

KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA, ỨNG CHẾ ENZYME α -AMYLASE VÀ α -GLUCOSIDASE CỦA CAO CHIẾT TỪ LÁ CÂY LỘC VỪNG

(*Barringtonia acutangula*)

Nguyễn Phạm Tuấn^{1*}, Nguyễn Thị Ái Lan²

¹Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang;

²Trường Đại học Trà Vinh.

*Tác giả liên hệ: ngphamtuan1983@gmail.com

Nhận bài: 02/10/2021 Hoàn thành phản biện: 30/11/2021 Chấp nhận bài: 06/12/2021

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, khả năng ức chế hoạt động enzyme α -amylase, α -glucosidase và kháng oxy hóa của lá cây lộc vừng được nghiên cứu *in vitro*. Lá cây lộc vừng được ly trích bằng phương pháp soxhlet bằng các dung môi nước, ethanol 70% và methanol 70%. Hàm lượng phenolic, flavonoid, khả năng ức chế α -amylase, α -glucosidase và kháng oxy hóa được xác định bằng việc đo quang phổ ở bước sóng 510 nm, 765 nm, 660 nm, 405 nm và 517 nm. Kết quả, độ ẩm đạt 70,64% và hiệu suất chiết của lá cây lộc vừng đạt 9,78-13,13%. Lá cây lộc vừng được xác định có chứa các hợp chất alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, tannin và phenol. Hàm lượng polyphenol của cao chiết lá cây lộc vừng lần lượt là 70,06 (nước); 77,94 (ethanol); 85,23 (methanol) mg GE/g cao chiết. Hàm lượng flavonoid của cao chiết lá cây lộc vừng lần lượt là 88,91 (nước); 109,65 (ethanol); 125,56 (methanol) mg quercetin/g cao chiết. Cao chiết lá cây lộc vừng có khả năng kháng oxy hóa bằng DPPH với giá trị IC₅₀ lần lượt là 121,16 μ g/mL (nước); 109,60 μ g/mL (ethanol) và 98,42 μ g/mL (methanol). Cao chiết lá cây lộc vừng còn có khả năng ức chế α -amylase với giá trị IC₅₀ lần lượt là 145,31 μ g/mL (nước); 131,72 μ g/mL (ethanol) và 120,62 μ g/mL (methanol). Cao chiết lá cây lộc vừng có khả năng ức chế α -glucosidase với giá trị IC₅₀ lần lượt là 197,6 μ g/mL (nước); 176,73 μ g/mL (ethanol) và 158,01 μ g/mL (methanol).

Từ khóa: α -amylase, α -glucosidase, Kháng oxy hóa, DPPH, Cây lộc vừng

ANTIOXIDANT ACTIVITY, α -AMYLASE AND α -GLUCOSIDASE INHIBITING ACTIVITIES OF THE EXTRACT OF *Barringtonia acutangula* LEAVES

Nguyen Pham Tuan^{1*}, Nguyen Thi Ai Lan²

¹Biotechnology An Giang Center;

²Tra Vinh University.

ABSTRACT

In this research, the antioxidant role, inhibiting α -amylase and α -glucosidase of *Barringtonia acutangula* leaves were investigated *in vitro*. The leave extraction was carried out by soxhlet method with aqueous, ethanol 70% and methanol 70% solvents. The content of phenolic, flavonoid, inhibition activities of α -amylase, α -glucosidase and antioxidant were measured by spectrophotometer at 510 nm, 765 nm, 660 nm, 405 nm, 517 nm wavelength. The results showed that the moisture content was 70.64% and extraction efficiency of *B. acutangula* leave ranged from 9.78 to 13.13%. The leaves of *B. acutangula* contains some bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, terpenoids, steroids, tannin and phenol. The total polyphenol of *B. acutangula* extract is 70,06 (aqueous); 77,94 (ethanol); 85,23 (methanol) mg GE/g extract. The total flavonoid of *B. acutangula* extract is 88,91 (aqueous); 109,65 (ethanol); 125,56 (methanol) mg quercetin/g extract. The *B. acutangula* leaves extract has antioxidant ability by DPPH method with an IC₅₀ values of 121.16 μ g/mL (aqueous); 109.60 μ g/mL (ethanol) and 98.42 μ g/mL (methanol), respectively. The *B. acutangula* leaves extract has the ability to inhibit α -amylase with an IC₅₀ values of 145.31 μ g/mL (aqueous); 131.72 μ g/mL (ethanol) and 120.62 μ g/mL (methanol), respectively. The *B. acutangula* leaves extract has the ability to inhibit α -glucosidase with an IC₅₀ values of 197.6 μ g/mL (aqueous); 176.73 μ g/mL (ethanol) and 158.01 μ g/mL (methanol), respectively.

Keywords: α -amylase, α -glucosidase, Antioxidant, DPPH, *Barringtonia acutangula*

1. MỞ ĐẦU

Đái tháo đường (ĐTĐ) là bệnh do sự rối loạn chuyển hóa carbohydrate khi hormone insulin của tuyến tụy bị thiếu hay giảm tác động trong cơ thể. ĐTĐ biểu hiện bằng lượng glucose trong máu cao hơn bình thường. Đối với người bệnh tiểu đường type 2, việc tăng glucose trong máu thường gây những biến chứng nguy hiểm. Kiểm soát đường huyết đặc biệt là đường huyết sau bữa ăn được xem là một mục tiêu quan trọng trong điều trị ĐTĐ (Yao và cs., 2010). Điều này có thể đạt được thông qua việc ức chế enzyme tiêu hóa carbohydrate như enzyme α -amylase và α -glucosidase. Hiện nay, ĐTĐ được kiểm soát bằng nhiều phương pháp khác nhau như sử dụng thuốc duy trì lượng glucose trong máu ổn định (Sulfonylurea), chất ức chế tiêu hóa và hấp thu tinh bột (Glucobay), thuốc cảm ứng độ nhạy của insulin nhưng có giá thành cao và nhiều tác dụng phụ như béo phì, vàng da,...gây nhiều khó khăn trong quá trình điều trị và chăm sóc bệnh nhân. Với xu hướng hiện nay trên thế giới và Việt Nam, nghiên cứu và phát triển các loại thuốc hạ đường huyết, có nguồn gốc thực vật được sử dụng phổ biến trong dân gian, nhằm tìm những loại thuốc mới hiệu quả và không gây tác dụng phụ so với các thuốc hóa dược là rất cần thiết. Đồng thời, tận dụng được nguyên liệu sẵn có, rẻ tiền, sử dụng tiện lợi để người bệnh và thầy thuốc có thêm lựa chọn. Theo Gopinath và cs. (2013), các loại thực vật có chứa các hợp chất như flavonoid, alkaloid, phenolic và tannin,...có tiềm năng ức chế α -amylase và α -glucosidase. Cây lộc vừng là một loại thực vật có giá trị đã được sử dụng trong các bài thuốc truyền thống ở nhiều nơi trên thế giới và cả ở Việt Nam (Võ Văn Chi, 1999; Mishra và Sahoo, 2013). Các bộ phận khác nhau như vỏ, lá, hạt và rễ của Lộc vừng được sử dụng như thuốc giảm đau, động

kinh, đờm, điều trị chứng suy nhược, tiêu chảy và lậu. Nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học trong cao chiết Lộc vừng chứa các hợp chất như phenolic, flavonoid, tannin, terpenoid, anthraquinone,...có khả năng kháng oxy hóa (Sujatha và cs., 2012). Từ đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá khả năng kháng oxy hóa và ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của lá cây lộc vừng nhằm hướng tới việc sử dụng cây lộc vừng trong hỗ trợ và điều trị bệnh đái tháo đường cũng như các biến chứng của bệnh đái tháo đường.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguyên vật liệu: lá cây lộc vừng được thu thập từ cây lộc vừng ở vườn trồng cây dược liệu của Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang và được tiến hành kiểm tra, so sánh đặc điểm hình thái thực vật nhờ vào thân, lá, hoa tham khảo từ bộ sách Cây cỏ Việt Nam của Phạm Hoàng Hộ (1999). Sau khi khẳng định là cây lộc vừng (*B. acutangula*), mẫu lá được thu hái. Mẫu lá lộc vừng tươi sau khi được rửa sạch, để khô nước và được cân xác định trọng lượng mẫu tươi. Sau đó, lá cây lộc vừng được sấy khô đến trọng lượng không đổi và cân lại lần nữa để xác định trọng lượng mẫu khô.

Độ ẩm của mẫu cây chính là lượng nước có trong mẫu cây được tính toán dựa trên sự chênh lệch giữa trọng lượng tươi và trọng lượng khô. Độ ẩm được tính theo công thức như sau:

$$\%H = ((m_{\text{mẫu tươi}} - m_{\text{mẫu khô}}) / m_{\text{mẫu tươi}}) \times 100\%$$

Hiệu suất cô quay cao chiết được tính toán dựa vào tỷ lệ giữa trọng lượng cao thu được so với trọng lượng mẫu khô khi ngâm vào dung môi. Hiệu suất cô quay được tính theo công thức như sau:

$$\%H = (m_{\text{cao chiết}} / m_{\text{mẫu khô}}) \times 100\%$$

Hóa chất và thiết bị: máy đo quang phổ (Human, Hàn Quốc), máy đông khô chân không (Christ, Mỹ), máy cô quay chân không (Eyala, Nhật Bản), máy ly tâm (Orto, Tây Ban Nha), gallic acid, quercetin, DPPH (Merck, Mỹ), enzyme α -amylase và α -glucosidase, acarbose (Sigma, Mỹ),...hóa chất và thiết bị cần thiết khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tạo cao chiết lá cây lộc vừng

Lá cây lộc vừng được thu từ Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang (tỉnh lộ 941, ấp Vĩnh Phước, Thị trấn Vĩnh Bình, huyện Châu Thành, tỉnh An Giang). Lá được tiến hành rửa sạch, loại bỏ những lá có vết bệnh và tiến hành sấy khô ở điều kiện nhiệt độ 50°C trong 72 giờ, nghiền thành bột mịn. Bột lá cây lộc vừng (300 g) được chiết xuất bằng hệ thống soxhlet với các dung môi (ethanol 70 ° và methanol 70°) với tỷ lệ

nguyên liệu và dung môi là 1:10 (w/v), ở điều kiện nhiệt độ 80°C, trong 12 giờ. Đối với dung môi nước được chiết xuất ở 80°C trong Water bath trong 12 giờ. Sau đó, hỗn hợp được tiến hành ly tâm 5.000 vòng/phút trong 20 phút, loại bỏ phần cặn thu phần dịch. Phần dịch lọc được lọc qua giấy lọc Whatman có đường kính 0,45 μ m, thu dịch lọc và bỏ phần bã. Phần dịch lọc sau đó được tiến hành cô quay chân không để đuổi dung môi. Dịch lọc sau khi cô quay đuổi dung môi được tiến hành đông khô bằng máy đông khô để thu cao chiết lá cây lộc vừng. Cao chiết lá cây lộc vừng được bảo quản ở nhiệt độ -20°C và thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.2. Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học của cao chiết lá cây lộc vừng

Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học theo phương pháp của Yadav và cs. (2014) (Bảng 1).

Bảng 1. Phương pháp định tính hợp chất trong cao chiết lá cây lộc vừng.

Hợp chất	Thực nghiệm	Hiện tượng
Alkaloid (phương pháp Mayer) (phương pháp Dragendorff)	1mL dịch trích + vài giọt TT Mayer 1mL dịch trích + vài giọt TT Dragendorff	Kết tủa màu trắng Kết tủa đỏ cam
Flavonoid	1mL dịch trích + vài giọt FeCl ₃	kết tủa nâu đỏ
Saponin (Foam)	3mL dịch trích+ 6mL H ₂ O → đun nóng	Xuất hiện bọt
Steroid (Salkowski)	1mL dịch trích + 2mL CHCl ₃ + 2mL H ₂ SO ₄ đậm đặc	Xuất hiện vòng đỏ nâu giữa 2 lớp
Tannin và phenol (Braymer)	0,5mL dịch trích + 10mL H ₂ O + 2-3 giọt FeCl ₃ 0,1%	Kết tủa xanh dương đen
Terpenoid	2mL dịch trích + 2mL (CH ₃ CO) ₂ O + 2-3 giọt H ₂ SO ₄ đậm đặc	Xuất hiện màu đỏ đậm

2.2.3. Phân tích hàm lượng tổng polyphenol (TPC) và tổng flavonoid (TFC) của cao chiết lá cây lộc vừng

Hàm lượng flavonoid tổng theo mô tả của Pieme và cs. (2014): lấy 10 mg quercetin hòa tan trong 1 mL ethanol 80% sau đó pha loãng ra các nồng độ 25 - 400 μ g/mL. Hút 0,1 mL quercetin, thêm vào 0,3 mL nước cất, 0,03 mL NaNO₂ 5%. Ủ 5 phút ở 25°C, thêm 0,03 mL AlCl₃ 10%. Ủ thêm 5 phút, sau đó cho thêm 0,2 mL NaOH 1

mM. Thêm nước cất để tổng thể tích là 1 mL, đo ở $\lambda = 510$ nm. Hàm lượng flavonoid tổng được xác định theo công thức: $C = c * V/m$.

Mẫu cao chiết (100 mg) pha trong 100 mL ethanol 80%. Hút 0,1 mL cao chiết và tiến hành tương tự như chất chuẩn quercetin.

Trong đó: C: hàm lượng flavonoid tổng (mg quercetin/g chiết xuất); c: giá trị x

từ đường chuẩn với quercetin (mg/mL); V: thể tích dịch chiết (mL); m: khối lượng cao chiết có trong V (g).

Hàm lượng phenolic tổng theo mô tả của Yadav và Agarwala (2011): chuẩn bị dung dịch gallic acid nồng độ 20 - 100 $\mu\text{g/mL}$; thuốc thử Folin-Ciocalteu 10%. Lần lượt cho 1 mL dung dịch gallic acid vào 2,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và để phản ứng trong 5 phút; sau đó, thêm tiếp vào 2 mL dung dịch Na_2CO_3 2%. Sau 45 phút phản ứng ở nhiệt độ phòng, mẫu được đem đo độ hấp thụ ở $\lambda = 765$ nm. Hàm lượng phenolic tổng được tính theo công thức: $P = a \times V/m$.

Mẫu cao chiết (100 mg) pha trong 100 mL ethanol 80%. Hút 1 mL cao chiết và tiến hành tương tự như chất chuẩn gallic acid.

Trong đó: P: hàm lượng phenolic tổng (mg gallic acid/g cao chiết); a: giá trị x từ đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$); V: thể tích dung dịch cao chiết (mL); m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

2.2.4. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa của cao chiết lá cây lộc vừng

Khảo sát khả năng ức chế gốc tự do DPPH theo Shekhar và Anju [7]: 1 mL cao chiết lá cây lộc vừng phản ứng với 1 mL dung dịch DPPH 0,1 M, ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và trong điều kiện tối để tránh oxy hoá và đo độ hấp thụ ở $\lambda = 517$ nm. Khả năng ức chế gốc tự do DPPH được xác định theo công thức: $AA\% = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$

Trong đó: AA%: Phần trăm ức chế gốc tự do DPPH; A_0 : Độ hấp thụ quang phổ của mẫu đối chứng; A_1 : Độ hấp thụ quang phổ của mẫu cao chiết. Vitamin C là chất chuẩn.

2.2.5. Khảo sát khả năng ức chế enzyme α -amylase của cao chiết lá cây lộc vừng

Phản ứng ức chế sự thủy phân tinh bột của α -amylase theo Đái Thị Xuân Trang

và cs. (2012): 50 μL α -amylase 0,5 U/mL được ủ với 100 μL cao chiết ở nồng độ khác nhau và 100 μL dung dịch đệm phosphate pH = 7, ủ ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút, thêm 250 μL tinh bột 1 mg/mL và ủ ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút. Sau đó, hỗn hợp được thêm 100 μL HCl 1N để dừng phản ứng và 300 μL thuốc thử Iodine 0,1N để nhận biết lượng tinh bột còn lại dựa trên phản ứng màu xanh đặc trưng của phức hợp tinh bột-iodine và đo quang ở $\lambda = 660$ nm để xác định lượng tinh bột còn lại sau phản ứng. Phần trăm enzyme α -amylase bị ức chế (%): dựa vào lượng tinh bột ban đầu và lượng tinh bột còn lại sau phản ứng thông qua giá trị đo độ hấp thụ quang phổ.

Phần trăm enzyme α -amylase bị ức chế (%) = 100 - Hiệu suất phản ứng (%).

Hiệu suất phản ứng (%) = $(A_0 - A_1)/A_0 \times 100$.

Trong đó: A_0 : Giá trị quang phổ của dung dịch đối chứng (lượng tinh bột ban đầu). A_1 : Giá trị quang phổ của dung dịch sau phản ứng (lượng tinh bột còn lại). Acarbose là chất chuẩn thực hiện tương tự mẫu cao chiết. Giá trị IC_{50} được dùng làm so sánh hiệu quả ức chế enzyme α -amylase.

2.2.6. Khảo sát khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của cao chiết lá cây lộc vừng

Phản ứng ức chế sự thủy phân tinh bột của α -glucosidase theo Đái Thị Xuân Trang và cs. (2012): 100 μL α -glucosidase được ủ với 50 μL cao chiết ở các mức nồng độ, ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút, thêm 50 μL pNPG nồng độ 4mM và ủ ở nhiệt độ 37°C trong 20 phút. Sau cùng, kết thúc phản ứng bằng bổ sung 1.000 μL Na_2CO_3 0,2M và đo quang phổ ở $\lambda = 405$ nm. Phần trăm α -glucosidase bị ức chế (%) được tính dựa vào lượng p-nitrophenol tạo thành từ pNPG trong phản ứng qua giá trị đo độ hấp thụ quang phổ. Phần trăm enzyme α -glucosidase bị ức chế (%) = $(B - A)/B \times 100$.

Trong đó: A: Giá trị quang của mẫu thật. B: Giá trị quang của mẫu đối chứng. Acarbose là chất chuẩn thực hiện tương tự mẫu cao chiết. Giá trị IC₅₀ được dùng làm so sánh hiệu quả ức chế enzyme α -glucosidase.

2.3. Phương pháp thống kê

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel 2010 và thống kê bằng phần mềm Statgraphics plus 16.0. Kiểm tra sự khác biệt giữa các trung bình theo phép thử LSD hoặc Duncan. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm sai số chuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tạo cao chiết lá cây lộc vừng

Quy trình trích cao được thực hiện với lá cây lộc vừng là 3.000 gram (tươi), độ ẩm của lá cây lộc vừng là 70,64% và lá cây lộc vừng chiết xuất với các dung môi khác

Bảng 2. Kết quả phân tích độ ẩm, hiệu suất của cao chiết lá cây lộc vừng

Chi tiêu theo dõi	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
Khối lượng mẫu tươi (g)	3.000	3.000	3.000
Độ ẩm (%)	70,64 \pm 0,35	70,64 \pm 0,35	70,64 \pm 0,35
Khối lượng mẫu khô (g)	300	300	300
Khối lượng cao khô (g)	29,34 \pm 0,44	37,06 \pm 0,29	29,34 \pm 0,37
Hiệu suất chiết (%)	9,78 \pm 0,21	12,35 \pm 0,11	13,13 \pm 0,07

3.2. Định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học của cao chiết lá cây lộc vừng

Cao chiết nước, ethanol, methanol lá cây lộc vừng từ các dung môi khác nhau đều có sự hiện diện của các hợp chất alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, tanin và phenol (Bảng 3). Kết quả tương tự nghiên cứu của Asaduzzaman và cs. (2015) cho rằng, dịch trích lá cây lộc vừng có sự hiện diện của các hợp chất như saponin,

nhau là 300 gram (khô) (Bảng 2). Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất trích cao có sự khác biệt giữa các dung môi chiết, hiệu suất chiết cao nhất ở dung môi là methanol đạt hiệu suất 13,13%; dung môi ethanol 80% đạt hiệu suất 12,35% và dung môi nước đạt hiệu suất 9,78%. Hiệu suất trích cao hơn nghiên cứu của Rashmi và cs. (2011) và Mohamad và cs. (2012) khi tiến hành trích lý lá cây lộc vừng với hiệu suất của dung môi acetone (4,48%), dung môi methanol (5,7%) và petroleum (2,11%). Tuy nhiên, hiệu suất trích ly từ hạt cây lộc vừng có hiệu suất cao hơn so với lá cây lộc vừng, dung môi ethanol (hiệu suất 12,75%) và methanol (hiệu suất 13,81%). Điều này cho thấy, các dung môi khác nhau được sử dụng để chiết xuất ra các hợp chất khác nhau tùy thuộc vào độ phân cực của dung môi (Boeing và cs., 2014).

flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, tanin và phenol.

Phân tích định tính cho thấy, cao chiết lá cây lộc vừng từ các dung môi khác nhau đều có sự hiện diện của các hợp chất alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, tanin và phenol. Nhóm chất flavonoid và polyphenol có các hoạt tính sinh học cao, có ý nghĩa trong hoạt động kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng ung thư và bảo vệ gan (Petti và Scully, 2009).

Bảng 3. Kết quả phân tích các hợp chất có hoạt tính sinh học của cao chiết lá cây lộc vừng

Chi tiêu theo dõi	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
Saponin	(+)	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)	(+)
Terpenoid	(-)	(+)	(+)
Alkaloid	(+)	(+)	(+)
Tanin và phenol	(+)	(+)	(+)
Steroid	(+)	(+)	(+)

“+”: có sự hiện diện của hợp chất; “-”: không có sự hiện diện của hợp chất.

3.3. Phân tích hàm lượng tổng polyphenol (TPC) và tổng flavonoid (TFC) của cao chiết lá cây lộc vừng

Kết quả xác định hàm lượng tổng số phenolyphecol (TPC) được tính trong đưong mg GAE/g cao chiết dựa theo phương trình đưong chuẩn gallic acid có

dạng $y = 0,0049x + 0,0127$ ($R^2 = 0,9985$). Kết quả từ Bảng 4 cho thấy rằng, hàm lượng TPC tăng dần từ cao chiết nước lá cây lộc vừng (70,06 mg gallic acid/g cao chiết), cao chiết ethanol lá cây lộc vừng (77,94 mg gallic acid/g cao chiết), cao chiết methanol lá cây lộc vừng (85,23 mg gallic acid/g cao chiết).

Bảng 4. Kết quả phân tích hàm lượng tổng số polyphenol (TPC) và tổng flavonoid của cao chiết lá cây lộc vừng trong các dung môi nước, ethanol và methanol

Hoạt chất	Mẫu cao chiết		
	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
Hàm lượng TPC (mg gallic acid/g cao chiết)	70,06 ^c ± 0,06	77,94 ^b ± 0,21	85,23 ^a ± 0,18
Hàm lượng TFC (mg quercetin/g cao chiết)	88,91 ^c ± 0,11	109,65 ^b ± 0,07	125,56 ^a ± 0,22

a, b, c: Các số chữ số giống nhau theo cùng một hàng không có ý nghĩa khác biệt thống kê mức ý nghĩa 5%. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± sai số chuẩn.

Hàm lượng tổng flavonoid (TFC) được tính tương đưong mg QE/g cao chiết, dựa vào phương trình đưong chuẩn quercetin có dạng $y = 0,0054x + 0,0185$ với hệ số $R^2 = 0,9992$. Kết quả cho thấy, hàm lượng TFC tăng dần từ cao chiết nước (88,91 mg quercetin/g cao chiết), cao chiết ethanol lá cây lộc vừng (109,65 mg quercetin/g cao chiết), cao chiết methanol lá cây lộc vừng (125,56 mg quercetin/g cao chiết).

hiệu suất khử gốc tự do DPPH của cao chiết lá cây lộc vừng đưong trình bày lần lượt ở Bảng 5.

Từ những kết quả trên cho thấy rằng, khi ly trích bằng phương pháp soxhlet, hàm lượng TPC và TFC của cao chiết methanol lá cây lộc vừng cao nhất. Khi so sánh hàm lượng TPC (79,71 mg gallic acid/g cao chiết) và TFC (109,52 mg quercetin/g cao chiết) của cao chiết methanol lá cây lộc vừng đưong ly trích bằng phương pháp ngâm dầm của Sujatha và cs. (2012), phương pháp soxhlet cho kết quả tốt hơn.

Khi tăng nồng độ cao chiết nước lá cây lộc vừng từ 20 đến 200 µg/mL thì khả năng kháng oxy hóa của cao chiết nước lá cây lộc vừng tăng từ 10,43 ± 0,26% đến 78,09 ± 0,53%; khả năng kháng oxy hóa của cao chiết ethanol lá cây lộc vừng tăng từ 13,87 ± 0,27 % đến 86,24 ± 0,15%; khả năng kháng oxy hóa của cao chiết methanol lá cây lộc vừng tăng từ 16,45 ± 0,20 % đến 93,02 ± 0,29%. Điều này cho thấy rằng, cao chiết nước, cao chiết ethanol, cao chiết methanol lá lộc vừng đều có khả năng kháng oxy hóa tăng tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết.

3.4. Khả năng kháng oxy hóa của cao chiết lá cây lộc vừng

Kết quả thực nghiệm cho thấy rằng, cao chiết lá cây lộc vừng có khả năng khử gốc tự do DPPH, làm giảm màu dung dịch từ màu tím sang màu vàng nhạt. Kết quả về

Hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết lá cây lộc vừng đưong đánh giá dựa vào giá trị IC₅₀ khi so sánh với vitamin C (IC₅₀ = 55,73 µg/mL) có phương trình đưong chuẩn dưới dạng $y = 0,8383x + 3,2718$. Kết quả từ Bảng 5 cho thấy, giá trị IC₅₀ của cao chiết nước lá lộc vừng (IC₅₀ = 121,16 µg/mL), ethanol lá lộc vừng (IC₅₀ = 109,60 µg/mL), methanol lá lộc vừng (IC₅₀ = 98,42 µg/mL) cao lần lượt gấp 2,17; 1,97, 1,77 lần so với IC₅₀ của vitamin C. Điều này có nghĩa là,

khả năng kháng oxy hóa của các loại cao chiết nước, ethanol, methanol lá cây lộc vùng thấp hơn so với vitamin C. Bên cạnh đó, cao chiết methanol lá cây lộc vùng có khả năng kháng oxy hóa tốt nhất khi so sánh với cao chiết nước, cao chiết ethanol lá lộc vùng. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH của cao chiết lá cây lộc vùng tốt hơn

so với một số nghiên cứu trước đây. Nghiên cứu của Sujatha và cs. (2012), giá trị IC₅₀ của cao chiết methano, chloroform và ether dầu hỏa lá cây lộc vùng lần lượt là 150 µg/mL; 880 µg/mL và 1500 µg/mL. Trong khi đó, theo Asaduzzaman và cs. (2015), cao chiết lá cây lộc vùng với dung môi petroleum ether và methanol lần lượt có giá trị 1220 µg/mL và 1460 µg/mL.

Bảng 5. Khả năng kháng oxy hóa của cao chiết lá cây lộc vùng và vitamin C

Nồng độ (µg/mL)	Phần trăm khử gốc tự do (%)			
	Vitamin C	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
0	0,00 ^f	0 ^m	0 ^m	0 ^m
20	23,28 ^e ± 0,12	10,43 ^l ± 0,26	13,87 ^l ± 0,27	16,45 ^l ± 0,20
40	37,19 ^d ± 0,05	20,35 ^k ± 0,29	25,49 ^k ± 0,85	28,11 ^k ± 0,34
60	54,22 ^c ± 0,21	28,37 ^h ± 0,15	32,62 ^h ± 0,45	35,52 ^h ± 0,13
80	71,15 ^b ± 0,19	36,41 ^g ± 0,77	39,31 ^g ± 0,46	44,06 ^g ± 0,28
100	85,27 ^a ± 0,13	44,11 ^f ± 0,14	48,10 ^f ± 0,65	51,00 ^f ± 0,12
120	-	49,53 ^e ± 0,41	55,64 ^e ± 0,25	61,07 ^e ± 0,32
140	-	57,43 ^d ± 1,59	61,01 ^d ± 0,23	67,89 ^d ± 0,25
160	-	64,35 ^c ± 0,35	69,39 ^c ± 0,34	77,15 ^c ± 0,27
180	-	70,70 ^b ± 0,27	76,00 ^b ± 0,04	83,37 ^b ± 0,28
200	-	78,09 ^a ± 0,53	86,24 ^a ± 0,15	93,02 ^a ± 0,29
Phương trình	$y = 0,8383x + 3,2718$ $R^2 = 0,9948$	$y = 0,3795x + 3,8501$ $R^2 = 0,9944$	$y = 0,402x + 5,9446$ $R^2 = 0,9904$	$y = 0,4371x + 6,9807$ $R^2 = 0,9903$
IC ₅₀ (µg/mL)	55,73	121,16	109,6	98,42

^{a-m}: Các số chữ số giống nhau theo cùng một cột không có ý nghĩa khác biệt thống kê mức ý nghĩa 5%. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± sai số chuẩn.

3.5. Hiệu quả ức chế enzyme α -amylase của cao chiết lá cây lộc vùng

Để đánh giá hiệu quả ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của cao chiết, các nhà nghiên cứu thường so sánh với một đối chứng có hoạt tính ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase (đối chứng dương). Acarbose là chất có khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase (Đỗ Trung Quân, 2001) và thường được sử dụng như nghiệm thức đối chứng dương trong các thí nghiệm khảo sát sự ức chế hoạt động của enzyme α -amylase và α -glucosidase. Trong nghiên cứu này, hiệu quả ức chế hoạt động enzyme α -amylase

của cao chiết lá cây lộc vùng được so sánh với acarbose (IC₅₀ = 106,89 µg/mL), phương trình đường chuẩn của có dạng $y = 0,3557x + 11,981$ ($R^2 = 0,9753$) (Bảng 6).

Khi tăng nồng độ cao chiết từ 0 - 250 µg/mL, khả năng ức chế của cao chiết nước, ethanol, methanol lá cây lộc vùng lần lượt tăng từ 11,83 ± 0,34 đến 83,25 ± 0,09; 15,32 ± 0,20 đến 87,99 ± 0,18; 18,47 ± 0,31 đến 91,23 ± 0,11. Từ kết quả này cho thấy, khả năng ức chế hoạt động enzyme α -amylase và α -glucosidase của cao chiết lá cây lộc vùng tăng tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết.

Bảng 6. Hiệu quả ức chế enzyme α -amylase của cao chiết lá cây lộc vừng và acarbose

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Phần trăm ức chế enzyme α -amylase (%)			
	Acarbose	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
0	0,0 ^m	0,0 ^m	0,0 ^m	0,0 ^m
25	23,88 ^l \pm 0,32	11,83 ^l \pm 0,34	15,32 ^l \pm 0,20	18,47 ^l \pm 0,31
50	33,61 ^k \pm 0,45	18,89 ^k \pm 0,14	22,08 ^k \pm 0,51	25,74 ^k \pm 0,23
75	43,26 ^h \pm 0,53	27,20 ^h \pm 0,19	31,73 ^h \pm 0,40	38,35 ^h \pm 0,38
100	51,39 ^g \pm 0,14	36,49 ^g \pm 0,33	40,70 ^g \pm 0,18	45,76 ^g \pm 0,32
125	57,48 ^f \pm 0,26	43,71 ^f \pm 0,16	49,49 ^f \pm 0,21	52,58 ^f \pm 0,21
150	67,22 ^e \pm 0,35	51,41 ^e \pm 0,29	57,74 ^e \pm 0,24	61,50 ^e \pm 0,26
175	73,63 ^d \pm 0,04	60,42 ^d \pm 0,10	65,14 ^d \pm 0,55	70,55 ^d \pm 0,29
200	81,72 ^c \pm 0,28	68,29 ^c \pm 0,40	73,90 ^c \pm 0,50	77,70 ^c \pm 0,35
225	90,81 ^b \pm 0,67	75,32 ^b \pm 0,47	80,62 ^b \pm 0,38	84,99 ^b \pm 0,62
250	97,91 ^a \pm 0,54	83,25 ^a \pm 0,09	87,99 ^a \pm 0,18	91,23 ^a \pm 0,11
Phương trình, giá trị R ²	y = 0,3557x + 11,981 R ² = 0,9753	y = 0,3272x + 2,4544 R ² = 0,9984	y = 0,342x + 4,9507 R ² = 0,9944	y = 0,3484x + 7,9777 R ² = 0,9863
IC ₅₀	106,89	145,31	131,72	120,62

a-m: Các số chữ số giống nhau theo cùng một cột không có ý nghĩa khác biệt thống kê mức ý nghĩa 5%. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm sai số chuẩn.

Khi so sánh giá trị IC₅₀ của cao chiết lá cây lộc với chất chuẩn acarbose (IC₅₀ = 106,89), ta thấy giá trị IC₅₀ của cao chiết nước (IC₅₀ = 145,31 $\mu\text{g/mL}$), ethanol (IC₅₀ = 131,72 $\mu\text{g/mL}$), methanol (IC₅₀ = 120,62 $\mu\text{g/mL}$) lá cây lộc vừng cao lần lượt gấp 1,36; 1,23 lần (ethanol) và 1,13 lần so với acarbose. Điều này có nghĩa, cao chiết nước, ethanol, methanol có khả năng ức chế hoạt động enzyme α -amylase thấp hơn so với acarbose.

3.6. Hiệu quả ức chế enzyme α -glucosidase của cao chiết lá cây lộc vừng

Trong nghiên cứu này, hiệu quả ức chế hoạt động enzyme α -glucosidase của

cao chiết lá cây lộc vừng được so sánh với acarbose (IC₅₀ = 131,67 $\mu\text{g/mL}$), phương trình đường chuẩn của có dạng y = 0,3928x - 1,7198; R² = 0,9969 (Bảng 7).

Khi tăng nồng độ cao chiết từ 0 - 250 $\mu\text{g/mL}$, khả năng ức chế của cao chiết nước lá cây lộc vừng lần lượt tăng từ 11,83 \pm 0,34% đến 83,25 \pm 0,09%; khả năng ức chế của cao chiết ethanol tăng từ 15,32 \pm 0,20% đến 87,99 \pm 0,18%; khả năng ức chế của cao chiết methanol tăng từ 18,47 \pm 0,31% đến 91,23 \pm 0,11%. Từ kết quả này cho thấy, khả năng ức chế hoạt động α -glucosidase của cao chiết lá cây lộc vừng tăng tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết (Bảng 7).

Bảng 7. Hiệu quả ức chế enzyme α -glucosidase của cao chiết lá cây lộc vừng và acarbose

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Phần trăm ức chế enzyme α -glucosidase (%)			
	Acarbose	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol	Cao chiết methanol
0	0,0 ^m	0,0 ^m	0,0 ^m	0,0 ^m
25	7,710 ^l \pm 0,24	2,910 ^l \pm 0,20	5,47 ^l \pm 2,93	6,02 ^l \pm 0,07
50	15,53 ^k \pm 0,37	9,63 ^k \pm 0,13	10,23 ^k \pm 0,17	12,70 ^k \pm 0,43
75	26,30 ^h \pm 0,19	14,97 ^h \pm 0,12	17,06 ^h \pm 0,16	21,60 ^h \pm 0,15
100	34,48 ^g \pm 0,23	21,34 ^g \pm 0,40	25,65 ^g \pm 0,26	30,14 ^g \pm 0,13
125	44,24 ^f \pm 0,69	27,46 ^f \pm 0,45	33,97 ^f \pm 0,48	40,78 ^f \pm 0,39
150	53,79 ^e \pm 0,61	34,64 ^e \pm 0,44	40,18 ^e \pm 0,21	48,65 ^e \pm 0,34
175	63,04 ^d \pm 0,06	40,78 ^d \pm 0,22	49,29 ^d \pm 0,11	55,42 ^d \pm 0,25
200	75,58 ^c \pm 0,51	49,10 ^c \pm 0,21	55,74 ^c \pm 0,35	61,14 ^c \pm 0,73
225	83,45 ^b \pm 0,11	59,00 ^b \pm 0,64	64,77 ^b \pm 0,93	71,56 ^b \pm 0,38
250	90,79 ^a \pm 0,22	70,02 ^a \pm 0,33	75,65 ^a \pm 0,35	82,46 ^a \pm 0,46
Phương trình, giá trị	$y = 0,3928x - 1,7198$	$y = 0,2756x - 4,458$	$y = 0,3022x - 3,408$	$y = 0,3294x - 2,0477$
R ²	R ² = 0,9969	R ² = 0,9847	R ² = 0,9938	R ² = 0,9966
IC ₅₀	131,67	197,6	176,73	158,01

^{a-m}: Các số chữ số giống nhau theo cùng một cột không có ý nghĩa khác biệt thống kê mức ý nghĩa 5%. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm sai số chuẩn

Kết quả từ Bảng 7 cho thấy rằng, giá trị IC₅₀ của cao chiết nước vừng (197,6 $\mu\text{g/mL}$), cao chiết ethanol (176,73 $\mu\text{g/mL}$), cao chiết methanol lá cây lộc vừng (158,01 $\mu\text{g/mL}$) cao lần lượt gấp 1,5 lần; 1,34 lần và 1,2 lần với giá trị IC₅₀ của acarbose (Bảng 7). Điều này cho thấy rằng, khả năng ức chế hoạt động enzyme α -glucosidase của cao chiết lá cây lộc vừng thấp hơn so với acarbose.

Từ những kết quả nghiên cứu trên cho thấy rằng, cao chiết lá cây lộc vừng có khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase, điều này góp phần cơ sở dữ liệu quan trọng cho những nghiên cứu *in vivo*. Nghiên cứu của Palanivel và cs. (2013) đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của chuột bị tăng glucose huyết bằng alloxan monohydrate (150mg/kg thể trọng) với liều lượng cao chiết ethanol lá cây lộc vừng 250 và 500 mg/kg thể trọng. Kết quả, cao chiết ethanol lá cây lộc vừng 250 và 500 mg/kg thể trọng làm giảm 40 - 50% hàm lượng glucose huyết, cholesterol, chất béo trung tính, urê, creatinin, billirubin so với mẫu bệnh lý không được điều trị. Hơn nữa, nghiên cứu của Marslin và cs. (2014), hiệu quả hạ glucose huyết của cao chiết ethanol và nước của lá cây lộc vừng ở liều 250

mg/kg và 500 mg/kg thể trọng trên mô hình chuột tăng glucose bằng streptozotocin (STZ 60 mg/kg). Cao chiết ethanol và nước của lá cây lộc vừng ở liều 250 mg/kg và 500 mg/kg làm giảm đáng kể mức glucose huyết, tổng mức cholesterol và chất béo trung tính trong huyết thanh ở những chuột sử dụng 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 đái tháo đường bằng cách ngăn chặn sự thủy phân nhanh các carbohydrate thành đường đơn và do đó kiểm soát lượng glucose huyết (Zhenhua và cs., 2014). Cao chiết lá cây lộc vừng có khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase và thể hiện cao nhất ở cao chiết lá cây lộc vừng được chiết bằng dung môi methanol (IC₅₀ = 120,62 $\mu\text{g/mL}$ và IC₅₀ = 158,01 $\mu\text{g/mL}$); kế đến là dung môi chiết xuất ethanol và thấp nhất là dung môi nước. Hiệu quả ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của cao chiết lá cây lộc vừng có sự tương đồng với hàm lượng polyphenol và flavonoid được xác định ở trên, có nghĩa là những cao chiết giàu polyphenol và flavonoid có khả năng ức chế hoạt động các enzyme càng cao.

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 (Kang và cs., 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 (Williams, 2013). Các nhóm chất trên có hoạt tính ức chế các enzyme trên là do số và vị trí 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 và cs., 2006). Các nhóm hydro trong cấu trúc phân tử flavonoid có thể hình thành liên kết hydro với nhóm -OH trong chuỗi bên hoạt động của các acid amin 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 (Ken và cs., 2015).

4. KẾT LUẬN

Cao chiết lá cây lộc vừng có chứa hàm lượng TPC (70,06 - 85,23 mg gallic acid/g cao chiết) và TFC (88,91 - 125,56 mg quercetin/g cao chiết). Cao chiết lá cây lộc vừng có khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH với giá trị IC_{50} lần lượt là 121,16 μ g/mL (cao nước); 109,60 μ g/mL (cao ethanol) và 98,42 μ g/mL (cao methanol). Cao chiết cây lộc vừng có khả năng ức chế enzyme α -amylase với giá trị IC_{50} lần lượt là 145,31 μ g/mL (cao nước); 131,72 μ g/mL (cao ethanol) và 120,62 μ g/mL (cao methanol). Cao chiết cây lộc vừng có khả năng ức chế enzyme α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là 197,6 μ g/mL (cao nước); 176,73 μ g/mL (cao ethanol) và 158,01 μ g/mL (cao methanol). Kết quả nghiên cứu mở ra triển vọng nghiên cứu tiếp theo từ lá cây lộc vừng với định hướng phát triển các sản phẩm ứng dụng trong phòng bệnh trên người.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Trà Vinh và Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang đã

hỗ trợ và tạo điều kiện để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Viện Dược liệu. (2008). *Kỹ thuật chiết xuất dược liệu*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

Dương Thị Phượng Liên và Nguyễn Nhật Minh Phương. (2014). Ảnh hưởng của biện pháp xử lý nguyên liệu đến khả năng trích ly và sự ổn định anthocyanin từ bắp cải tím (*Brassica oleracea*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Số chuyên đề: Nông nghiệp*, (1), 1-7.

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

Phạm Hoàng Hộ. (1999). *Cây cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản trẻ.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

Zhenhua, Y., Wei, Z., Fajin, F., Yong, Z. & Wenyi, K. (2014). α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 3(4), 136-174.

Kang, B.H., Racicot, K., Pilkenton, S.J. & Apostolidis, E. (2014). Evaluation of the in vitro anti-hyperglycemic effect of *Cinnamomum cassia* derived phenolic phytochemicals, via carbohydrate hydrolyzing enzyme inhibition. Full text links. *Plant Foods Hum Nutr*, 69(2), 155-160.

Baharfar, R., Azimi, R., & 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.

Chang, S.T., Wu, J.H., Wang, S.Y., Kang, P.L., Yang, N.S. & Shyur, L.F. (2001). Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *J Agric Food Chem.* 49(7), 3420-3244. DOI: 10.1021/jf0100907.

Tadera, K., Yuji, M., Kouta, T. & Tomoko, M. (2006). Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52, 149-153.

Williamson, G. (2013). Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and

- digestion. *Molecular Nutrition Food Research*, 57(1), 48-57.
- Ken, Ng., Gu, C., Zhang, H. & Patri, C.Y. (2015) Evaluation of alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activity of flavonoids. *International Journal of Nutrition Sciences*, 2(6), 1-6.
- Asaduzzaman, M., Rana, M.S., Hasan, S.M., Rakibul, I. & Nittananda, D. 2015. Phytochemical and Antioxidant Investigation of *Barringtonia acutangula* (L.). *European Journal of Medicinal Plants*, 8(4), 231-238.
- Weecharangsan, W., Opanasopit, P., Sukma, M., Ngawhirunpat, T. & Sotaphun, U. (2006). Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hulls *Garcinia mangostana* Linn. *Medical Principles and Practice*, 15(4), 281-287
- Mayachiew, P. & Devahastin, S. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extract. *J. LWT-Food Science and Technology*, 41(7), 1153-1159.
- Boeing, JS., Érica, O.B., Beatriz, C.S., Paula, F.M., Vitor, C.A. & Jesuí, V.V. (2014). Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 48-53.
- Sujatha, V. & Kathirvel, A. (2012). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Barringtonia acutangula* (L.) GAERTN. Leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(2), 277-281.
- Mohan, S.C. and Anand, T. (2019). In vitro antioxidant activity of leaf and bark extracts of *Barringtonia acutangula* Linn. *International Research Journal of Biological Sciences*, 1, 37-40.
- Yadav, R.N.S. & Agarwala, M. (2011). Phytochemical Analysis of Some Medicinal Plants. *Journal of Phytology*, 3, 10-14.
- Yadav, M., S. Chatterji, Gupta, S.K. & Watal, G. (2014). Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 539-542.
- Shekhar, T.C. and Anju, G. (2014). Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(4), 244-249.
- Pieme, C.A., Kumar, S.G., Dongmo, M.S., Moukette, B.M., Boyoum, F.F., Ngogang, J.Y. & Saxena, A.K. (2014). Antiproliferative activity and induction of apoptosis by *Annona muricata* (Annonaceae) extract on human cancer cells. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-10.
- Mishra, S., & Sahoo, S. (2013). Medicinal properties and biological activities of *Barringtonia acutangula* Linn: A review. *World Journal of Pharmacy and pharmaceutical sciences*, 2(04), 1781-1788.
- Võ Văn Chi. (1997). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, trang 680-681.
- Gopinath, S., Priyanka, P., Reddy, S., Ashwini, M.M. & Nair, D.V. (2013) In vitro Inhibitory effect of polyherbal formulation on alpha-amylase. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 2(9), 4556-4566.
- Yao, Y., Sang, W., Zhou, M. & Ren, G. (2010). Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of colored grains in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 770-774.
- Đỗ Tất Lợi. (2014). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Thời Đại.
- Mohamad, Z. I., Shamima, S., & Saleha, A. (2012). Antinociceptive, antidiarrheal, and neuropharmacological activities of *Barringtonia acutangula*. *Pharmaceutical Biology*, 50(9), 1078-1084.
- Rashmi, K., Shenoy, K.B., Hegde, K. & Shabaraya, A.R. (2011). Hepatoprotective effect of *Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn leaf extracts against CCl₄ induced hepatic damage. *Journal of Pharmacy Research*, 4(2), 540-542.
- Palanivel, V., Kuttiyil, S. & Kumar, S.K.L. (2013). Evaluation of Antidiabetic activity of *Barringtonia acutangula* (L. Gaertn) leaf extract in Alloxan induced Diabetic rats. *International Journal of Advance Pharmaceutical Genuini Research*, 1(2), 1-8.
- Gregory, M, Khandelwal, V.K.M. & Mary, R.A. (2014). *Barringtonia acutangula* improves the biochemical parameters in diabetic rats. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(2), 126-130.
- Petti, S. & Scully, C. (2009). Polyphenols, oral health and disease: a review. *Journal of Dentistry*, 37(6), 413-423.