

Khảo sát thành phần hóa thực vật và độc tính cấp của cao chiết lá Sa kê (*Artocarpus altilis* Moraceae)

Nguyễn Thị Kỳ Duyên¹, Nguyễn Trần Hưng Yên¹, Nguyễn Thị Thùy Trang^{1,*},
Nguyễn Linh Việt², Nguyễn Đức Hạnh²

¹Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

²Khoa Dược, Đại học Công nghệ Tp.HCM

ntttrang@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Lá cây Sa kê có rất nhiều tác dụng trong y học cổ truyền như: trị đái tháo đường, trị gout, xơ vữa động mạch, chống lo âu... Đề tài này được thực hiện với mục tiêu khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật, độc tính cấp của cao chiết lá Sa kê *Artocarpus altilis* Moraceae nhằm định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo về tác động dược lý của dược liệu này. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Đối tượng: Lá bánh tẻ Sa kê (*Artocarpus altilis* Moraceae) thu hái tại tỉnh Ninh Thuận. Phương pháp nghiên cứu: Chiết lá Sa kê bằng phương pháp chiết nóng. Khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật có trong lá và cao lá Sa kê bằng phương pháp Ciuley. Độc tính cấp được xác định theo phương pháp của Đỗ Trung Đàm [8]. Kết quả: Xác định được hợp chất trong cao chiết: flavonoid, triterpenoid, polyphenol, hợp chất polyuronic. Cao chiết chưa thấy biểu hiện độc tính trên chuột thử nghiệm với liều D_{max} (166,040g/kg). Kết luận: Lá Sa kê và cao đặc lá Sa kê có thành phần hóa học: flavonoid, triterpenoid, polyphenol, hợp chất polyuronic, chưa thấy biểu hiện độc tính trên chuột thử nghiệm với liều D_{max} (166,040g/kg).

Nhận 22.07.2020
Được duyệt 10.09.2020
Công bố 30.10.2020

Từ khóa

Artocarpus altilis,
cao chiết,
thành phần hóa học

© 2020 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Giới thiệu

Cây Sa kê (*Artocarpus altilis*, Moraceae) là loài cây phổ biến ở Việt Nam. Các nghiên cứu ngoài nước cho thấy Sa kê từ lá, quả đến rễ có nhiều tác dụng dược lý quan trọng: chống lo âu [1], chống xơ vữa động mạch [2], kháng khuẩn [3], trị đái tháo đường [4], tăng huyết áp [5], kháng viêm [6]... Ngoài ra, Sa kê còn được chứng minh là có tác dụng ngăn cản sự phát triển của tế bào ung thư [7]. Ở Việt Nam, Sa kê được xem là một vị thuốc trong các bài thuốc dân gian trị đau khớp, nhưng hiệu quả và tác dụng dược lý vẫn chưa được chứng minh. Vì vậy, đề tài được thực hiện với mục tiêu khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật, độc tính cấp của cao chiết lá Sa kê để làm cơ sở

cho các nghiên cứu tiếp theo về tác dụng dược lý của dược liệu này.

2 Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên vật liệu

Lá bánh tẻ Sa kê được thu hái tại tỉnh Ninh Thuận vào tháng 05/2018. Lá được rửa sạch, phơi dưới ánh nắng mặt trời sau đó đem sấy ở nhiệt độ 65 – 70°C, đem xay thành bột.

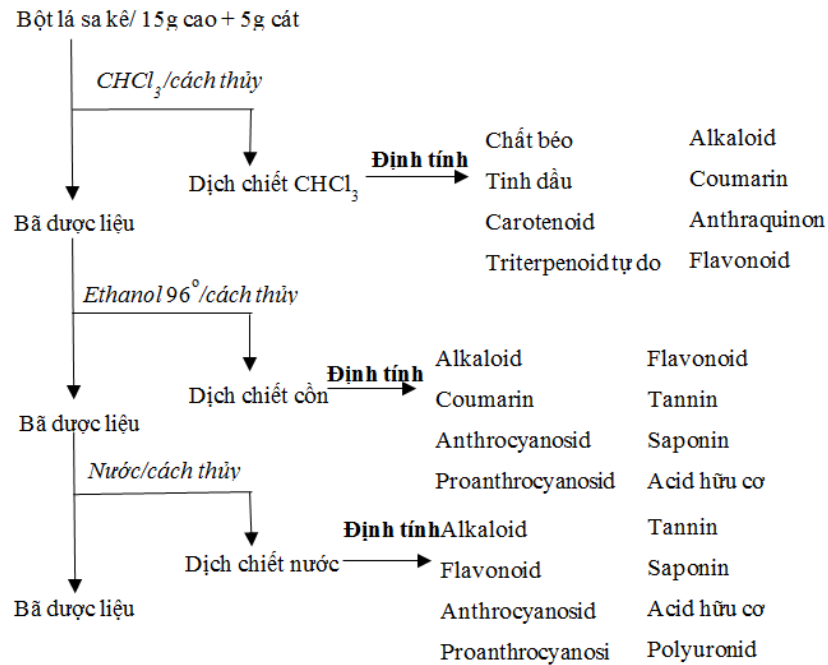
2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chiết xuất dược liệu

Cân 150 g bột lá Sa kê đã xay nhỏ vào bình nón có nút mài. Đun cách thủy bột lá Sa kê với 1500 mL nước cất trong 90 phút. Sau đó lọc nóng dịch chiết qua bông 2 lần. Dịch chiết nước được cô lại thành cao đặc.

2.2.2 Khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật





Hình 1 Phương pháp khảo sát thành phần hóa thực vật trên cao chiết lá Sa kê

2.2.3 Phương pháp xác định độc tính cấp

Chia chuột ngẫu nhiên vào các lô, mỗi lô 6 con (gồm 3 con đực và 3 con cái). Cho chuột thử nghiệm nhịn đói 12 giờ trước khi cho uống cao chiết liều tối đa có thể qua đường uống (nồng độ đặc nhất có thể qua kim uống, thể tích uống 0,2 mL/10 g trọng lượng chuột). Theo dõi và ghi nhận tất cả các cử động, biểu hiện, số lượng chết của chuột trong thời gian thử nghiệm trong 72 giờ đầu và tiếp tục theo dõi đến 14 ngày. Mổ và quan sát đại thể của những con chết và số con còn sống sau 14 ngày quan sát.

Có 3 trường hợp có thể xảy ra:

Trường hợp 1: Sau khi chuột được uống cao chiết, số lượng chuột thử nghiệm trong lô vẫn bảo toàn. Xác định liều cao nhất có thể qua kim mà không làm chết chuột thử nghiệm. Liều này kí hiệu là D_{max} và liều tương đối an toàn D_s dùng trong các thử nghiệm dược lí có thể bằng hoặc lớn hơn $1/5 D_{max}$.

Trường hợp 2: Sau khi chuột uống cao chiết, tỉ lệ tử vong là 100% thì thử với liều giảm $1/2$ so với liều ban đầu. Tiếp tục giảm liều cho đến khi tìm được liều tối thiểu gây chết 100% chuột (LD_{100}) và liều tối đa không gây chuột chết (LD_0). Tiến hành thử nghiệm xác định LD_{50} : chia chuột làm

6 lô, mỗi lô ít nhất 6 con. Chia 4 liều theo cấp số cộng để xác định từ $LD_0 - LD_{100}$. Ở những liều gần LD_{50} , tăng số lượng chuột mỗi lô lên để kết quả đo lường chính xác hơn. Theo dõi trong 72 giờ, ghi nhận biểu hiện và số lượng chuột tử vong hoặc sống ở các lô, lập phân suất tử vong để tìm LD_{50} . Sau đó áp dụng phương pháp Behrens-Karber để xác định LD_{50} .

Trường hợp 3: Sau khi chuột uống cao dược liệu, phân suất tử vong thấp hơn 100%, không xác định được liều gây chết tuyệt đối, không thể xác định được LD_{50} . Tuy nhiên trong trường hợp này có thể xác định liều tối đa không gây chuột chết, gọi là liều dưới liều chết (LD_0). Khi đó, liều tương đối an toàn D_s dùng trong các thử nghiệm dược lí có giá trị bằng $1/5$ hoặc $1/10$ liều LD_0 [8].

3 Kết quả

3.1 Kết quả chiết xuất dược liệu

Cao Sa kê thu được có màu nâu đỏ, mịn, thể chất đặc sệt, mùi thơm đặc trưng. Khối lượng cao thu được là 35,52g, hiệu suất chiết 23,68%, độ ẩm 18,04%. Cao chiết được xác định là cao đặc theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V.


3.2 Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học


Bảng 1 Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học của lá Sa kê

Nhóm hoạt chất	Kết quả định tính trên dịch chiết			*Kết quả định tính
	Dịch chiết $CHCl_3$	Dịch chiết cồn	Dịch chiết nước	
Chất béo	-			-
Carotenoid	-			-
Tinh dầu	-			-
Triterpenoid tự do	+			+
Alkaloid	-	±	±	±

Coumarin	-	-	-	-
Anthraglycosid	+			+
Flavonoid	-	+	+	+
Anthocyanosid (HCl)		-	-	-
Anthocyanosid (KOH)		-	-	-
Proanthocyanidin		+	-	±
Tannin (FeCl ₃)		-	+	±
Tannin (gelatin muối)		-	-	-
Saponin		-	+++	+
Acid hữu cơ		+	-	±
Hợp chất polyuronic			+	+

Giải thích ký hiệu (+): có; (-): không; (±): nghi ngờ


 Không có mặt của nhóm hoạt chất trong dịch chiết


 Có thể có phản ứng không thực hiện

Bảng 2 Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học của cao chiết lá Sa kê

Nhóm hoạt chất	Kết quả định tính trên dịch chiết			*Kết quả định tính chung
	Dịch chiết CHCl ₃	Dịch chiết cồn	Dịch chiết nước	
Chất béo	-			-
Carotenoid	-			-
Tinh dầu	-			-
Triterpenoid tự do	+			+
Alkaloid	-	±	±	±
Coumarin	-	-	-	-
Anthraglycosid	+			+
Flavonoid	-	+	+	+
Anthocyanosid (HCl)		-	-	-
Anthocyanosid (KOH)		-	-	-
Proanthocyanidin		+	-	±
Tannin (FeCl ₃)		-	+	±
Tannin (gelatin muối)		-	-	-
Saponin		-	+++	+
Acid hữu cơ		+	-	±
Hợp chất polyuronic			+	+

Giải thích ký hiệu (+): có; (-): không; (±): nghi ngờ

 Không có mặt của nhóm hoạt chất trong dịch chiết

 Có thể có phản ứng không thực hiện

Thành phần hóa học được tìm thấy trong:

- Bột lá Sa kê: triterpenoid tự do, flavonoid, anthraglycosid, saponin, hợp chất polyuronic.

- Cao chiết nóng: triterpenoid tự do, flavonoid, hợp chất polyuronic.

3.3 Kết quả độc tính cấp

Nồng độ đặc nhất qua kim được xác định là 8,302 g/mL tương ứng với liều 166,040 g/kg (điều kiện uống 0,2 mL/10g).

Sau 24 giờ uống cao chiết (điều kiện uống 0,2 mL/10g) toàn bộ chuột ở các lô đều hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, ăn uống tốt, phân khô, lông mượt, không có chuột tử

vong hoặc có các biểu hiện bất thường. Tiếp tục quan sát trong 48 giờ và 72 giờ không cho thấy bất kỳ triệu chứng độc hại và không có trường hợp tử vong. Tiếp tục đến sau 14 ngày tất cả chuột vẫn sống, khỏe mạnh.

Chuột được giải phẫu để quan sát các cơ quan trong cơ thể. Kết quả nhận thấy không có thay đổi bất thường. Các tổ chức gan, thận, tim, phổi, hệ thống tiêu hóa không có biểu hiện xung huyết hoặc dấu hiệu bị tổn thương hay bất thường nào về màu sắc, kích thước so với lô chuột không sử dụng cao chiết.

4 Bàn luận

4.1 Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học của cao và lá cây Sa kê So sánh với kết quả khảo sát của Nguyễn Thị Ánh Hồng và cộng sự trên lá Sa kê thu hái tại thành phố Nha Trang [8]:

Bảng 3 So sánh kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học với Nguyễn Thị Ánh Hồng và cộng sự trên lá Sa kê

Kết quả khảo sát của Nguyễn Thị Ánh Hồng và cộng sự	Kết quả khảo sát thu được trên thực nghiệm
Flavonoid	Flavonoid
Saponin	Saponin
Tannin	Triterpenoid
Triterpenoid	Anthraglycosid
Anthraglycosid	Hợp chất polyuronic
Chất khử	

Nhận xét:

Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự tương tự về thành phần nhóm chất tìm thấy trong lá Sa kê ở 2 địa điểm thu hái khác nhau: flavonoid, triterpenoid, saponin, anthraglycosid. Ngoài ra trong nghiên cứu này còn tìm được thêm hợp chất polyuronic và nghi ngờ sự có mặt của alkaloid, tannin trong lá Sa kê.

Như vậy, kết quả nghiên cứu này khẳng định sự tương đồng về thành phần hoạt chất trong lá Sa kê ở các vùng địa lí khác nhau. Kết quả thành phần hóa học tạo định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo về chiết xuất các nhóm hoạt chất và tác động dược lí của dược liệu này ở Việt Nam.

Kết quả thử nghiệm cho thấy thành phần hóa học của cao chiết Sa kê tương tự với thành phần hóa học của bột lá. Các thành phần anthraglycosid có trong bột lá nhưng không có trong cao chiết. Điều này chứng tỏ phương pháp chiết nóng có thể chiết xuất được các thành phần flavonoid, saponin, triterpenoid, hợp chất polyuronic.

Bảng 4 So sánh kết quả giữa bột lá Sa kê và cao chiết nóng

Bột lá Sa kê	Cao chiết nóng
Flavonoid	Flavonoid
Saponin	Saponin
Triterpenoid	Triterpenoid
Hợp chất polyuronic	Hợp chất polyuronic
Anthraglycosid	

Đến thời điểm nghiên cứu chưa có bất kì báo cáo được công bố nào về khảo sát sơ bộ thành phần hóa học trên cao chiết nước lá cây Sa kê bằng phương pháp chiết nóng. Vì vậy nghiên cứu của chúng tôi là nền móng cho các nghiên cứu tiếp theo trên cao chiết nước lá Sa kê *Artocarpus altilis*.

3.2.2 Độc tính cấp

Nghiên cứu này làm sáng tỏ được liều tối đa có thể qua kim (D_{max}) không làm chết chuột thử nghiệm, không gây ra phản ứng độc hại nào bằng đường uống trên chuột của cao chiết nóng lá Sa kê là 166,04 g/kg. Vì vậy, cao chiết nước lá Sa kê được xếp loại 5 trong bảng phân loại độc tính: Hầu như không độc.

Đến thời điểm nghiên cứu chưa có tài liệu nào công bố chính xác về liều độc tính cấp cao chiết nước của lá cây Sa kê nên nghiên cứu của chúng tôi là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về những tác động dược lí của lá cây Sa kê *Artocarpus altilis*.

5 Kết luận

Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học: Các nhóm hợp chất có trong lá cây và cao chiết từ lá cây Sa kê *Artocarpus altilis* bao gồm: triterpenoid tự do, saponin, flavonoid, polyphenol, hợp chất polyuronic. Ngoài ra bột lá cây Sa kê có anthraglycosid.

Chiết xuất dược liệu: hiệu suất cao chiết chiết nóng là 23,68%. Liều đặc nhất qua kim không làm chết chuột thử nghiệm là 166,04 g/kg. Cao chiết nước lá Sa kê được xếp loại 5 trong bảng phân loại độc tính: Hầu như không độc.

Tài liệu tham khảo

1. Sa O., AA A., NG A. (2017). Anxiolytic Potentials of *Artocarpus altilis* (Breadfruit) in Swiss Mice. *Ann Depress Anxiety*, 4(2), 1–4.
2. Ragone D. (2006). *Artocarpus altilis* (breadfruit). *Species Profiles Pac Isl Agrofor*, 1–17.
3. Inyang I., Inyang-Etoh P., và Eluwa M.A. (2018). Studies on antimalarial activity and liver histopathological changes of *Artocarpus altilis* on *Plasmodium Berghei*-infected mice. *Life Sci Inform Publ*, 3(4), 106–114.
4. Indrowati M., Pratiwi R. (2017). Levels of Blood Glucose and Insulin Expression of Beta-cells in Streptozotocin-induced Diabetic Rats Treated with Ethanollic Extract of *Artocarpus altilis* Leaves and GABA. *Pak J Biol Sci*, 20(1), 28–35.
5. Nwokocha C., Palacios J., Simirgiotis M.J. (2017). Aqueous extract from leaf of *Artocarpus altilis* provides cardio-protection from isoproterenol induced myocardial damage in rats: Negative chronotropic and inotropic effects. *J Ethnopharmacol*, 203, 163–17
6. Riasari, H., Nurlalela, S., & Gumilang, G. C. (2019). Anti-Inflammatory Activity of *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg in Wistar Male Rats. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*, 4(1), 22-26.
7. Nguyen M., Nguyen N., Nguyen K. và cộng sự. (2014). Geranyl Dihydrochalcones from *Artocarpus altilis* and Their Antiausteric Activity. *Planta Med*, 80(02/03), 193–200.
8. Đỗ Trung Đàm (2014), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc* NXB Y học, Hà Nội, tr. 17-27
9. Nguyễn Thị Ánh Hồng, Đỗ Thị Hồng Tươi, Trần Thị Vân Anh (2018), "Nghiên cứu thành phần hóa học hướng tác dụng ức chế - Glucosidase của lá Sa kê *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, *Moraceae*", *Y học Tp.Hồ Chí Minh*, Tập 22 (Số 1): p. 499-505

Study on phytochemical composition and acute toxicity of leaf extract from *Artocarpus altilis* Moraceae

Nguyen Thi Ky Duyen¹, Nguyen Tran Hung Yen¹, Nguyen Thi Thuy Trang¹, Nguyen Linh Viet², Nguyen Duc Hanh²

¹Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University

²Faculty of Pharmacy, Ho Chi Minh City University of Technology (HUTECH)

Abstract In Viet Nam, the leaves of breadfruit trees have many pharmacological effects in traditional medicine such as: curing diabetes, gout, atherosclerosis, anti-anxiety, etc. The study was conducted on the purpose of phytochemical screening and acute toxicity of extracts from *Artocarpus altilis* Moraceae. Materials and Methods: Materials: Leaves of *Artocarpus altilis* were collected at Ninh Thuan province. Methods: The leaves were extracted via hot extraction method. Identification of the chemical constituents of the herb was carried out using Ciuley method. Acute toxicity is determined via the method of Do Trung Dam [8]. Results: Identified compounds in extracts: Flavonoids, triterpenoids, polyphenols, and polyuronic compounds. The extract has not shown toxicity in rats with D_{max} (166.040 g/kg). Conclusion: The leaves and extract from *Artocarpus altilis* Moraceae have phytochemicals include: Flavonoid, triterpenoid, polyphenol, polyuronic compounds. It has not shown toxicity in test mice with D_{max} dose (166.040 g/kg).

Keywords *Artocarpus altilis*, concentration, phytochemical.

