

# KHẢO SÁT HOẠT TÍNH KHÁNG VIÊM VÀ ỨC CHẾ ENZYME XANTHINE OXYDASE CỦA MỘT SỐ LOÀI THUỘC CHI DÂY GẮM (*GNETUM*)

ANTI-INFLAMMATORY AND INHIBITION OF ENZYME XANTHINE OXIDASE ACTIVITY OF SOME SPECIES OF *GNETUM*

Lê Thị Hồng Nhung<sup>1,\*</sup>

## TÓM TẮT

Ba cặn chiết etanol (**GL**, **GMQT**, **GMVP**) được tạo ra từ loài Gắm cọng (*Gnetum latifolium* var. *funiculare* Markgr.) thu hái ở Tây Nguyên, loài Dây gắm (*Gnetum montanum* Markgr) thu hái ở Quảng Trị và Vinh Phúc. Kết quả khảo sát hoạt tính sinh học của chúng cho thấy cả 3 mẫu nghiên cứu đều thể hiện hoạt tính ức chế enzyme *xanthine oxidase* và khả năng kháng viêm thông qua ức chế sản sinh NO. Trong đó, khả năng ức chế sản sinh NO của cả ba cặn chiết đều rất tốt, đặc biệt là mẫu **GMVP** với  $IC_{50} 21,33 \pm 2,01 \mu\text{g/mL}$ . Khả năng ức chế enzyme *xanthine oxidase* của cặn chiết **GL** cho kết quả tốt nhất với giá trị  $IC_{50} 66,01 \pm 3,63 \mu\text{g/mL}$ .

**Từ khóa:** *Gnetum latifolium*, *Gnetum montanum*, enzyme *xanthine oxidase*, kháng viêm.

## ABSTRACT

Three ethanol extracts (**GL**, **GMQT**, **GMVP**) were extracted from *Gnetum latifolium* var. *funiculare* Markgr. collected in Tay Nguyen province, *Gnetum montanum* Markgr collected in Quang Tri and Vinh Phuc province. Investigating their biological activity showed that all of them can inhibit enzyme *xanthine oxidase* and anti-inflammatory through the inhibition of NO production. Of these, the inhibition of NO production of three extracts are very good, especially the **GMVP** extract with  $IC_{50} 21.33 \pm 2.01 \mu\text{g/mL}$ . The inhibition of the enzyme *xanthine oxidase* of **GL** extract gave the best result with  $IC_{50} 66.01 \pm 3.63 \mu\text{g/mL}$ .

**Keywords:** *Gnetum latifolium*, *Gnetum montanum*, enzyme *xanthine oxidase*, anti-inflammatory.

<sup>1</sup>Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

\*Email: nhunglth82@gmail.com

Ngày nhận bài: 28/4/2022

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 10/6/2022

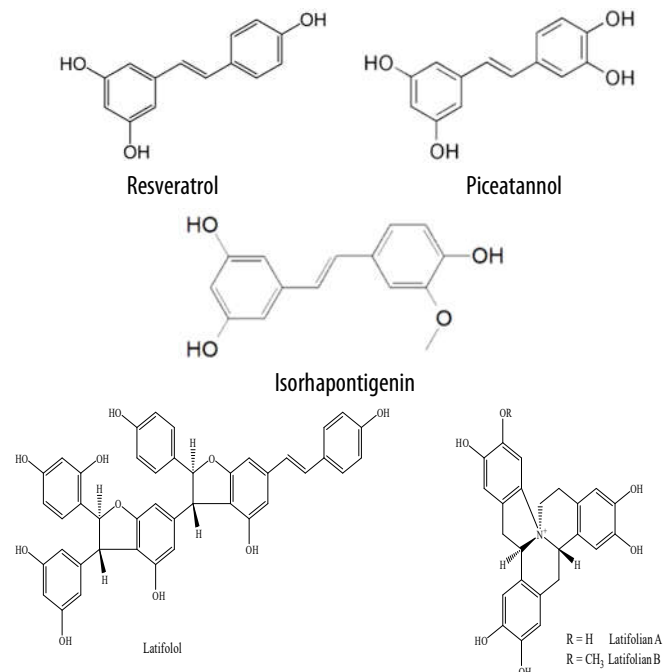
Ngày chấp nhận đăng: 27/6/2022

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi Dây gắm có tên khoa học là *Gnetum* thuộc họ Gnetaceae, bao gồm 30 - 40 loài, chủ yếu phân bố ở Nam Á, Đông Nam Á, châu Phi và Nam Mỹ. Chi *Gnetum* phân bố ở Vùng Đông Nam Á, chủ yếu gồm các loài thân gỗ như loài Gắm cọng (*Gnetum latifolium*) và Dây gắm (*Gnetum*

*montanum*). Trên thế giới, thân và rễ của một số loài thuộc chi này được sử dụng trong các bài thuốc điều trị đau thắt lưng, thấp khớp, đau chân tay, chấn thương, nhiễm trùng đường hô hấp [1-3].

Trong các nghiên cứu được công bố, các nhà khoa học đã chỉ ra rằng các loài thuộc chi này có chứa nhiều hợp chất stilbenoid, alkaloid và flavonoid [4-7]. Điều đáng chú ý là khoảng 100 hợp chất stilbenoid đã được tìm thấy trên 15 loài thuộc chi *Gnetum*. Chính vì vậy, lớp chất này được coi là thành phần đặc trưng của chi. Các hợp chất này từ lâu đã được chứng minh khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn, hạ huyết áp, chống ung thư và kháng viêm một cách hiệu quả [8, 9].



Hình 1. Một số hợp chất Stilbenoid phân lập từ chi *Gnetum*

Gắm cọng (*Gnetum latifolium* var. *funiculare* Markgr.) là loại cây dây leo, mọc tự nhiên, thường gặp ở ven suối hay trong rừng rậm thường xanh, ở độ cao 400 - 1800m [10, 11].

Cây phân bố rất rộng ở Trung Quốc, Lào, Campuchia, Thái Lan, Malaysia, Việt Nam... Ở nước ta, loài này thường được tìm thấy ở nhiều vùng như Lào Cai, Hà Giang, Quảng Ninh, Thái Nguyên, Nghệ An, Gia Lai, Đắk Lắk, Lâm Đồng... Trong dân gian, Gấm cọng thường được dùng chữa đau nhức, bán thân bất toại, chân tay co quắp hoặc dùng phối hợp với các vị thuốc khác chữa cảm gió, chân tay lạnh..

Dây gấm (*Gnetum montanum* Markgr) mọc tự nhiên ở độ cao 200 - 1200m [10,11]. Loài này phân bố chủ yếu ở Ấn Độ, Trung Quốc, Lào, Campuchia và ở Việt Nam thì có nhiều ở Vĩnh Phúc, Nghệ An, Quảng Trị, Đà Nẵng, Lâm Đồng,... Dây gấm có vị đắng, tính bình, có tác dụng khử phong, trừ thấp, thư cân hoạt huyết, giải độc, tiêu viêm, sát trùng. Trong y học cổ truyền, loài dây gấm thường dùng làm thuốc giảm đau, chữa phong tê thấp, sản hậu mòn, giải các chất độc, lá gấm già có thể đắp để chữa rắn cắn...

Ngoài ra, trong dân gian còn sử dụng các loài thuộc chi Dây gấm (*Gnetum*) để điều trị bệnh gout, viêm khớp.

**2. THỰC NGHIỆM**

**2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Loài Gấm cọng (*Gnetum latifolium* var. *funiculare* Markgr.) ở Tây Nguyên và loài Dây gấm (*Gnetum montanum* Markgr) ở Quảng Trị, Vĩnh Phúc được thu hái vào tháng 11/2020, tên khoa học do TS. Nguyễn Tiến Hiệp - Viện Sinh Thái và Tài nguyên Sinh vật xác định. Mẫu tiêu bản của chúng được lưu giữ tại Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.

**2.2. Tạo mẫu nghiên cứu từ một số loài thuộc chi Dây gấm (*Gnetum*)**

Mẫu sau khi thu hái được tiến hành rửa sạch, phơi khô, nghiền nhỏ tạo thành bột. Bột mẫu được đem ngâm chiết với hệ dung môi eth anol : nước (9 : 1) trong bể siêu âm trong 4 giờ (20L x 3 lần). Sau khi chiết, đem đi lọc dịch và tháo bã kiệt. Dịch chiết ethanol được cô quay dưới áp suất giảm thu được cặn chiết ethanol.

Bảng 1. Kết quả tạo cao chiết ethanol từ loài Gấm cọng và Dây gấm

TT	Đối tượng	Khối lượng bột mẫu	Khối lượng cao chiết	Ký hiệu mẫu cao chiết
1	Gấm cọng thu hái ở Tây Nguyên	10kg	500g	GL
2	Dây gấm thu hái ở Quảng Trị	10kg	483g	GMQT
3	Dây gấm thu hái ở Vĩnh Phúc	10kg	492g	GMVP

**2.3. Khảo sát hoạt tính sinh học**

Các cặn chiết sau khi tạo được tiến hành thử hoạt tính sinh học tại Viện Công nghệ Sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Khả năng kháng viêm được đánh giá thông qua phương pháp xác định hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit (NO) trên tế bào RAW264.7. Dòng tế bào RAW264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo

gồm 2mM L-glutamine, 10mM HEPES, và 1,0mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum - FBS (GIBCO). Tế bào được cấy chuyển sau 3 - 5 ngày với tỉ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm CO<sub>2</sub> ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub> [12].

- Hoạt tính ức chế enzyme *xanthine oxidase* (XO) của mẫu nghiên cứu được thực hiện theo phương pháp của Abu-Gharbieh và cộng sự: Mẫu đối chứng trắng chỉ có đệm phosphate, mẫu đối chứng âm có DMSO 10%, đệm phosphate, enzyme và xanthine và Allopurinol được sử dụng làm đối chứng tham khảo [13].

**3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

Các cặn chiết ethanol của 3 mẫu nghiên cứu thuộc chi Dây gấm (**GL**, **GMQT**, **GMVP**) được tiến hành khảo sát hoạt tính kháng viêm, hoạt tính ức chế enzyme *xanthine oxidase* thu được một số kết quả đáng chú ý.

**3.1. Khả năng kháng viêm**

Gốc tự do nitric oxide (•NO) được sản sinh ở nhiều loại tế bào khác nhau. Dạng •NO xuất tiết có mặt ở các tế bào như đại thực bào, nguyên bào sợi hay tế bào gan thường được sản sinh với lượng lớn khi xuất hiện các đáp ứng viêm [14]. Vì vậy, việc xác định khả năng kháng viêm được đánh giá thông qua phương pháp xác định hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit (NO) trên tế bào RAW264.7. Khả năng ức chế sản sinh NO của các mẫu nghiên cứu được thể hiện ở bảng 2.

Kết quả khảo sát cho thấy, cả ba mẫu đều cho hoạt tính kháng viêm mạnh thông qua khả năng ức chế sự sản sinh NO. Trong đó, mẫu **GMVP** cho hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC<sub>50</sub> 21,33 ± 2,01µg/mL.

**3.2. Khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase**

*Xanthine oxidase* là một loại enzyme quan trọng xúc tác quá trình hydroxyl hóa hypoxathine thành xanthine và xanthine thành acid uric. Acid uric là một hợp chất dị vòng với công thức C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, tinh thể dạng hình kim. Khi nồng độ acid uric cao dẫn đến sự thâm nhập và lắng đọng ở khớp (ở sụn khớp, bao hoạt dịch) làm cho khớp bị viêm, gây đau đớn, lâu dần bị biến dạng, cứng khớp, đây là các triệu chứng của bệnh Gout [15]. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme *xanthine oxidase* được đưa ra ở bảng 3.

Từ bảng 3 cho thấy ba mẫu nghiên cứu (**GMQT**, **GMVP**, **GL**) đều thể hiện khả năng ức chế enzyme *xanthine oxidase* với giá trị IC<sub>50</sub> tương ứng là 89,35 ± 5,01; 78,06 ± 3,27; 66,01 ± 3,63µg/mL. Trong ba cặn chiết khảo sát, cặn chiết **GL** cho hoạt tính này tốt nhất.

**4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ**

Từ ba đối tượng nghiên cứu là Gấm cọng (*Gnetum latifolium* var. *funiculare* Markgr.) thu hái ở Tây Nguyên, loài Dây gấm (*Gnetum montanum* Markgr) thu hái ở Quảng Trị và Vĩnh Phúc, đã tiến hành tạo 3 cặn chiết ethanol tương ứng **GL**, **GMQT**, **GMVP**.

Khảo sát hoạt tính sinh học của các cặn chiết cho thấy cả 3 mẫu nghiên cứu đều thể hiện hoạt tính ức chế enzyme *xanthine oxidase* với giá trị IC<sub>50</sub> đạt 66,01 ± 3,63 đến 89,35 ± 5,01µg/mL. Đặc biệt, khả năng kháng viêm của ba cặn chiết

Bảng 2. Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế sự sản sinh NO của các cận chiết

Nồng độ (µg/mL)	GL		GMVP		GMQT		L-NMMA*	
	% ức chế NO	% tế bào sống	% ức chế NO	% tế bào sống	% ức chế NO	% tế bào sống	% ức chế NO	% tế bào sống
100	71,45	78,21	65,86	92,34	77,24	96,73	98,83	84,04
20	19,81	92,41	54,49	97,98	46,61	99,33	73,39	99,89
4	6,67		30,85		8,10		23,59	
0.8	-4,03		5,47		5,43		11,94	
IC <sub>50</sub>	<b>60,99±4,50</b>	-	<b>21,33±2,01</b>	-	<b>32,27±3,16</b>	-	<b>9,74±0,75</b>	-

\* Chất đối chứng dương

Bảng 3. Kết quả hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase của các cao chiết

Nồng độ (µg/mL)	% Ức chế				
	GMQT	GMVP	GL	Nồng độ (µg/mL)	Allopurinol
500	54,42	60,03	101,13	10	89,53
100	16,43	16,68	67,29	2	72,93
20	5,88	8,60	16,06	0,4	15,50
4	2,01	-1,46	-0,21	0,08	2,69
IC <sub>50</sub>	<b>89,35 ± 5,01</b>	<b>78,06 ± 3,27</b>	<b>66,01 ± 3,63</b>	<b>IC<sub>50</sub></b>	<b>1,12 ± 0,15</b>

\* Chất đối chứng dương

đều cho kết quả rất tốt với giá trị IC<sub>50</sub> từ 21,33 ± 2,01 đến 60,99 ± 4,50µg/mL. Trong đó đáng chú ý là khả năng ức chế sự sản sinh NO của cận chiết **GMVP** với giá trị IC<sub>50</sub> 21,33 ± 2,01µg/mL và khả năng ức chế enzyme *xanthine oxidase* của cận chiết **GL** với giá trị IC<sub>50</sub> 66,01 ± 3,63µg/mL.

**LỜI CẢM ƠN**

Công trình được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của đề tài mã số 37-2021-RD/HĐ-ĐHCN.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

[1]. Zhong B., Yonezawa T., Zhong Y., Hasegawa M., 2010. *The position of Gnetales among seed plants: overcoming pitfalls of chloroplast phylogenomics*. Mol. Biol. Evol. 27, 2855–2863. doi: 10.1093/molbev/msq170

[2]. Shi S. Q., Liu J. F., Jiang Z. P., 2011. *Research progress on Gnetaceae plants in the world*. J. Plant Genet. Resour. 12, 694–699.

[3]. Wang J. W., Liang J. Y., 2006. *Research progress on chemical constituents and pharmacological effect of genus Gnetum*. Strait Pharmaceutical J. 18, 15–20.

[4]. Lin M., Li J. B., Wu B., Zheng Q. T., 1991. *A stilbene derivative from Gnetum parvifolium*. Phytochemistry. 30, 4201–4203. doi: 10.1016/0031-9422(91)83507-H.

[5]. Lin M., Li J. B., Li S. Z., Yu D. Q., Liang X. T., 1992. *A dimeric stilbene from Gnetum parvifolium*. Phytochemistry. 31, 633–638. doi: 10.1016/0031-9422(92)90050-Z.

[6]. Deng N., Shi S. Q., Liu J. F., Lan Q., Chang E. M., Jiang Z. P. 2014. *Comparison in nutrient components of Gnetum montanum f. megalocarpa leaves under two cultivated environment*. J. Trop. Subtrop. Bot. 6, 584–589 (in Chinese with English abstract). doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2014.06.006.

[7]. Riviere C., Pawlus A. D., Merillon J. M., 2012. *Natural stilbenoids: distribution in the plant kingdom and chemotaxonomic interest in Vitaceae*. Nat. Prod. Rep. 29, 1317–1333. doi: 10.1039/c2np20049j.

[8]. Fang Y., Yu Y., Hou Q., Zheng X., Zhang M., Zhang D., et al., 2012. *The Chinese herb isolate isorhapontigenin induces apoptosis in human cancer cells by*

*down-regulating overexpression of antiapoptotic protein XIAP*. J. Biol. Chem. 287, 35234–35243. doi: 10.1074/jbc.M112.389494.

[9]. Kongkachuichai R., Charoensiri R., Yakoh K., Kringkasemsee A., Insung P., 2015. *Nutrients value and antioxidant content of indigenous vegetables from Southern Thailand*. Food Chem. 173, 838–846. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.123.

[10]. Vo Van Chi, 2018. *Tu dien cay thuooc Viet Nam*. Medical Publishing House, Hanoi.

[11]. Do Huy Bich, Dang Quang Chung, Bui Xuan Chuong, Nguyen Thuong Dong, DoTrung Dam, Pham Van Hien, Vu Ngoc Lo, Pham Duy Mai, Pham Kim Man, Doan Thi Nhu, Nguyen Tap, Tran Toan, 2006. *Cay thuooc va dong vat lam thuooc o Viet Nam*. Science and Technics Publishing House, Hanoi.

[12]. Nathan C., 1992. *Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells*. Faseb j. 6(12), 3051-64.

[13]. Abu-Gharbieh E, Shehab NG, Almasri IM, Bustanji Y, 2018. *Antihyperuricemic and xanthine oxidase inhibitory activities of Tribulus arabicus and its isolated compound, ursolic acid: In vitro and in vivo investigation and docking simulations*. PloS one 16;13(8):e0202572.

[14]. Bernardes NR, Heggdorne-Araújo M, Borges IF, Almeida FM, Amaral EP, Lasunskaja EB, Muzitano MF, Oliveira DB, 2014. *Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of Schinus terebinthifolius*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 24(6), 644-650.

[15]. Danijela A. Kostić, Danica S. Dimitrijević, Gordana S. Stojanović, Ivan R. Palić, Aleksandra S. Dordević, Jovana D. Ickovski, 2015. *Xanthine Oxidase: Isolation, Assays of Activity, and Inhibition*. Journal of chemistry. Vol 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/294858>.

**AUTHOR INFORMATION**

**Le Thi Hong Nhung**

Hanoi University of Industry