

Khảo sát hoạt tính sinh học cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* Thunb. Makino)

- **Tổng Tiểu Hoa**
- **Vũ Thị Bạch Phượng**
- **Dương Công Kiên**
- **Quách Ngô Diễm Phương**

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM
Email: tieuhoatong@gmail.com

(Bài nhận ngày 20 tháng 03 năm 2017, nhận đăng ngày 18 tháng 08 năm 2017)

TÓM TẮT

Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* Thunb. Makino) là thảo dược được dân gian sử dụng nhiều trong việc chữa trị các bệnh như đái tháo đường, lipid máu cao, hỗ trợ điều trị tim mạch, ung thư [1]... Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá một số hoạt tính sinh học của cây *Giảo cổ lam* như khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, ức chế enzyme α -glucosidase và enzyme lipase. Kết quả nghiên cứu cho thấy cao ethanol của *Giảo cổ lam* có hoạt tính cao hơn hẳn so với cao nước mà dân gian hiện sử dụng. Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng phương pháp đo đường kính vòng vô khuẩn, cho khả năng ức chế mạnh nhất trên chủng *Pseudomonas*.
Từ khóa: *Gynostemma pentaphyllum*, hoạt tính ức chế α -glucosidase, hoạt tính ức chế lipase, kháng oxy hóa, hoạt tính kháng khuẩn

MỞ ĐẦU

Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* Thunb. Makino) là cây thuốc dân gian của Trung Quốc và Nhật Bản, thuộc họ Bầu bí (Cucurbitaceae), là loài dây leo lâu năm, lá kép gồm 5 lá chét mọc xen kẽ. *Giảo cổ lam* có thể được nhân giống hữu tính bằng hạt và vô tính bằng cách giâm cành. Cây được tìm thấy nhiều ở Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc; ở Việt Nam, cây được tìm thấy ở Lào Cai (Sapa), Hà Giang, Cao Bằng, Lạng Sơn, Quảng Ninh (Móng Cái), Hoà Bình, Thừa Thiên - Huế, Kontum, Gia Lai [2]. Từ xưa, *Giảo cổ lam* được sử dụng để bồi bổ sức khỏe, chống lão hóa, trị đái tháo đường [3], và còn có tên

(đường kính vòng kháng khuẩn=6,67 mm); hoạt tính kháng oxy hóa của cao ethanol khi kiểm tra bằng phương pháp thử năng lực khử và phương pháp bắt gốc tự do DPPH cho kết quả IC_{50} = 0,317 mg/mL; hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase cũng cho thấy khả năng ức chế vượt trội của cao ethanol với IC_{50} = 0,184mg/mL, hoạt tính ức chế enzyme lipase của cao ethanol là IC_{50} = 2,968 mg/mL. Cao ethanol *Giảo cổ lam* có chứa các nhóm chất có hoạt tính như phenol, flavonoid, alkaloid và saponin. Kết quả nghiên cứu này đã chứng minh được tiềm năng có thể làm nguồn dược liệu có giá trị của cao chiết ethanol cây *Giảo cổ lam* trong việc điều trị một số bệnh phổ biến hiện nay.

là cây có thân kỳ hoặc nhân sâm cho người nghèo vì thành phần có hoạt tính chủ yếu trong cây là các saponin triterpen gọi là gypenoside.

Các hoạt tính sinh học chủ yếu của *Giảo cổ lam* được chứng minh trên thế giới bao gồm kháng oxy hóa, kháng khuẩn, giảm lượng đường huyết, giảm huyết khối, giảm mỡ máu, chống béo phì, kháng ung thư, chống tăng huyết áp, cải thiện hệ miễn dịch, duy trì sức khỏe tim mạch [3]... Thành phần hóa học chủ yếu của *Giảo cổ lam* được công bố ngoài gypenoside còn có các hợp chất tự nhiên như flavonoid, steroid, polysaccharide, phenol,...

[1]. Tuy nhiên, hiện nay ở Việt Nam chưa có công bố về đánh giá hoạt tính sinh học phổ biến của loài cây này cũng như hoạt tính của cao chiết ethanol so với cao nước. Vì thế nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá các hoạt tính sinh học nổi bật của cây Giáo cổ lam như hoạt tính kháng khuẩn, kháng oxy hóa, ức chế enzyme α -glucosidase, lipase đối với các cây được trồng tại Việt Nam nhằm chứng minh giá trị dược liệu của loài cây thuốc dân gian này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Cây Giáo cổ lam *Gynostemma pentaphyllum* thu hái từ Đà Lạt, Lâm Đồng.

Các chủng vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn gây bệnh như *Streptococcus* sp., *Salmonella typhi*, *Acetobacterium* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Công nghệ Sinh học Thực vật, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Điều chế cao chiết

Điều chế cao nước

Cao chiết nước được thực hiện theo phương pháp sắc thuốc truyền thống. Phơi khô, xay nhỏ toàn bộ cây, cân đúng 250 g bột cây, bổ sung 500 mL nước, gia nhiệt ở 40 °C trong 4 giờ, khuấy đều, lọc lấy phần nước, lặp lại nhiều lần, sau đó phần dịch nước được đông khô chân không thu được cao nước.

Điều chế cao ethanol

Phương pháp điều chế cao được thực hiện theo kỹ thuật chiết ngâm dầm (maceration) [4]. Toàn bộ cây Giáo cổ lam ngoài tự nhiên được rửa sạch bằng nước, phơi khô đến khối lượng không đổi, rồi xay nhuyễn thành bột khô. Ngâm bột cây trong ethanol tuyệt đối. Giữ yên ở nhiệt độ phòng trong 7 ngày. Sau đó, dung dịch được chiết lọc qua giấy

lọc, thu dịch lọc. Tiếp theo, rót dung môi mới vào bình bột mẫu và tiếp tục quá trình chiết thêm vài lần nữa cho đến khi chiết kiệt mẫu. Phần dịch lọc được cô quay chân không dưới dung môi ở 40°C để có được cao chiết.

Định tính một số nhóm chức có trong cao chiết

Cao chiết nước và ethanol của Giáo cổ lam được định tính bằng các phản ứng định tính hóa học đặc trưng [4]. Mẫu thử nghiệm được pha trong ethanol tuyệt đối hoặc nước cất (tùy loại cao) với nồng độ 1 mg/mL.

Định tính phenol bằng $FeCl_3$

Cho 1 mL dung dịch $FeCl_3$ 5 % vào 1 mL dung dịch chất cần thử. Phản ứng dương tính khi có màu xanh dương đen.

Định tính quinon, coumarin bằng thuốc thử Bortrager với KOH

Nhỏ 1 mL dung dịch 5 % KOH trong methanol vào 1 mL dung dịch chất cần thử. Các quinone, coumarin sẽ cho màu đỏ, tím hoặc xanh lục.

Định tính tanin

Cho 1 mL dung dịch chất cần thử vào dung dịch gồm 5 g NaCl và 0,5 g gelatin hòa tan trong 100 mL nước cất. Phản ứng dương tính khi xuất hiện trầm hiện màu vàng nhạt, để lâu hóa nâu.

Định tính alkaloid

Cho 1 mL hỗn hợp gồm 1 mL dung dịch thử nghiệm và 1 mL sulfuric acid 1 % vào ống nghiệm để tiến hành định tính alkaloid. Nhỏ 0,2 mL thuốc thử Wagner vào dung dịch acid loãng; mẫu có alkaloid sẽ xuất hiện tủa màu nâu. Hòa tan 1,27 g iod I_2 và 2 g KI trong 20 mL nước cất; hòa trộn 2 dung dịch, thêm nước cất cho đủ 100 mL.

Định tính flavonoid

Tác dụng với H_2SO_4 đậm đặc: nhỏ 0,5 mL H_2SO_4 đậm đặc vào thành ống nghiệm mang 1 mL dịch thử nghiệm; flavone và flavonol cho màu vàng đậm đến màu cam và có phát huỳnh quang;

chalcone, aurone cho màu đỏ đậm đến xanh dương-đỏ; flavanone cho màu cam đến đỏ.

Tác dụng với dung dịch 1 % NaOH/ethanol: nhỏ 0,5 mL NaOH 1% vào 1 mL dung dịch thử nghiệm, mẫu chứa flavone, isoflavone, isoflavanone, flavanol, chalcone, leucoanthocyanin sẽ có màu vàng; flavanol cho màu từ vàng đến cam; auron cho màu đỏ đến đỏ tím.

Tác dụng với dung dịch 1 % AlCl₃/ethanol: nhỏ 0,5 mL AlCl₃ 1% vào 1 mL dung dịch thử nghiệm; tùy theo khối lượng, vị trí các nhóm hydroxy -OH, hợp chất flavonoid có màu khác nhau từ xanh lục đến xanh đen.

Phản ứng Cyanidin của Wilstatter: pha hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL dung dịch thử nghiệm, 1 mL alcol isoamyl, 0,5 mL HCl đậm đặc, 5 hạt Mg kim loại; đun nhẹ trong 5 phút; mẫu chứa flavon, flavanone, flavanol, flavanovol, xanthone sẽ có màu cam, đỏ hoặc tím; mẫu chứa isoflavon, isoflavanone, auron không đổi màu. Nếu Zn thay thế cho Mg, mẫu có flavanovol cho màu đỏ sậm, flavanol và flavanone cho màu hồng nhạt hoặc không màu.

Định tính terpenoid- steroid

Phản ứng Rosenheim để phát hiện steroid – triterpenoid: pha hỗn hợp gồm 1 mL dung dịch mẫu thử, 0,2 mL trichloroacetic acid; phản ứng dương tính khi dung dịch đổi thành màu xanh dương, có saponin triterpen sau 20 phút.

Phản ứng Salkowski để phát hiện steroid: pha hỗn hợp gồm 1 mL dung dịch mẫu thử, 1 mL chloroform, 1 mL H₂SO₄ đậm đặc; phản ứng dương tính khi dung dịch đổi thành màu đỏ đậm, xanh, xanh tím.

Định tính saponin

Chuẩn bị 2 ống nghiệm; ống 1 gồm 5 mL HCl 0,1N (pH=1), 0,3 mL dung dịch mẫu thử; ống 2 gồm 5 mL NaOH 0,1N (pH=13), 0,3 mL dung dịch mẫu thử; bịt miệng ống nghiệm và lắc mạnh

trong 1 phút và để yên; quan sát bọt trong ống nghiệm: cột bọt trong cả 2 ống nghiệm cao bằng nhau và bọt có độ bền như nhau, mẫu có saponin triterpenoid; ống pH=13 có cột bọt cao hơn so với ống pH=1, mẫu có saponin steroid.

Định tính glycosid

Hoà tan 1-2 mg mẫu thử trong 1 mL H₂SO₄ đặc và 2-3 giọt resorcinol 5% trong ethanol 80%. Phản ứng dương tính khi xuất hiện một lớp màu đỏ trên bề mặt dung dịch.

Hoạt tính kháng khuẩn

Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết đã điều chế từ hai dung môi nước và ethanol bằng phương pháp đo đường kính vòng vô khuẩn [5]: nuôi cấy dịch huyền phù vi khuẩn thử nghiệm trong môi trường Luria - Bertani (LB) lỏng lắc ở 37 °C; điều chỉnh dịch huyền phù vi khuẩn đạt độ đục chuẩn BaSO₄ 0,5 McFarland (OD 625 nm); trải 100 µL dịch khuẩn đã chuẩn độ đục lên đĩa petri chứa môi trường thạch LB, tiến hành đục lỗ thạch với đường kính 7 mm; nạp 50 µL cao chiết hòa tan trong DMSO 100% vào lỗ thạch (nồng độ 10 mg/mL); ủ trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng, sau đó đo đường kính vòng kháng khuẩn, chứng âm DMSO 100%. Hoạt tính kháng khuẩn của hợp chất càng mạnh, đường kính vòng kháng khuẩn xung quanh lỗ thạch càng lớn. Lặp lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức.

Hoạt tính kháng oxy hóa

Khảo sát khả năng khử của cao chiết ethanol và nước của cây Giảo cổ lam bằng phương pháp thử năng lực khử của Yen và Duh (1993) [6]

Hút 1 mL dịch chiết chất thử nghiệm; 2,5 mL dung dịch đệm sodium phosphate 0,2 M pH 6,6; 2,5 mL dung dịch potassium ferricyanide 1%; ổn định ở 50 °C trong 20 phút; thêm 2,5 mL trichloroacetic acid 10%; ly tâm 6000 vòng/phút trong 10 phút; thu dịch nổi; hút 1 mL dịch nổi qua ống nghiệm khác; thêm 2 mL nước cất và 0,5 mL dung dịch FeCl₃ 1%; lắc đều rồi để yên sau 5 phút;

đo ở bước sóng 700 nm. Giá trị hấp thu càng cao thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Khảo sát khả năng đánh bắt gốc tự do bằng phương pháp DPPH [7]

Hoà tan cao vào dung môi với nồng độ 2–4 mg/mL, sau đó pha loãng với các nồng độ khác nhau. Hút 0,3 mL dung dịch cao ở mỗi nồng độ và 1,8 mL ethanol tuyệt đối vào ống nghiệm. Thêm 0,3 mL dung dịch DPPH 0,6 mM (hoà tan trong ethanol tuyệt đối), lắc đều, ủ trong tối, sau 30 phút, đo giá trị hấp thu ở bước sóng 517 nm. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Khả năng kháng oxy hóa càng cao thì sự hấp thu quang phổ ở bước sóng 517 nm càng thấp và ngược lại. Phần trăm ức chế được tính theo công thức:

$$I\% = (OD_{dc} - OD_{mẫu}) / OD_{dc} * 100$$

Với OD_{dc} , $OD_{mẫu}$ lần lượt là độ hấp thu của đối chứng và mẫu thử nghiệm.

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của cao chiết Giáo cổ lam được xác định theo phương pháp của Kwon, Apostolidis và Shetty (2008) [8]. Hoà tan cao trong đệm phosphate 0,2 M chứa 5 % DMSO (chúng dương acarbose 2 mg/L), pha loãng cao thành các nồng độ khác nhau. Nhập 50 μ L mẫu đã pha loãng vào đĩa 96 giếng, bổ sung 40 μ L enzyme α -glucosidase 0,2 u/ml, ủ ở nhiệt độ phòng trong 25 phút. Thêm 40 μ L cơ chất *p*-NPG 5mM, tiếp tục ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút, sau đó, bổ sung 130 μ L Na_2CO_3 để dừng phản ứng. Đo độ hấp thu (OD) ở bước sóng 405 nm. Lặp lại 3 lần ở mỗi nghiệm thức.

Phần trăm ức chế của cao chiết được tính theo công thức: $I\% = (OD_{dc} - OD_{mẫu}) / OD_{dc} * 100$

Với OD_{dc} , $OD_{mẫu}$ lần lượt là độ hấp thu của đối chứng và mẫu thử nghiệm.

Hoạt tính ức chế enzyme lipase [9]

Hoà tan cao với nồng độ 8 mg/mL trong đệm phosphate 0,05 M pH 7,2 chứa 0,1 % Tween 80 và 5% DMSO (chúng dương Orlistat 12 mg/mL). Pha loãng mẫu ở các nồng độ giảm dần, hút mỗi nồng độ 20 μ L cho vào đĩa 96 giếng đã có sẵn 140 μ L đệm và 20 μ L enzyme lipase 1 mg/mL, ủ ở nhiệt độ phòng trong 60 phút. Thêm 20 μ L cơ chất *p*-NPB 5 mM, lắc nhẹ, sau 5 phút đo độ hấp thu (OD) với bước sóng 405 nm. Mỗi nghiệm thức được thực hiện 3 lần.

Phần trăm ức chế của cao chiết được tính theo công thức: $I\% = (OD_{dc} - OD_{mẫu}) / OD_{dc} * 100$

Với OD_{dc} , $OD_{mẫu}$ lần lượt là độ hấp thu của đối chứng và mẫu thử nghiệm.

Phân tích và xử lý số liệu

Các phép toán thống kê được thực hiện bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và SPSS 22.0

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Định tính một số nhóm chức có trong cao chiết

Kết quả định tính cho thấy Giáo cổ lam có chứa nhiều nhóm hợp chất như phenol, alkaloid, flavonoid (flavonol, auron, isoflavol, flavanol, chalcone...), terpenoid, steroid, saponin (Bảng 1). Cao ethanol cây Giáo cổ lam có nhiều hợp chất hơn cao nước, đáng chú ý là các hợp chất flavonoid và saponin, cao ethanol có cả hai loại saponin triterpenoid và steroid trong khi cao nước chỉ chứa saponin steroid. Chính vì có sự hiện diện của nhiều nhóm hợp chất tự nhiên nên cây Giáo cổ lam có nhiều hoạt tính sinh học có giá trị dược liệu. Hơn nữa, theo Zhuohong Xie và cs. (2010) khi nghiên cứu thành phần hóa học của 5 loại Giáo cổ lam thương mại cho thấy trong thành phần Giáo cổ lam có chứa flavonoid cụ thể là rutin và quercetin với hàm lượng cao [10]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng chứng minh Giáo cổ lam có nhiều loại saponin khác nhau có cấu trúc và hoạt tính tương tự như saponin của *Panax ginseng* [11], cùng với kết quả nghiên cứu này có thể thấy, khi dùng Giáo cổ lam hòa tan trong ethanol (ngâm rượu trong dân gian) hiệu quả hơn so với việc sắc thuốc nước.

Bảng 1. Kết quả định tính một số nhóm chức có trong cao chiết cây Giảo cổ lam

Nhóm chức	Thuốc thử	Cao ethanol	Cao nước
Phenol	FeCl ₃	+ (xanh nhạt)	-
Quinon, coumarin	Bortrager với KOH/ methanol	-	-
Tannin	Gelatin mặn	-	-
Alkaloid	Wagner	+ (nâu đậm)	+ (nâu nhạt)
Flavonoid	H ₂ SO ₄	+ (cam)	-
	NaOH 1%	+ (đỏ)	+ (vàng cam)
	AlCl ₃ 1%	+ (xanh lục)	-
	Cyanidin	Bột Mg: + Bột Zn: +	Bột Mg: - Bột Zn: -
Terpenoid-steroid.	Chi acetate	+ (kết tủa)	-
	Rosenheim	-	-
	Salkowski	+ (đỏ)	-
Saponin	HCl (pH 1)	+	-
	NaOH (pH 13)	+	+
Glycosid	Resorcinol trong ethanol 80%	+ (đỏ nhạt)	+

Hoạt tính kháng khuẩn

Mỗi lỗ thạch chứa 0,5 mg cao chiết với nồng độ 10 mg/mL hoà tan trong DMSO 100% với chứng dương là kanamycine và chứng âm là DMSO 100%. Kết quả đo đường kính vòng kháng khuẩn được thể hiện trong Bảng 2. Kết quả cho thấy cao chiết Giảo cổ lam có khả năng ức chế sinh trưởng các chủng vi khuẩn gây bệnh nhưng không mạnh (đường kính vòng kháng khuẩn <10 mm). Trong đó, cao ethanol có khả năng ức chế sinh trưởng trên tất cả các chủng vi khuẩn dùng trong thử nghiệm và thể hiện mạnh nhất đối với chủng *Pseudomonas* (đường kính vòng vô khuẩn là 6,67

mm) và yếu nhất đối với chủng *Streptococcus* (đường kính vòng vô khuẩn 4,33 mm), tuy nhiên cao nước chỉ có khả năng ức chế sinh trưởng hai chủng là *Salmonella* và *Staphylococcus*. Nhìn chung, khả năng ức chế sinh trưởng của cao chiết ethanol Giảo cổ lam đối với các chủng Gram âm và Gram dương là tương đương nhau. Thêm vào đó, theo Danuree và cs. (2011) [12] khi khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các loại cao chiết ethanol và nước với các chủng *S. typhi*, *E. coli*, *S. aureus* cho thấy cao chiết ethanol và nước của Giảo cổ lam có thể ức chế sinh trưởng 3 chủng này với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là 15,62 mg/mL.

Bảng 2. Đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết Giảo cổ lam

Chủng vi khuẩn	Đường kính kháng khuẩn (mm)			
	Chứng âm (DMSO)	Kháng sinh Kanamycin	Cao ethanol	Cao nước
<i>Streptococcus</i> sp.	0	1,467 ^{a,b} ± 0,033	0,433 ^b ± 0,033	0
<i>Speudomonasaeruginosa</i>	0	1,583 ^a ± 0,041	0,667 ^a ± 0,088	0
<i>Staphillcoccus aureus</i>	0	1,50 ^{ab} ± 0,100	0,633 ^a ± 0,067	0,300 ± 0,153
<i>Acetobacterium</i> sp.	0	1,400 ^b ± 0,058	0,500 ^{ab} ± 0,000	0
<i>Sallmonella typhi</i>	0	1,467 ^{ab} ± 0,033	0,633 ^a ± 0,088	0,367 ± 0,033
<i>Escherichia coli</i>	0	1,433 ^{ab} ± 0,033	0,633 ^a ± 0,033	0
<i>Bacillus subtilis</i>	0	1,467 ^{ab} ± 0,033	0,533 ^{ab} ± 0,033	0

Các mẫu tự khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.

Hoạt tính kháng oxy hóa

Khảo sát khả năng khử của cao chiết ethanol và nước của cây Giảo cổ lam

Năng lực khử của cao chiết Giảo cổ lam được thể hiện trong Hình 1 và Bảng 3, 4. Năng lực khử của một chất là khả năng chất đó cho điện tử khi tham gia phản ứng oxy hóa khử, vì thế, năng lực khử cũng thể hiện khả năng kháng oxy hóa của chất đó. Lực khử được xác định dựa trên sự đổi màu của dung dịch cao chiết khi xảy ra phản ứng với FeCl₃ tạo phức chất ferric ferrocyanide có màu xanh, hấp thụ cực đại ở bước sóng 700 nm. Kết quả cho thấy, cao ethanol có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh hơn cao nước, năng lực khử cao hơn gấp 2 lần (0,810 so với 0,396) ở nồng độ 4 mg/mL.

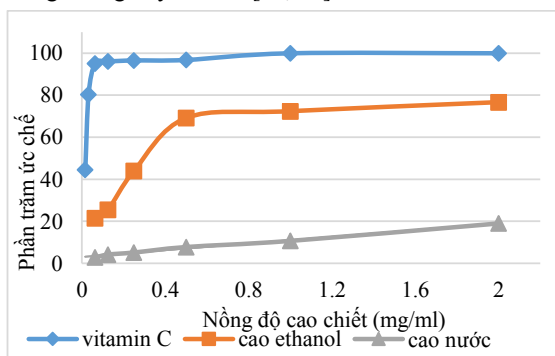
Bảng 3. Năng lực khử của cao chiết Giảo cổ lam

Cao chiết	Độ hấp thụ (OD _{700 nm})
Cao nước	0,396 ^d ± 0,018
Cao ethanol	0,810 ^c ± 0,012
Vitamin C trong nước	2,820 ^a ± 0,0879
Vitamin C trong ethanol	2,601 ^b ± 0,054

Các mẫu tự khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.

Khảo sát khả năng bắt gốc tự do

Chất có khả năng kháng oxy hóa sẽ nhường điện tử cho gốc tự do DPPH để tạo thành phân tử DPPH bền và mất đi màu tím đặc trưng ban đầu. Kết quả kháng oxy hóa bằng phương pháp đánh bắt gốc tự do DPPH của cao ethanol và nước cây Giảo cổ lam và IC₅₀ của từng loại cao được thể hiện trong Hình 1 và Bảng 5. Cao ethanol có khả năng bắt gốc tự do DPPH cao hơn cao nước rõ rệt, phần trăm ức chế của cao ethanol cao hơn cao nước gấp 4 lần. Hơn nữa, kết quả định tính trong nghiên cứu này cho thấy cao chiết ethanol có chứa thành phần flavonoid mà theo như W. Zhaojing (2007) và E. Kelly (2002) đã công bố là có khả năng kháng oxy hóa tốt [13, 14].



Hình 1. Khả năng bắt gốc tự do DPPH của cao chiết Giảo cổ lam với dung môi nước và ethanol

Bảng 4. Giá trị IC₅₀ của các hoạt tính sinh học của cao chiết Giảo cổ lam

Loại cao chiết	IC ₅₀ (mg/mL)		
	DPPH	Ức chế α-glucosidase	Ức chế lipase
Chứng dương	0,018 ^c ± 0,004	0,411 ^c ± 0,053	1,894 ^b ± 0,714
Cao ethanol	0,317 ^b ± 0,02	0,181 ^b ± 0,003	2,968 ^b ± 0,526
Cao nước	12,019 ^a ± 2,514	3,672 ^a ± 0,034	4,843 ^a ± 0,956

Các mẫu tự khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.

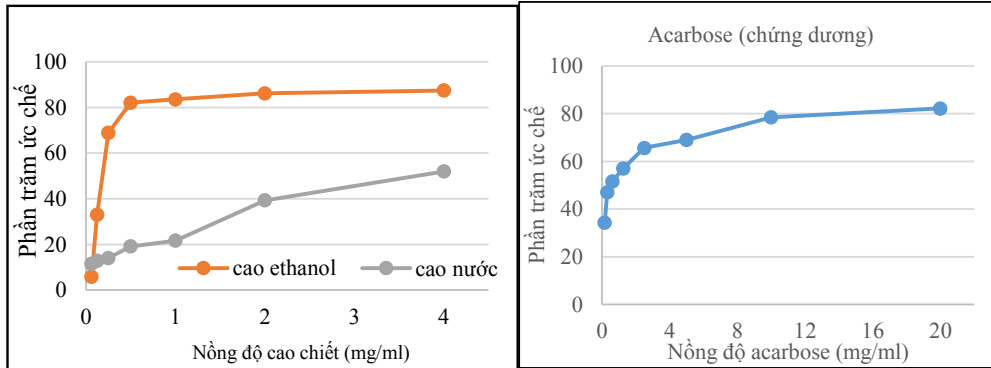
Hoạt tính ức chế α-glucosidase

Enzyme α-glucosidase thủy phân polysaccharide sau khi thủy giải thành các đường đơn, dễ hấp thu hơn, do đó để chữa bệnh đái tháo đường type 2 cần giảm lượng đường hấp thu vào

máu bằng cách ức chế enzyme này, kết quả được thể hiện trong Hình 2 và Bảng 4. Kết quả cho thấy, cao chiết ethanol có hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase cao hơn nhiều so với cao nước. Ở nồng độ 4 mg/mL, phần trăm ức chế của cao ethanol và nước lần lượt là 87,435 % và 54,251 %,

cao hơn so với phần trăm ức chế cao nhất của chứng dương ở 20 mg/mL (82,231 %). Tương tự, nồng độ ức chế 50 % (IC₅₀) của hai cao lần lượt là 0,181mg/mL và 3,672 mg/mL, cao hơn so với acarbose là 0,411 mg/mL. Có thể thấy rằng cao ethanol do có chứa nhiều thành phần các hợp chất tự nhiên có hoạt tính hơn nên có hoạt tính cao hơn,

ức chế enzyme α -glucosidase tốt hơn so với cao nước. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của nhóm Huyền và cs. (2012) Đại học Dược Hà Nội về khả năng hỗ trợ chữa bệnh đái tháo đường và cải thiện lượng đường huyết của Giảo cổ lam khi thí nghiệm lâm sàng [15, 16].

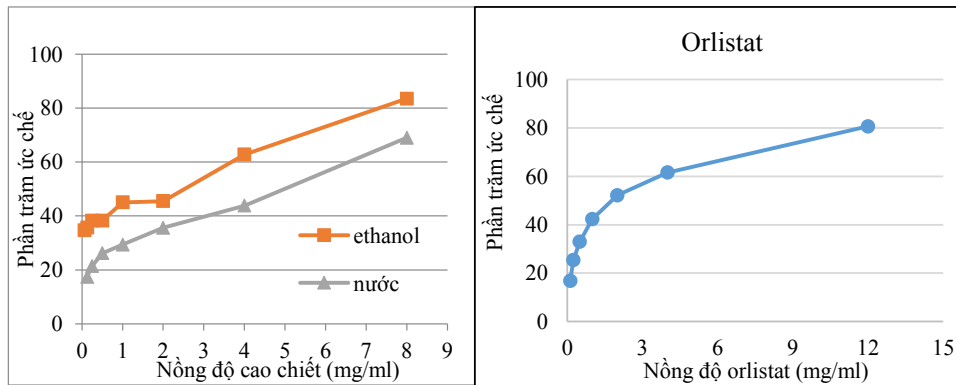


Hình 2. Phần trăm ức chế enzyme α -glucosidase của cao chiết Giảo cổ lam

Hoạt tính ức chế lipase

Lipase là enzyme đường ruột xúc tác thủy phân lipid thành acid béo tự do để cơ thể hấp thu [8], vì thế để chữa bệnh béo phì cần ức chế enzyme này. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme lipase của cao chiết Giảo cổ lam được thể hiện trong Bảng 2 và Hình 4. Kết quả cho thấy cao ethanol có hoạt tính ức chế enzyme lipase cao nhất là 73,876 % cao hơn cao nước có phần trăm ức chế

là 70,927 %. IC₅₀ tương ứng của hai cao là 2,968 mg/mL và 4,483 mg/mL. Kết quả trên cùng với kết quả định tính các thành nhóm chức cho thấy khả năng ức chế enzyme lipase của cao ethanol vượt trội hơn so với cao nước, liên quan đến sự hiện diện các hợp chất có hoạt tính sinh học cao như phenolic, flavonoid, saponin như công bố của Cristian R. (2006) chứng minh các hợp chất trên đều có khả năng ức chế enzyme lipase [17].



Hình 3. Phần trăm ức chế enzyme lipase của cao chiết Giảo cổ lam

KẾT LUẬN

Cao chiết cây Giảo cổ lam có các hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, kháng khuẩn, ức chế enzyme α -glucosidase, trong đó, cao ethanol có các hoạt tính cao hơn hẳn cao nước ở tất cả các hoạt tính trong nghiên cứu này như kháng oxy hóa, kháng khuẩn, ức chế enzyme α -glucosidase và lipase. Các thành phần hóa học được nhận diện trong cao ethanol đã khẳng định thêm về hoạt tính của cao chiết này. So với cao nước, cao ethanol

chứa nhiều thành phần flavonoid và saponin hơn, đây cũng chính là những hợp chất có hoạt tính sinh học chính trong cây. Hơn nữa, cao ethanol cũng cho thấy khả năng ức chế enzyme α -glucosidase vượt trội hơn các hoạt tính khác, điều này cho thấy tiềm năng ứng dụng của Giảo cổ lam đối với lĩnh vực hỗ trợ chữa trị đái tháo đường type 2 là rất lớn. Kết quả này góp phần chứng minh giá trị dược liệu của Giảo cổ lam bên cạnh những ứng dụng đã được dân gian sử dụng.

Biological activities of *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino

- **Tong Tieu Hoa**
- **Vu Thi Bach Phuong**
- **Duong Cong Kien**
- **Quach Ngo Diem Phuong**
University of Science, VNU-HCM

ABSTRACT

Gynostemma pentaphyllum Thunb. Makino is a common folk herb used in the treatment of diabetes, hyperlipidemia, cardiovascular, cancer... [1]. This research was conducted to evaluate some bioactivities of the plant such as antioxidant, antimicrobial activity, α -glucosidase and lipase inhibition. Results showed that the ethanol extract of *G. pentaphyllum* is more active than the folk medicine-aqueous extract. The antimicrobial activity by measuring the zone of inhibition, showed strongest inhibition to

Pseudomonas ($d = 6,670$ mm); the antioxidant activity of ethanol extract tested by DPPH method showed $IC_{50} = 0.317$ mg/mL; the ethanol extract also showed outstanding α -glucosidase inhibition activities with $IC_{50} = 0.181$ mg/mL and lipase inhibition activity with $IC_{50} = 2.968$ mg/mL. The ethanol extract of *G. pentaphyllum* contained active substance groups such as phenols, flavonoids, alkaloids and saponins. This research has proved the potential of *G. pentaphyllum* ethanol extract as a source of valuable medicine in the treatment of common diseases nowadays.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum*, α -glucosidase inhibition, lipase inhibition, antioxidation activity, anti microbial activity

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. R.Valentina, H.W.H. Tom,T.V. Hoan, Q.L.George, C.D. Colin, D.R.Basil, Chemistry and pharmacology of *Gynostemma pentaphyllum*, *Phytochemistry Reviews*, 4, 197–219 (2005).
- [2]. Võ Văn Chí, Từ điển cây thuốc Việt Nam tập 1, Nhà xuất bản Y Học, 609–610 (2012).
- [3]. D.Wan, D.Liu, C.Yang, Method for simultaneously preparing total saponin and polysaccharide from five leaf *Gynostemma* herb, *Compound or drug agents in the treatment of active technology Patent*(2011).

- [4]. Nguyễn Kim Phi Phụng, Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ, *Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP.HCM* (2007).
- [5]. Ủy ban bình thư tiếp vận, *Kỹ thuật thí nghiệm*. Viện thí nghiệm trung ương, Cục quân y. 437–758 (1973).
- [6]. G.C.Yen, P.D.Duh, Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls, *American Oil Chemists' Society*, 70, 4, 383–386 (1993).
- [7]. M.Kai, H.V.Klaus, L. Sebastian, H. Ralf, R. Andreas, H. Ulf-Peter, Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements, *Sensors*, 7, 2080–2095, (2007).
- [8]. Y.I.Kwon, E. Apostolidis, Y.C.Kim, K. Shetty, Health benefits of traditional corn, beans and pumpkin: In vitro studies for hyperglycemia and hypertension management. *J Med Food*; 10, 266 – 275 (2007).
- [9]. M.V.Ramachandra, B.Jayadev, P.K.A.Muniswaran, Hydrolysis of oils by using immobilized lipase enzyme: a review, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 7, 57–66 (2002).
- [10]. X.Zhuohong, L.Weil, H.Haiqiu, S.Margaret, Z.Yang, W.Monica, B.Jessica, L.Herman, Z.Huiping, C.Pei, T.Y.W.Thomas, W.X.Shaoke, Y.Liangli (Lucy), Chemical composition of five commercial *Gynostemma pentaphyllum* samples and their radical scavenging, antiproliferative, and anti-inflammatory properties, *J. Agric. Food Chem.*, 58, 11243–11249 (2010).
- [11]. S.Darunee, T.Rattana, K.Sumalee, Antimicrobial activity of *Gynostemma pentaphyllum* extracts against fungi producing aflatoxin and fumonisin and bacteria causing diarrheal disease, *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 42, 3, 704–710 (2011).
- [12]. W.Zhaojing, L.Dianhui, Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide purified from *Gynostemma pentaphyllum* Makino, *Carbohydrate Polymers*, 68, 54–58 (2007).
- [13]. E.H.Kelly, R.T.Anthony, J.B.Dennis, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572–584 (2002).
- [14]. V.T.T. Huyen, D.V. Phan, P. Thang, P.T. Ky, N.K. Hoa, C.G.Ostenson, Antidiabetic effects of add-on *Gynostemma pentaphyllum* extract therapy with sulfonylureas in type 2 diabetic patients, *Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012,1–7, (2012).
- [15]. V.T.T. Huyen, D.V. Phan, P. Thang, N.K. Hoa, C.G.Ostenson, *Gynostemma pentaphyllum* tea improves insulin sensitivity in type 2 diabetic patients, *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2, 013, 1–7 (2012).
- [16]. R.Cristian, F.Serena, X.Entela, V.Ly, N.Giovanni, P.Javier, D.Pilar, S.Luciano, Inhibition of *Candida rugose* lipase by saponins, flavonoids and alkaloids, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 40, 138–143 (2006).
- [17]. R.Cristian, F.Serena, X.Entela, V.Ly, N.Giovanni, P.Javier, D.Pilar, S.Luciano, Inhibition of *Candida rugose* lipase by saponins, flavonoids and alkaloids, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 40, 138–143 (2006).