



DOI:10.22144/ctu.jvn.2022.122

KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG POLYPHENOL, FLAVONOID VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO CHIẾT TỪ VỎ CHÔM CHÔM (*Nephelium lappaceum* L.)

Huỳnh Ngọc Trung Dung^{1*}, Hà Đăng Huy², Nguyễn Ngọc An², Nguyễn Phú Quý¹ và Phạm Đoàn Vi¹

¹Khoa Dược - Điều Dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

²Sinh viên Khoa Dược - Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Huỳnh Ngọc Trung Dung (email: hntrungdung@gmail.com)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 28/04/2022

Ngày nhận bài sửa: 25/05/2022

Ngày duyệt đăng: 16/06/2022

Title:

Evaluation of total polyphenol, flavonoid contents and biological activities of the extracts from rambutan rinds (*Nephelium lappaceum* L.)

Từ khóa:

Flavonoid, gây độc tế bào, kháng oxy hóa, polyphenol, ức chế α -glucosidase, vỏ chôm chôm

Keywords:

Antioxidant, cytotoxicity, flavonoid, polyphenol, *Nephelium lappaceum*, α -glucosidase

ABSTRACT

The extracts from the peels of three different types of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) were initially examined for chemical composition in making optimal use of by-products in agriculture and food processing. It was discovered that the rambutan peel extracts contain a variety of chemicals, including tannins, polyuronic compounds, proanthocyanidin saponins, flavonoids, triterpenoids, carotenoids, and organic acids, as well as reducing agents. The contents of polyphenol and flavonoid along with DPPH radical scavenging activity of these extracts were also determined, standing out from the others were the extracts of the rambutan (i) rind with the corresponding results of 199.65 mg GAE/g, 457.44 mg QE/g (on dried weight) and $IC_{50, DPPH} = 33.28 \mu\text{g/mL}$. In addition, these extracts also showed α -glucosidase inhibitory activity to interfere with the absorption of sugar into the blood and cytotoxicity to breast cancer (MCF-7 cell line) activities. The corresponding results revealed that $IC_{50, \alpha\text{-glucosidase}}$ represented from 1.61 to 5.96 $\mu\text{g/mL}$ while the percentage of MCF-7 cell cytotoxicity ranged from 81.73% to 82.06% at the concentration of 150 $\mu\text{g/mL}$.

TÓM TẮT

Để tận dụng tối ưu nguồn phụ phẩm trong nông nghiệp và trong chế biến thực phẩm, các mẫu cao chiết từ vỏ của 3 giống chôm chôm (*Nephelium lappaceum* L.) được khảo sát sơ bộ về thành phần hóa học, phát hiện có chứa các nhóm chất như: polyphenol, flavonoid, triterpenoid, carotenoid, proanthocyanidin saponin, tannin, hợp chất polyuronic, acid hữu cơ và chất khử. Hàm lượng polyphenol, flavonoid và khả năng bắt gốc tự do DPPH cũng được xác định, nổi bật nhất là cao chiết từ vỏ chôm chôm nhân với kết quả tương ứng là 199,65 mg GAE/g; 457,44 mg QE/g (dược liệu khô) và $IC_{50, DPPH} = 33,28 \mu\text{g/mL}$. Bên cạnh đó, các mẫu cao chiết trong nghiên cứu này cũng thể hiện khả năng cao trong việc ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase, làm chậm quá trình hấp thu đường vào máu cũng như khả năng gây độc tế bào ung thư vú (MCF-7), các kết quả tương ứng là $IC_{50, \alpha\text{-glucosidase}}$ từ 1,61 đến 5,96 $\mu\text{g/mL}$ và phần trăm khả năng gây độc tế bào ung thư vú ở nồng độ 150 $\mu\text{g/mL}$ từ 81,73% đến 82,06%.

1. GIỚI THIỆU

Theo Dubey et al. (2004), có khoảng 80% dân số thế giới tin dùng các loại thảo dược do chứa nhiều

các hợp chất tự nhiên có tác dụng kháng oxy hóa mạnh, ngăn ngừa stress và các bệnh mãn tính. Bên cạnh đó, các chất kháng oxy hóa tự nhiên như polyphenol và flavonoid còn được xem là những

chất có khả năng chống ung thư, hạ đường huyết, chống lão hóa và phòng ngừa các bệnh tim mạch (Dixon et al., 2005). Các nghiên cứu gần đây trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của vỏ chôm chôm (*N. lappacium* L.) cho thấy khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, chống viêm do chứa ellagic acid, corilagin, geraniin (Thitilertdecha et al., 2008; Khonkarn et al., 2010; Palanisamy et al., 2011; Fidrianny et al., 2015; Soeng et al., 2015). Tại Việt Nam, các khảo sát của Thông và ctv. (2011) đã chỉ ra tác dụng bảo vệ gan của vỏ chôm chôm, đồng thời không ảnh hưởng đến các thông số sinh hóa và huyết học khi sử dụng trong thời gian dài. Theo kết quả nghiên cứu của Thảo và ctv. (2012), quá trình phân lập và định danh cấu trúc hóa học từ

vỏ chôm chôm thu được 3 hợp chất flavonoid glycosid là kaempferol 7-O- α -L-rhamnopyranoside, kaempferol 3-O- α -L-rhamnopyranoside và kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside 7-O- α -L-rhamnopyranoside có khả năng khử gốc tự do, ngừa ung thư, các bệnh về gan và tim mạch.

Nghiên cứu này được tiến hành trên các mẫu cao chiết ethanol 96% từ vỏ của 3 giống chôm chôm ở đồng bằng sông Cửu Long, gồm: Chôm chôm nhãn (i), chôm chôm Thái (ii) và chôm chôm Java (iii). Các mẫu cao được xác định thành phần hóa thực vật, hàm lượng polyphenol, flavonoid toàn phần và một số hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, ức chế α -glucosidase và gây độc tế bào ung thư vú (MCF-7).



Hình 1. Quả 3 giống chôm chôm

Ghi chú: Chôm chôm nhãn (i), chôm chôm Thái (ii), chôm chôm Java (iii)

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương tiện

Vật liệu: Quả của 3 giống chôm chôm (danh pháp 2 phần: *Nephelium lappacium* L.) được thu hái vào lúc sáng sớm, ở huyện Trà Ôn, tỉnh Vĩnh Long. Sau thu hái 1 ngày, chôm chôm được bóc tách thu vỏ làm nguyên liệu nghiên cứu, vỏ được thái mỏng, sấy ở 60°C và xay thành bột.

Hóa chất: Ethanol 70%, ethanol 96%, methanol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma, USA), ascorbic acid (Sigma, USA), quercetin (Sigma, USA), gallic acid (Sigma, USA), Folin-Ciocalteu (Sigma, USA), môi trường Eagle's Minimal Essential Medium (E'MEM) (Sigma, USA), L-glutamine (Sigma, USA), 4-(2-hydroxyetyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES) (Sigma, USA), amphotericin B (Sigma, USA), penicillin G (Sigma, USA), streptomycin, huyết thanh bào thai bò-fetal bovine serum (FBS) (USA), trichloroacetic acid 50% (Sigma), sulforhodamine B 0,2% (Sigma), chất đối chứng camptothecin (Calbiochem), chất đối chứng acarbose (Sigma, USA), α -glucosidase (Sigma, USA), chất nền *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (Sigma, USA), tế bào MCF-7 (ATCC, USA), AlCl₃ (Merck), NaOH (Merck), NaNO₂ (Trung Quốc), Na₂CO₃ (Trung Quốc).

Thiết bị: Tủ sấy Memmert UN55 (Đức), bếp cách thủy Memmert (Đức), cân phân tích độ ẩm MB27 Ohaus (Mỹ), máy đo quang Gene Quant 1300, máy ELISA, máy đo quang phổ UV-1800 SHIMADZU (Nhật Bản), máy xay nguyên liệu, bình hút âm, micropipette các loại và một số dụng cụ khác trong phòng thí nghiệm.

Địa điểm thực hiện: Phòng thí nghiệm Hóa Sinh – Trường Đại học Tây Đô (Tp. Cần Thơ), Phòng thí nghiệm sinh học phân tử - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên (Tp. HCM), Viện Dược liệu - Trung tâm Sâm và Dược liệu (Tp. HCM).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Xác định độ ẩm dược liệu

Độ ẩm dược liệu được xác định dựa trên phương pháp mất khối lượng do làm khô với cân phân tích độ ẩm MB27 Ohaus. Một lớp dược liệu đã được xay nhuyễn và trải lên đĩa nhôm của cân (khoảng 1,5 g), sau đó vận hành cân và ghi nhận kết quả độ ẩm (kết quả trung bình độ ẩm dưới 13%, theo Phụ lục 9.6 của Dược điển Việt Nam V.).

2.2.2. Điều chế cao chiết

Vỏ chôm chôm được chiết xuất bằng phương pháp ngâm lạnh kết hợp khuấy trộn ở nhiệt độ phòng với dung môi ethanol 96% theo tỷ lệ 1/15

Bảng 1. Độ ẩm và hiệu suất chiết

Mẫu cao chiết	Độ ẩm được liệu (%)	Độ ẩm cao chiết (%)	Hiệu suất chiết (%)
Chôm chôm nhân	3,78	11,42	57,08
Chôm chôm Thái	10,30	12,87	46,90
Chôm chôm Java	6,88	14,22	49,81

2.2.3. Phương pháp khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật

Phương pháp định tính được thực hiện theo mô tả của Ciuley có cải tiến của Hùng (2014). Các mẫu cao chiết được thực hiện ở nồng độ 10 mg/mL, được định tính với các hóa chất và thuốc thử có sẵn ở phòng thí nghiệm.

2.2.4. Phương pháp định lượng polyphenol

Hàm lượng polyphenol được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu (Waterman & Mole, 1994). Trong thành phần thuốc thử Folin-Ciocalteu có phức hợp phospho-wolfarm-phosphomolybdate bị khử bởi các hợp chất polyphenol tạo thành sản phẩm phản ứng có màu xanh dương, hấp thụ cực đại ở bước sóng 758 nM. Hàm lượng polyphenol có trong mẫu tỉ lệ thuận với cường độ màu và được tính theo hàm lượng gallic acid.

Tiếp đến, methanol được dùng để pha loãng các mẫu cao chiết thành những dung dịch có nồng độ 1.000 µg/mL và pha chất chuẩn gallic acid thành những nồng độ 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL; thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% được pha loãng bằng nước cất.

Lần lượt cho 1 mL mẫu cần định lượng hoặc dung dịch gallic acid chuẩn vào bình định mức 10 mL đã có sẵn 6 mL nước cất, lắc đều. Sau đó, thêm tiếp 0,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều và để yên. Sau 5 phút, thêm tiếp 1,5 mL Na₂CO₃ 20%. Lắc đều, thêm nước cất để đạt thể tích 10 mL. Hỗn hợp được để yên trong tối 2 giờ, sau đó, đo độ hấp thụ ở bước sóng 758 nM. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, giá trị độ hấp thụ quang phổ (A) được ghi nhận để tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn xác định hàm lượng polyphenol toàn phần trong các mẫu cao chiết.

2.2.5. Phương pháp định lượng flavonoid

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp so màu với AlCl₃ (Zhishen et al., 1999; Marinova et al., 2005). Dùng methanol pha loãng 4 mẫu cao chiết để đạt nồng độ 1.000 µg/mL và dung dịch flavonoid chuẩn quercetin ở các nồng độ 100, 250, 500, 750, 1.000 µg/mL. Các dung dịch

hóa chất NaNO₂ 5%, AlCl₃ 10%, NaOH 1 M được pha loãng bằng nước cất.

Cho vào bình định mức 10 mL (đã có chứa 4 mL nước cất) 1 mL thể tích mẫu cần định lượng hoặc chất chuẩn quercetin. Thêm tiếp vào bình định mức trên 0,3 mL NaNO₂ 5%. Sau 5 phút, cho thêm vào 0,3 mL AlCl₃ 10%. Sau 6 phút, cho tiếp vào 2 mL NaOH 1M, lắc đều, định mức lên thể tích 10 mL. Sau đó, độ hấp thụ được tiến hành đo ở bước sóng 510 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, giá trị độ hấp thụ quang phổ (A) được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn để sử dụng xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong các mẫu cao chiết.

2.2.6. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Hoạt tính kháng oxy hóa được khảo sát bằng phương pháp khử gốc tự do DPPH (Viện Dược liệu, 2006; Wojdylo et al., 2007; Chanda and Dave, 2009) với một số hiệu chuẩn. Dung dịch DPPH nồng độ 0,6 mM; các mẫu cao chiết ở nồng độ 1, 5, 10, 25, 50, 100 µg/mL và đối chứng dương ascorbic acid ở nồng độ 6, 8, 10, 12, 14, 16 µg/mL được pha loãng bằng methanol.

Lần lượt cho 0,5 mL dung dịch thử vào ống nghiệm đã có sẵn 3 mL MeOH, tiếp theo là 0,5 mL dung dịch DPPH 0,6 mM. Đối với mẫu đối chứng âm, dung dịch được thử bằng MeOH và ống nghiệm của mẫu trắng chỉ chứa MeOH. Sau khi pha, các ống nghiệm được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng 30 phút, sau đó đo độ hấp thụ quang phổ (A) ở bước sóng 517 nM. Phần trăm hoạt tính kháng oxy hóa được xác định bởi công thức:

$$[(A_{\text{chứng âm}} - A_{\text{thử}}) / A_{\text{chứng âm}}] \times 100$$

Thông qua mối tương quan thuận giữa phần trăm kháng oxy hóa và dãy nồng độ, phương trình đường tuyến tính có dạng $y = ax + b$, thay giá trị $y = 50$, tính được giá trị IC₅₀ (nồng độ có khả năng khử 50% DPPH của mẫu). Giá trị IC₅₀ càng nhỏ tương ứng với hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh và ngược lại. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị trung bình của 3 lần đo khác nhau.

2.2.7. Khảo sát hoạt tính ức chế α-glucosidase

Hoạt tính ức chế α-glucosidase *in vitro* được khảo sát bằng phương pháp mô tả bởi Andrade-Cetto et al. (2008), Kwon et al. (2008) và Dong et al. (2012) với một số hiệu chỉnh.

Tiến hành khảo sát trên đĩa 96 giếng: Chuẩn bị các dung môi hóa chất cần thiết và tiến hành khảo sát trên đĩa 96 giếng, mỗi nồng độ 3 lần lặp lại với đối chứng dương. Hỗn hợp gồm 60 µL dung dịch chứa mẫu và 50 µL dung dịch đệm phosphate 0,1 M

(pH 6,8) có chứa dung dịch α -glucosidase (0,2 IU/mL) được ủ trong các giếng của đĩa 96 ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút. Sau đó, thêm 50 μ L dung dịch *p*-NPG được pha trong dung dịch đệm phosphate 0,1 M (pH 6,8) vào từng giếng và tiếp tục ủ trong 20 phút. Sau đó đo độ hấp thụ quang phổ (A) được ghi lại ở bước sóng 405 nm bằng máy đọc vi đĩa model Elx808 (Biotek, Mỹ) và so sánh với một mẫu chứng âm chứa 60 μ L dung dịch đệm thay cho mẫu thử. Phần trăm hoạt tính ức chế α -glucosidase được xác định theo công thức:

$$\frac{[A_{\text{chứng âm}} - A_{\text{thử}}]/A_{\text{chứng âm}}}{1} \times 100$$

Thông qua mối tương quan thuận giữa phần trăm ức chế α -glucosidase và dãy nồng độ, xây dựng phương trình đường cong phi tuyến tính có dạng $y = \ln(x) + b$, thay giá trị $y = 50$, tính được giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% hoạt tính của α -glucosidase của mẫu). Mẫu có hoạt tính ức chế càng mạnh khi giá trị IC_{50} càng nhỏ. Thông qua IC_{50} , hoạt tính ức chế α -glucosidase được đánh giá và so sánh giữa các mẫu cao chiết với nhau và so với đối chứng dương.

2.2.8. Khảo sát gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư vú (MCF-7)

Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp sulforhodamine B (Skehan et al., 1990) với một số hiệu chỉnh. Dòng tế bào ung thư vú (MCF-7) được nuôi cấy trong môi trường E'MEM có bổ sung L-glutamin (2 mL), HEPES (20 mM), amphotericin B (0,025 μ g/mL), penicillin G (100 IU/mL), streptomycin (100 μ g/mL), 10% huyết thanh bào thai bò và ủ ở 37°C, 5% CO₂. Tế bào đơn được cấy trên những đĩa nuôi cấy 96 giếng với mật độ là 10⁴ tế bào/giếng. Sau 24 giờ nuôi cấy, quần thể tế bào được ủ với chất khảo sát ở các nồng độ khác nhau trong 48 giờ. Sau đó, protein tổng từ tế bào thử nghiệm được cố định bằng dung dịch trichloroacetic acid 50% lạnh và nhuộm với dung dịch sulforhodamine B 0,2%. Kết quả được đọc bằng máy ELISA reader ở hai bước sóng 492 nm và 620 nm. Các thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn. Đối chứng dương cho các mẫu cao chiết được sử dụng là chất chuẩn camptothecin. Sau khi có giá trị mật độ quang ở bước sóng 492 nm và 620 nm (ký hiệu là OD₄₉₂ và OD₆₂₀):

$$\text{Tính OD}_{492} \text{ (hoặc OD}_{620}) = OD_{\text{tb}} - OD_{\text{blank}} \quad (1)$$

$$\text{Tính giá trị OD}_{\text{tn}} = OD_{492} - OD_{620} \quad (2)$$

Tính tỉ lệ (%) gây độc tế bào theo công thức:

$$\left(1 - \frac{OD_{\text{tn}}}{OD_c}\right) \times 100$$

Với: OD_{tb}: Giá trị OD của giếng có chứa tế bào

OD_{blank}: Giá trị OD của giếng không có tế bào
OD_{tn}: Giá trị OD của mẫu thử tính từ công thức (1) và (2)

OD_c: Giá trị OD của mẫu chứng âm tính từ công thức (1) và (2)

2.2.9. Khảo sát phân tích mối tương quan kết quả

Các số liệu được phân tích, xử lý thống kê và khảo sát tương quan bằng phần mềm SPSS 16.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả sơ bộ thành phần hóa thực vật

Kết quả khảo sát sơ bộ một số hợp chất tự nhiên có trong vỏ của 3 giống chôm chôm được thể hiện qua Bảng 2 cho thấy vỏ của cả 3 giống chôm chôm đều có các nhóm hợp chất giống nhau như: Polyphenol, flavonoid, saponin, tannin, carotenoid, proanthocyanidin, triterpenoid, hợp chất polyuronic, acid hữu cơ và chất khử. Ngoài ra, vỏ chôm chôm nhân và chôm chôm Thái còn có anthraquinone, anthocyanoside; riêng coumarin thì chỉ có trong vỏ chôm chôm Thái.

Bảng 2. Thành phần hóa học có trong vỏ của 3 giống chôm chôm

Nhóm hợp chất	Chôm chôm nhân	Chôm chôm Thái	Chôm chôm Java
Polyphenol	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Saponin	+	+	+
Tannin	+	+	+
Carotenoid	+	+	+
Coumarin	-	+	-
Anthraquinone	+	+	-
Anthocyanoside	+	+	-
Proanthocyanidin	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+
Acid hữu cơ	+	+	+
Chất khử	+	+	+
Hợp chất polyuronic	+	+	+

Ghi chú: (-) Không có; (+) Có

Các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy, sự hiện diện của nhiều hợp chất phenolic có các đặc tính quan trọng trong vỏ và hạt chôm chôm (Soeng et al., 2015; Hernández-Hernández, 2019). Bên cạnh đó, trong vỏ chôm chôm còn có sự hiện diện của các hợp chất như phenolic acid, hydroxycinnamic acid, các flavan-3-ol (gallic acid, *p*-coumaric acid, catechin, rutin) và tannin (Thitilertdecha et al., 2010; Palanisamy et al., 2011; Sun et al., 2012). Trước đó, Thitilertdecha et al. (2010) đã chứng minh những

hợp chất này có hoạt tính mạnh hơn so với chất kháng oxy hóa tổng hợp butylated hydroxytoluene.

3.2. Kết quả định lượng polyphenol và flavonoid toàn phần

Hàm lượng polyphenol toàn phần (TPC) và flavonoid toàn phần (TFC) có trong các cao chiết ethanol 96% của vỏ chôm chôm được xác định dựa

vào phương trình tuyến tính của chất chuẩn tương ứng là gallic acid ($y = 0,012330x + 0,018127$, $R^2 = 0,9993$) và quercetin ($y = 0,000355x + 0,014325$, $R^2 = 0,9925$). Độ hấp thụ quang phổ (A) được thay giá trị trung bình sau 3 lần đo của mỗi mẫu vào y, tính được hàm lượng hoạt chất trong các mẫu cao chiết, kết quả được trình bày ở Bảng 3:

Bảng 3. Kết quả hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các cao chiết

Mẫu cao chiết	TPC (mg GAE/g DLK)	TFC (mg QE/g DLK)
Chôm chôm nhân	199,65 ± 0,76 ^a	457,44 ± 32,77 ^a
Chôm chôm Thái	152,02 ± 2,13 ^b	214,94 ± 1,48 ^b
Chôm chôm Java	197,57 ± 1,42 ^a	226,93 ± 3,21 ^b

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey. **TPC (Total polyphenol content):** Hàm lượng polyphenol toàn phần. **TFC (Total flavonoid content):** Hàm lượng flavonoid toàn phần. **DLK:** Dược liệu khô.

Kết quả cho thấy có sự khác biệt về hàm lượng TPC và TFC giữa các mẫu cao thử nghiệm ($p < 0,05$), cao chiết từ vỏ chôm chôm nhân và chôm chôm Java có hàm lượng TPC cao nhất, với lần lượt là $199,65 \pm 0,76$ và $197,57 \pm 1,42$ mg GAE/g DLK, trong khi lượng TFC nổi trội nhất trong cao chiết vỏ chôm chôm nhân ($470,73$ mg QE/g DLK). Điều này cho thấy, sự thay đổi về vị trí thổ nhưỡng có thể làm ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol, flavonoid và những chất khác có trong cây (Zhang et al., 2018).

Theo khảo sát của Yunusa et al. (2018), hàm lượng polyphenol trong cao chiết ethanol nhiều hơn trong cao chiết nước 4,89 lần. Điều này cho thấy ethanol là dung môi phù hợp hơn để chiết xuất các hoạt chất có trong vỏ trái cây.

3.3. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Hoạt tính kháng oxy hóa được đánh giá qua khả năng ức chế gốc tự do DPPH, thể hiện qua giá trị IC_{50} của các cao thử nghiệm (Bảng 4).

Bảng 4. Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hóa

Mẫu cao chiết	Phương trình tuyến tính	R^2	Giá trị IC_{50} (µg/mL)
Ascorbic acid	$y = 1,5328x + 29,5390$	0,9900	13,35 ± 0,86 ^a
Chôm chôm nhân	$y = 1,4337x + 2,2873$	0,9954	33,28 ± 0,23 ^a
Chôm chôm Thái	$y = 1,2372x + 2,9064$	0,9986	38,06 ± 1,11 ^b
Chôm chôm Java	$y = 0,9443x + 4,0654$	0,9591	48,64 ± 0,87 ^c

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey. **R^2 :** Hệ số xác định. **IC_{50} :** Nồng độ ức chế tối đa 50%.

Cả 3 loại vỏ chôm chôm đều có tác dụng kháng oxy hóa khá tốt, nổi bật nhất là cao chiết ethanol 96% từ vỏ chôm chôm nhân ($IC_{50} = 33,28 \pm 0,23$ µg/mL). Tuy nhiên, hiệu quả ức chế gốc tự do DPPH của các mẫu thử nghiệm vẫn còn thấp khi so với đối chứng dương ascorbic acid ($IC_{50} = 13,38 \pm 0,86$ µg/mL) khoảng 2,5 lần. Theo cùng phương pháp và dung môi chiết xuất thì kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Okonogi et al. (2007) ($IC_{50} = 6 \pm 0,003$ µg/mL) khoảng 5,6 lần. Sự khác biệt này có thể đến từ điều kiện sinh trưởng, thời điểm thu hoạch mẫu dẫn đến những khác biệt về khả năng sinh học của loài. Ngoài ra, điều kiện trang thiết bị nghiên cứu cũng có thể góp phần dẫn đến sự chênh lệch kết quả từ hai bài nghiên cứu.

Việc ngâm mẫu với ethanol 96% có nhiều ưu thế về khả năng ức chế gốc tự do DPPH so với khảo sát của Uduwela et al. (2019) trên các mẫu cao chiết với nước cất ($IC_{50} = 398,95$ µg/mL, lớn hơn nghiên cứu này khoảng 8,2 lần). Để làm rõ về điều này, nghiên cứu của Yunusa et al. (2018) đã khảo sát hàm lượng polyphenol toàn phần trên 2 mẫu cao vỏ chôm chôm từ ethanol và nước. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng polyphenol trong chiết xuất ethanol cao hơn gấp 4,89 lần. Có thể khẳng định, khả năng kháng oxy hóa bị ảnh hưởng phần nào bởi hàm lượng hoạt chất trong mẫu. Lượng polyphenol thu được nhiều hơn trong quá trình chiết xuất bằng ethanol đã góp phần nâng cao kết quả khảo sát này.

3.3. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế α -glucosidase

Khả năng ức chế hoạt động của α -glucosidase trên các cao thử nghiệm và chất đối chứng acarbose được thể hiện qua Bảng 5, giá trị IC_{50} của các mẫu dao động từ 1,61-6,86 $\mu\text{g/mL}$. Các kết quả phân tích hồi quy tuyến tính bằng phép thử Turkey trong khảo sát này không cho thấy sự khác biệt về khả năng ức chế α -glucosidase giữa các mẫu nghiên cứu. Cả 3 mẫu cao chiết đều cho thấy kết quả vượt trội so với đối chứng dương acarbose ($IC_{50} = 126 \pm 4,27$

$\mu\text{g/mL}$) khoảng 18,37 lần. Từ đó cho thấy, vỏ chôm chôm có khả năng kháng enzyme α -glucosidase rất tốt, có tiềm năng cho mục tiêu nghiên cứu và sản xuất thuốc hỗ trợ điều trị các bệnh tăng đường huyết từ nguyên liệu vỏ chôm chôm. Tuy vậy, việc biết đối chứng dương acarbose là một pseudo-tetrasaccharide được chuyển hóa nhờ vi khuẩn đường ruột mới thể hiện hoạt tính là cần thiết (Nahoum et al., 2000). Do đó, những khảo sát tương tự trên *in vivo* cần thực hiện thêm để có sự đánh giá chuẩn xác hơn về hiệu quả ức chế α -glucosidase của vỏ chôm chôm.

Bảng 5. Kết quả về khả năng ức chế α -glucosidase

Mẫu cao chiết	Phương trình đường cong phi tuyến tính	R ²	Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Acarbose	$y = 17,5250\ln(x) - 35,0360$	0,9883	$126,00 \pm 4,27^a$
Chôm chôm nhẵn	$y = 22,7030\ln(x) + 28,1480$	0,9499	$2,57 \pm 0,05^b$
Chôm chôm Thái	$y = 33,0460\ln(x) - 8,7082$	0,9481	$5,96 \pm 0,16^b$
Chôm chôm Java	$y = 23,6410\ln(x) + 38,6990$	0,9704	$1,61 \pm 0,01^b$

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey. R²: Hệ số xác định. IC₅₀: Nồng độ ức chế tối đa 50%.

So với nghiên cứu của Palanisamy et al., (2011) (IC_{50} là $0,4 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}$) trên các mẫu cao chiết bằng phương pháp ngâm có hỗ trợ khuấy trộn bằng bình lắc quỹ đạo, kết quả từ đề tài này vẫn còn thấp hơn, khoảng 4,03 lần. Việc sử dụng máy lắc quỹ đạo trong quá trình ngâm mẫu làm tăng sự khuếch tán của dung môi bằng cách tạo ra sự khuấy động liên tục, tăng cường thâm thấu vào các mô tế bào, kéo thêm nhiều hoạt chất mà phương pháp ngâm lạnh truyền thống không làm được (Saghir et al., 1993). Qua đó, kết quả nghiên cứu là hướng gợi ý để các đề tài sau có sự cải tiến về phương pháp chiết xuất nhằm thu được tối đa lượng hoạt chất.

3.4. Kết quả khảo sát khả năng gây độc tế bào ung thư vú (MCF-7)

Khả năng gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 của 3 loại cao chiết vỏ chôm chôm không cho thấy sự khác biệt (Bảng 6). Khảo sát ở nồng độ 150 $\mu\text{g/mL}$, vỏ chôm chôm ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư vú (MCF-7) khá tốt, hơn 80% tế bào ung thư bị tiêu diệt tại nồng độ. Tuy nhiên, khả năng ngăn ngừa ung thư của các mẫu nghiên cứu vẫn thấp hơn so với đối chứng dương camptothecin vì ở nồng độ 0,01 $\mu\text{g/mL}$ camptotecin đã ức chế được 55,65%.

Với kết quả thu được cho thấy, 3 mẫu cao chiết thử nghiệm chứa các hợp chất tự nhiên có khả năng tiêu hủy tế bào ung thư vú dòng MCF-7. Nghiên cứu

của Khaizil et al. (2013) khảo sát khả năng gây độc trên dòng tế bào ung thư vú khác (MDA-MB-231) của dịch chiết methanol từ chôm chôm vỏ vàng và vỏ đỏ, giá trị IC_{50} lần lượt là $5,42 \pm 1,67$ và $12,4 \pm 1,99 \mu\text{g/mL}$. Kết quả nghiên cứu cho thấy tiềm năng lớn của vỏ chôm chôm trong việc ức chế quá trình tồn tại và phát triển của các dòng tế bào ung thư vú. Vì vậy, việc tiến hành thêm các khảo sát ở các đề tài sau để xác định nồng độ IC_{50} gây độc tế bào MCF-7 hoặc mở rộng đánh giá trên một vài dòng tế bào ung thư khác nhằm làm rõ hơn về hoạt tính này của 3 loại vỏ chôm chôm là cần thiết.

Bảng 6. Kết quả về gây độc tế bào ung thư vú (MCF-7)

Mẫu cao chiết	Nồng độ khảo sát ($\mu\text{g/mL}$)	Phần trăm gây độc tế bào (%)
Camptotecin	0,01	$55,16 \pm 5,56$
Chôm chôm nhẵn	150	$82,06 \pm 2,50$
Chôm chôm Thái	150	$81,80 \pm 3,29$
Chôm chôm Java	150	$81,73 \pm 1,87$

3.5. Kết quả phân tích mối tương quan kết quả

Từ các kết quả nghiên cứu, mối tương quan được phân tích bằng phép thử Pearson giữa các chỉ tiêu: Hàm lượng polyphenol, flavonoid, IC_{50} , DPPH và IC_{50} , α -glucosidase. Kết quả được thể hiện ở Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả phân tích mối tương quan kết quả

	Polyphenol	Flavonoid	IC ₅₀ , DPPH	IC ₅₀ , α -glucosidase
Polyphenol	1	0,599	0,174	- 0,965**
Flavonoid		1	- 0,689*	- 0,350
IC₅₀, DPPH			1	- 0,400
IC₅₀, α-glucosidase				1

Ghi chú: *. Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,05; **. Tương quan có ý nghĩa ở mức 0,01.

Kết quả phân tích từ Bảng 6 cho thấy, hàm lượng polyphenol có sự tương quan nghịch với giá trị IC₅₀, α -glucosidase tại mức ý nghĩa 0,01 (r = - 0,965), trong khi lượng flavonoid tương quan nghịch với giá trị IC₅₀, DPPH tại mức ý nghĩa 0,05 (r = - 0,689). Điều này chứng tỏ, lượng polyphenol trong mẫu quyết định đến khả năng ức chế α -glucosidase trong khi nhóm flavonoid sẽ tác động trực tiếp đến khả năng kháng oxy hóa của các mẫu thử.

4. KẾT LUẬN

Ngoài các anthraquinone, anthocyanoside và coumarin chỉ có riêng trên 1 hay 2 giống chôm chôm thì hầu hết các nhóm hợp chất được khảo sát như polyphenol, flavonoid, saponin, tannin, carotenoid, proanthocyanidin, triterpenoid, hợp chất polyuronic, acid hữu cơ và chất khử đều được phát hiện ở vỏ của cả 3 giống. Hàm lượng polyphenol và flavonoid của vỏ chôm chôm nhãn là cao nhất, chính lượng flavonoid đáng kể trong vỏ chôm chôm nhãn đã góp phần thúc đẩy khả năng kháng oxy hóa mạnh mẽ

hơn so với 2 giống còn lại. Trong khi đó, khả năng ức chế enzyme α -glucosidase ở cả 3 giống là như nhau. Ngoài ra, các mẫu vỏ chôm chôm trong nghiên cứu còn cho thấy khả năng tiêu diệt hơn 80% tế bào ung thư vú MCF-7 tại nồng độ khảo sát 150 μ g/mL dù vẫn còn yếu hơn đáng kể đối chứng dương camptothecin. Kết quả từ đề tài này là cơ sở cho việc đánh giá bước đầu về tiềm năng sinh học của vỏ chôm chôm, làm tiền đề cho những cải tiến về phương pháp chiết xuất cũng như mở rộng nghiên cứu đối với các hoạt tính tương tự trên *in vivo*. Từ đó, phát triển các sản phẩm ứng dụng từ vỏ chôm chôm sẽ góp phần giải quyết bài toán cho việc xử lý lượng phụ phẩm trong ngành nông nghiệp và chế biến thực phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn trường Đại học Tây Đô đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J., & Cárdenas-Vázquez, R. (2008). Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1), 27-32. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.031>
- Chanda, S., & Dave, R. (2009). *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*, 3(13), 981-996. <https://doi.org/10.5897/AJMR.9000401>
- Dixon, R. A., Xie, D. Y., & Sharma, S. B. (2005). Proanthocyanidins—a final frontier in flavonoid research?. *New Phytologist*, 165(1), 9-28. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01217.x>
- Dong, H. Q., Li, M., Zhu, F., Liu F. L., & Huang, J. B. (2012). Inhibitory potential of trilobatin from *Lithocarpus polystachyus* Rehd against α -glucosidase and α -amylase linked to type 2 diabetes. *Food Chemistry*, 130(2), 261-266. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.030>
- Dubey, N. K., Kumar, R., & Tripathi, P. (2004). Global promotion of herbal medicine: India's opportunity. *Current Science*, 86, 37-41. <https://www.jstor.org/stable/24109515>
- Fidrianny, I., Fikayuniar, L., & Insanu, M. (2015). Antioxidant activities of various seed extracts from four varieties of rambutan (*Nephelium lappaceum*) using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,2'-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) assays. *Asian Journal of Pharmaceutical Clinical Research*, 8(5), 215-219.
- Hernández-Hernández, C., Aguilar, C. N., Rodríguez-Herrera, R., Flores-Gallegos, A. C., Morlett-Chávez, J., Govea-Salas, M., & Ascacio-Valdés, J. A. (2019). Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.): Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 85, 201-210. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.018>
- Hùng, T. (2014). *Giáo trình Phương pháp nghiên cứu dược liệu*. Bộ môn Dược liệu. Trường Đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh. Tp. Hồ Chí Minh, 25-49.

- Khaizil, E. Z., Nik, A. S. N. Z., & Mohd, D. S. (2013). Preliminary study on anti-proliferative activity of methanolic extract of *Nephelium lappaceum* peels towards breast (MDA-MB-231), cervical (HeLa) and osteosarcoma (MG-63) cancer cell lines. *Health and the Environment Journal*, 4, 66-79.
- Khonkarn, R., Okonogi, S., Ampasavate, C., & Anuchapreeda S. (2010). Investigation of fruit peel extracts as sources for compounds with antioxidant and antiproliferative activities against human cell lines. *Food Chemical Toxicology*, 48, 2122-2129. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.014>
- Kwon, Y. I., Apostolidis, E., & Shetty, K. (2008). Inhibitory potential of wine and tea against α -amylase and α -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. *Journal of Food Biochemistry*, 32, 15-31. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2007.00165.x>
- Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3), 255-260.
- Nahoum, V., Roux, G., Anton, V., Rougé, P., Puigserver, A., Bischoff, H., Henrissat, B., & Payan, F. (2000). Crystal structures of human pancreatic α -amylase in complex with carbohydrate and proteinaceous inhibitors. *Biochemical Journal*, 346(1), 201-208. <https://doi.org/10.1042/bj3460201>
- Okonogi, S., Duangrat, C., Anuchpreeda, S., Tachakittirungrod, S., & Chowwanapoonpohn, S. (2007). Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chemistry*, 103(3), 839-846. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.034>
- Palanisamy, U. D., Ling, L. T., Manaharan, T., & Appleton, D. (2011). Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chemistry*, 127(1), 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.070>
- Phụng, N. K. P. (2007). *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh.
- Saghir, N. S., Mulvancy, R. L., & Azam, F. (1993). Determination of nitrogen by microdiffusion in mason jars. I. Inorganic nitrogen in soil extracts. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 24(13-14), 1.745-1.762. <https://doi.org/10.1080/00103629309368912>
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S., & Boyd, M. R. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer - drug screening. *Journal of the National Cancer Institute*, 82, 1107-1112. <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/82.13.1107>
- Soeng, S., Evacuasiyany, E., Widowati, W., & Fauziah, N. (2015). Antioxidant and hypoglycemic activities of extract and fractions of Rambutan seeds (*Nephelium lappaceum* L.). *Biomedical Engineering*, 1(1), 13-18. [http://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(1\).150](http://doi.org/10.26656/fr.2017.2(1).150)
- Sun, L., Zhang, H., & Zhuang, Y. (2012). Preparation of free, soluble conjugate, and insoluble-bound phenolic compounds from peels of rambutan (*Nephelium lappaceum*) and evaluation of antioxidant activities *in vitro*. *Journal of Food Science*, 77(2), C198-C204. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02548.x>
- Thảo, H. T., Bé V. T., Trung P. V., & Hạnh N. N. (2012). Phân lập và nhận danh cấu trúc hóa học các hợp chất flavonoid glycosid từ vỏ trái chôm chôm (*Nephelium lappaceum* L.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 50(3A), 68-72.
- Thitilertdecha N., Teerawutgulrag A., & Rakariyatham N. (2008). Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *LWT-Food Science Technology*, 41, 2029-2035. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.01.017>
- Thitilertdecha, N., Teerawutgulrag, A., Kilburn, J. D., & Rakariyatham, N. (2010). Identification of major phenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L. and their antioxidant activities. *Molecules*, 15(3), 1453-1465. <https://doi.org/10.3390/molecules15031453>
- Thông, L. H., Hạnh, H. T. N., & Khôi, N. N. (2011). Tác dụng chống oxy hóa *in vitro* và *in vivo* của các phân đoạn từ cao chiết vỏ chôm chôm. *Tạp chí Y học Tp. Hồ Chí Minh*, 15(1), 334-342.
- Uduwela, U. D. H. K., Deraniyagala, S. A., & Thiripuranathar, G. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory potential of the aqueous extract of the peel of a Sri Lankan variety of *Nephelium lappaceum* Linn. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 8(2), 154-166.
- Viện Dược liệu (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- Waterman, P. G., & Mole, S. (1994). Analysis of phenolic plant metabolites. *Blackwell Scientific Publications*, Oxford, 73-99.
- Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105, 940-949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>
- Yunusa, A. K., Abdullahi, N., Rilwan, A., Abdulkadir, A. R., & Dandago, M. A. (2018).

- DPPH radical scavenging activity and total phenolic content of rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel and seed. *Annals Food Science Technology*, 19, 774-79.
- Zhang, C., Suen, C. L. C., Yang, C., & Quek, S. Y. (2018). Antioxidant capacity and major polyphenol composition of teas as affected by geographical location, plantation elevation and leaf grade. *Food Chemistry*, 244, 109-119. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.126>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)