

INVESTIGATION OF *IN VITRO* BIOACTIVITY OF *Ehretia asperula* LEAVES GROWN IN HOA BINH AND TAY NINH PROVINCES

Dai Thi Xuan Trang^{1*}, Le Minh Tam², Pham Vinh Trinh², Tran Chi Linh¹

¹Can Tho University, ²Thanh Tan High School, Soc Trang Province

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 07/6/2023	The present study compared the <i>in vitro</i> antioxidant and antidiabetic activities of <i>Ehretia asperula</i> leaves grown in Hoa Binh province and two sites in Tay Ninh province (Hoa Thanh and Chau Thanh). In addition, the total polyphenol content and total flavonoid content were tested with Folin-Ciocalteu and aluminum chloride reagent, respectively. <i>Ehretia asperula</i> leaves grown in 2 locations in Tay Ninh province have higher total polyphenol content and total flavonoid than <i>Ehretia asperula</i> leaves grown in Hoa Binh province. <i>Ehretia asperula</i> leaves grown in 2 locations in Tay Ninh province have stronger antioxidant activity than <i>Ehretia asperula</i> leaves grown in Hoa Binh province. <i>Ehretia asperula</i> leaves grown in Tay Ninh province showed enzyme α -amylase inhibitory activity (IC_{50} , Hoa Thanh=270.70 μ g/mL; IC_{50} , Chau Thanh=212.70 μ g/mL) and α -glucosidase (IC_{50} , Hoa Thanh=55.42 μ g/mL; IC_{50} , Chau Thanh=54.72 μ g/mL) were more concentration dependent than <i>Ehretia asperula</i> leaves grown in Hoa Binh province (IC_{50} , α -amylase=455.08 μ g/mL; IC_{50} , α -glucosidase=76.56 $\pm$ 0.87 μ g/mL). Thus, <i>Ehretia asperula</i> leaves grown in Tay Ninh are considered as a potential candidate for medicinal development.
Revised: 17/7/2023	
Published: 17/7/2023	
KEYWORDS	
Antidiabetic	
Antioxidant	
<i>Ehretia asperula</i>	
Medicine	
Tay Ninh	

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC *IN VITRO* CỦA LÁ CÂY XẠ ĐEN (*Ehretia asperula*) TRỒNG TẠI TỈNH HÒA BÌNH VÀ TÂY NINH

Đái Thị Xuân Trang^{1*}, Lê Minh Tâm², Phạm Vĩnh Trinh², Trần Chí Linh¹

¹Trường Đại học Cần Thơ, ²Trường Trung học phổ thông Thanh Tân, tỉnh Sóc Trăng

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 07/6/2023	Nghiên cứu hiện tại đã so sánh hoạt tính kháng oxy hóa và kháng đái tháo đường <i>in vitro</i> của cây xạ đen trồng tại Hòa Bình và 2 địa điểm của Tây Ninh (Hòa Thành và Châu Thành). Ngoài ra, hàm lượng polyphenol, flavonoid đã lần lượt được kiểm tra bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu và aluminum chloride. Lá xạ đen trồng ở 2 địa điểm của Tây Ninh đều có polyphenol và flavonoid cao hơn lá xạ đen trồng ở Hòa Bình. Lá xạ đen trồng ở 2 địa điểm của Tây Ninh có hoạt tính kháng oxy hóa mạnh hơn lá xạ đen trồng ở Hòa Bình. Cây xạ đen trồng ở Tây Ninh cho thấy hoạt tính ức chế enzyme α -amylase (IC_{50} , Hoa Thanh=270,70 μ g/mL; IC_{50} , Chau Thanh=212,70 μ g/mL) và α -glucosidase (IC_{50} , Hoa Thanh=55,42 μ g/mL; IC_{50} , Chau Thanh=54,72 μ g/mL) mạnh hơn cây xạ đen trồng ở Hòa Bình (IC_{50} , α -amylase=455,08 μ g/mL; IC_{50} , α -glucosidase=76,56 μ g/mL). Kết quả nghiên cứu bước đầu này cho thấy, cây xạ đen trồng ở Tây Ninh có hoạt tính kháng oxy hóa và kháng đái tháo đường <i>in vitro</i> cao, nên cây xạ đen có thể trồng ở Tây Ninh, ứng dụng làm dược liệu trong nghiên cứu thực phẩm bảo vệ sức khỏe và dược liệu.
Ngày hoàn thiện: 17/7/2023	
Ngày đăng: 17/7/2023	
TỪ KHÓA	
Dược liệu	
Kháng đái tháo đường	
Kháng oxy hóa	
Tây Ninh	
Xạ đen	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8085>

* Corresponding author. Email: dtxtrang@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Cây xạ đen có tên khoa học là *Ehretia asperula*, thuộc họ vối voi (Boraginaceae), là loại cây dược liệu được biết đến trong y học cổ truyền với công dụng điều trị viêm gan, tiêu viêm, giải độc, thông kinh, lợi niệu [1]-[3]. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học cho thấy cây xạ đen có khả năng kháng oxy hóa, gây tế bào ung thư gan, ung thư phổi và chống thoái hóa võng mạc [4]-[8]. Nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học trong cây xạ đen đã được phân lập như: daucosterol, coniferaldehyde, methyl caffeate, 9'-methoxydehydrodiconiferyl alcohol, oresbiusin B, vanillic acid, polyphenol, rosmarinic acid, methylrosmarinic acid, lithospermic B acid, astragalín và kaempferol 3-rutinoside [7], [8]. Chính vì những tiềm năng trên mà nhu cầu về cây xạ đen ở Việt Nam trong những năm qua là rất lớn. Ở Việt Nam, cây xạ đen chủ yếu được trồng ở các tỉnh miền Bắc. Hoạt tính của cây dược liệu thường chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố đất đai, khí hậu cũng như kỹ thuật trồng. Việc mở rộng, đa dạng vùng trồng cây xạ đen ở các vùng miền khác ở Việt Nam là cần thiết, nhằm xây dựng vùng nguyên liệu ổn định và đảm bảo chất lượng.

Tây Ninh là tỉnh nổi cao nguyên Nam Trung Bộ và đồng bằng sông Cửu Long, nên vừa mang đặc điểm của một cao nguyên, vừa có đặc điểm của vùng đồng bằng, có sự đa dạng về loại đất như đất xám, đất phèn, đất đỏ vàng, đất phù sa và đất than bùn chôn vùi. Do đó, tỉnh Tây Ninh có thể trồng đa dạng các loại cây trồng tương ứng với từng loại đất. Trồng cây dược liệu cũng là một trong những định hướng của tỉnh. Chính vì những lý do trên, nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá hoạt tính sinh học của cây xạ đen trồng tại Tây Ninh về khả năng kháng oxy hóa và kháng đại tháo đường *in vitro*. Các hoạt tính sinh học của cây xạ đen trồng ở Tây Ninh cũng được so sánh với cây xạ đen trồng ở tỉnh Hòa Bình.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá xạ đen 9 tháng tuổi được thu mua tại thôn Đa Sỹ, xã Thanh Cao, huyện Lương Sơn, tỉnh Hòa Bình (gọi tắt là LXĐ Hòa Bình) được xử lý và lưu giữ tại phòng thí nghiệm Nghiên cứu và Phát triển Dược liệu của bộ môn Sinh học thuộc Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ. Cây xạ đen được xác định dựa vào đặc điểm hình thái cơ quan sinh dưỡng và sinh sản theo hệ thống phân loại Cây cỏ Việt Nam [9].

Cây xạ đen trồng tại Tây Ninh: Cây giống xạ đen bố mẹ (có nguồn gốc từ thôn Đa Sỹ, xã Thanh Cao, huyện Lương Sơn, tỉnh Hòa Bình) được cấy mô ở Trung tâm Khoa học và Công nghệ Tây Ninh. Cây giống xạ đen cấy mô được cung cấp có chiều cao trung bình khoảng 20-30 cm đã được thuần dưỡng tại trại thực nghiệm Khoa học và Công nghệ - ấp Bình Long, xã Thái Bình, huyện Châu Thành, tỉnh Tây Ninh (mã Google map: 8338+7HC). Cây xạ đen sau giai đoạn thuần dưỡng sẽ được trồng thử nghiệm tại 2 địa điểm là phường Hiệp Tân, thị xã Hòa Thành, tỉnh Tây Ninh và xã Thái Bình, huyện Châu Thành, tỉnh Tây Ninh. Cây xạ đen ở 2 địa điểm được trồng với diện tích là 5 × 5 m, khoảng cách giữa các cây là 1 × 1 m, không bón phân. Sau 9 tháng trồng, cây xạ đen ở 2 địa điểm sẽ được thu hoạch lá, lần lượt được ký hiệu là LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xử lý, điều chế và định lượng các cao lá xạ đen

Lá xạ đen (LXĐ) được sử dụng trong nghiên cứu là tất cả các lá xuất hiện trên cây. LXĐ sau khi thu về được rửa sạch và sấy khô ở nhiệt độ 45°C. LXĐ được sấy khô và xay nhuyễn thành bột dược liệu có kích thước hạt khoảng 60 mesh. Bột LXĐ được xác định độ ẩm bằng cách dùng sức nóng làm bay hết hơi nước trong dược liệu theo mô tả trong Dược điển Việt Nam V [10]. Bột LXĐ có độ ẩm đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V sẽ được ngâm với ethanol 99,5% theo tỷ lệ là 1/10 (w/v), ở 30°C trong 24 giờ. Bột LXĐ được ngâm 3 lần, dịch chiết từ các lần ngâm được

gom lại, đun dung môi bằng máy cô quay chân không dưới áp suất kém ở 60°C để thu được các cao ethanol LXĐ. Các cao LXĐ được đựng trong lọ thủy tinh, có dán nhãn và bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh.

Hàm lượng polyphenol tổng trong các cao LXĐ được xác định theo mô tả của Singleton và cộng sự (1999) có hiệu chỉnh [11]. Cao LXĐ có thể tích là 50 μ L cùng với 50 μ L nước khử ion, 50 μ L thuốc thử Folin-Ciocalteu 20% (v/v) và 50 μ L Na_2CO_3 10% được ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Sau đó, hỗn hợp sau phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 765 nm. Phương trình đường chuẩn được xây dựng dựa trên chất chuẩn gallic acid ở nồng độ 0,5 μ g/mL đến 10 μ g/mL. Hàm lượng polyphenol trong cao LXĐ được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid có dạng $y=0,0752x + 0,0882$ ($R^2=0,9991$).

Hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao LXĐ được xác định theo mô tả của Sultana và cộng sự (2007) có điều chỉnh [12]. Cao LXĐ 50 μ L cùng với 50 μ L nước khử ion và 10 μ L NaNO_2 5% được cho vào eppendorf tube, để phản ứng xảy ra trong 5 phút ở nhiệt độ phòng tiếp tục thêm 10 μ L AlCl_3 10%. Sau 6 phút, 100 μ L NaOH 1 M được cho thêm vào hỗn hợp ở trên. Cuối cùng nước khử ion được thêm vào cho đủ 250 μ L và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Phương trình đường chuẩn quercetin ở nồng độ từ 10 μ g/mL đến 120 μ g/mL. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao LXĐ được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin có dạng $y=0,0048x + 0,0663$ ($R^2=0,9994$).

2.2.2. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của các cao lá xạ đen

Nghiên cứu đã tiến hành đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa (KOXH) của các cao LXĐ dựa trên 4 phương pháp là trung hòa gốc tự do 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{++}), trung hòa gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), tiềm năng khử (Ferric reducing-antioxidant power, FRAP) và kháng oxy hóa tổng (total antioxidant capacity, TAC) theo mô tả của Võ Thị Tú Anh và cộng sự (2021) [13]. Các phương pháp khảo sát hoạt tính KOXH *in vitro* nêu trên đã sử dụng tinh chất trolox làm chất đối chứng dương. Hoạt tính KOXH của các cao LXĐ được đánh giá dựa vào hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS^{++} , DPPH hoặc độ hấp thụ quang phổ ở phương pháp FRAP và TAC. Bên cạnh đó, hoạt tính kháng oxy của các cao LXĐ còn được so sánh với chất chuẩn trolox bằng cách sử dụng nồng độ (μ g/mL) mà tại đó chất chuẩn hay cao LXĐ khử hoặc trung hòa được 50% gốc tự do (EC_{50} -effective concentration of 50%). Giá trị EC_{50} của các cao LXĐ và trolox được xác định theo mô tả của Piaru và cộng sự (2012) [14].

2.2.3. Khảo sát hoạt tính kháng đái tháo đường *in vitro* của các cao lá xạ đen

Hoạt tính ức chế enzyme α -amylase

Quy trình khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -amylase của các cao LXĐ được thực hiện theo mô tả của Xiao-Ping và cộng sự (2010) có điều chỉnh [15]. Cao LXĐ với thể tích là 50 μ L cùng với 50 μ L đệm phosphate (pH=7), 50 μ L enzyme α -amylase (3 U/mL) được đem ủ 5 phút ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, tinh bột (2 mg/mL) có thể tích là 50 μ L được cho vào hỗn hợp trên và tiếp tục ủ ở 37°C trong 15 phút. Tiếp theo, HCl đậm đặc được bổ sung vào 200 μ L để ngừng phản ứng. Cuối cùng, 300 μ L dung dịch thuốc thử iod được thêm vào để nhận biết lượng tinh bột còn dư sau phản ứng dựa trên phản ứng màu xanh đặc trưng. Hỗn hợp trên được đo độ hấp thụ quang phổ của phức hợp tinh bột-iod ở bước sóng 660 nm.

$$\text{Phần trăm bị ức chế (\%)} = 100 - ((\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1) / \text{Abs}_0 \times 100) \quad (1)$$

Trong đó, Abs_0 và Abs_1 lần lượt là độ hấp thụ quang phổ của dung dịch đối chứng và dung dịch sau phản ứng.

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các cao LXĐ

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của cao LXĐ được thực hiện theo Shai và cộng sự (2011) có hiệu chỉnh [16]. Hỗn hợp phản ứng chứa 100 μ L dung dịch đệm phosphate (100 mM, pH=6,8), 20 μ L enzyme α -glucosidase (1 U/L) và 40 μ L cao LXĐ. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở

37°C trong 15 phút. Sau đó, 40 µL *p*-nitro-phenyl- α -D-glucopyranoside (5 mM) được thêm vào và ủ thêm ở 37°C trong 20 phút. Phản ứng được dừng lại bằng cách thêm 100 µL Na₂CO₃ (0,1 M). Độ hấp thu quang phổ của hợp chất *p*-nitrophenol giải phóng được đo tại bước sóng 405 nm. Kết quả được biểu thị dưới dạng phần trăm ức chế, được tính bằng công thức:

$$\text{Hiệu suất ức chế (\%)} = (1 - \text{Abs}_0 / \text{Abs}_1) \times 100 \quad (2)$$

Trong đó, Abs₀ và Abs₁ lần lượt là độ hấp thu quang phổ của dung dịch đối chứng và dung dịch sau phản ứng.

Tinh chất acarbose được sử dụng làm chất đối chứng dương trong khảo sát hoạt tính kháng đái tháo đường (KĐTĐ) *in vitro*. Hoạt tính KĐTĐ của các cao LXĐ được xác định dựa vào hiệu suất ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase. Bên cạnh đó, hoạt tính KĐTĐ *in vitro* của các cao LXĐ còn được so sánh với chất chuẩn acarbose bằng cách sử dụng nồng độ (µg/mL) mà tại đó chất chuẩn hay cao LXĐ ức chế được 50% sự hoạt động của enzyme (IC₅₀-inhibitory concentration of 50%). Giá trị IC₅₀ của các cao LXĐ và acarbose được xác định theo Telagari và Hullatti (2015) [17].

2.2.4. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được phân tích, xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16 (ANOVA-Tukey's). Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Các thử nghiệm *in vitro* được lặp lại 3 lần.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả xử lý, điều chế và định lượng các loại cao từ lá xạ đen

Bột LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành có độ ẩm lần lượt là 3,67%, 4,59% và 4,41% đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V (độ ẩm bột dược liệu ≤9%). Độ ẩm của bột dược liệu phải đạt dưới 9% để đảm bảo dược liệu không bị hư hại trong quá trình bảo quản và đảm bảo quá trình chiết xuất cao được dễ dàng không bị lẫn quá nhiều nước [10]. Do đó, các loại bột LXĐ đã được sử dụng để điều chế cao chiết. Kết quả điều chế cao cho thấy, LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành có hiệu suất điều chế cao và độ ẩm cao chiết gần như là tương đương nhau. Kết quả xử lý mẫu và điều chế cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xử lý mẫu, điều chế và định lượng các cao lá xạ đen

Mẫu thử	Độ ẩm bột dược liệu (%)	Độ ẩm cao (%)	Hiệu suất chiết cao (%)	Polyphenol (mg GAE/g cao)	Flavonoid (mg QE/g cao)
LXĐ Hòa Bình	3,67 ^a ±0,30	4,87 ^a ±0,46	8,55 ^a ±0,07	50,95 ^b ±0,62	49,72 ^b ±0,47
LXĐ Hòa Thành	4,59 ^a ±1,27	4,49 ^a ±0,33	8,04 ^a ±1,59	97,72 ^a ±11,38	89,22 ^a ±14,71
LXĐ Châu Thành	4,41 ^a ±1,70	4,52 ^a ±0,32	8,87 ^a ±2,90	99,98 ^a ±9,07	90,69 ^a ±14,31

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự theo sau trong cùng một cột khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức 5%. Hiệu suất điều chế cao chiết đã được trừ cho độ ẩm dược liệu.

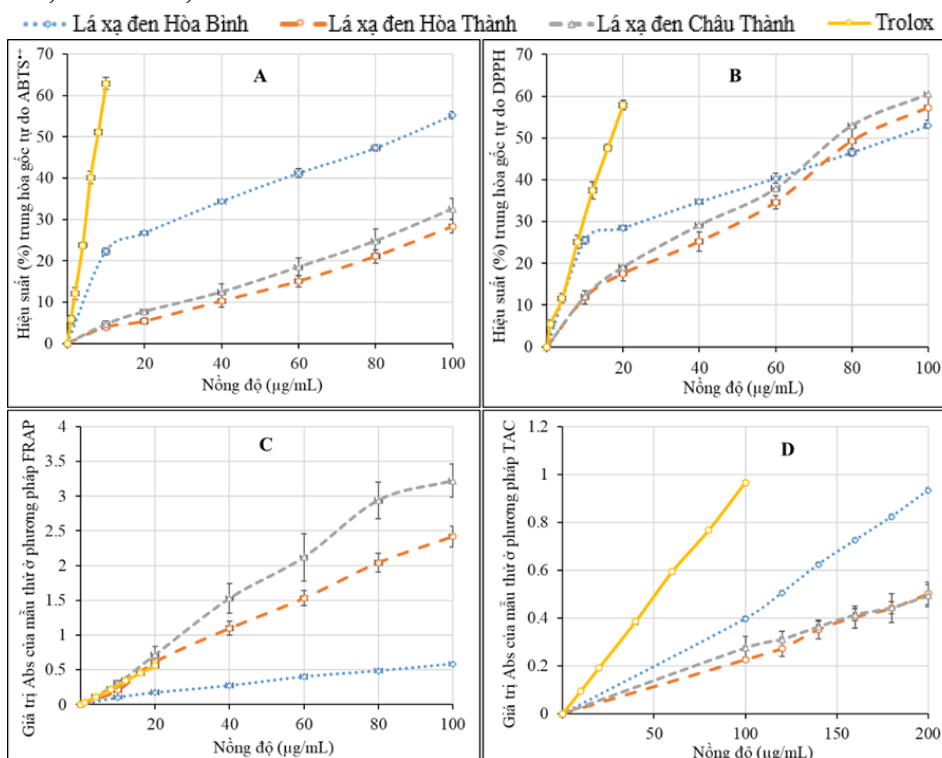
Polyphenol và flavonoid được bổ sung vào trong cơ thể con người giúp kiểm soát đái tháo đường thông qua hoạt động bảo vệ tế bào β đảo tụy, giảm quá trình chết theo chương trình của tế bào β , thúc đẩy tăng sinh tế bào β , giảm stress oxy hóa, kích hoạt tín hiệu insulin và kích thích tuyến tụy để sản xuất insulin [18]. Cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành có hàm lượng polyphenol lần lượt là 50,95 mg GAE/g cao chiết, 97,72 mg GAE/g cao chiết và 99,98 mg GAE/g cao chiết. Hàm lượng flavonoid cao LXĐ Hòa Thành (89,22 mg QE/g cao chiết) và Châu Thành cao lần lượt gấp 1,79 và 1,82 lần cao LXĐ Hòa Bình (49,72 mg QE/g cao chiết) (Bảng 1).

3.2. Kết quả hoạt tính kháng oxy hóa của các loại cao LXĐ

Hoạt tính KOXH của cao LXĐ Hòa Bình, cao LXĐ Hòa Thành và cao LXĐ Châu Thành được đánh giá trên nhiều nhóm gốc tự do và nhiều phương pháp khác nhau. Cụ thể, cao LXĐ

được khảo sát hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH, ABTS^{•+}. Đồng thời, các cao LXĐ cũng được đánh giá tiềm năng khử (FRAP) cũng như khả năng KOXH tổng số (TAC). Đây là những phương pháp phổ biến được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu sàng lọc hoạt tính KOXH *in vitro* các cây dược liệu.

Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} và DPPH của cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành, LXĐ Châu Thành và trolox được trình bày trong Hình 1A và 1B. Kết quả cho thấy, khả năng trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} và DPPH tăng dần theo nồng độ của mẫu thử. Cụ thể, hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} và DPPH ở các nồng độ trolox được khảo sát đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành có thể trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} lần lượt là 22,26%, 3,96%, 4,63% ở nồng độ 10 µg/mL và 55,18%, 28,33%, 32,59% ở nồng độ 100 µg/mL. Cao LXĐ Hòa Bình có hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} mạnh hơn 1,95 lần và 1,69 lần so với cao LXĐ Hòa Thành, cao LXĐ Châu Thành ở cùng nồng độ khảo sát 100 µg/mL. Ở nồng độ 100 µg/mL, cao LXĐ Hòa Bình (52,94%) có hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH yếu hơn cao LXĐ Hòa Thành (57,28%) và cao LXĐ Châu Thành (60,51%) lần lượt là 1,08 lần và 1,14 lần.



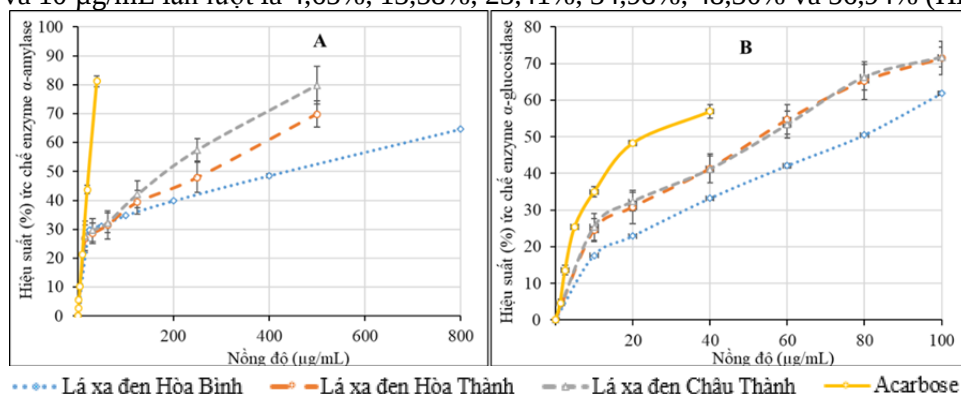
Hình 1. Hoạt tính kháng oxy hóa của cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Tây Ninh và trolox

Tiềm năng khử dựa trên sự khử phức Fe³⁺-TPTZ (phức không màu) thành phức Fe²⁺-TPTZ (phức màu xanh) của cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành, LXĐ Châu Thành và trolox được trình bày trong Hình 1C. Phức Fe²⁺-TPTZ được tạo thành do chất KOXH cho điện tử H⁺ trong môi trường acid. Cường độ màu của dung dịch sau phản ứng tương quan thuận với lượng Fe²⁺-TPTZ được tạo thành. Độ hấp thụ quang phổ của phức Fe²⁺-TPTZ dưới tác động của trolox tăng dần từ 0,03 ở nồng độ 1 µg/mL lên 0,56 ở nồng độ 20 µg/mL. Cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành cũng làm cho độ hấp thụ quang phổ của phức Fe²⁺-TPTZ lần lượt từ 0,10, 0,21, 0,31 ở nồng độ 10 µg/mL tăng lên lần lượt là 0,59, 2,41 và 3,22 ở nồng độ 100 µg/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở tất cả các nồng độ được khảo sát. Ở nồng độ 100 µg/mL, độ hấp thụ quang phổ của phức Fe²⁺-TPTZ dưới tác động của cao LXĐ Hòa Bình kém hơn cao LXĐ Hòa Thành và cao LXĐ Châu Thành lần lượt là 4,08 lần và 5,46 lần.

Hoạt tính KOXH tổng được xác định dựa trên việc khử Mo (VI) thành Mo (V) bằng các hợp chất KOXH và hình thành phức hợp phosphate/Mo (V) có màu xanh. Kết quả được trình bày trong Hình 1D cho thấy, độ hấp thụ quang phổ của phức hợp phosphate/Mo (V) tăng tỷ lệ thuận với nồng độ của mẫu thử. Cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành cũng làm cho độ hấp thụ quang phổ của phức hợp phosphate/Mo (V) lần lượt từ 0,40, 0,23, 0,28 ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ tăng lên lần lượt là 0,93, 0,50 và 0,49 ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở tất cả các nồng độ được khảo sát.

3.3. Kết quả hoạt tính kháng đái tháo đường *in vitro* của các cao lá xạ đen

Enzyme α -amylase và α -glucosidase tham gia vào quá trình chuyển hóa carbohydrate được chứng minh có liên quan đến sự gia tăng nồng độ glucose huyết sau bữa ăn. Do đó, việc kiểm soát hoạt động của enzyme α -amylase và α -glucosidase là một khía cạnh quan trọng trong điều trị đái tháo đường [19]. Hiệu suất ức chế hoạt động enzyme α -amylase của acarbose ở các nồng độ 1,25 $\mu\text{g/mL}$, 2,5 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$ và 40 $\mu\text{g/mL}$ lần lượt là 2,70%, 5,56%, 10,31%, 21,39%, 43,74% và 81,20% (Hình 2A). Trong khi đó, hiệu suất ức chế hoạt động enzyme α -glucosidase của acarbose ở các nồng độ 1 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 6 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$ và 10 $\mu\text{g/mL}$ lần lượt là 4,65%, 13,58%, 25,41%, 34,98%, 48,30% và 56,94% (Hình 2B).



Hình 2. Hiệu suất ức chế hoạt động của enzyme α -amylase và α -glucosidase

Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy, cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành có khả năng ức chế hoạt động của enzyme α -amylase và phụ thuộc vào nồng độ của cao chiết. Cao LXĐ Hòa Bình có hiệu suất ức chế hoạt động enzyme α -amylase tăng dần từ 29,60% lên 64,65% tương ứng với nồng độ 25 $\mu\text{g/mL}$ và 800 $\mu\text{g/mL}$. Hiệu suất ức chế hoạt động enzyme α -amylase của cao LXĐ Châu Thành là 27,77% ở nồng độ 15,625 $\mu\text{g/mL}$ lên 79,83% ở nồng độ 500 $\mu\text{g/mL}$. Cao LXĐ Hòa Thành và cao LXĐ Châu Thành có hiệu suất ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase lần lượt từ 24,52% và 25,41% ở nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$ đến 71,48% và 71,72% tương ứng ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả Hình 2 cho thấy, hiệu suất ức chế hoạt động enzyme α -glucosidase của cao LXĐ Tây Ninh (Hòa Thành và Châu Thành) luôn cao hơn cao LXĐ Hòa Bình ở tất cả các nồng độ được khảo sát.

3.4. So sánh hoạt tính kháng oxy hóa và kháng đái tháo đường *in vitro* của cao LXĐ Hòa Bình và LXĐ Tây Ninh

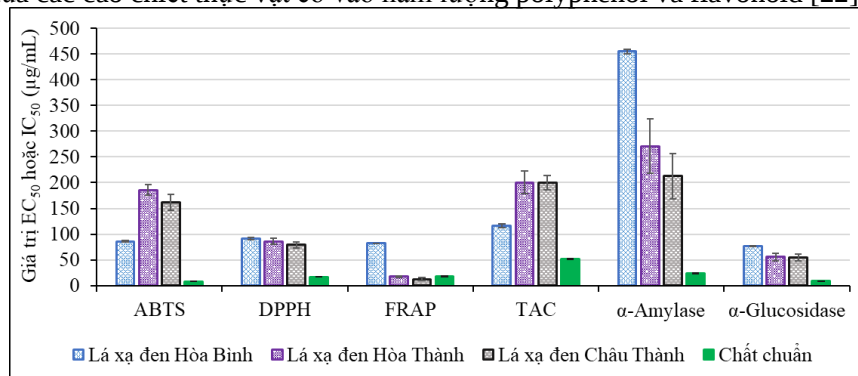
Các phản ứng oxy hóa - khử trong cơ thể con người có liên quan mật thiết đến khả năng kháng bệnh và chống lão hóa [20]. Do đó, nghiên cứu các hoạt chất thiên nhiên có khả năng điều hòa các phản ứng oxy hóa - khử trong cơ thể con người là một trọng tâm nghiên cứu hiện nay để tìm ra chất KOXH hiệu quả sử dụng trong y học, thực phẩm, chăm sóc sức khỏe. Khả năng kháng oxy của cao LXĐ Hòa Bình và LXĐ Tây Ninh (Hòa Thành và Châu Thành) được so sánh với nhau và so sánh với chất chuẩn trolox bằng cách sử dụng nồng độ ($\mu\text{g/mL}$) mà tại đó cao chiết

hay chất chuẩn khử hoặc trung hòa được 50% gốc tự do (EC_{50} hoặc IC_{50}) được trình bày trong Hình 3.

Theo nghiên cứu của Wahyuningsih và cộng sự (2020), mẫu thử có giá trị EC_{50} thấp hơn 50 $\mu\text{g/mL}$ là chất KOXH rất mạnh; 50 $\mu\text{g/mL}$ - 100 $\mu\text{g/mL}$ là chất KOXH mạnh và 101 $\mu\text{g/mL}$ - 150 $\mu\text{g/mL}$ là chất KOXH trung bình, trong khi chất KOXH yếu có giá trị $EC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$ [21]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cao LXĐ Tây Ninh (Hòa Thành và Châu Thành) có tiềm năng khử (FRAP) rất mạnh (EC_{50} , Hòa Thành=17,66 $\mu\text{g/mL}$; EC_{50} , Châu Thành=12,61 $\mu\text{g/mL}$). Cao LXĐ Tây Ninh (Hòa Thành và Châu Thành) được đánh giá là có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH mạnh (EC_{50} , Hòa Thành=85,76 $\mu\text{g/mL}$; EC_{50} , Châu Thành=79,04 $\mu\text{g/mL}$); khả năng trung hòa gốc tự do ABTS⁺ (EC_{50} , Hòa Thành=185,72 $\mu\text{g/mL}$; EC_{50} , Châu Thành=161,89 $\mu\text{g/mL}$), KOXH tổng số (EC_{50} , Hòa Thành=200,31 $\mu\text{g/mL}$; EC_{50} , Châu Thành=200,12 $\mu\text{g/mL}$) là yếu (Hình 3).

Kết quả trình bày trong Hình 3 cho thấy, khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của cao LXĐ Hòa Bình, LXĐ Hòa Thành và LXĐ Châu Thành đều yếu hơn acarbose. Cụ thể, cao LXĐ Hòa Bình có khả năng ức chế enzyme α -amylase (EC_{50} =455,08 $\mu\text{g/mL}$) và α -glucosidase (EC_{50} =76,56 $\mu\text{g/mL}$) yếu hơn acarbose (EC_{50} , α -amylase=24,18 $\mu\text{g/mL}$; EC_{50} , α -glucosidase=8,53 $\mu\text{g/mL}$) lần lượt là 22,91 và 15,75 lần. Cao LXĐ Hòa Thành (EC_{50} =270,70 $\mu\text{g/mL}$) và cao LXĐ Châu Thành (EC_{50} =212,70 $\mu\text{g/mL}$) có hoạt tính ức chế enzyme α -amylase mạnh hơn cao LXĐ Hòa Bình lần lượt là 1,68 và 2,14 lần. Cao LXĐ Hòa Thành và cao LXĐ Châu Thành có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase mạnh hơn cao LXĐ Hòa Bình lần lượt là 1,38 lần và 1,40 lần.

Nghiên cứu cho thấy, cao LXĐ Tây Ninh (Hòa Thành và Châu Thành) giàu polyphenol và flavonoid hơn cao LXĐ Hòa Bình nên cao LXĐ Tây Ninh có khả năng KOXH và KĐTĐ *in vitro* hầu hết đều mạnh hơn cao LXĐ Hòa Bình. Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol và flavonoid được chứng minh đóng vai trò quan trọng để kiểm soát các gốc tự do và ức chế hoạt động của enzyme α -amylase, α -glucosidase. Hoạt tính KOXH, ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase phụ thuộc của các cao chiết thực vật có vào hàm lượng polyphenol và flavonoid [22].



Hình 3. Biểu đồ mô tả hoạt tính kháng oxy hóa và kháng đái tháo đường *in vitro* của cao LXĐ

4. Kết luận

Trong nghiên cứu của chúng tôi, lá xạ đen Tây Ninh có hoạt tính KOXH và KĐTĐ *in vitro* hiệu quả. Kết quả định lượng cũng cho thấy, LXĐ Tây Ninh có hàm lượng polyphenol và flavonoid cao hơn LXĐ Hòa Bình. Cây xạ đen được trồng ở Tây Ninh có thể đáp ứng được yêu cầu về dược liệu để phục vụ cho nhu cầu sử dụng của người dân ở khu vực phía Nam, Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. C. Vo, *Common Botanical Dictionary*, vol. 1, Publishing Scientific and Technical, 2003.
- [2] M. Ramezani, M. S. Amiri, E. Zibae, Z. Boghrati, Z. Ayati, A. Sahebkar, and S. A. Emami, "A review on the phytochemistry, ethnobotanical uses and pharmacology of *Borago* species," *Current Pharmaceutical Design*, vol. 26, no. 1, pp. 110-128, 2020.

- [3] A. Shukla and A. Kaur, "A systematic review of traditional uses bioactive phytoconstituents of genus *Ehretia*," *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 11, no. 6, pp. 88-100, 2018.
- [4] T. M. T. Pham, K. S. Ngo, and T. T. T. Le, "Effects of medium composition on xa den (*Ehretia asperula* Zoll. et Mor.) cell cultures," *Hue University Journal of Science*, vol. 129, no. 1A, pp. 31-41, 2020.
- [5] V. T. T. Nguyen, D. T. Do, T. H. T., D. G. Do, H. D. Nguyen, T. H. Trinh, and T. T. Tran, "Effect of NAA, medium and carbohydrate on the process of *Ehretia asperula* Zoll. & Mor. Cell suspension culture," *Create the Journal of Agriculture and Rural Development*, vol. 1, pp. 47-55, 2021.
- [6] L. T. Nguyen, H. M. Bui, N. B. T. Bui, and H. M. V. Nguyen, "Characteristics and cytotoxic effects of *Ehretia asperula* Zoll. & Mor. Boraginaceae," *Journal of Science and Technology – NTTU*, vol. 17, pp. 20-25, 2022.
- [7] T. N. Vu, T. D. Nguyen, M. H. Le, T. H. H. Tran, H. C. Nguyen, N. T. Hang, and D. K. Dang, "Evaluating cytotoxic effect of the extracted compounds from *Ehretia asperula* Zoll. & Mor stem on several cancer cell lines," *Academia Journal of Biology*, vol. 40, no. 2, pp. 145-152, 2018.
- [8] T. T. Le, K. K. Tae, H. T. Do, T. D. Nghiem, L. Wook-Bin, and H. J. Sang, "Protection against oxidative stress-induced retinal cell death by compounds isolated from *Ehretia Asperula*," *Natural Product Communications*, vol. 16, no. 12, pp. 1-7, 2021.
- [9] H. H. Pham, *Vietnamese Plants*. Tre Publishing House, 2003.
- [10] Ministry of Health, *Vietnam Pharmacopoeia V*. Medicine Publishing House, PL110-221, 2018.
- [11] V. L. Singleton, R. M. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventos, "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent," *Methods Enzymol*, vol. 299, pp. 152-178, 1999.
- [12] B. Sultana, F. Anwar, and R. Przybylski, "Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. Trees," *Food Chemistry*, vol. 104, pp. 1106-1114, 2007.
- [13] T. T. A. Vo, T. X. T. Dai, K. Kamei, C. L. Tran, K. N. H. Pham, T. T. Nguyen, and T. D. Luu, "Phytochemicals, antioxidant and antidiabetic activities of extracts from *Milusa velutina* flowers," *Horticulturae*, vol. 7, pp. 555-567, 2021.
- [14] S. P. Piaru, R. Mahmud, A. M. S. A. Majid, and Z. D. M. Nassar, "Antioxidant and antiangiogenic activities of the essential oils of *Myristica fragrans* and *Morinda citrifolia*," *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, vol. 5, pp. 294-298, 2012.
- [15] Y. Xiao-Ping, S. Chun-Qing, Y. Ping, and M. Ren-Gang, " α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activity of common constituents from traditional Chinese medicine used for diabetes mellitus," *Chinese Journal of Natural Medicines*, vol. 8, pp. 349-352, 2010.
- [16] L. Shai, S. Magano, S. Lebelo, and A. Mogale, "Inhibitory effects of five medicinal plants on rat α -glucosidase: Comparison with their effects on yeast α -glucosidase," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5, pp. 2863-2867, 2011.
- [17] M. Telagari and K. Hullatti, "In-vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Adiantum caudatum* Linn. and *Celosia argentea* Linn. extracts and fractions," *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 47, pp. 425-429, 2015.
- [18] N. Aryaeian, S. K. Sedehi, and T. Arablou, "Polyphenols and their effects on diabetes management: A review," *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, vol. 31, pp. 134-148, 2017.
- [19] S. Poovitha and M. Parani, "In vitro and in vivo α -amylase and α -glucosidase inhibiting activities of the protein extracts from two varieties of bitter melon (*Momordica charantia* L.)," *BMC Complementary Medicine and Therapies*, vol. 16, no. 185, pp. 1-8, 2016.
- [20] Y. M. Go and D. P. Jones, "Redox theory of aging: implications for health and disease," *Clinical Science*, vol. 131, no. 14, pp. 1669-1688, 2007.
- [21] S. P. A. Wahyuningsih, N. I. I. Savira, D. W. Anggraini, D. Winarni, L. Suhargo, B. W. A. Kusuma, and A. A. Mwendolwa, "Antioxidant and nephroprotective effects of okra pods extract (*Abelmoschus esculentus* L.) against lead acetate-induced toxicity in mice," *Scientifica* vol. 2020, pp. 1-10, 2020.
- [22] G. Williams, "Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion," *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 57, pp. 48-57, 2013.