

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA, ỨC CHẾ ENZYME α -AMYLASE VÀ α -GLUCOSIDASE CỦA CÁC CAO CHIẾT TỪ LÁ CÂY NÚC NÁC (*Oroxylum indicum* L.)

Đái Thị Xuân Trang, Nguyễn Thị Thùy Oanh, Trần Chí Linh, Lê Thanh Phương Thảo, Trần Thanh Mên và Nguyễn Trọng Tuân*

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Trọng Tuân (email: trongtuan@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 10/07/2019

Ngày nhận bài sửa: 14/09/2019

Ngày duyệt đăng: 25/12/2019

Title:

Antioxidant activity and α -amylase, α -glucosidase inhibiting activities of the extracts from *Oroxylum indicum* (L.) leaves

Từ khóa:

α -amylase, α -glucosidase, kháng oxy hóa, *Oroxylum indicum* L.

Keywords:

α -amylase, α -glucosidase, antioxidant, *Oroxylum indicum* (L.)

ABSTRACT

The chemical composition of the leaf extracts of *Oroxylum indicum* (L.) was found to contain alkaloids, flavonoids, glycosides, tannins and steroids. The total polyphenol and flavonoid contents of *Oroxylum indicum* (L.) leaves in ethyl acetate extracts (60.56 ± 0.30 mg GAE/g and 235.29 ± 2.88 mg QE/g, respectively) were higher than those in the other three extracts including ethanol, n-hexane and dichloromethane. The previous study was performed to demonstrate the antioxidant activity and enzyme inhibition of ethanol, n-hexane, dichloromethane and ethyl acetate extracts of *Oroxylum indicum* (L.). The results showed that ethyl acetate extract has antioxidant activity and inhibitory activity of α -amylase, α -glucosidase enzymes higher than other extracts.

TÓM TẮT

Thành phần hóa học của lá cây nuc nác được xác định có chứa các nhóm chất alkaloid, flavonoid, glycoside, tannin, steroid và triterpenoid. Hàm lượng polyphenol ($60,56 \pm 0,30$ mg GAE/g cao chiết) và flavonoid ($235,29 \pm 2,88$ mg QE/g cao chiết) trong cao ethyl acetate nhiều hơn cao chiết từ ba dung môi còn lại là ethanol, n-hexane và dichloromethane. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế enzyme của các cao chiết ethanol, n-hexane, dichloromethane và ethyl acetate từ lá cây nuc nác: cao ethyl acetate có hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế hoạt động của các enzyme α -amylase và α -glucosidase mạnh nhất trong các cao chiết được khảo sát.

Trích dẫn: Đái Thị Xuân Trang, Nguyễn Thị Thùy Oanh, Trần Chí Linh, Lê Thanh Phương Thảo, Trần Thanh Mên và Nguyễn Trọng Tuân, 2019. Đánh giá khả năng kháng oxy hóa, ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của các cao chiết từ lá cây nuc nác (*Oroxylum indicum* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(6A): 29-36.

1 GIỚI THIỆU

Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã được thực hiện nhằm tìm ra phương án tốt nhất để điều trị cho bệnh nhân đái tháo đường (ĐTĐ). Trong đó, nhiều nghiên cứu về các chiết xuất từ thảo dược có khả năng làm giảm glucose huyết đã được công bố (Lacroix and Li-Chan, 2014). Một trong những

cách thức để kiểm soát glucose huyết sau bữa ăn là ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase (Bhandari, 2008). Các thuốc tổng hợp như Acarbose và Miglitol có khả năng ức chế rất mạnh α -amylase và α -glucosidase nhưng có nhiều tác dụng phụ như đầy hơi, nôn và tiêu chảy (Rupasinghe, 2016). Bên cạnh đó, các nghiên cứu cũng đã chứng minh các hợp chất hóa thực vật như

phenolic có hiệu quả ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase, điều trị bệnh ĐTD và các biến chứng (Ademiluyi *et al.*, 2013; Ibrahim *et al.*, 2014; Striegel *et al.*, 2015; Buchholz *et al.*, 2016; Rupasinghe *et al.*, 2017). Ngoài ra, thực vật chứa các hợp chất kháng oxy hóa có thể bảo vệ tế bào β khỏi các gốc oxy hoạt động (reactive oxygen species, ROS) và ngăn cản bệnh ĐTD do ROS gây ra (Patel *et al.*, 2012). Chính vì vậy, việc sử dụng các thực vật có thể có hiệu quả giảm glucose huyết và kháng oxy hóa nhằm giảm nguy cơ bệnh ĐTD cũng như các biến chứng do bệnh ĐTD gây ra.

Cây núc nác (*Oroxylum indicum* L.) là một trong những loại thảo mộc truyền thống ở Châu Á. Thành phần hóa học của cây núc nác chủ yếu chứa flavonoid, naphthalenoid và cyclohexylethanoid có khả năng điều trị một số bệnh như vàng da, viêm khớp, thấp khớp, loét dạ dày, khối u, bệnh đường hô hấp, đái tháo đường, tiêu chảy, kiết lỵ và đặc biệt là ung thư (Dinda *et al.*, 2015). Trên thế giới, cũng đã có nhiều nghiên cứu và xác minh thực nghiệm về tác dụng chữa bệnh của cây núc nác. Tuy nhiên cho đến nay, có rất ít nghiên cứu về khả năng hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường của loài thực vật này. Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá hiệu quả kháng oxy hóa và khả năng ức chế các enzyme α -amylase và α -glucosidase của lá cây núc nác nhằm hướng tới việc sử dụng cây núc nác trong hỗ trợ điều trị bệnh ĐTD cũng như các biến chứng của bệnh.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện

Vật liệu: lá cây núc nác được thu tại núi Cẩm, tỉnh An Giang vào tháng 04 năm 2018. Mẫu cây được định danh bởi Thạc sĩ Phùng Thị Hằng (Bộ môn Sư phạm Sinh học, Khoa Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ) dựa vào các đặc điểm hình thái thực vật. Mẫu được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Thực vật 2, Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.

Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: máy ly tâm (Mikro 12-24, Hettich, Đức), máy vortex (ZX3, Velp, Ý), micropipette 100 μ L, 500 μ L, 1000 μ L (Thermo Scientific Multiskan GO, Japan), máy cô quay chân không (Heidolph, Đức) và một số thiết bị khác.

Hóa chất: ethanol (Merck), *n*-hexane (Merck), dichloromethane (Merck) ethyl acetate (Merck), ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (Merck), Trolox (Sigma-Aldrich), gallic acid (Trung Quốc), quercetin, BHA (Butylated hydroxyanisole) (Merck), K₂S₂O₈ (kali persulfate)

(Merck), Folin-Ciocalteu reagent (Merck), K₃Fe(CN)₆ (ferric thiocyanate) (Merck), Cl₃CCOOH (trichloroacetic acid) (Merck), FeCl₃ (Sigma-Aldrich), NaNO₂ (Trung Quốc), AlCl₃ (Merck), Na₂CO₃ (Trung Quốc), NaOH (Merck), TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine), ammonium molybdate, albumin huyết thanh bò (BSA) (Himedia, Ấn Độ), enzyme α -amylase từ tụy heo (Sigma), enzyme α -glucosidase (Sigma), acarbose (Sigma).

2.2 Phương pháp

2.2.1 Điều chế cao chiết lá cây núc nác

Lá cây núc nác sau khi thu về được rửa sạch và sấy khô ở nhiệt độ từ 40-45°C. Mẫu sau khi khô được xay nhuyễn thành mẫu bột nguyên liệu. Bột nguyên liệu (890 g) được cho vào trong túi vải và ngâm dầm trong ethanol (2 L). Mẫu được ngâm 5 lần, mỗi lần ngâm khoảng 24 giờ, dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, cô đuôi dung môi thu được cao ethanol tổng của lá cây núc nác. Cao ethanol lá cây núc nác được chiết lỏng-lỏng với các dung môi *n*-hexane, dichloromethane và ethyl acetate thu được các cao chiết tương ứng (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

2.2.2 Định tính thành phần hóa học trong các cao chiết lá cây núc nác

Nhóm hợp chất như alkaloid, flavonoid, glycoside, tannin, steroid, triterpenoid, saponin được định tính sơ bộ bằng các phương pháp định tính các nhóm hợp chất tự nhiên (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

2.2.3 Định lượng polyphenol và flavonoid toàn phần trong các cao chiết lá cây núc nác

Định lượng polyphenol bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu

Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp của Singleton *et al.* (1999) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 250 μ L cao chiết trong 250 μ L nước và 250 μ L thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều. Sau đó, thêm vào 250 μ L Na₂CO₃ 10% rồi ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Gallic acid được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng polyphenol trong các cao chiết lá núc nác được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn gallic acid.

Phương pháp định lượng flavonoid

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp so màu AlCl₃ của Bag *et al.* (2015) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL cao chiết ở nồng độ khảo sát pha trong 1 mL

nước rồi lắc đều. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 200 μL NaNO_2 5%, để yên 5 phút tiếp tục thêm 200 μL AlCl_3 10%, lắc đều. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút được thêm 2 mL NaOH 1M. Cuối cùng nước được thêm vào cho đủ 5 mL và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong các cao chiết lá núc nác được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin.

2.2.4 Khảo sát hoạt động kháng oxy hóa của các cao chiết lá núc nác

Phương pháp kháng oxy hóa tổng (total antioxidant capacity)

Hoạt tính kháng oxy hoá của cao chiết lá núc nác được đánh giá bằng phương pháp phosphomolybdenum theo mô tả của Prieto *et al.* (1999). Cao chiết ở các nồng độ khác nhau (300 μL) đã được kết hợp với 900 μL dung dịch thử (0,6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate và 4 mM ammonium molybdate). Dung dịch phản ứng được ủ ở 95°C trong 90 phút. Sau đó, độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 695 nm sau khi làm mát ở nhiệt độ phòng.

Phương pháp trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} (2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))

Hoạt tính kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp khử màu ABTS^{•+} mô tả bởi Nenadis *et al.* (2004). ABTS^{•+} được tạo ra bởi phản ứng ABTS 7 mM với 2,45 mM kali persulfate. Hỗn hợp để đứng trong tối ở nhiệt độ phòng 12-16 giờ trước khi sử dụng. Sau đó, hỗn hợp được pha loãng và đo mật độ quang ở bước sóng 734 nm là $0,70 \pm 0,05$. Tiến hành khảo sát bằng cách cho 10 μL cao chiết phản ứng với 990 μL ABTS^{•+} ở nhiệt độ phòng trong 6 phút. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm.

Phương pháp RP (reducing power)

Khả năng khử sắt của các cao chiết lá núc nác được thực hiện theo phương pháp của Oyaizu (1986). Hỗn hợp phản ứng lần lượt gồm 500 μL cao chiết, 500 μL đệm phosphate (0,2 M, pH=6,6) và 500 μL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1%. Sau khi hỗn hợp phản ứng được ủ ở 50°C trong 20 phút, thêm 500 μL CCl_3COOH 10% rồi ly tâm 3.000 vòng/ phút trong 10 phút. Phần dịch sau khi ly tâm được rút 500 μL cho vào 500 μL nước và 100 μL FeCl_3 0,1%, lắc đều. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm.

Khảo sát hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH

Khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết lá núc nác được xác định nhờ phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH của Sharma and Bhat (2009) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 40 μL DPPH

(1000 $\mu\text{g/mL}$) và 960 μL cao chiết. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối 30°C trong thời gian 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 517 nm.

2.2.5 Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -amylase của các cao chiết lá cây núc nác

Khả năng ức chế sự thủy phân tinh bột của các cao chiết lá cây núc nác được thực hiện theo phương pháp của Đái Thị Xuân Trang và *ctv.* (2012) có điều chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 50 μL dung dịch đệm phosphate (pH=7) với 50 μL cao chiết và 50 μL enzyme α -amylase (3U) được đem ủ ở nhiệt độ 37°C trong 5 phút. Sau đó, 50 μL tinh bột (2 mg/mL) được cho vào hỗn hợp trên và tiếp tục ủ 37°C trong 15 phút. Tiếp theo, 200 μL dung dịch HCl đậm đặc được thêm vào để ngừng phản ứng. Cuối cùng, 300 μL 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. Acarbose được sử dụng như đối chứng dương. Phần trăm enzyme α -amylase bị ức chế (%) = $100 - ((A_0 - A_1)/A_0 \times 100)$. Với: A_0 : Giá trị mật độ quang của dung dịch đối chứng. A_1 : Giá trị mật độ quang của dung dịch sau phản ứng.

2.2.6 Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các cao chiết lá cây núc nác

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của các cao chiết được thực hiện theo phương pháp của Shai *et al.* (2011) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng chứa 100 μL dung dịch đệm phosphate (100 mM, pH = 6,8), 20 μL enzyme α -glucosidase (1U), và 40 μL cao chiết. 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 Na_2CO_3 (0,1 M). Độ hấp thụ của *p*-nitrophenol giải phóng được đo tại bước sóng 405 nm. Acarbose ở nồng độ khác nhau (100-1.000 $\mu\text{g/mL}$) được sử dụng như chất chuẩn.

2.2.7 Thống kê phân tích số liệu

Các thử nghiệm được lập lại ba lần và kết quả thu được được biểu thị bằng trung bình \pm sai số. Các kết quả được phân tích bằng phần mềm Minitab 16.0 (ANOVA (one-way) và thử nghiệm Fisher).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả định tính thành phần hóa học trong các cao chiết lá cây núc nác

Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học có trong các cao chiết lá cây núc nác được trình bày ở Bảng 1 cho thấy sự có mặt của các nhóm hợp chất

khác nhau như: flavonoid, alkaloid, steroid, tannin, glycoside nhưng không chứa saponin. Trong đó, cao ethyl acetate không có sự hiện diện của các nhóm chất steroid. Nhóm chất flavonoid đã được biết đến là một trong những polyphenol có hoạt

tính sinh học cao trong việc ngăn ngừa các bệnh thoái hóa như ung thư và các bệnh tim mạch (Claudine *et al.*, 2004). Từ việc định tính sơ bộ cho thấy trong lá cây núc nác cũng chứa nhiều các nhóm hợp chất có tiềm năng sinh học.

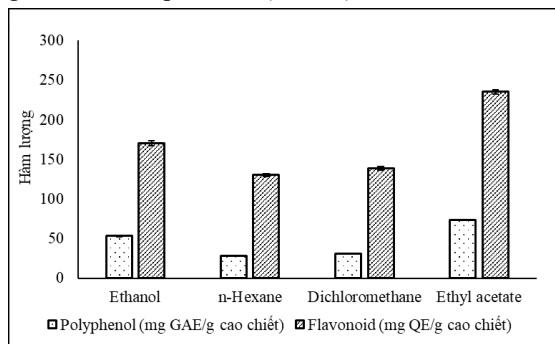
Bảng 1: Kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên của cỏ trong các cao chiết

Nhóm hợp chất	Ethanol	<i>n</i> -Hexane	Dichloromethane	Ethyl acetate
Glycoside	+	+	+	+
Alkaloid	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-
Tannin	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Steroid	+	+	+	-

Ghi chú: + có hiện diện; -: không hiện diện

3.2 Kết quả định lượng polyphenol tổng và flavonoid toàn phần trong các cao chiết lá núc nác

Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các cao chiết lá cây núc nác đã được xác định dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn là gallic acid và quercetin (Hình 1).



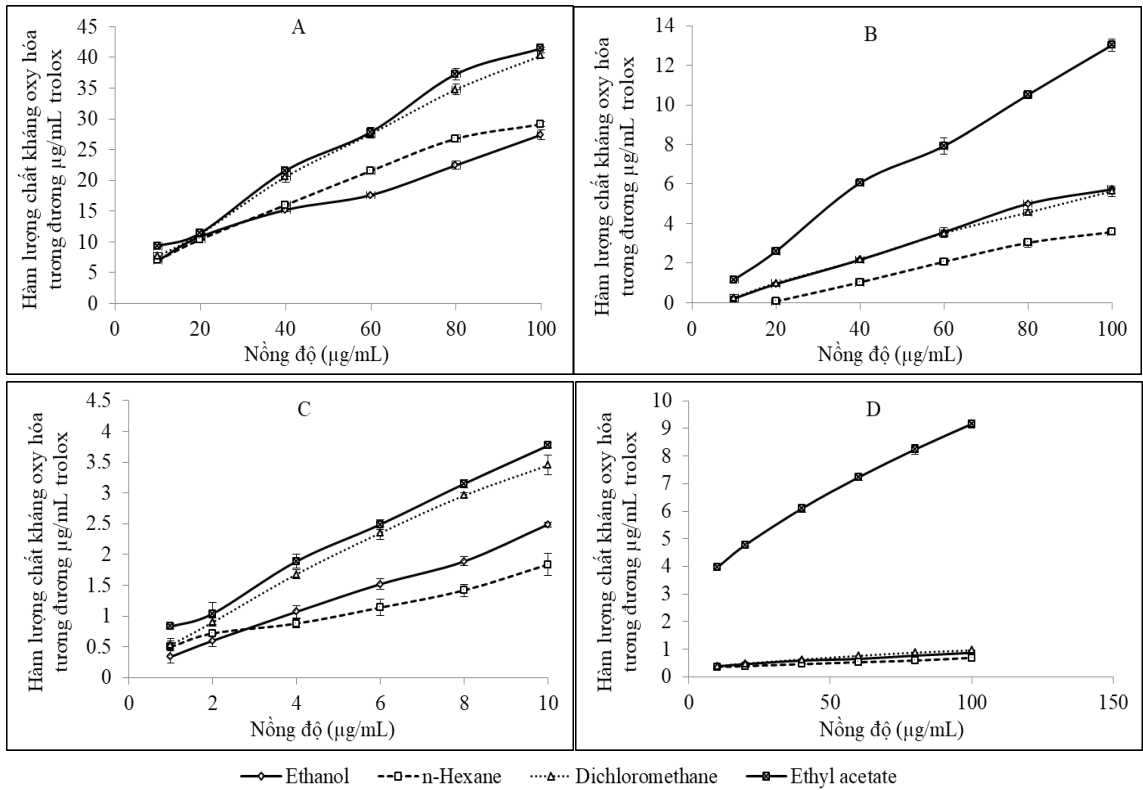
Hình 1: Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các cao chiết lá cây núc nác

Kết quả cho thấy cao ethyl acetate có hàm lượng polyphenol (60,56±0,30 mg GAE/g cao chiết) và flavonoid (235,29±2,88 mg QE/g cao chiết) cao hơn các cao chiết còn lại. Trong khi đó, cao *n*-hexane chứa hàm lượng polyphenol (27,99±0,26 mg GAE/g cao chiết) và flavonoid (130,16±2,00 mg QE/g cao chiết) là thấp nhất.

3.3 Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hoá trong các cao chiết lá cây núc nác

Khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết lá cây núc nác được khảo sát thông qua 4 phương pháp kháng oxy hóa tổng số phosphomolybdenum, khử sắt (reducing power, RP), ABTS⁺, và DPPH được trình bày trong Hình 2. Hoạt tính kháng oxy hóa tổng của các cao chiết lá cây núc nác được xác

định dựa trên việc khử Mo (VI) thành Mo (V) bằng các hợp chất kháng oxy hóa và hình thành phức hợp photphat/Mo (V) màu xanh. Cao ethyl acetate có hàm lượng chất kháng oxy hóa (tương đương µg/mL Trolox) tăng từ 9,32±0,19 µg/mL ở nồng độ 10 µg/mL lên 41,47±0,19 µg/mL ở nồng độ 100 µg/mL. Dựa vào kết quả trình bày ở Hình 2, khả năng khử sắt tỷ lệ thuận với nồng độ các cao chiết lá núc nác. Nguyên nhân là do sự hiện diện của các chất kháng oxy hoá trong lá cây núc nác có thể làm giảm dạng oxy hoá sắt (Fe³⁺) thành dạng khử (Fe²⁺) bằng cách cho một điện tử (Gordon, 1990). Hoạt tính khử sắt của cao ethyl acetate vẫn mạnh hơn các cao chiết còn lại. Các cao chiết lá cây núc nác còn có khả năng trung hòa các gốc tự do ABTS⁺ và DPPH với hàm lượng chất kháng oxy hóa tăng dần theo nồng độ cao chiết. Khả năng kháng oxy hóa của cao ethyl acetate lá cây núc nác luôn mạnh hơn các cao chiết còn lại ở bốn phương pháp được khảo sát. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với việc khảo sát hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các loại cao chiết. Trong nghiên cứu này, cao ethyl acetate được khảo sát có hàm lượng polyphenol và flavonoid là cao nhất. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh các hợp chất thuộc nhóm polyphenol và flavonoid có hoạt tính sinh học cao, đặc biệt là khả năng kháng oxy hóa và kháng khuẩn. Các hợp chất polyphenol gồm một nhóm lớn các chất có khả năng kháng oxy hóa. Khả năng oxy hóa khử cho phép các hợp chất polyphenol hoạt động như một chất khử cung cấp hydro và làm ngừng hoạt động của các gốc oxy tự do (Chang *et al.*, 2001). Flavonoid là một nhóm các hợp chất có trong thực vật, cho thấy hoạt tính kháng oxy hoá thông qua quá trình thu nhận hoặc khử gốc tự do (Baharfar *et al.*, 2015).



Hình 2: Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương các chất chuẩn của các cao chiết

Ghi chú: A-kháng oxy hóa tổng số; B-RP; C-ABTS⁺; D-DPPH

Hiệu quả kháng oxy hóa của các cao chiết lá cây núc nác theo 4 phương pháp kháng oxy hóa được so sánh với chất chuẩn trolox bằng cách sử

dụng nồng độ (µg/mL) mà tại đó chất chuẩn hay cao chiết khử hoặc trung hòa được 50% gốc tự do (EC₅₀) được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2: Giá trị EC₅₀ của các cao chiết lá cây núc nác

Cao chiết và chất chuẩn	Giá trị EC ₅₀			
	ABTS ⁺	RP	DPPH	TAC
Ethanol	14,46 ^b ±1,19	35,67 ^b ±0,78	95,93 ^a ±1,57	-
n-Hexane	22,72 ^a ±1,90	59,15 ^a ±1,78	-	-
Dichloromethane	9,76 ^c ±0,39	36,8 ^b ±1,08	78,46 ^b ±0,70	82,00 ^a ±1,19
Ethyl acetate	8,92 ^c ±0,23	15,45 ^c ±0,30	10,13 ^c ±0,44	78,19 ^b ±1,15
Trolox	3,31 ^d ±0,06	1,93 ^d ±0,11	0,64 ^d ±0,01	35,02 ^c ±0,40

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5%. “-” là không xác định.

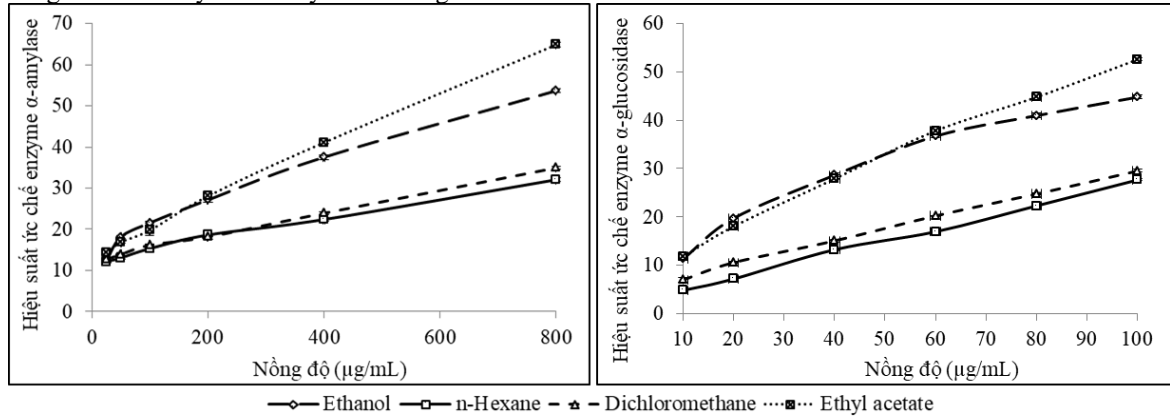
Kết quả xác định giá trị EC₅₀ của các cao chiết lá cây núc nác cho thấy cao ethyl acetate có giá trị EC₅₀ thấp hơn các cao chiết còn lại trong tất cả các phương pháp được khảo sát. Đồng thời, cao n-hexane là cao chiết có giá trị EC₅₀ cao nhất trong các cao chiết. Như vậy có nghĩa là khả năng kháng oxy hóa của cao ethyl acetate là mạnh nhất và yếu nhất là cao n-hexane. Tuy nhiên, khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết đều kém hơn chất chuẩn trolox.

3.4 Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase của các cao chiết

Các hoạt chất từ thực vật có khả năng ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase có thể được sử dụng như một nhóm thuốc hỗ trợ điều trị bệnh ĐTD bằng cách ngăn chặn sự thủy phân nhanh các dạng carbohydrate thành đường đơn và do đó kiểm soát lượng glucose huyết (Zhenhua *et al.*, 2014). Nghiên cứu đã khảo sát được hoạt tính ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase của các cao

chiết từ lá cây núc nác được trình bày trong Hình 3. Kết quả khảo sát cho thấy cao ethyl acetate có khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase mạnh nhất, tiếp đến là cao ethanol, cao dichloromethane và yếu nhất là cao *n*-hexane. Khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase

của các cao chiết lá cây núc nác có sự tương đồng với hàm lượng polyphenol và flavonoid đã xác định được ở trên, có nghĩa là những cao chiết giàu polyphenol và flavonoid có khả năng ức chế các enzyme càng mạnh.



Hình 3: Khả năng ức chế enzyme enzyme α -amylase và α -glucosidase của các cao chiết

Nhiều nghiên cứu khác cũng cho thấy các cao chiết thực vật có hoạt tính ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase phụ thuộc vào polyphenol (Kwon *et al.*, 2008; Kang *et al.*, 2014). Ngoài ra, flavonoid là một nhóm chính của các hợp chất polyphenol đã được báo cáo là có khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase (Kim *et al.*, 2000; Tadera *et al.*, 2006; Williams, 2013). Các nhóm chất trên có hoạt tính ức chế các enzyme trên là do số và vị trí của các nhóm hydroxyl của chúng trong phân tử đã xác định các yếu tố để ức chế enzyme. Sự ức chế hoạt động tăng đáng kể với sự gia tăng số lượng nhóm hydroxyl trên vòng B (Tadera *et al.*, 2006). Các nhóm hydroxyl trong cấu trúc phân tử flavonoid có thể hình thành liên kết hydro với các nhóm -OH trong chuỗi bên hoạt động của các amino acid chức năng của enzyme giúp cản trở phản ứng giữa enzyme α -amylase và tinh bột sẽ ức chế quá trình thủy phân tinh bột (Ng

et al., 2015). Trong nghiên cứu này, nguồn enzyme tiêu hóa ở động vật bậc cao là α -amylase tụy và α -glucosidase ruột có liên quan chặt chẽ về mặt cấu trúc và cơ học với enzyme của con người rất thích hợp cho việc khảo sát hoạt tính trong điều kiện *in vitro* (Bayer *et al.*, 1995). Enzyme α -glucosidase đường ruột là enzyme chủ chốt tiêu hóa nguồn carbohydrate đã được công nhận là một mục tiêu cần ức chế trong điều trị bệnh đái tháo đường. So sánh hiệu quả ức chế α -amylase và α -glucosidase của lá cây núc nác với acarbose (Bảng 3) dựa vào giá trị IC_{50} cho thấy cao chiết thể hiện hoạt tính kém hơn chất chuẩn. Đồng thời, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy rằng các cao chiết lá cây núc nác có khả năng ức chế enzyme α -glucosidase mạnh hơn enzyme α -amylase. Một số nghiên cứu cho thấy chất ức chế enzyme α -glucosidase đóng vai trò chính trong việc kiểm soát glucose huyết sau bữa ăn ở bệnh nhân ĐTĐ (Javed *et al.*, 2011).

Bảng 3: Giá trị IC_{50} đối với hoạt tính ức chế đối với enzyme α -amylase và enzyme α -glucosidase

Cao chiết và chất chuẩn	Giá trị IC_{50} (µg/mL)	
	Enzyme α -amylase	Enzyme α -glucosidase
Ethanol	693,52 ^c ±1,54	110,11 ^c ±0,78
<i>n</i> -Hexane	1505,15 ^a ±32,53	189,58 ^a ±0,88
Dichloromethane	1397,01 ^b ±98,60	182,47 ^b ±2,60
Ethyl acetate	557,61 ^d ±5,67	91,35 ^d ±0,20
Acarbose	12,13 ^e ±0,19	6,74 ^e ±0,13

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5%. “-” là không xác định.

4 KẾT LUẬN

Các cao chiết lá cây núc nác được sơ bộ định tính thành phần hóa học, định lượng polyphenol và

flavonoid, khảo sát khả năng kháng oxy hóa, ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase. Kết quả chỉ ra rằng tất cả các cao chiết đều có hoạt tính kháng oxy hóa. Hoạt động kháng oxy hóa và ức

chế enzyme của các cao chiết có mối tương quan logic với hàm lượng polyphenol và flavonoid. Cao ethyl acetate có hàm lượng polyphenol và flavonoid cao nhất, cho thấy hoạt động kháng oxy hóa và ức chế enzyme mạnh hơn các cao chiết còn lại.

Các kết quả nghiên cứu cho thấy lá cây núc nác có thể là dược liệu tiềm năng trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến gốc tự do và bệnh ĐTĐ, cần được nghiên cứu thêm để xem xét khả năng ứng dụng trong y học hoặc trong thực phẩm chức năng.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin trân trọng cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Tỉnh An Giang đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ademiluyi, A.O., and Oboh, G., 2013. Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes (α -amylase and α -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) *in vitro*. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 65(3): 305-309.

Bag, G.C., Devi, P.G., and Bhaigyabati, T., 2015. Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* Species of Manipur Valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 30(1): 154-159.

Baharfar, R., Azimi, R., and Mohseni, M., 2015. Antioxidant and antibacterial activity of flavonoid-, polyphenol and anthocyanin-rich extracts from *Thymus kotschyanus* boiss & hohen aerial parts. *Journal of Food Science and Technology*. 52(10): 6777-6783.

Bayer, G.D., Luo, Y., and Whithers, S.G., 1995. The structure of human pancreatic alpha-amylase at 1.8 Å resolution and comparisons with related enzymes. *Protein Science*. 4(9): 1730-1742.

Bhandari, M.R., Jong-Anurakkun, N., Hong, G., and Kawabata, J., 2008. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of nepalese medicinal herb pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). *Food Chem*. 106: 247-252.

Buchholz, T., and Melzig, M.F., 2016. Medicinal plants traditionally used for treatment of obesity and diabetes mellitus - screening for pancreatic lipase and α -amylase inhibition. *Phytother Res*. 30: 260-266.

Chang, S.T., Wu, J.H., Wang, S.Y., Kang, P.L., Yang, N.S., and Shyr, L.F., 2001. Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 3420-3424.

Claudine, M., Augustin, S., Christine, M., and Christian, R.L.J., 2004. Polyphenol: food sources

and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 5(1): 727-747.

Đài Thị Xuân Trang, Bùi Tấn Anh, Trần Thanh Mến, Phạm Thị Lan Anh, 2012. Khảo sát khả năng điều trị bệnh tiêu đường của cao chiết lá Ôi (*Psidium guajava* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 22b: 163-171.

Dinda, B., SilSarma, I., Dinda, M., and Rudrapaul, P., 2015. *Oroxylum indicum* (L.) Kurz, an important Asian traditional medicine: from traditional uses to scientific data for its commercial exploitation. *Journal of Ethnopharmacology*. 161: 255-278.

Gordon, M.H., 1990. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In: Hudson B.J.F, editor. *Food antioxidants*. London: Elsevier Applied Science. 1-18.

Ibrahim, M.A., Koorbanally, N.A., and Islam, M.S., 2014. Antioxidative activity and inhibition of key enzymes linked to type-2 diabetes (α -glucosidase and α amylase) by Khaya Senegalensis. *Acta Pharmaceutica*. 64: 311-324.

Kang, B.H., Racicot, K., Pilkenton, S.I., and Aporroldis E., 2014. Evaluation of the *in vitro* anti-hyperglycemic effect of *Cinnamomum cassia* derived phenolic phytochemicals, via carbohydrate hydrolyzing enzyme inhibition. *Plant Foods for Human Nutrition*. 69: 155-160.

Kim, J.S., Kwon, C.S., and Sou, K.H., 2000. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosce Biotechnol Biochem*. 64: 2458-2461.

Kwon, Y.I., Apostolidis, E., and 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(1): 15-31.

Lacroix, I.M.E., and Li-Chan, E.C.Y., 2014. Overview of food products and dietary constituents with antidiabetic properties and their putative mechanisms of action: a natural approach to complement pharmacotherapy in the management of diabetes. *Molecular Nutrition & Food Research*. 58: 61-78.

Nenadis, N., Wang, L.F., Tsimidou, M., and Zhang, H.Y., 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS^{•+} assay. *Journal of agricultural and food chemistry*. 52: 4669-4674.

Ng, K., Gu, C., Zhang, H., and Patri, C.Y., 2015. Evaluation of alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activity of flavonoids. *International Journal of Nutrition Sciences*. 2(2): 174-179.

Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh. Tp. HCM. 80-147.

Oyaizu, M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine. *The*

- Japanese Journal of Nutrition and Dietetics. 44: 307-315.
- Patel, D.K., Kumar, R., Laloo, D., and Hemalatha S., 2012. Diabetes mellitus: an overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2: 411-420.
- Prieto, P., Pineda, M., and Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*. 269: 337-341.
- Rupasinghe, H.P.V., Balasuriya, N., and Wang, Y., 2017. Prevention of type 2 diabetes by polyphenols of fruits. In: Kaïs H, Al-Gubory KH, Laher I, editors. *Nutritional Antioxidant Therapies: Treatments and Perspectives*. Springer. 447-466.
- Rupasinghe, H.P.V., Sekhon-Loodu, S., Mantso, T., and Panayiotidis, M.I., 2016. Phytochemicals in regulating fatty acid β -oxidation: Potential underlying mechanisms and their involvement in obesity and weight loss. *Pharmacol Ther*. 165: 153-163.
- Shai, L.J., Magano, S.R., Lebelo, S.L., and Mogale, A.M., 2011. Inhibitory effects of five medicinal plants on rat alpha-glucosidase: Comparison with their effects on yeast alpha-glucosidase. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5: 2863-2867.
- Sharma, O.P., and Bhat, T.K., 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*. 113: 1202-1205.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*. 299: 152-178.
- Striegel, L., Kang, B., Pilkenton, S.J., Rychlik, M., and Apostolidis, E., 2015. Effect of black tea and black tea pomace polyphenols on α -glucosidase and α -amylase inhibition, relevant to type 2 diabetes prevention. *Frontiers in Nutrition*. 2: 3.
- Tadera, K., Minami, Y., Takanatsu, K., and Matsuoka, T., 2006. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 52(2): 149-153.
- Williams, G., 2013. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular Nutrition & Food Research*. 57(1): 48 -57.
- Zhenhua, Y., Wei, Z., Fajin, F., Yong, Z., and Wenyi, K., 2014. α -glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*. 3(3-4): 136-174.
- Javed, A., Kamran, J.N., Showkat, R.M., Mohd, A., and Mohd, S., 2011. Review on role of natural alpha-glucosidase inhibitors for management of diabetes mellitus. *International Journal of Biomedical Research*. 2(6): 374-380.