AND LEAVES EXTRACT FROM *Caryota mitis* L. PLANT: EVALUATING
THE ABILITY TO CONTROL GLUCOSE THROUGH α -GLUCOSIDASE ACTIVITY**

Le Trong Duc**, *Nguyen Nguyen Cuong Phat*, *Huynh Tien Sy

Hau Nghia High School

**Corresponding author: Le Trong Duc – Email: letrongduc.c3haunghia@longan.edu.vn*

Received: November 18, 2019; Revised: November 25, 2019; Accepted: December 05, 2019

ABSTRACT

*Two of the ethanol extracts which are from the leaves and fruits of *Caryota mitis* L. have been studied on the biological activities. The results indicate that the biological activities such as: anti-oxidant, α -glucosidase inhibitor, anticancer (Hep-G2 and A549), and anti-microbial of the fruits are better than those of the leaves. Meanwhile, the anti-inflammatory activities of the leaves are 1,13 times better than those of the fruits. The best one is α -glucosidase inhibitor. With the aim to provide data for traditional medicine for the treatment of diabetes, the ability to regulate glucose has been implemented on Balb/C mice. The results indicate that there is no toxicity in these two extracts, and they initially can regulate blood glucose levels.*

Keywords: fishtail palm; *Caryota mitis* L.; anti-oxidant; anti-inflammatory; anticancer Hep-G2; anticancer A549; α -glucosidase