



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.053

ẢNH HƯỞNG ỨC CHẾ CỦA DỊCH TRÍCH CÂY LỒNG ĐÈN (*Physalis angulata* L.) LÊN HOẠT TÍNH CỦA α -AMYLASE VÀ α -GLUCOSIDASE

Nguyễn Minh Chon* và Dương Duy Dương

Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Minh Chon (email: nmchon@ctu.edu.vn)

ABSTRACT

The ground cherry (*Physalis angulata* L.) is a wild plant which grows popularly in Vietnam and tropical countries. It is used as a medicinal plant to help diuretic, anti-malarial, antibacterial and anti-inflammatory. The biological activities and especially the ability to prevent diabetes of ground cherry extract are also being examined. In this study, the inhibitions of α -amylase and α -glucosidase from ground cherry extract were carried out. The extracts from leaves, stems and roots of the ground cherries were extracted by Soxhlet method with 96% ethanol solvent. Extracts were evaluated for their ability to inhibit α -amylase and α -glucosidase by IC_{50} . The results showed that leaf extract had a good inhibition on α -amylase (0.75±0.020 mg/mL) while stem extract had a good inhibition on α -glucosidase (3.93±0.124 mg/mL). The separation by n-hexane, ethyl acetate and n-butanol showed that fractional n-hexane of leaf extract had the best α -amylase inhibitory effect (0.563±0.002 mg/mL) whereas the fractional ethyl acetate of stem extract had the best α -glucosidase inhibitory effect (0.453±0.005 mg/mL). Qualitative analysis showed the presence of terpenoids, steroids and flavonoids in these samples. Alkaloids were present only in the fractional n-hexane of leaf extract. The inhibition of α -amylase and α -glucosidase activities showed that ground cherry was a source of medicinal plants that could be used to study the prevention of diabetes mellitus.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 18/03/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

Inhibitory Effects of Ground Cherry Extracts (*Physalis angulata* L.) on α -Amylase and α -Glucosidase Activities

Từ khóa:

α -amylase, α -glucosidase, IC_{50} , *Physalis angulata* L

Keywords:

α -amylase, α -glucosidase, IC_{50} , *Physalis angulata* L

TÓM TẮT

Cây lồng đèn (*Physalis angulata* L.) mọc phổ biến ở Việt Nam và các nước nhiệt đới và được sử dụng như là cây dược liệu để giúp lợi tiểu, chống sốt rét, kháng khuẩn và kháng viêm. Các hoạt tính sinh học và đặc biệt là khả năng phòng chống bệnh đái tháo đường của dịch trích cây lồng đèn đang được khảo sát. Trong nghiên cứu này, sự ức chế α -amylase và α -glucosidase của dịch trích cây lồng đèn đã được khảo sát. Cao chiết lá, thân và rễ của cây lồng đèn được chiết bằng phương pháp Soxhlet với dung môi ethanol 96%. Các cao chiết được đánh giá khả năng ức chế α -amylase và α -glucosidase thông qua chỉ số IC_{50} . Kết quả cho thấy, cao chiết lá có khả năng ức chế tốt α -amylase (0,75±0,020 mg/mL) và cao chiết thân ức chế tốt α -glucosidase (3,93±0,124 mg/mL). Cao chiết thô ban đầu được tiếp tục phân đoạn bằng n-hexan, ethyl acetate và n-butanol. Kết quả cho thấy cao chiết phân đoạn n-hexan của lá cho hiệu quả ức chế α -amylase tốt nhất (0,563±0,002 mg/mL) trong khi đó phân đoạn ethyl acetate của cao chiết thân ức chế α -glucosidase hiệu quả nhất (0,453±0,005 mg/mL). Kết quả định tính cho thấy có sự hiện diện của terpenoid, steroid và flavonoid trong các mẫu trên. Alkaloid chỉ hiện diện trong cao chiết phân đoạn n-hexan của lá. Kết quả ức chế hoạt tính của α -amylase và α -glucosidase cho thấy cây lồng đèn là nguồn dược liệu có thể dùng để nghiên cứu phòng trị bệnh đái tháo đường.

Trích dẫn: Nguyễn Minh Chon và Dương Duy Dương, 2019. Ảnh hưởng ức chế của dịch trích cây lồng đèn (*Physalis angulata* L.) lên hoạt tính của α -amylase và α -glucosidase. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(2): 126-132.

1 GIỚI THIỆU

Trong thành phần của nhiều loại thực vật có chứa các hợp chất như: flavonoid, tannin, alkaloid, anthocyanin... Các loài cây chứa các hợp chất này đã được sử dụng từ lâu trong y học ở Việt Nam cũng như các quốc gia khác với nhiều tác dụng như: lợi tiểu, chống sốt rét, kháng khuẩn, kháng viêm, chống đái tháo đường và nhiều công dụng khác (Abo *et al.*, 2013). Trong các loại cây có giá trị dược liệu, cây lồng đèn (*Physalis angulata* L.) đã được đề cập. Cây lồng đèn còn được gọi là cây thù lù hay cây tâm bốp. Đây là loài cây thân thảo phổ biến ở nước ta và nhiều vùng nhiệt đới khác. Nhiều nghiên cứu khoa học về giá trị dinh dưỡng cũng như dược tính của cây lồng đèn đã được thực hiện. Hiện nay, việc khảo sát các phản ứng sinh hóa liên quan đến nội tiết cũng là một lĩnh vực đang được quan tâm. Một trong những lĩnh vực này là ứng dụng cây dược liệu để điều hòa hay ức chế phản ứng thủy phân tinh bột của α -amylase và α -glucosidase. Lĩnh vực nghiên cứu này hướng đến việc giúp kiểm soát đường huyết ở bệnh nhân đái tháo đường. Trong nghiên cứu này, việc khảo sát khả năng ức chế α -amylase và α -glucosidase từ dịch trích cây lồng đèn đã được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá khả năng ức chế α -amylase và α -glucosidase của cao chiết cây lồng đèn ở mức độ *in vitro* làm cơ sở cho việc trồng cây dược liệu để phát triển và đa dạng hóa sản phẩm của ngành trồng trọt.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Cây lồng đèn (*Physalis angulata* L.) tươi được thu hái ở huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang. Tên cây được định danh dựa vào các đặc điểm được mô tả bởi Đỗ Huy Bích và *ctv.* (2006).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp trích cao

– *Ly trích cao:* Cây lồng đèn sau khi thu hái được loại bỏ những phần bị sâu bệnh và phân nhóm thành các bộ phận lá, thân và rễ. Cây được rửa sạch và để khô ráo. Mẫu được tiến hành cắt nhỏ và sấy ở nhiệt độ 70°C đến 48 giờ rồi đem đi nghiền thành bột. Bộ dụng cụ Soxhlet được dùng để trích dịch trích của bột cây lồng đèn trong dung môi ethanol 96%. Máy cô quay chân không được dùng để loại bỏ dung môi trong dịch trích. Sau khi cô quay chân không, mẫu cao chiết lá, cao chiết thân và cao chiết rễ cây lồng đèn được trữ ở nhiệt độ -20°C và sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

– *Ly trích phân đoạn:* Cao thô được hòa tan trong cồn 96% và nước để làm pha căn bản. Sau đó, hỗn hợp được phân đoạn bằng bình chiết với các dung môi không hòa tan với nước để chiết ra khỏi nước các hợp chất có tính phân cực khác nhau. Mẫu

được lắc đều trong 6 giờ với các dung môi khác nhau là n-hexane, ethyl acetate và n-butanol. Mẫu được để yên trong bình lắng để phân tách dung môi. Các phân đoạn ở các dung môi khác nhau được cô quay ở 45°C để thu được cao chiết phân đoạn.

2.2.2 Khảo sát khả năng ức chế enzyme của cao chiết

a. Khảo sát khả năng ức chế α -amylase của các loại cao chiết ethanol cây lồng đèn

– Cao chiết được pha trong dimethyl sulfoside (DMSO) thành các nồng độ khác nhau.

– Phản ứng được tiến hành như sau: Cho 50 μ L α -amylase ở nồng độ 0,5 U/mL vào 200 μ L dung dịch đệm phosphate pH 7. Sau đó, cho 250 μ L tinh bột ở nồng độ 0,5 mg/mL vào dung dịch và ủ ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút. Tiếp theo, thêm vào hỗn hợp lần lượt 200 μ L HCl 1 N để dừng phản ứng và 300 μ L thuốc thử iodine 0,1 N để nhận biết lượng tinh bột còn lại dựa trên phản ứng màu xanh đặc trưng của phức hợp tinh bột-iodine. Hỗn hợp được đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 660 nm để xác định lượng tinh bột còn lại sau phản ứng (Yang *et al.*, 2012 và Chakrabarti *et al.*, 2014).

Chỉ tiêu đánh giá: Giá trị IC₅₀ và phần trăm enzyme bị ức chế được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = 100 - \frac{(A_{660 \text{ đối chứng}} - A_{660 \text{ cao chiết}}) \times 100}{A_{660 \text{ đối chứng}}}$$

Trong đó: A_{660 đối chứng}: giá trị độ hấp thụ của dung dịch đối chứng ở bước sóng 660 nm.

A_{660 cao chiết}: giá trị độ hấp thụ của dung dịch có cao chiết sau khi ngừng phản ứng ở bước sóng 660 nm.

b. Khảo sát khả năng ức chế α -glucosidase của các loại cao chiết ethanol cây lồng đèn

– Cao chiết được pha trong DMSO thành các nồng độ khác nhau.

– Phản ứng được tiến hành như sau: Cho 100 μ L α -glucosidase 0,2 U/mL vào 50 μ L dung dịch đệm phosphate pH 7. Tiếp theo, cho vào dung dịch 50 μ L para-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG) nồng độ 0,5 mg/mL và ủ ở nhiệt độ 37°C trong 15 phút. Sau cùng, phản ứng được kết thúc bằng việc bổ sung 1.000 μ L Na₂CO₃ 0,2 M. Hoạt động của α -glucosidase được xác định bằng cách đo độ hấp thụ bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 405 nm của lượng para-nitrophenol tạo thành từ pNPG trong phản ứng (Kim *et al.*, 2000).

– Chỉ tiêu đánh giá: Giá trị IC₅₀ và phần trăm enzyme bị ức chế được tính theo công thức (Kim *et al.*, 2000):

$$\% \text{ ức chế} = \frac{(A_{405 \text{ đối chứng}} - A_{405 \text{ cao chiết}}) \times 100}{A_{405 \text{ đối chứng}}}$$

Trong đó: A_{405} đối chứng: giá trị độ hấp thụ của dung dịch đối chứng ở bước sóng 405 nm;

A_{405} cao chiết: giá trị độ hấp thụ của dung dịch sau phản ứng ở bước sóng 405 nm.

Giá trị IC_{50} là giá trị nồng độ mà tại đó cao chiết ức chế 50% enzyme. Giá trị này được xác định dựa trên phương trình $y = ax+b$; phương trình được xây

Bảng 1: Phương pháp định tính một số hợp chất

Hợp chất	Thực nghiệm	Hiện tượng
Alkaloid	1 mL dịch trích + vài giọt thuốc thử wagner	Kết tủa màu nâu
Flavonoid	1 mL dịch trích + 1 mL Pb (OAc) ₄ 10%	Kết tủa màu vàng
Steroid	1 mL dịch trích + 2 mL CHCl ₃ + 2 mL H ₂ SO ₄ đậm đặc	Vòng đỏ nâu giữa 2 lớp
Terpenoid	2 mL dịch trích + 1 mL (CH ₃ CO) ₂ O + 2-3 giọt H ₂ SO ₄ đậm đặc	Màu đỏ đậm
Tannin	0,5 mL dịch trích + 10 mL H ₂ O + 2-3 giọt FeCl ₃ 0,1%	Kết tủa xanh dương đen

Nguồn: Sawant and Godghate, 2013; Yadav et al., 2014

2.2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thô thu thập từ các thí nghiệm sẽ được nhập để lưu trữ và dùng để vẽ biểu đồ bằng phần mềm Excel. Kết quả của các thí nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS 20.0. Các giá trị trung bình được kiểm định bằng phép thử Duncan để kiểm tra sự khác biệt.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khả năng ức chế α -amylase và α -glucosidase của các loại cao chiết ethanol cây lồng đèn

3.1.1 Khả năng ức chế α -amylase của các loại cao chiết ethanol cây lồng đèn

Kết quả thí nghiệm cho thấy cao chiết ethanol của lá cây lồng đèn có khả năng ức chế hoạt động của α -amylase thông qua tỉ lệ enzyme bị ức chế trong Bảng 2.

Kết quả cho thấy nồng độ cao chiết tỷ lệ thuận với khả năng ức chế enzyme. Khi gia tăng nồng độ cao chiết thì khả năng ức chế enzyme gia tăng. Khi tăng nồng độ cao từ 0,2 mg/mL lên 0,4 mg/mL thì lượng enzyme bị ức chế tăng từ 25,31±1,91% lên đến 36,39±0,68% và sự gia tăng có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% theo phép thử Duncan. Hiệu quả ức chế vẫn tăng liên tục khi tăng dần nồng độ cao từ 0,6 mg/mL đến 2 mg/mL, tương ứng với hiệu quả ức chế từ 37,97±1,34% lên đến 86,68±0,57%. Ở hai nồng độ cao chiết từ 1,8 mg/mL và 2,0 mg/mL thì khả năng ức chế α -amylase của cao chiết lá cây lồng đèn đạt cao nhất và được xem là có ảnh hưởng tương đương nhau (Bảng 2).

Không chỉ lá cây lồng đèn có hoạt tính ức chế α -amylase mà cao chiết của rễ và thân cây đều có khả năng ức chế hoạt động của α -amylase, kết quả được trình bày trong Bảng 3. Cao chiết lá cây lồng đèn cho hiệu quả ức chế α -amylase rõ nét hơn so với cao

dụng dựa vào sự tăng tuyến tính của phần trăm enzyme bị ức chế và nồng độ cao chiết.

2.2.3 Định tính hợp chất trong cao chiết

Việc định tính các hợp chất alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid và tannin trong cao chiết được mô tả trong Bảng 1.

chiết từ thân và rễ. Ở nồng độ 2 mg/mL, cao chiết lá cho hiệu quả ức chế α -amylase đến 86,68%, trong khi đó cao chiết thân và rễ cho hiệu quả ức chế α -amylase thấp hơn. Hiệu quả ức chế α -amylase của cao chiết thân và cao chiết rễ được ghi nhận lần lượt là 34,63% và 38,33% enzyme. Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết lá cây lồng đèn có tiềm năng ức chế α -amylase tốt hơn cao thân và rễ. Thu hái lá cũng tiện lợi hơn, thân và rễ sẽ được giữ lại để tiếp tục tái sinh lá và cho thu hoạch để sử dụng như là sản phẩm có giá trị dược liệu.

Bảng 2: Kết quả khảo sát khả năng ức chế α -amylase của cao chiết ethanol từ lá cây lồng đèn

Nồng độ cao chiết (mg/mL)	Phần trăm α -amylase bị ức chế (%)
0,0	0 ^a
0,2	25,31±1,91 ^b
0,4	36,39±0,68 ^c
0,6	37,97±1,34 ^c
0,8	50,66±0,36 ^d
1,0	58,55±1,06 ^e
1,2	65,61±0,40 ^f
1,4	70,48±1,72 ^f
1,6	76,59±2,46 ^g
1,8	84,95±0,78 ^h
2,0	86,68±0,57 ^h

* Các giá trị trong cùng cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% theo phép thử Duncan

Kết hợp kết quả Bảng 2 và Bảng 3 cho thấy khi tăng nồng độ cao chiết rễ, thân và lá cây lồng đèn thì hoạt tính của α -amylase giảm dần được biểu hiện qua phần trăm ức chế hoạt động của enzyme tăng dần. Khi tăng nồng độ cao chiết thân và rễ cây lồng đèn lên cao thì hoạt động ức chế enzyme không tăng tuyến tính. Ở nồng độ cao chiết thân và rễ là 2

mg/mL thì hiệu quả ức chế α -amylase đạt lần lượt là 34,63±1,13% và 38,33±1,02%. Khi tăng nồng độ cao chiết lên 5 lần, với nồng độ cao chiết thân và rễ lên đến 10 mg/ mL, thì hiệu quả ức chế α -amylase của cao chiết thân và cao chiết rễ chỉ tăng gần gấp đôi lần lượt là 61,67±0,41% và 74,47±0,99%. Khi một chất hoặc một hợp chất kết hợp với enzyme thông qua liên kết không cộng hóa trị như liên kết kỵ nước, liên kết hydro, liên kết ion đều tuân theo quy tắc cân bằng động nên dù có tăng lượng chất ức chế thì hiệu quả ức chế cũng không tạo khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3: Kết quả khảo sát khả năng ức chế α -amylase của cao chiết ethanol từ lá cây lồng đèn

Nồng độ cao chiết (mg/mL)	Phần trăm α -amylase bị ức chế (%)	
	Thân	Rễ
0,0	0 ^a	0 ^a
1,0	28,44±0,99 ^b	33,43±0,46 ^b
2,0	34,63±1,13 ^c	38,33±1,02 ^c
3,0	39,37±1,82 ^d	41,74±1,49 ^c
4,0	41,16±1,34 ^{de}	47,65±0,82 ^d
5,0	44,49±0,70 ^{ef}	50,77±0,77 ^d
6,0	47,65±0,94 ^{gh}	55,77±0,33 ^e
7,0	50,99±1,53 ^g	58,64±1,65 ^e
8,0	55,83±1,45 ^h	64,99±0,55 ^f
9,0	57,06±0,19 ^h	66,38±1,79 ^f
10,0	61,67±0,41 ⁱ	74,47±0,99 ^f

* Các giá trị trong cùng cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% theo phép thử Duncan

Bảng 4: Khả năng ức chế α -glucosidase của cao chiết ethanol từ rễ, thân, lá cây lồng đèn

Nồng độ cao chiết (mg/mL)	Phần trăm α -glucosidase bị ức chế (%)		
	Lá	Thân	Rễ
0,0	0 ^a	0 ^a	0 ^a
1,0	18,08±0,76 ^b	31,03±1,48 ^a	25,26±4,12 ^b
2,0	23,27±1,05 ^b	34,03±4,70 ^b	41,66±2,14 ^c
3,0	36,20±0,98 ^c	54,75±0,86 ^c	57,51±1,35 ^d
4,0	40,95±0,41 ^c	59,86±3,42 ^c	76,20±0,86 ^e
5,0	55,12±1,10 ^d	83,32±4,36 ^d	84,66±3,27 ^f
6,0	65,16±1,52 ^e	93,79±0,67 ^e	92,93±1,05 ^g
7,0	87,42±3,56 ^g	93,85±0,77 ^e	94,79±1,03 ^g
8,0	66,64±2,98 ^{ef}	94,39±1,80 ^e	95,04±0,30 ^g
9,0	73,23±2,44 ^f	95,96±0,08 ^e	95,25±2,45 ^g
10,0	74,50±2,47 ^f	98,58±0,54 ^e	98,18±0,78 ^g

* Các giá trị trong cùng cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% theo phép thử Duncan

So sánh khả năng ức chế enzyme của cả 3 loại cao chiết với chất chuẩn acarbose, chất ức chế α -amylase và α -glucosidase được bán trên thị trường là acarbose (còn có tên thương mại là glucobay) đã được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả ức chế α -amylase và α -glucosidase thông qua giá trị nồng độ

3.1.2 Khả năng ức chế α -glucosidase của các loại cao chiết ethanol cây lồng đèn

Bên cạnh việc ức chế hoạt động của α -amylase, cao chiết ethanol của rễ, thân và lá cây lồng đèn còn có khả năng ức chế hoạt động của α -glucosidase. Kết quả đánh giá hiệu quả ức chế α -glucosidase của các loại cao chiết được trình bày trong Bảng 4.

Cao chiết ethanol từ lá, thân, rễ cây lồng đèn có khả năng ức chế α -glucosidase từ nồng độ 1 mg/mL với phần trăm ức chế lần lượt là 18,08±0,76%, 31,03±1,48% và 25,26±4,12%. Hiệu quả ức chế α -glucosidase có tăng dần khi tăng nồng độ cao chiết. Đối với cao chiết lá, hiệu quả ức chế α -glucosidase đạt mức tối đa là 87,42±3,56% với nồng độ cao chiết là 7,0 mg/mL. Khi nồng độ cao chiết vượt quá 7,0 mg/mL thì hiệu quả ức chế enzyme có khuynh hướng không gia tăng nữa. Tương tự như hiệu quả ức chế enzyme của cao lá, cao chiết thân và cao chiết rễ của cây lồng đèn thể hiện khả năng ức chế α -glucosidase cao nhất ở nồng độ 6,0 mg/mL với hiệu quả ức chế lần lượt là 93,79±0,67% và 92,93±1,05%. Vượt quá nồng độ 6,0 mg/mL thì hiệu quả ức chế α -glucosidase của cao chiết thân và rễ cây lồng đèn tăng không đáng kể. Nồng độ 7,0 mg/mL là nồng độ tối hảo của cao chiết lá cây lồng đèn và nồng độ 6,0 mg/mL là nồng độ tối hảo của thân và rễ cây lồng đèn ức chế hoạt động của α -glucosidase.

mà tại đó 50% enzyme bị ức chế (IC₅₀). Kết quả Bảng 5 cho thấy cao chiết lá cây lồng đèn cho hiệu quả ức chế α -amylase tốt hơn cao thân và cao rễ với giá trị IC₅₀ là 0,751±0,02 mg/mL. Trong khi đó, giá trị IC₅₀ của cao thân và cao rễ ức chế hiệu quả α -amylase lần lượt là 6,624±0,035 mg/mL và

4,756±0,084 mg/mL. Kết quả này cho thấy cao chiết lá cây lồng đèn được sử dụng cho phân đoạn tiếp theo với các dung môi khác nhau để khảo sát chi tiết hơn ảnh hưởng của nó lên sự ức chế α -amylase. Về ức chế α -glucosidase, cao chiết thân và rễ cây lồng đèn đã cho hiệu quả tốt hơn cao chiết lá với giá trị IC₅₀ lần lượt là 3,932±0,124 mg/mL và 3,674±0,083 mg/mL. Thu hoạch và sử dụng thân cây thuận lợi hơn so với rễ, nên cao chiết thân đã được chọn để tiến hành phân đoạn tiếp theo với các dung môi khác nhau để khảo sát khả năng ức chế α -glucosidase.

Bảng 5: Giá trị IC₅₀ ức chế α -amylase, α -glucosidase của cao chiết lá, thân, rễ cây lồng đèn và acarbose

Nguồn mẫu	Giá trị IC ₅₀ (mg/mL) ức chế α -amylase	Giá trị IC ₅₀ (mg/mL) ức chế α -glucosidase
Cao lá	0,751±0,020 ^b	5,548±0,135 ^c
Cao thân	6,624±0,035 ^c	3,932±0,124 ^b
Cao rễ	4,756±0,084 ^c	3,674±0,083 ^b
Acarbose	0,028±0,000 ^a	0,014±0,000 ^a

* Các giá trị trong cùng cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% theo phép thử Duncan

Bảng 6: Giá trị IC₅₀ đối với α -amylase của cao phân đoạn từ lá và α -glucosidase của cao phân đoạn từ thân cây lồng đèn

Dung môi	IC ₅₀ (mg/mL) của cao phân đoạn lá ức chế α -amylase	IC ₅₀ (mg/mL) của cao phân đoạn thân ức chế α -glucosidase
n-Hexan	0,56±0,002 ^a	0,71±0,030 ^b
Ethyl acetate	8,33±0,202 ^b	0,45±0,005 ^a
Butanol	9,67±0,172 ^c	64,71±0,989 ^c

* Các giá trị trong cùng cột có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 1% theo phép thử Duncan

Các dung môi n-hexan, ethyl acetate và butanol đã được dùng cho việc phân đoạn cao chiết. Cao phân đoạn n-hexan ở lá tỏ ra có hiệu quả ức chế α -amylase cao hơn cao ethyl acetate và cao butanol với giá trị IC₅₀ thấp nhất (0,56±0,002 mg/mL). Cao phân đoạn ethyl acetate ở thân lại có hiệu quả ức chế α -glucosidase cao hơn so với các loại cao khác với giá trị IC₅₀ thấp nhất (0,45±0,005 mg/mL) (Bảng 6). Một nghiên cứu khác cho rằng cao methanol từ trái của cây lồng đèn có thể ức chế 97,23% và 96,53% đối với α -amylase và α -glucosidase ở nồng độ 100 μ g/mL (Poojari *et al.*, 2014). Điều này chỉ ra rằng tất cả các bộ phận cây lồng đèn đều có hoạt tính ức chế hai enzyme này. Như vậy, kết quả của nghiên cứu này đã cho thấy cao chiết n-hexan của lá cây lồng đèn đã cho hiệu quả khá tốt trong việc ức chế

α -amylase và cao chiết ethyl acetate của thân cây lồng đèn cũng cho thấy khả năng ức chế α -glucosidase rõ nét. Bên cạnh, nghiên cứu ở Malaysia cũng đã cho biết cao chiết ethanol xuyên tâm liên có khả năng ức chế 50% α -amylase và α -glucosidase ở nồng độ 17,2 mg/mL và 50,9 mg/mL tương ứng (Subramanian *et al.*, 2008). So sánh với các loài cây khác, có thể thấy cây lồng đèn là nguồn thực vật có hoạt tính ức chế α -amylase và α -glucosidase tốt và có nhiều tiềm năng ứng dụng làm cây dược liệu.

3.2 Định tính hợp chất trong cao chiết

Định tính một số hợp chất trong các loại cao chiết hiệu quả nhất là cao lá phân đoạn bằng n-hexan và cao thân phân đoạn bằng ethyl acetate được trình bày trong Bảng 7. Kết quả cho thấy flavonoid, steroid và terpenoid có trong lá và thân cây lồng đèn, trong lá còn có sự hiện diện của alkaloid.

Bảng 7: Kết quả định tính một số hợp chất trong cao n-hexan của lá và cao ethyl acetate của thân cây lồng đèn

Hợp chất	Cao chiết lá phân đoạn n-hexan	Cao chiết thân phân đoạn ethyl acetate
Flavonoid	+	+
Alkaloid	+	-
Steroid	+	+
Terpenoid	+	+
Tannin	-	-

+ : có sự hiện diện của hợp chất; - : không có sự hiện diện của hợp chất

Xu hướng nghiên cứu gần đây về dược liệu là tiến hành tìm kiếm hoạt chất trong các dịch trích thực vật để có thể phát triển các loại thuốc mới (Devi and Mallikarjuna, 2015). Cây lồng đèn đã được đề cập là có chứa anthocyanin, withanimin, steroid, vamonolide, physangulide, physagulide, witaminimine stiosterol và whitanguitanin (Shingu *et al.*, 1992; Ismail and Alam, 2001; Januário *et al.*, 2002; Soares *et al.*, 2003). Theo nghiên cứu phân tích dịch chung cất bằng nước cho thấy sản phẩm có diterpenes (31,7%), acid béo (22,8%), oxygenated sesquiterpenes (22,3%) và các hợp chất thơm (13,6%), monoterpene một lượng có thể phát hiện, phytol (31,7%), hexahydrofarnesyl acetone, 6,10,14-trimethy-2-pentadecanone (18,8%), nonadecane (8,6%), n-hexadecanoic acid (5,0%), heptadecane (3,8%), oleic acid (3,6%), 2-methylpentadecane (3,3%), farnesol acetate (2,8%) và 2-phenylundecane (2,3%) (Akintayo *et al.*, 2015). Kết quả thí nghiệm định tính cho thấy sự phân bố của các chất ức chế trong mỗi bộ phận của cây là không giống nhau. Dịch trích thô từ 3 bộ phận rễ, thân và lá cây lồng đèn đều có khả năng ức chế α -amylase, α -glucosidase và có hiệu quả thấp hơn

dịch chiết đã qua phân đoạn. Như vậy, nếu tiếp tục tinh sạch bằng những kỹ thuật tiên tiến hơn, hiệu quả ức chế enzyme có thể sẽ cao hơn. Cả hai mẫu cao phân đoạn không có sự hiện diện của tannin do lượng tannin trong cây thấp và quá trình ly trích phân đoạn sử dụng dung môi có độ phân cực thấp nên không hòa tan được hợp chất này. Trong mẫu có sự hiện diện của flavonoid có nhiều tác dụng như kháng virus và một số công dụng khác (Agrawal, 2011; Zeng *et al.*, 2015), (Karthic *et al.*, 2008). Một số nghiên cứu khác cũng cho thấy steroid có tác dụng ức chế α -glucosidase *in vitro*, làm hạ đường huyết trên mô hình chuột thí nghiệm (Lee *et al.*, 2005; Shahira and Salama, 2014). Bên cạnh, terpenoid được cho rằng cũng có hoạt tính ức chế α -glucosidase (Hou *et al.*, 2009).

4 KẾT LUẬN

– Cao chiết ethanol của rễ, thân và lá cây lồng đèn đều có khả năng ức chế hoạt động của α -amylase và α -glucosidase.

– Cao phân đoạn n-hexan của lá cho hiệu quả ức chế tốt α -amylase; cao phân đoạn ethyl acetate của thân ức chế tốt hoạt động α -glucosidase. - Cao phân đoạn n-hexan của lá và cao ethyl acetate của thân cây đều có hiện diện của flavonoid, steroid và terpenoid. Lá còn có sự hiện diện của alkaloid.

– Kết quả ức chế hoạt tính của α -amylase và α -glucosidase cho thấy cây lồng đèn là nguồn dược liệu tiềm năng có thể dùng để nghiên cứu phòng trị bệnh đái tháo đường.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn các thành viên của Phòng thí nghiệm Sinh hoá, Bộ môn Công nghệ Sinh học Phân tử, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học của Trường Đại học Cần Thơ đã tạo điều kiện và hỗ trợ để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abo, K.A. and Lawal, I.O., 2013. Antidiabetic activity of *Physalis angulata* extracts and fractions in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Advances in Scientific Research*. 4(3): 2-6.

Agrawal, A.D., 2011. Pharmacological activities of flavonoids: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*. 4(2): 1394-1398.

Akintayo, L. O., Atikueke, S. A., Nimota, A. T. and Isiaka, A., 2015. Ogunwande Chemical Constituents of the Leaf Essential Oil of *Physalis angulata* L. *Asian Journal of Applied Sciences*. 3(4): 652-655.

Chakrabarti, R.S., Bhavtaran, V., Vanchhawng, P. and Kavitha, L. T., 2014. Screening of nine

herbal plants for *in vitro* α -amylase inhibition. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 7: 84-89.

Devi, V.A. and Mallikarjuna, K., 2015. Screening and quantification of phytochemicals in leaf extracts of *Schrebera Swietenoides* and *Homalium Zeylanicum*. *International Journal of Pharma and Biological Sciences*. 6(4): 521-529

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương và ctv., 2006. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập II. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội. 1252 trang.

He, Q.P., Ma, L., Luo, J.Y., He, F. Y., Lou, L. G., and Hu, L. H., 2007. Cytotoxic withanolides from *Physalis angulata* L. *Chemical Biodiversity*. 4(3): 443-449.

Hou, W., Li, Y., Zhang, Q., et al., 2009. Triterpene acids isolated from *Lagerstroemia speciosa* leaves as α -glucosidase inhibitors. *Phytotherapy Research*. 23(5): 614-618.

Ismail, N. and Alam, M., 2001. A novel cytotoxic flavonoid glycoside from *Physalis angulata*. *Fitoterapia*. 72(6): 676-679.

Januário, A.H., Rodrigues, E., Pietro, R., Kashima, S., Sato, D.N. and Fran, S.C., 2002. Antimycobacterial physalins from *Physalis angulata* L. (Solanaceae). *Phytother Research*. 16(5): 445-448.

Karthic, K., Kirthiram, K.S., Sadasivam, S., Thayumanavan B., and Palvannan, T., 2008. Identification of amylase inhibitors from *Syzygium cumini* Linn seeds. *Indian Journal of Experimental Biology*. 46: 677-680.

Kim, J-S., Know, C-S. and Son, H. K., 2000. Inhibition of α -glucosidase and amylase by Luteolin, a Flavonoid. *Bioscience, Biotechnology, and biochemistry*. 64(11): 2458-2461.

Lee, H.K., Choi, Y.M., Noh, D.O. and Suh, H.J., 2005. Antioxidant Effect of Korean Traditional Lotus Liquor (Yunyupju). *International Journal of Food Science & Technology*. 40(7): 709-715.

Poojari, S., Raju, P. and Estari, M., 2014. Phytochemical analysis and *in vitro* antidiabetic activities of *physalis angulata* fruit extracts. *National Journal of Integrated Research in Medicine*. 5(2): 34-38.

Sawant, R.S. and Godghate, A.G., 2013. Qualitative phytochemical screening of Rhizomes of *Curcuma longa* Linn. *International Journal of Science, Environment and Technology*. 2(4): 634-641.

Soares, M., Bellintani, M., Ribeiro, I., Tomassini, T. and Ribeiro, R., 2003. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. *European Journal of Pharmacology*. 459: 107-112.

Shahira, M. and Salama, M.M., 2014. A new α -glucosidase inhibitor from *Achillea fragrantissima* (Forssk) Sch. Bip. growing in Egypt. *Natural Product Research*. 28(11): 812-818.

- Shingu, K., Yahara, S., Nohara, T., and Okabe, H., 1992. Three new withanolides, physagulins A, B, and D from *Physalis angulata* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 40(8): 2088-2091.
- Subramanian, R., Asmawi, M.Z., and Sadikun, A., 2008. In vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta Biochimica Polonica*. 55(2): 391-398.
- Yadav, M., Chatterji, S., Gupta, S.K. and Watal, G., 2014. Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(5): 539-542.
- Yang, X.W., Huang, M. Z., Jin, Y. S., Sun, L. N., Song, Y. and Chen, H. S., 2012. Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia*. 83(7): 1169-1175.
- Zeng, H.J., Ma, J., Yang, R., Jing, Y. and Qu, L.B., 2015. Molecular interactions of flavonoids to hyaluronidase: insights from spectroscopic and molecular modeling studies. *Journal of fluorescence*. 25(4): 941-959.