

Nghiên cứu tác dụng ức chế alpha glucosidase và acetylcholinesterase của cây Cỏ sao (*Stellaria media* L., Caryophyllaceae) thu hái tại Hải Phòng

Hà Thị Thùy Dung¹, Lưu Thị Thu Huyền¹, Nguyễn Thị Thùy Khuê¹, Ngô Thị Quỳnh Mai^{1*}

¹ Trường Đại học Y Dược Hải Phòng

*Tác giả liên hệ

Ngô Thị Quỳnh Mai
Trường Đại học Y Dược Hải Phòng
Điện thoại: 0369 581 891
Email: ntqmai@hpmu.edu.vn

Thông tin bài đăng

Ngày nhận bài: 17/08/2024
Ngày phân biện: 20/08/2024
Ngày duyệt bài: 24/09/2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện trên cây Cỏ Sao (*Stellaria media* L., Caryophyllaceae) thu hái tại Hải Phòng. Mẫu nghiên cứu được khảo sát thành phần hóa học bằng các phản ứng hóa học đặc trưng, phương pháp sắc ký lớp mỏng và thử hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidase và acetylcholinesterase để đánh giá tiềm năng của dược liệu trong điều trị các bệnh lý liên quan. Kết quả thu được phát hiện sự có mặt của carotenoid và glycoside tim, trong khi các nhóm chất như alkaloid, flavonoid, phytosterol, và saponin không được phát hiện. Sắc ký lớp mỏng sử dụng hệ dung môi n-hexan : ethyl acetate = 5 : 1 cho thấy phân đoạn ethyl acetate có nhiều vết rõ ràng hơn so với các phân đoạn khác. Cao toàn phần và các phân đoạn dược liệu không có hoặc có rất ít hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase ($IC_{50} > 256 \mu\text{g/ml}$). Hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidase cũng rất yếu, với giá trị $IC_{50} > 256 \mu\text{g/ml}$. Tuy nhiên, dược liệu vẫn có tiềm năng nghiên cứu thêm về các đặc tính sinh học khác như bảo vệ tế bào và sức khỏe tim mạch.

Từ khóa: Cỏ sao, *Stellaria media*, thành phần hóa học.

Study on the inhibition of alpha-glucosidase and acetylcholinesterase by *Stellaria media* harvested in Hai Phong.

ABSTRACT: This study was conducted on "Cỏ sao" (*Stellaria media* L., Caryophyllaceae) collected in Hai Phong. The chemical composition of the samples was analyzed using specific chemical reactions, thin-layer chromatography (TLC), and the inhibitory effects on alpha-glucosidase and acetylcholinesterase enzymes were tested to evaluate the potential of the herbal material in the treatment of related diseases. The results revealed the presence of carotenoids and cardiac glycosides, while groups such as alkaloids, flavonoids, phytosterols, and saponins were not detected. TLC using a solvent system of n-hexane : ethyl acetate (5:1) showed that the ethyl acetate fraction displayed more distinct and diverse spots than other samples, indicating the presence of various chemical compounds. The herbal samples exhibited little inhibitory activity on the acetylcholinesterase enzyme ($IC_{50} > 256 \mu\text{g/ml}$). Similarly, the inhibitory activity on the alpha-glucosidase enzyme was also fragile, with an IC_{50} value $> 256 \mu\text{g/ml}$. However, the herbal material still has the potential for further research on other biological properties, such as cell protection and cardiovascular health.

Keywords: Cỏ sao, *Stellaria media*, chemical composition.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Cỏ sao (*Stellaria media* L.) là một đại diện của họ Cẩm chướng, Caryophyllaceae. Cây còn được gọi là rau xương cá, rau hén hay cây phèn lâu, là một loài cây mọc hoang ở những nơi ẩm ướt ở nhiều vùng trong cả nước. Cây được dùng tươi, hoặc dưới dạng thuốc sắc với các vị thuốc khác chữa mụn nhọt, lỵ, trĩ và các chứng viêm ở phụ nữ [1]. Ở châu Á và châu Phi, thuốc sắc từ lá cây này được dùng để trị một số chứng bệnh đường tiêu hóa và hô hấp; làm liền vết thương sâu và cầm máu [2]. Trong y học dân gian ở một số nước châu Âu sử dụng trà từ cây Cỏ sao để giảm cân, hạ lipid máu, hạ đường máu [3]. Các nghiên cứu hoạt tính của loài này đã chứng minh tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh, chống viêm, chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống béo phì, chống đái tháo đường [2]. Một nghiên cứu ở Ấn Độ cho thấy tác dụng hạ đường máu trên chuột của cao chiết còn lá cây Cỏ sao [4].

Để tìm kiếm nguồn nguyên liệu cho nghiên cứu phát triển thuốc từ dược liệu bản địa, đề tài “Khảo sát thành phần hóa học và tác dụng ức chế enzyme alpha-glucosidase và acetylcholinesterase của cây Cỏ sao (*Stellaria media* L.) thu hái tại Hải Phòng” được thực hiện với các mục tiêu sau:

1. Khảo sát thành phần hóa học bằng các phản ứng hóa học đặc trưng và phương pháp sắc ký lớp mỏng;

2. Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidase và acetylcholinesterase của các phân đoạn cao dược liệu.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Cây Cỏ sao (*Stellaria media* L., Caryophyllaceae) được thu hái ở tại huyện An Dương, Hải Phòng vào tháng 3 năm 2024. Mẫu tiêu bản 2024-HPMU-002 được lưu tại Bộ môn Dược liệu – Dược cổ truyền, Khoa Dược học, Trường Đại học Y Dược Hải

Phòng. Toàn cây Cỏ sao được rửa sạch, phơi khô và bảo quản ở nơi mát, tránh ánh sáng cho đến khi tiến hành chiết tạo cao toàn phần và các phân đoạn.



Hình 1. Cây Cỏ sao

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Dược liệu – Dược cổ truyền, Khoa Dược học, Trường Đại học Y Dược Hải Phòng từ tháng 3 năm 2024 đến tháng 10 năm 2024.

Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát thành phần hoá học

Định tính hoá học sơ bộ bằng các phản ứng hoá học đặc trưng của 8 nhóm chất bao gồm carotenoid, chất béo, flavonoid, alkaloid, glycoside tim, coumarin, phytosterol, saponin.

Sắc ký lớp mỏng của cao ethanol toàn phần mẫu nghiên cứu và các phân đoạn được thực hiện bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng pha thuận, trong đó:

- Pha tĩnh: bản mỏng Silicagel G
- Pha động: hỗn hợp dung môi n-hexan:ethyl acetat có tỷ lệ thích hợp
- Dung dịch thử: cao phân đoạn n-hexan, ethyl acetat, nước

Hiện màu bằng cách quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366nm và 254 nm, và hiện màu bằng dung dịch H₂SO₄ 10% trong cồn tuyệt đối [5].

Thử hoạt tính ức chế alpha glucosidase

Enzyme alpha-glucosidase xúc tác quá trình

thủy phân các liên kết alpha-glucoside để tạo ra glucose. Khi có mặt chất ức chế, hoạt tính của enzyme sẽ bị giảm, dẫn đến sự giảm sản phẩm cuối cùng. Trong phương pháp này, p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside thường được sử dụng làm chất nền, và khi bị enzyme thủy phân, nó tạo ra p-nitrophenol (có màu vàng), có thể đo bằng máy quang phổ ở bước sóng 410 nm. Giá trị IC₅₀ được định nghĩa là nồng độ mẫu ức chế 50% hoạt động của enzyme alpha-glucosidase [6].

Thử hoạt tính ức chế acetylcholinesterase

Enzyme acetylcholinesterase (AChE) là enzyme phân giải acetylcholine thành choline và acid acetic, giúp chấm dứt tín hiệu thần kinh tại các synap. Trong phương pháp Ellman, cơ chế hoạt động của enzyme được

kiểm tra bằng cách sử dụng một chất nền đặc hiệu là acetylthiocholine iodide (ATCI). Khi AChE xúc tác phản ứng, acetylthiocholine bị thủy phân để tạo ra thiocholine, sau đó phản ứng với chất chỉ thị 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) để tạo thành một hợp chất màu vàng có khả năng hấp thụ mạnh ở bước sóng 412 nm. Việc đo cường độ màu của sản phẩm phản ứng tại bước sóng này cho phép xác định lượng enzyme hoạt động trong mẫu. Khi có chất ức chế, lượng thiocholine sinh ra sẽ giảm, từ đó màu của sản phẩm cũng giảm theo, giúp đánh giá khả năng ức chế của hợp chất đối với AChE. Giá trị IC₅₀ được định nghĩa là nồng độ mẫu ức chế 50% hoạt động của AChE [7].

KẾT QUẢ

Khảo sát bằng phản ứng hóa học

Các nhóm chất chất béo, carotenoid, phytosterol, flavonoid, coumarin, alkaloid, glycoside tim, saponin được định tính bằng các phản ứng hóa học đặc trưng. Trong các nhóm chất thử nghiệm, mẫu có phản ứng dương tính với các thuốc thử của Carotenoid, glycoside tim chỉ cho kết quả dương tính với phản ứng Keller-Kiliani. Còn lại các nhóm chất như chất béo, phytosterol, flavonoid, coumarin, alkaloid, saponin đều không dương tính với bất kỳ phản ứng nào.

Bảng 1. Kết quả khảo sát thành phần hoá học có trong mẫu nghiên cứu

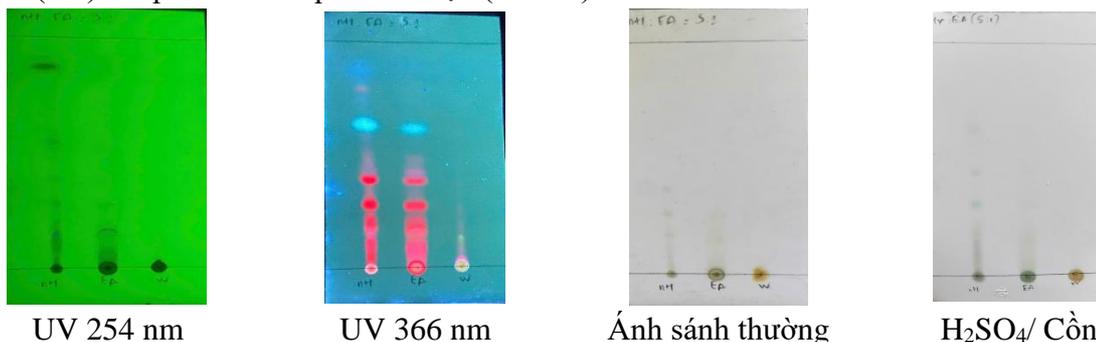
STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả
1	Carotenoid	Cẩn/ H ₂ SO ₄ đặc	+
2	Chất béo	Dịch chiết trên lên giấy lọc/hơ nóng	-
3	Phytosterol	Phản ứng với acetic anhydride và sulfuric acid	-
4	Flavonoid	Phản ứng với hơi amoniac	-
		Phản ứng với dd Kiềm loãng	-
		Phản ứng cyanidin	-
		Phản ứng với dd FeCl ₃ 5%	-
5	Coumarin	Phản ứng với FeCl ₃ 5%	-
		Phản ứng dựa trên sự đóng mở vòng lacton	-
6	Glycoside tim	Phản ứng Liebermann-Burchardt	-
		Phản ứng với thuốc thử Baljet	-
		Phản ứng với Legal	-
		Phản ứng với Keller- Kiliani	+
7	Alkaloid	Phản ứng với TT Bouchardat	-
		Phản ứng với thuốc thử Mayer	-

		Phản ứng với thuốc thử Dragendroff	-
8	Saponin	Dịch chiết phân đoạn nước lắc mạnh	-

Kết quả định tính bằng phản ứng hóa học chỉ cho thấy sự có mặt của carotenoid trong mẫu nghiên cứu.

Khảo sát bằng sắc ký lớp mỏng

Chuẩn bị dịch chiết toàn phần và các phân đoạn. Tiến hành chấm sắc kí 4 phân đoạn ethanol, *n*-hexan, ethyl acetat, nước trên cùng một bản mỏng với hệ dung môi *n*-hexan: ethyl acetat (5:1) và quan sát kết quả thu được (Hình 2).



Hình 2. Sắc ký đồ các phân đoạn

W: phân đoạn nước, *Hx*: phân đoạn *n*-hexan, *EA*: phân đoạn ethyl acetat

Sắc ký đồ các phân đoạn cho thấy các vết tập trung nhiều ở phân đoạn *n*-hexan và ethyl acetat khi quan sát dưới cả 2 bước sóng UV ngắn và dài. Tuy nhiên khi quan sát dưới ánh sáng thường và hiện màu bằng thuốc thử H₂SO₄ 10% trong cồn, các vết này hiện lên không rõ.

Khảo sát thử hoạt tính ức chế alpha glucosidase

Bảng 2. Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidase

STT	Mẫu	Khả năng ức chế (%) ở các nồng độ (ug/ml)					IC ₅₀ (ug/ml)
		256	64	16	4	1	
1	Cao tổng	0	0	0	0	0	> 256
2	Phân đoạn <i>n</i> -hexan	13	0	0	0	0	> 256
3	Phân đoạn EA	0	0	0	0	0	> 256
4	Phân đoạn nước	0	0	0	0	0	> 256

Tất cả các mẫu thử đều không có hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidase. Cao phân đoạn *n* - hexan có tác ức chế nhẹ ở nồng độ cao nhất, 256 µg/ml, nhưng chỉ đạt 13%.

Khảo sát thử hoạt tính ức chế acetylcholinesterase

Bảng 3. Kết quả thử hoạt tính ức chế acetylcholinesterase

STT	Mẫu	Khả năng ức chế (%) ở các nồng độ (ug/ml)					IC ₅₀ (ug/ml)
		256	64	16	4	1	

1	Cao tổng	0	0	0	0	0	> 256
2	Phân đoạn n-hexan	0	0	0	0	0	> 256
3	Phân đoạn EA	0	0	0	0	0	> 256
4	Phân đoạn nước	0	0	0	0	0	> 256

Kết quả này cho thấy các mẫu không có khả năng ức chế enzyme acetylcholinesterase.

BÀN LUẬN

Về thành phần hóa học

Kết quả định tính cho thấy mẫu dược liệu chứa carotenoid. Đây là nhóm chất có giá trị sinh học và dược lý quan trọng. Carotenoid là nhóm hợp chất tự nhiên có đặc tính chống oxy hóa mạnh, giúp bảo vệ tế bào khỏi tác hại của các gốc tự do [4] và có khả năng ngăn ngừa nhiều bệnh lý mãn tính như tim mạch, thoái hóa thần kinh, thậm chí là một số loại ung thư [8, 9]. Ngoài ra, carotenoid còn hỗ trợ tăng cường hệ miễn dịch và sức khỏe của mắt [10]. Sự hiện diện của carotenoid trong mẫu dược liệu gợi ý khả năng ứng dụng trong việc phòng ngừa hoặc hỗ trợ điều trị các bệnh lý liên quan đến stress oxy hóa [11]. Kết quả định tính bằng sắc ký lớp mỏng cho thấy nhiều vết ở phân đoạn ít phân cực cho thấy khả năng có các chất thuộc nhóm chất béo và chất màu. Kết quả này tương đồng với kết quả định tính bằng phương pháp hóa học. Tuy nhiên việc không xuất hiện các nhóm chất khác cũng có thể do độ nhạy của phương pháp.

Các nghiên cứu sàng lọc thành phần hóa học của cây Cỏ sao đã được công bố trước đây cho thấy sự có mặt của alkaloid, saponin, glycoside tim, acid béo, tannin, và terpenoid. Các nghiên cứu này sử dụng các kỹ thuật cao để xác định thành phần hóa học như GC-MS hoặc phân lập và xác định cấu trúc. Việc sử dụng các kỹ thuật này cho phép xác định cụ thể và chính xác hơn thành phần hóa học của cây Cỏ sao [2]. Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ cho thấy sự có mặt của carotenoid. Sự khác biệt này có thể do hàm

lượng các nhóm chất này khá nhỏ, dưới mức phát hiện của phương pháp phân tích hoặc cũng có thể do điều kiện thổ nhưỡng, khí hậu ở địa điểm thu hái ảnh hưởng đến thành phần hóa học của mẫu nghiên cứu. Do đó các phương pháp phân tích hiện đại hơn có thể cần được thực hiện để nghiên cứu về thành phần hóa học của cây Cỏ sao thu hái tại Hải Phòng.

Về hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidase

Kết quả cho thấy mẫu dược liệu có rất ít hoặc không có hoạt tính ức chế enzyme alpha-glucosidase, ngay cả ở nồng độ cao nhất là 256 $\mu\text{g/ml}$, nghĩa là các hợp chất có trong mẫu không có tác dụng mạnh trong việc kiểm soát đường huyết qua cơ chế này. Enzyme alpha-glucosidase đóng vai trò quan trọng trong quá trình phân hủy carbohydrate thành glucose, do đó, việc ức chế enzyme này có thể giúp giảm sự hấp thụ glucose và kiểm soát đường huyết, một cơ chế quan trọng trong điều trị bệnh tiểu đường tuýp 2 [6]. Tuy nhiên, do không thể hiện hoạt tính ức chế enzyme này gợi ý rằng nếu dược liệu có tác dụng điều trị tiểu đường trong y học dân gian, thì cơ chế tác dụng có thể không phải thông qua việc ức chế enzyme alpha-glucosidase. Để hiểu rõ hơn về tác dụng của dược liệu, cần nghiên cứu thêm để xác định hợp chất nào chịu trách nhiệm cho tác dụng kiểm soát đường huyết và bằng cơ chế nào.

Về hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase

Kết quả thử nghiệm cũng cho thấy mẫu dược liệu không có hoạt tính ức chế enzyme

acetylcholinesterase ở nồng độ 256 $\mu\text{g/ml}$. Điều này có thể được giải thích bởi sự vắng mặt của các nhóm chất như alkaloid và flavonoid trong mẫu, vì các hợp chất này thường có tác động mạnh mẽ đến hệ thần kinh, đặc biệt là trong việc ức chế enzyme acetylcholinesterase.

Enzyme acetylcholinesterase có vai trò quan trọng trong việc phân hủy acetylcholine, một chất dẫn truyền thần kinh quan trọng trong não, và việc ức chế enzyme này là cơ chế chính để điều trị các bệnh lý thần kinh như Alzheimer [7]. Điều này cho thấy dược liệu không có tiềm năng lớn trong việc điều trị các bệnh lý liên quan đến hệ thần kinh thông qua cơ chế này.

KẾT LUẬN

Toàn cây Cỏ sao được phát hiện chứa carotenoid và glycoside tim, trong khi không tìm thấy các nhóm chất khác như alkaloid và flavonoid. Sắc ký lớp mỏng cho thấy thành phần hóa học của mẫu EA khá đa dạng và phức tạp, phản ánh sự hiện diện của nhiều hợp chất khác nhau. Tuy nhiên, hoạt tính ức chế enzyme acetylcholinesterase và alpha-glucosidase của dược liệu đều rất thấp, điều này có thể do thiếu các hợp chất đặc hiệu cho hai enzyme này. Mặc dù không thể hiện khả năng ức chế enzyme đáng kể, sự có mặt của carotenoid và glycoside tim gợi ý tiềm năng nghiên cứu các tác dụng sinh học khác, đặc biệt là bảo vệ tế bào và hỗ trợ sức khỏe tim mạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Viết Thân. Cây thuốc Việt Nam và những bài thuốc thường dùng, 2020. Y học. 306-308.
2. Oladeji, O.S. and A.K. Oyebamiji. *Stellaria media* (L.) Vill.- A plant with immense therapeutic potentials: phytochemistry and pharmacology, *Heliyon*. 2020; 6(6): e04150.
3. Demján, V., et al.. *Stellaria media* tea protects against diabetes-induced cardiac dysfunction in rats without affecting glucose tolerance. *J.*

4. Singh, R., M. Chaudhary, and E.S.J.J.o.H.P. Chauhan, *Stellaria media* Linn.: A comprehensive review highlights the nutritional, phytochemistry, and pharmacological activities. *Journal of Herbmед Pharmacology*. 2022; 11(3):330-338
5. Farnsworth, N.R. Biological and phytochemical screening of plants. *J. Pharm. Sci.* 1966; 55(3): 225-76.
6. Ting, L., et al. A microplate-based screening method for alpha-glucosidase inhibitors. 2005; 10: 1128-1134.
7. Ellman, G.L., et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961; 7: 88-95.
8. Krinsky, N.I. and E.J. Johnson. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol. Aspects Med.* 2005; 26(6): 459-516.
9. Tapiero, H., D.M. Townsend, and K.D. Tew. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmacother.* 2004; 58(2): 100-110.
10. Johra, F.T., et al. A Mechanistic Review of β -Carotene, Lutein, and Zeaxanthin in Eye Health and Disease. 2020; 9(11): 1046.
11. Fiedor, J. and K. Burda. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 2014; 6(2): 466-488.