

Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa, ức chế enzyme α -glucosidase và acetylcholinesterase của sáu loài thực vật thuộc họ Bông (Malvaceae)

Vũ Thị Bạch Phượng, Phạm Thị Ánh Hồng, Quách Ngô Diễm Phương

Tóm tắt—Họ Bông (Malvaceae) là một họ thực vật lớn, phong phú về loài nên thành phần hóa học của họ này cũng khá đa dạng, trong đó có nhiều loài cây có giá trị về dược liệu. Trong nghiên cứu này, các bộ phận rễ, thân, lá của sáu loài cây dược liệu thuộc họ Bông gồm: Ké hoa đào (*Urena lobata* L.), Bụp giấm (*Hibiscus Sabdariffa* L.), Dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), Cối xay (*Abutilon indicum* L.), Chối đực (*Sida acuta* Burm.f.), Ké hoa vàng (*Sida rhombifolia* L var. *parvifolia* Gagn.) được tiến hành khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa bằng phương pháp thử năng lực khử của Yen và Duh (1993) và bắt gốc tự do DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase, hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase và định tính sự hiện diện của một số nhóm chức có trong các loài trên. Kết quả cho thấy, khi so sánh các bộ phận, rễ cây họ Bông là bộ phận có hoạt tính sinh học tiềm năng nhất. Tuy nhiên, riêng đối với hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase, lá cây Chối đực là bộ phận có hoạt tính mạnh hơn các cây còn lại. Đối với hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase và kháng oxy hóa, rễ cây Ké hoa đào có hoạt tính mạnh hơn các cây được khảo sát, với giá trị IC_{50} của hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase là 4,79 μ g/mL và IC_{50} của hoạt tính bắt gốc tự do DPPH là 446 μ g/mL. Kết quả này đã góp phần chứng minh hoạt tính sinh học của các cây họ Bông nói chung và khả năng chữa trị bệnh tiểu đường tuýp 2 của cây Ké hoa đào nói riêng. Kết quả định tính nhóm chức cho thấy tất cả các bộ phận của

sáu loài cây họ Bông đều chứa các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học như phenol, flavonoid và saponin steroid.

Từ khóa—*Abutilon indicum* L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Sida acuta* Burm.f, *Sida rhombifolia* L var. *parvifolia* Gagn., *Urena lobata* L., hoạt tính ức chế acetylcholinesterase và α -glucosidase, kháng oxy hóa, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

1 MỞ ĐẦU

Trên thế giới, họ Bông (Malvaceae) là một họ lớn với khoảng hơn 200 chi và bao gồm hơn 2300 loài phân bố rộng rãi ở tất cả các vùng trên trái đất, trừ vùng cực lạnh nhưng phần lớn tập trung ở các xứ nhiệt đới. Họ Bông có nguồn gốc bản địa ở Châu Âu, Bắc Phi và phía Tây Nam Châu Á, sau đó chúng được du nhập vào Bắc Mỹ và cũng được trồng từ khu vực phía tây của Châu Âu cho đến Nga. Chúng thích hợp ở các nơi ẩm ướt gần biển, đất ngập mặn, đồng cỏ, bờ nương, những dải đất có thủy triều lên. Các cây họ Bông thường cao từ 1 – 2 m, lá, hoa và rễ được sử dụng để làm thuốc, hoa thường nở vào cuối mùa xuân và rễ thường phải ít nhất 2 năm mới thu hoạch được [1]. Họ Bông có sự phong phú về các loài nên thành phần hóa học của họ này cũng khá đa dạng. Đã có nhiều nghiên cứu cho thấy họ này có chứa các hợp chất thứ cấp quan trọng ở thực vật như: phenol, flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, coumarin... Họ Bông (Malvaceae) là họ thực vật có ý nghĩa lớn không những về mặt kinh tế như cây cho sợi thuộc các chi *Gossypium*, *Hibiscus*, *Malva*, cây làm thuốc gồm các loài thuộc các chi *Abutilon*, *Sida*, ... cây làm thức ăn như các loài

Ngày nhận bản thảo: 30-08-2017, Ngày chấp nhận đăng: 25-11-2017; Ngày đăng: 15-10-2018.

Tác giả Vũ Thị Bạch Phượng, Phạm Thị Ánh Hồng, Quách Ngô Diễm Phương - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM (e-mail: vtbp@hcmus.edu.vn)

thuộc chi *Abelmoschus* hay cây lấy dầu dùng trong công nghiệp thuộc chi *Malva*, hầu hết các chi của họ này đều có giá trị làm cây cảnh vì chúng có hoa rất đẹp như chi *Hibiscus*, *Lavatera*, *Sida*... [2].

Ở Việt Nam, họ Bông là một họ lớn với khoảng hơn 18 chi, đa dạng về loài và có mặt ở tất cả các vùng đồng bằng, trung du và miền núi [2]. Nhưng hiện nay việc nghiên cứu về hoạt tính sinh học của các cây thuộc họ này còn hạn chế. Trong khi trên thế giới, việc nghiên cứu về khả năng dược tính của các cây thuộc họ Bông này khá nhiều, nhất là hoạt tính hạ đường huyết (ức chế α -glucosidase) [3, 4], kháng oxy hóa (năng lực khử, DPPH) [5, 6], và ức chế enzyme acetylcholinesterase trong hỗ trợ trị bệnh Alzheimer [7, 8]. Nhận thấy được điều đó, nghiên cứu này đã tập trung vào sáu loài cây thuộc bốn chi phổ biến của họ Bông (*Malvaceae*) ở Việt Nam nhằm đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa, ức chế enzyme α -glucosidase và ức chế enzyme acetylcholinesterase. Sáu loài cây được khảo sát đều là các cây thuốc dân gian như: Ké hoa đào (*Urena lobata*) thuộc chi *Urena*; Cối xay (*Abutilon indicum*) thuộc chi *Abutilon*; Bụp giấm (*Hibiscus Sabdariffa*), Dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L) thuộc chi *Hibiscus*; Chối đực (*Sida acuta*) và Ké hoa vàng (*Sida rhombifolia* L var. *parvifolia* Gagn.) thuộc chi *Sida*. Mục đích của nghiên cứu là so sánh và khảo sát hoạt tính sinh học của các bộ phận rễ, thân, lá của sáu loài cây này nhằm góp phần chứng minh giá trị dược liệu của chúng mà dân gian hiện đang sử dụng trong các bài thuốc trị bệnh.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Ba bộ phận rễ, thân, lá của sáu loài cây thuộc họ Bông (*Malvaceae*) trưởng thành đã có hoa và quả: Ké hoa đào (*Urena lobata*), Bụp giấm (*Hibiscus Sabdariffa*), Dâm bụt (*Hibiscus rosa-sinensis* L), Cối xay (*Abutilon indicum*), Chối đực (*Sida acuta*), Ké hoa vàng (*Sida rhombifolia* L var. *parvifolia* Gagn.) được thu hái tại thành phố Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai. Riêng cây Bụp giấm có đài hoa là bộ phận được sử dụng phổ biến nên cũng được thu hái để khảo sát hoạt tính trong nghiên cứu này.

Phương pháp

Điều chế cao ethanol

Phương pháp điều chế cao được thực hiện theo kỹ thuật chiết ngâm dầm (maceration) [9]. Rễ, thân, lá của sáu loài cây họ Bông thu hái ngoài tự nhiên 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.

Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Nghiên cứu này sử dụng phương pháp thử năng lực khử của Yen và Duh (1993) [10, 11] và phương pháp bắt gốc tự do sử dụng DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) [12] để khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết:

❖ Phương pháp thử năng lực khử của Yen và Duh (1993)

Hút 1 mL chất thử nghiệm, vitamin C (chứng dương), ethanol (chứng âm) vào từng ống nghiệm, thêm 2,5 mL dung dịch đệm sodium phosphate 0,2 M, pH = 6,6 rồi lắc đều, tiếp tục thêm 2,5 mL dung dịch potassium ferricyanide 1%. Hỗn hợp phản ứng được ổn định ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 20 phút. Sau đó, thêm vào hỗn hợp phản ứng 2,5 mL trichloroacetic acid 10%, lắc đều, ly tâm 6000 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ kết tủa, thu lấy dịch nổi. Lấy 1 mL dịch nổi, thêm 2 mL nước cất và 0,5 mL dung dịch FeCl₃ 1%, lắc đều, để yên trong 5 phút. Sau cùng, đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 700 nm. Độ hấp thụ quang của dung dịch ở bước sóng 700 nm càng cao thể hiện năng lực khử của dung dịch thử nghiệm càng cao.

❖ Phương pháp bắt gốc tự do DPPH:

DPPH pha trong ethanol với nồng độ 0,6 mM được cho phản ứng với cao chiết pha ở các nồng độ khác nhau, hỗn hợp phản ứng gồm: 0,5 mL mẫu thử, 3 mL ethanol; 0,5 mL DPPH, lắc hỗn hợp trong 15 giây. Để trong tối ở nhiệt độ phòng 30 phút, đo mật độ quang ở bước sóng 517 nm. Nồng

độ IC₅₀ càng thấp chứng tỏ hoạt tính kháng oxy càng cao.

$$\text{Chỉ tiêu theo dõi: \% hoạt tính kháng oxy hóa} \\ = \frac{\text{OD mẫu đối chứng} - \text{OD mẫu thử}}{\text{OD mẫu đối chứng}} \times 100$$

Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase [13]

Cho 50 μ L dung dịch cao chiết vào 40 μ l dung dịch enzyme α -glucosidase (0,2 U/ml) ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút, bổ sung 40 μ l cơ chất *p*-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (pNPG) (5 mM), ở nhiệt độ phòng 20 phút. Cuối cùng, 130 μ L dung dịch Na₂CO₃ 0,2M được cho vào sẽ bắt màu sản phẩm tạo ra là *p*-nitrophenol và dừng phản ứng. Dựa trên mật độ quang tại 405 nm (OD₄₀₅), hoạt tính ức chế của mẫu thử được xác định và tính nồng độ ức chế 50% hoạt tính enzyme (IC₅₀). Chứng dương là viên thuốc glucobay (acarbose 50mg) của công ty Bayer South East Asia Pte., Ltd. Mẫu blank là mẫu không chứa enzyme và mẫu chứng âm là mẫu không chứa cao chiết.

$$\text{Chỉ tiêu theo dõi: \% ức chế } \alpha\text{-glucosidase} \\ = \frac{\text{OD mẫu đối chứng} - \text{OD mẫu thử}}{\text{OD mẫu đối chứng}} \times 100$$

Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase theo phương pháp của Ellman [14]

Hỗn hợp phản ứng gồm 25 μ L dung dịch cao chiết, 25 μ L dung dịch acetylthiocholine iod (15 mM), 125 μ L 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) (3 mM), 125 μ L đệm 50 mM Tris HCl pH = 8, 0,1% bovine serum albumin (BSA), 25 μ L enzyme acetylcholinesterase. Sau đó, cho enzyme vào, ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, đo mẫu ở bước sóng 405 nm. Dựa trên mật độ quang tại 405 nm (OD₄₀₅), hoạt tính ức chế của mẫu thử được xác định và tính nồng độ ức chế 50% hoạt tính enzyme (IC₅₀). Galantamin được sử dụng làm chứng dương. Mẫu blank là mẫu không chứa enzyme và mẫu chứng âm là mẫu không chứa cao chiết.

$$\text{Chỉ tiêu theo dõi: \% ức chế acetylcholinesterase} = \\ \frac{\text{OD mẫu đối chứng} - \text{OD mẫu thử}}{\text{OD mẫu đối chứng}} \times 100$$

Định tính sự hiện diện của một số nhóm chức bằng các phản ứng định tính hóa học đặc trưng [9]

Mẫu thử nghiệm được pha trong ethanol tuyệt đối với nồng độ 1 mg/mL.

Định tính phenol bằng FeCl₃: cho 1 mL dung dịch FeCl₃ 5% vào 1 mL dung dịch chất cần thử. Phản ứng dương tính khi có màu xanh dương đen.

Định tính quinone, 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 hỗn hợp gồm NaCl (5 g), gelatin (0,5 g) hòa tan trong 100 mL nước cất. Phản ứng dương tính có tanin khi xuất hiện trầm hiện màu vàng nhạt, để lâu hóa nâu.

Định tính alkaloid: cho hỗn hợp gồm 1 mL dung dịch thử nghiệm và 1 mL sulfuric acid 1% vào ống nghiệm để tiến hành định tính alkaloid bằng thuốc thử Wagner: hòa tan 1,27 g I₂ và 2 g KI trong 20 mL nước cất; hòa trộn hai dung dịch, thêm nước cất cho đủ 100 mL; nhỏ 0,2 mL thuốc thử vào dung dịch acid loãng; mẫu có alkaloid sẽ xuất hiện tủa màu nâu.

Định tính flavonoid

Tác dụng với H₂SO₄ đậm đặc: nhỏ 0,5 mL H₂SO₄ đậm đặc vào thành ống nghiệm mang 1 mL dịch thử nghiệm; flavon và flavonol cho màu vàng đậm đến màu cam và có phát huỳnh quang; chalcon, aurone cho màu đỏ đậm đến xanh dương-đỏ; flavanon 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 là flavone, isoflavone, isoflavanone, flavanol, chalcone, leucoanthocyanin sẽ có màu vàng; flavonol cho màu từ vàng đến cam; aurone 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.

Định tính saponin: chuẩn bị 2 ống nghiệm; ống 1 gồm 5 ml HCl 0,1 N (pH = 1), 0,3 mL dung dịch mẫu thử; ống 2 gồm 5 mL NaOH 0,1 N (pH = 13), 0,3 mL dung dịch mẫu thử; bọt miệng ống nghiệm

và lắc mạnh trong 1 phút và để yên; quan sát cột bong bóng trong cả hai 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.

Phân tích và xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần. Kết quả được xử lý thống kê bằng chương trình SPSS 16.0 (Copyright SPSS Inc.) với độ tin cậy là 95%.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phần trăm khối lượng khô và khối lượng cao thu được từ các bộ phận thuộc sáu loài cây họ Bông

Phần trăm khối lượng khô và khối lượng cao từ bột cây khô được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Phần trăm khối lượng khô và khối lượng cao từ các bộ phận khác nhau thuộc sáu loài cây họ Bông.

Loài cây		Khối lượng tươi (g)	Khối lượng khô (g)	Phần trăm khối lượng khô (%)	Khối lượng cao (g)
Ké hoa đào	Rễ	2900	960	33,103	78,270
	Thân	570	320	56,140	23,507
	Lá	340	75	22,059	3,239
Cói xay	Rễ	1896	590	31,118	14,350
	Thân	830	320	38,554	6,470
	Lá	774	180	23,256	6,910
Bụp giấm	Hoa	210	30	14,286	2,650
	Rễ	3150	950	30,159	38,114
	Thân	670	370	55,224	13,890
	Lá	410	85	20,732	4,560
Dâm bụt	Rễ	450	260	57,778	13,540
	Thân	1750	1500	85,714	36,793
	Lá	1300	275	21,154	23,189
Chối đực	Rễ	210	90	42,857	1,980
	Thân	350	200	57,143	3,280
	Lá	430	95	22,093	4,890
Ké hoa vàng	Rễ	3100	1400	45,161	46,145
	Thân	310	200	64,516	2,325
	Lá	230	55	23,913	1,278

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy sáu loài cây họ Bông có phần trăm khối lượng khô ở thân là cao nhất, tiếp theo là rễ và cuối cùng là lá. Tuy nhiên, ở tất cả các cây, hiệu suất thu cao ở rễ lớn hơn ở thân, còn đối với lá thì tùy từng cây mà có hiệu suất thu cao khác nhau. Điều này cho thấy ở rễ của các cây họ Bông đang nghiên cứu có chứa nhiều hợp chất tan trong dung môi ethanol hơn ở thân.

Hoạt tính kháng oxy hóa của các bộ phận thuộc sáu loài cây họ Bông

Các cao ethanol được điều chế từ các bộ phận rễ, thân, lá của sáu loài cây thuộc họ Bông được tiến hành khảo sát năng lực khử bằng phương pháp Yen và Duh (1993), kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thử năng lực khử của các loại cao ethanol theo phương pháp Yen và Duh (1993)

Cao chiết ethanol		Giá trị OD (700 nm) ± SE
Ethanol (chứng âm)		0,045 ^m ± 0,03
Vitamin C (0,4 mg/mL)(chứng dương)		2,386 ^a ± 0,063
Ké hoa đào (2mg/mL)	Rễ	0,742 ^b ± 0,025
	Thân	0,242 ^l ± 0,013
	Lá	0,245 ^{fg} ± 0,011
Cối xay (2 mg/mL)	Rễ	0,657 ^{cd} ± 0,006
	Thân	0,623 ^d ± 0,009
	Lá	0,232 ^l ± 0,012
Búp giấm (2 mg/mL)	Rễ	0,693 ^{bc} ± 0,017
	Thân	0,490 ^{ef} ± 0,023
	Lá	0,703 ^{bc} ± 0,031
Dâm bụt (2 mg/mL)	Đài hoa	0,453 ^{gh} ± 0,008
	Rễ	0,367 ^{ij} ± 0,014
	Thân	0,283 ^{kl} ± 0,003
Chổi đực (2 mg/mL)	Lá	0,243 ^l ± 0,006
	Rễ	0,402 ^{hi} ± 0,004
	Thân	0,423 ^{ghi} ± 0,011
Ké hoa vàng (2mg/mL)	Lá	0,421 ^{ghi} ± 0,005
	Rễ	0,318 ^{jk} ± 0,004
	Thân	0,273 ^{kl} ± 0,022
	Lá	0,532 ^e ± 0,011

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

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, rễ Ké hoa đào có năng lực khử cao nhất so với các mẫu còn lại. Trong sáu loài cây thuộc họ Bông, chỉ trừ cây Ké hoa vàng có năng lực khử ở lá cao hơn ở rễ và thân, các cây còn lại đều có rễ là bộ phận có năng lực khử cao hơn hoặc bằng các bộ phận khác. Hiện tại, các nghiên cứu công bố về hoạt tính kháng oxy hóa ở rễ của sáu loài cây họ Bông này còn hạn chế, trong khi hoạt tính kháng oxy hóa ở lá và phần phía trên mặt đất của cây được nghiên cứu nhiều hơn, có lẽ là do các bộ phận này dễ thu hoạch hơn rễ mà khi thu hoạch lại ít ảnh hưởng đến sức sống của cây. Tương tự với kết quả trên, nghiên cứu của Yasmin (2010) cũng cho thấy khả năng kháng oxy hóa của cao chiết butanol rễ cây Cối xay cao hơn so với các phần trên mặt đất của cây [15]. Đồng thời, kết quả trên cũng cho thấy các cây Ké hoa đào, Búp giấm và Cối xay có năng lực khử cao hơn Dâm bụt, Chổi đực và Ké hoa vàng.

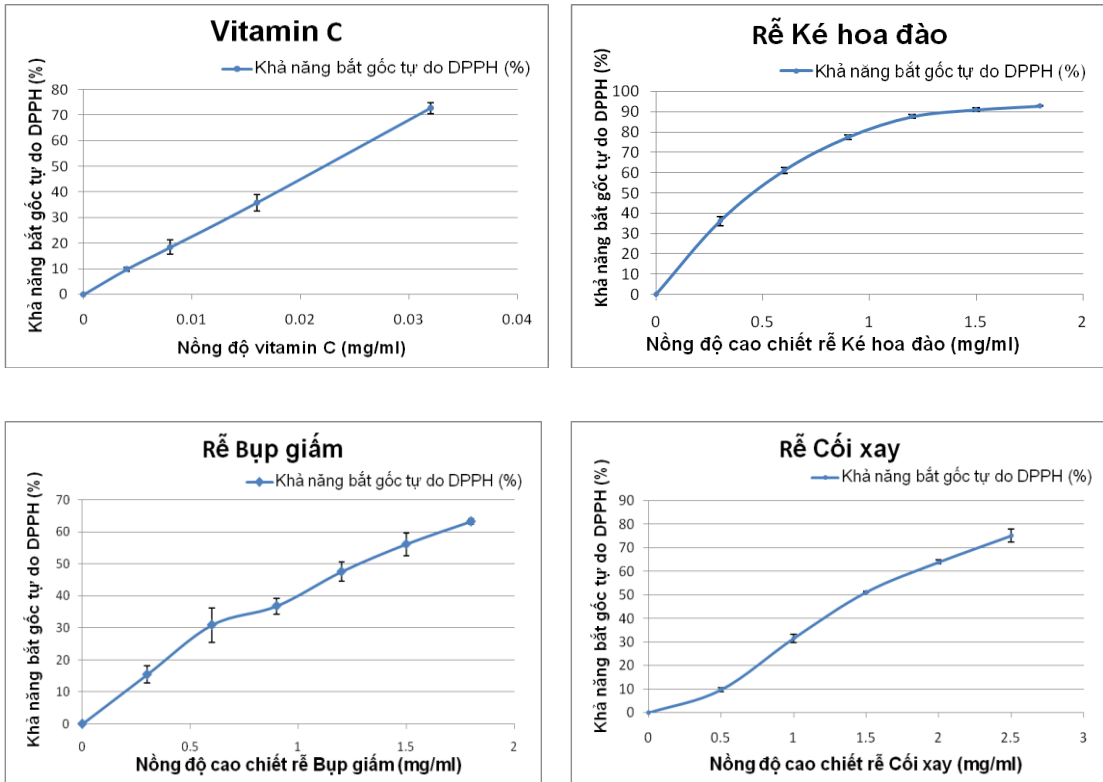
Để đánh giá khả năng bắt gốc tự do của các cao chiết có năng lực khử cao như rễ Ké hoa đào, rễ Búp giấm, rễ Cối xay, nghiên cứu đã sử dụng phương pháp DPPH để xác định giá trị IC₅₀ với chứng dương là vitamin C, kết quả được thể hiện ở hình 1 và bảng 3.

Kết quả khảo sát khả năng bắt gốc tự do DPPH ở Bảng 3 cho thấy rễ Ké hoa đào vẫn là bộ phận có hoạt tính cao nhất so với rễ Búp giấm và rễ Cối

xay. Qua hai phương pháp thử năng lực khử và bắt gốc tự do DPPH đã chứng minh rễ cây Ké hoa đào là bộ phận có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh nhất so với các cây được khảo sát, với giá trị IC₅₀ là 446 µg/mL. Nghiên cứu của Lissy (2006) cũng cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa trong dịch chiết methanol rễ Ké hoa đào đối với các phương pháp bắt gốc tự do superoxid, hydroxyl và lipid eroxidase có IC₅₀ tương ứng là 470,60 µg/mL, 1627,35 µg /mL và 1109,24 µg /mL [16]. Do vậy, các kết quả nghiên cứu này đã góp phần xác định thêm giá trị của các cây họ Bông trong hoạt tính kháng oxy hóa, đặc biệt là rễ của cây Ké hoa đào.

Hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase của các bộ phận thuộc sáu loài cây họ Bông

Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase của cao chiết ethanol các bộ phận rễ, thân, lá thuộc sáu loài cây họ Bông với nồng độ các cao chiết là 2 mg/mL, chứng dương acarbose là viên thuốc glucobay có nồng độ là 20 mg/mL được thể hiện ở bảng 4.



Hình 1: Đường tương quan giữa khả năng bắt gốc tự do DPPH và nồng độ vitamin C, cao chiết rễ Ké hoa đào, rễ Bụt giấm, rễ Cối xay.

Bảng 3. Giá trị IC₅₀ của các cao chiết ethanol khi khảo sát khả năng bắt gốc tự do DPPH

Mẫu cao chiết ethanol	IC ₅₀ (mg/mL)
Vitamin C (chứng dương)	0,022d ± 0,001
Rễ Ké hoa đào	0,446c ± 0,036
Rễ Bụt giấm	1,211b ± 0,041
Rễ Cối xay	1,469a ± 0,010

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

Bảng 4. Kết quả khảo sát khả năng ức chế enzyme α-glucosidase của các bộ phận thuộc sáu loài cây họ Bông

Mẫu cao chiết ethanol	% ức chế ± SE	
Chứng dương (acarbose, 20 mg/mL)	83,990 ^e ± 0,989	
Ké hoa đào (2 mg/mL)	Rễ 100,000^a ± 0,000	
	Thân	91,076 ^d ± 0,366
	Lá	27,690 ⁱ ± 0,685
Cối xay (2 mg/mL)	Rễ 93,137^c ± 0,499	
	Thân	68,847 ^f ± 0,342
	Lá	0,000 ^l ± 0,000
Bụt giấm (2 mg/mL)	Rễ 95,162^b ± 0,598	
	Thân	35,742 ^j ± 0,492
	Lá	28,689 ^j ± 0,545
Dâm bột	Rễ 85,237^e ± 0,502	

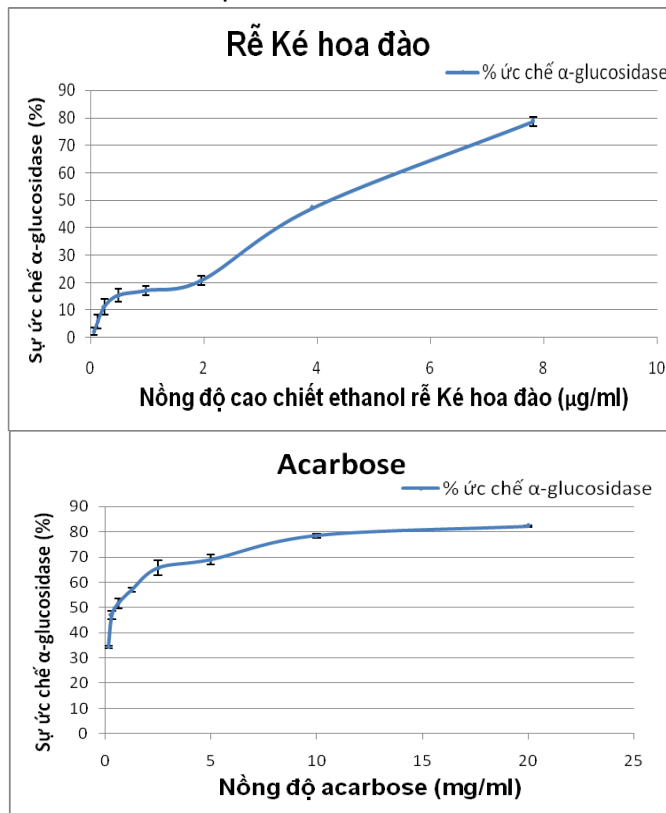
(2 mg/mL)	Thân	43,367 ^h ± 0,215
	Lá	0,000 ⁱ ± 0,000
Chối đực (2 mg/mL)	Rễ	90,670^d ± 0,358
	Thân	47,640 ^g ± 0,221
Ké hoa vàng (2 mg/mL)	Lá	0,000 ⁱ ± 0,000
	Rễ	68,047^f ± 0,573
	Thân	22,801 ^k ± 0,544
	Lá	23,683 ^k ± 0,228

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

Một trong những biện pháp điều trị bệnh tiểu đường loại 2 là ức chế quá trình phân hủy thức ăn thành đường để giảm thiểu sự tăng cao đường huyết thông qua việc ức chế enzyme α -glucosidase trong ruột. Do đó, một hợp chất có khả năng ức chế enzyme α -glucosidase càng cao, hợp chất đó càng có tiềm năng trong hỗ trợ trị bệnh tiểu đường.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, cũng giống như hoạt tính kháng oxy hóa, rễ Ké hoa đào có hoạt tính ức

chế enzyme α -glucosidase cao nhất (100 %), cao hơn cả chứng dương là acarbose (83,990 %) và các bộ phận của các cây còn lại. Từ kết quả khả quan này, chúng tôi tiếp tục xác định nồng độ ức chế 50 % (IC₅₀) α -glucosidase đối với cao chiết rễ cây Ké hoa đào, chứng dương là acarbose, kết quả được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Đường tương quan giữa % ức chế α -glucosidase và nồng độ hoạt chất, IC₅₀ của cao chiết ethanol rễ cây Ké hoa đào

Nội suy từ đường tương quan giữa % ức chế α -glucosidase và nồng độ hoạt chất, IC₅₀ của cao chiết ethanol rễ cây Ké hoa đào và acarbose (hình 2) đã được xác định. Giá trị IC₅₀ của cao ethanol rễ Ké hoa đào là 4,79 μ g/mL và giá trị IC₅₀ của acarbose là 441,73 μ g/mL. Kết quả cho thấy rễ cây

Ké hoa đào có hoạt tính ức chế α -glucosidase cao hơn cả viên thuốc glucobay (acarbose 50 mg) được bán trên thị trường để chữa bệnh tiểu đường. Kết quả này cũng trùng với nghiên cứu của Onoagbe và cộng sự năm 2010 khi tiến hành thử nghiệm khả năng trị tiểu đường trên chuột của cây Ké hoa đào

và cho thấy cao chiết nước từ rễ có hiệu quả nhiều hơn so với lá trong việc làm giảm nồng độ glucose trong máu ở những con chuột bị tiểu đường [17]. Nếu xét trong mỗi cây thuộc họ Bông, rễ vẫn là bộ phận có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase cao hơn thân và lá. Trong sáu loài cây họ Bông được nghiên cứu thì rễ Ké hoa đào có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase cao nhất tiếp đến là rễ Bụp giấm, rễ Cối xay, rễ Chổi đực, rễ Dâm bụt và thấp nhất là rễ Ké hoa vàng. Tóm lại, kết quả của thí nghiệm này đã góp phần chứng minh được giá trị tiềm năng của rễ sáu loài cây dược liệu thuộc họ Bông trong việc làm nguồn nguyên liệu hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường tuýp 2 và đáng lưu ý nhất là hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase rất cao của rễ cây Ké hoa đào.

Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase của các bộ phận thuộc sáu loài cây họ Bông

Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase của cao chiết ethanol các bộ phận rễ, thân, lá thuộc sáu loài cây họ Bông với nồng độ các cao chiết là 2 mg/mL, chúng đương galantamine có nồng độ 0,02 mg/mL được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase của các bộ phận thuộc sáu loài cây họ Bông

Mẫu cao chiết ethanol	% ức chế \pm SE	
Chứng dương (Galathamine, 0,02 mg/mL)	48,796 ^c \pm 0,369	
Ké hoa đào (2 mg/mL)	Rễ	23,183 ^e \pm 0,479
	Thân	14,438 ^f \pm 0,275
	Lá	14,328 ^f \pm 0,281
Cối xay (2 mg/mL)	Rễ	23,820 ^e \pm 0,547
	Thân	10,296 ^k \pm 0,362
	Lá	19,223 ^g \pm 0,241
Bụp giấm (2 mg/mL)	Rễ	19,120 ^g \pm 0,149
	Thân	25,7533 ^d \pm 0,427
	Lá	21,842 ^f \pm 0,382
	Đài hoa	81,752^b \pm 0,876
Dâm bụt (2 mg/mL)	Rễ	12,780 ^j \pm 0,567
	Thân	12,542 ^j \pm 0,571
	Lá	9,204 ^k \pm 0,481
Chổi đực (2 mg/mL)	Rễ	18,211 ^g \pm 0,319
	Thân	81,274^b \pm 0,183
	Lá	89,015^a \pm 0,075
Ké hoa vàng (2 mg/mL)	Rễ	15,937 ^h \pm 0,523
	Thân	14,921 ^{hi} \pm 0,512
	Lá	18,360 ^g \pm 0,379

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

Hướng điều trị bệnh Alzheimer có hiệu quả hiện nay là nhóm thuốc ức chế enzyme acetylcholinesterase để ngăn chặn phân hủy acetylcholine (một chất dẫn truyền thần kinh). Do đó, một hợp chất có khả năng ức chế enzyme acetylcholinesterase càng cao, hợp chất đó càng có tiềm năng trị bệnh Alzheimer.

Theo kết quả ở bảng 5 cho thấy các mẫu cao chiết có hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase nổi trội hơn các mẫu còn lại là: lá cây Chổi đực, thân Chổi đực và đài hoa Bụp giấm. Theo Ingkaninan, đa số các loài thực vật có khả năng ức chế acetylcholinesterase cao đều có chứa nhiều alkaloid [18]. Điều này đã giải thích cho khả năng ức chế acetylcholinesterase của cây Chổi đực cao hơn so với các cây còn lại là do đã có nhiều nghiên cứu chứng minh sự hiện diện của các hợp chất alkaloid (vasicine, ephedrine và cryptolepine) trong cây Chổi đực [19], trong khi các cây họ Bông còn lại có thành phần các hợp chất alkaloid ít hoặc không được tìm thấy. Hiện tại, chưa thấy nghiên cứu nào được công bố về khả năng ức chế acetylcholinesterase từ cây Chổi đực. Tuy nhiên, khi so sánh khả năng ức chế acetylcholinesterase của các cây họ Bông này với các loài thực vật khác như *Sonneratia ovate* (IC₅₀ = 96,1 μ M) [20], *Stephania suberosa* (0,1 mg/mL cao chiết ức chế 91,93 %), *Tabernaemontana divaricata* (0,1 mg/mL cao chiết ức chế 93,5 %) [18] thì các cây họ Bông này ở mức độ ức chế acetylcholinesterase trung bình. Do đó, nếu có thể tiến hành thêm các nghiên cứu sâu hơn, việc tăng hoạt tính ức chế acetylcholinesterase của cây Chổi đực bằng chiến lược tăng hàm lượng alkaloid là hướng nghiên cứu hoàn toàn mang tính khả thi và tiềm năng.

Định tính sự hiện diện của một số nhóm hợp chất có trong sáu loài cây thuộc họ Bông

Kết quả định tính sự hiện diện của một số nhóm chức có trong các bộ phận khác nhau của sáu loài cây họ Bông bằng các phản ứng định tính hóa học đặc trưng được thể hiện ở Bảng 6. Kết quả ở Bảng 6 cho thấy tất cả các bộ phận khác nhau của sáu loài cây họ Bông đều chứa các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học như phenol, flavonoid và saponin steroid. Các nhóm hợp chất còn lại như alkaloid, tannin, quinone, coumarin tùy thuộc vào từng cây mà có hay không có sự hiện diện.

Bảng 6. Kết quả định tính một số nhóm chức có trong các bộ phận khác nhau của sáu loài cây họ Bông

Loài cây	Nhóm chức	Phenol	Quinone, coumarin	Tanin	Alkaloid	Flavonoid			Saponin	
						Thuốc thử	FeCl ₃	KOH, methanol	gelatin mận	Wagner
Ké hoa đào	Rễ	+	+	-	-	+	+	-	-	+
	Thân	+	+	-	-	+	+	-	-	+
	Lá	+	+	-	-	+	+	-	-	+
Cối xay	Rễ	+	+	-	-	+	+	-	-	+
	Thân	+	+	-	-	+	+	-	-	+
	Lá	+	-	-	-	+	+	-	-	+
Búp giấm	Rễ	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	Thân	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	Lá	+	-	+	+	+	+	+	-	+
	Đài hoa	+	-	-	+	+	+	+	-	+
Dâm bụt	Rễ	+	-	-	-	+	+	+	-	+
	Thân	+	-	-	-	+	+	+	-	+
	Lá	+	-	-	-	+	+	+	-	+
Chối dục	Rễ	+	-	-	+	+	+	-	-	+
	Thân	+	-	-	+	+	+	-	-	+
	Lá	+	-	-	+	+	+	-	-	+
Ké hoa vàng	Rễ	+	-	-	+	+	-	-	+	

	Thân	+	-	-	-	+	+	-	-	+
		(xanh đen)				(vàng nâu)	(cam)			(có cột bột)
	Lá	+	-	-	-	+	+	+	-	+
		(xanh đen)				(xanh đen)	(vàng)	(xanh lục)		(có cột bột)

Ghi chú: (-): không có; (+): có

4 KẾT LUẬN

Các kết quả nghiên cứu cho thấy rễ của sáu loài cây dược liệu thuộc họ Bông là bộ phận có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase và hoạt tính kháng oxy hóa tốt hơn so với thân và lá. Trong đó, rễ cây Ké hóa đào có hoạt tính nổi trội hơn các cây còn lại về khả năng ức chế enzyme α -glucosidase. Kết quả nghiên cứu này đã góp phần chứng minh rằng rễ của sáu loài cây họ Bông (Ké hoa đào, Cối xay, Bụp giấm, Dâm bụt, Chối đực, Ké hoa vàng), đặc biệt là rễ của cây Ké hoa đào là một nguồn dược liệu rất có tiềm năng trong chữa trị bệnh tiểu đường tuýp 2.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ Đề tài mã số C2018-18-18.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Vijayan, C. Raghu, G. Ashok, S.A. Dhanaraj, B. Suresh, Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris, *Indian J Med Res*, 120, 24–29, 2004.
- [2]. Đ.T. Xuyên, N.N. Thìn, Nghiên cứu tính đa dạng các chi họ Bông (Malvaceae) ở Việt Nam, *Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng*, 1, 2004.
- [3]. G. Pant, J.K. Sai, S. Babasaheb, P.R. Reddy, G. Sibi, In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitor activity of *Abutilon indicum* leaves, *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 6, 5, 22–24, 2013.
- [4]. I. Ifie, L. Abrankó, J.A. Villa-Rodriguez, N. Papp, P. Ho, G. Williamson, L.J. Marshall, The effect of ageing temperature on the physicochemical properties, phytochemical profile and α -glucosidase inhibition of *Hibiscus sabdariffa* (roselle) wine, *Food Chemistry*, 2017.
- [5]. A. Chikhoun, M. Gagaoua, K.D. Nanema, A.S. Souleymane, K. Hafid, K. Aliane, S. Hadjal, K. Madani, E. Sentandreu, M.A. Sentandreu, A. Boudjellal, M. Krizman, I. Vovk, Antioxidant activity of *Hibiscus sabdariffa* extracts incorporated in an emulsion system containing whey proteins: oxidative stability and polyphenol – whey proteins interactions, *Arab J. Sci. Eng.*, 42, 2247–2260, 2017.
- [6]. S. Ali, K.O. Faruq, A.A. Rahman, A. Hossain, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Methanol Extract of *Urena lobata* (L) Leaves, *The Pharma Innovation – Journal*, 2, 2, 2013.
- [7]. S.H. Mah, S.S. Teh, G.C.L. Ee, Anti-inflammatory, anti-cholinergic and cytotoxic effects of *Sida rhombifolia*, *Pharmaceutical Biology* 55, 1, 920–928, 2017.
- [8]. M. Nazool, S. Kumar, Dual inhibition of cholinesterase enzyme by an aqueous extract of *Hibiscus rosa sinensis* L., *International Journal of Pharma Research & Review* 4, 5, 6–10, 2015.
- [9]. N.K.P. Phụng, Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP.HCM, 2007.
- [10]. G.C. Yen, P.D. Duh., Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70, 4, 383–386, 1993.
- [11]. W.W. Raja, S.H. Khan, Estimation of some phytoconstituents and evaluation of antioxidant activity in *Aegle marmelos* leaves extract, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6, 1, 37–40 2017.
- [12]. P. Molyneux, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26, 2, 211–219, 2004.
- [13]. L.J. Shai, P. Masoko, M.P. Mokgotho, S.R. Magano, A.M. Mogale, N. Boaduo, J.N. Eloff, Yeast alpha glucosidase inhibitory and antioxidant activities of six medicinal plants collected in halaborwa, *South Africa, South African Journal of Botany*, 2010.
- [14]. G.L. Ellman, D. Courtney, V. Andies, R.M. Featherstone, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88–95, 1961.
- [15]. S. Yasmin, M.A. Kashmiri, M.N. Asghar, M. Ahmad, A. Mohy-ud-Din, Antioxidant potential and radical scavenging effects of various extracts from *Abutilon indicum* and *Abutilon muticum*. *Pharm Biol* 48, 3, 282–289, 2010.
- [16]. K.P. Lissy, T.K. Simona, M.S. Latha, Antioxidant potential of *Sida retusa*, *Urena lobata* and *Triumfetta rhomboidea*, *Ancient Science of Life*. XXV (3&4) 10–15, 2006.
- [17]. I.O. Onoagbe, E.O. Negbenebor, V.O. Ogbibe, Dawha IH, Attah V, Lau HU, Omonkhua AA, A Study of the anti-Diabetic effects of *Urena lobata* in Streptozotocin-induced diabetic Rats, *European Journal of Scientific Research*, 43, 1, 6–14, 2010.
- [18]. K. Ingkaninan, P. Temkitthawon, K. Chuenchom, T. Yuyaem, W. Thongnoi, Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies, *Journal of Ethnopharmacology* 89, 261–264, 2003.
- [19]. D.S. Jang, E.J. Park, Y.H. Kang, B.N. Su, M.E.

Hawthorne, J.S. Vigo, G. James, G.F. Cabieses, H.H.S. Fong, R.G. Mehta, J.M. Pezzuto, A.D. Kinghorn, Compounds Obtained from *Sida acuta* with the potential to induce quinone reductase and to inhibit 7,12-dimethylbenz-[a]anthracene-Induced preneoplastic lesions in a mouse mammary organ culture model, *Arch Pharm Res*, 26, 8, 585–590, 2003.

[20]. N.T.H. Thu, P.H.V. Thong, P.N.K. Tuyen, Q.N.D. Phuong, K. Pudhom, P.E. Hansen, N.K.P. Phung, Chemical constituents from *Sommeratia ovata* Backer and their *in vitro* cytotoxicity and acetylcholinesterase inhibitory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 2366–2371, 2015.

Antioxidant, anti- α -glucosidase and anti-acetylcholinesterase activities of six plant species of the Malvaceae

Vu Thi Bach Phuong*, Pham Thi Anh Hong, Quach Ngo Diem Phuong
University of Science, VNUHCM

*Corresponding author: vtbphuong@hcmus.edu.vn

Received: 30-08-2017, Accepted: 25-11-2017, Published: 15-10-2018.

Abstract—Malvaceae is a large family, including many medicinal plants. In this study, the roots, stems and leaves of six Malvaceae family plants include: *Urena lobata* L., *Hibiscus Sabdariffa* L., *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Abutilon indicum* L., *Sida acuta* Burm.f, *Sida rhombifolia* L var. *Parvifolia* Gagn. were evaluated for antioxidant activity, α -glucosidase and acetylcholinesterase inhibitor activity, and phytochemical analysis. The results show that when comparing the parts, the roots are the most biologically active ones. However, in the acetylcholinesterase inhibitor activity, the leaves of *Sida acuta* Burm.f are more active than the parts. In

the α -glucosidase inhibitory activity and antioxidant activity, roots of *Urena lobata* L. were more active than the plants studied, with the IC₅₀ value of α -glucosidase inhibitory activity is 4.79 μ g/mL and IC₅₀ of free radical scavenging assay DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) is 446 μ g/mL. This result has contributed to demonstrate the biological activity of Malvaceae family and especially of the ability to treat the type 2 diabetes of *Urena lobata* L. Results of phytochemical analysis show that all parts of the six plant species contain phenol, flavonoid and saponin steroids.

Index Terms—*Abutilon indicum* L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Sida acuta* Burm.f, *Sida rhombifolia* L var. *parvifolia* Gagn., *Urena lobata* L., acetylcholinesterase and α -glucosidase inhibitor activity, antioxidant, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).