ĐIỀU TRA SƠ BỘ VỀ HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA, CHỐNG ĐÁI THÁO ĐƯỜNG VÀ CHỐNG VIÊM *IN VITRO* CỦA CÁC CAO CHIẾT TỪ THÂN CỦ NGHỆ ĐEN *(CURCUMA ZEDOARIA)*

PRELIMINARY INVESTIGATION OF *IN VITRO* THE ANTIOXIDANT, ANTI-DIABETIC, AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *CURCUMA ZEDOARIA* RHIZOME EXTRACTS

Nguyễn Thị Ái Lan[1], Trần Chí Linh[2*]

[1]Trường Đại học Trà Vinh
[2]Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: tclinh@ctu.edu.vn

(Nhận bài: 26/4/2022; Chấp nhận đăng: 09/6/2022)

Tóm tắt - Nghiên cứu này được thực hiện để điều tra tổng hàm lượng polyphenol, flavonoid, alkaloid và các đặc tính sinh học của cao ethanol, cao phân đoạn *n*-hexane, dichloromethane và ethyl acetate từ thân củ nghệ đen (TCNĐ). Cao phân đoạn ethyl acetate có hàm lượng polyphenol, flavonoid và alkaloid nhiều nhất, lần lượt là 269,39±2,32 mg GAE/g cao chiết, 106,02±3,01 mg QE/g cao chiết và 209,22±2,12 mg AE/g cao chiết. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao TCNĐ được xác định bằng cách sử dụng các phương pháp 2, 2-diphenyl-1-picryl dihydrazyl, nitric oxide và 2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). Kết quả cho thấy, tất cả các cao TCNĐ đều có hoạt tính chống oxy hóa. Hoạt tính ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase của các cao TCNĐ được xác định để đánh giá khả năng chống đái tháo đường *in vitro*, với các giá trị IC_{50} dao động từ 46,90±0,55 đến 152,95±1,54 µg/mL. Các cao TCNĐ cũng cho thấy, tác dụng chống viêm đáng chú ý, được xác định bằng phương pháp ức chế sự tán huyết do nhiệt và ức chế sự biến tính của protein.

Từ khóa - Chống oxy hóa; chống viêm; nghệ đen; enzyme α-amylse; enzyme α-glucosidase

Abstract - This study was conducted to investigate the total content of polyphenol, flavonoid, alkaloidand and the biological properties of ethanol extract, *n*-hexane fractional, dichloromethane fractional and ethyl acetate fractional from *Curcuma zedoaria* rhizome (CZR). The ethyl acetate fractional exhibited the highest total polyphenol, flavonoid, and alkaloid contents with 269.39±2.32 mg GAE/g extract, 106.02±3.01 mg QE/g extract, and 209.22±2.12 mg AE/g extract, respectively. The antioxidant activity of each CZR extract was determined using the 2, 2-diphenyl-1-picryl dihydrazyl, nitric oxide and 2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) methods. The results showed that, all the CZR extracts possessed antioxidant properties. The α-amylase and α-glucosidase enzyme inhibitory activities of the CZR extracts were estimated to test for their antidiabetic potential, with IC_{50} values ranging from 46.90±0.55 to 152.95±1.54 mg/mL. The CZR extracts also showed remarkable anti-inflammatory effect, as determined by heat induced hemolysis and inhibition of protein denaturation methods.

Key words - Anti-inflammatory; antioxidant; *Curcuma zedoaria*; enzyme α-amylse; enzyme α-glucosidase

1. Đặt vấn đề

Đái tháo đường (ĐTĐ) là một trong những bệnh phổ biến gây tử vong cao trên thế giới [1]. Một chiến lược quan trọng để kiểm soát ĐTĐ và ngăn ngừa các biến chứng ĐTĐ là ức chế các enzyme chuyển hóa carbohydrate chính như α-amylase và α-glucosidase. Các chất ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase làm chậm quá trình chuyển hóa carbohydrate, do đó, làm giảm tốc độ hấp thu glucose từ ruột non, cũng như làm giảm mức glucose huyết sau ăn. Do đó, ức chế α-amylase và α-glucosidase là chìa khóa quan trọng trong quản lý và điều trị bệnh ĐTĐ [2]. Stress oxy hóa và viêm do sự hình thành quá mức các loại oxy phản ứng (reactive oxygen species, ROS), nitơ phản ứng (reactive nitrogen species, RNS) và sự thay đổi tình trạng chống oxy hóa về cơ bản có liên quan đến ĐTĐ [3]. Quá trình viêm thúc đẩy việc sản sinh các gốc tự do, dẫn đến tổn thương mô trong các biến chứng của bệnh ĐTĐ [3, 4]. Các nghiên cứu sàng lọc các hợp chất có tác dụng chống viêm và chống oxy hóa cũng có vai trò quan trọng trong kiểm soát ĐTĐ và các biến chứng ĐTĐ.

Ngày càng có nhiều sự quan tâm đến các sản phẩm có nguồn gốc từ thực vật để hỗ trợ điều trị ĐTĐ [3]. Thực vật có đặc tính điều trị được nhiều bệnh tật hiệu quả, an toàn và chi phí thấp. Các hợp chất polyphenol, flavonoid, alkaloid trong thực vật được chứng minh có khả năng ức chế hoạt động của các enzyme chuyển hóa carbohydrate, tái tạo tế bào β tuyến tụy, giải phóng insulin, trung hòa các gốc tự do và chống lại các yếu tố gây viêm [5, 6]. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy, polyphenol, flavonoid, alkaloid hiện diện trong nhiều loài thực vật, trong đó có cây nghệ đen (*Curcuma zedoaria*) [7]. Cây nghệ đen có nhiều tác dụng dược lý đáng quý như điều hòa hệ miễn dịch [8], hạ glucose huyết hạ [9], điều hòa lipid huyết [10], chống ung thư [11], hạ huyết áp [12] và bảo vệ tim mạch [13]. Tuy sở hữu nhiều đặc tính dược lý có giá trị nhưng những nghiên cứu về hoạt tính sinh học của cây nghệ đen ở Việt Nam vẫn còn nhiều hạn chế. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm cung cấp thêm cơ sở khoa học về tiềm năng dược liệu của thân củ nghệ đen thông qua các hoạt tính kháng oxy hóa, kháng viêm và kháng đái tháo đường *in vitro*.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghệ đen được thu lấy thân củ tại huyện Thạnh Phú,

[1] Tra Vinh University (Nguyen Thi Ai Lan)
[2] Can Tho University (Tran Chi Linh)

tỉnh Bến Tre, Việt Nam vào ngày 01/01/2020. Nghệ đen được định danh bởi ThS. Trần Chí Linh và lưu trữ tại phòng thí nghiệm Hóa Sinh Lâm Sàng (Phòng C11.105), bộ môn Hóa Sinh, Khoa Y-Dược, Trường Đại học Trà Vinh với mã số lưu trữ là: BT_Cze202001010010. Sau khi xử lý nhóm nghiên cứu đã thu được 3500 g thân củ nghệ đen (TCNĐ) tươi. TCNĐ tươi được cắt lát mỏng phơi khô trong bóng râm và xay nhuyễn thu được 1036 g bột. Bột TCNĐ được rây qua khay để thu được hạt bột dược liệu TCNĐ có kích thước hạt 60 mesh và xác định độ ẩm theo mô tả của Dược Điển Việt Nam V [14]. Bột dược liệu TCNĐ có độ ẩm là 7,10±0,21% được bảo quản trong túi nhựa PE, đặt trong hộp nhựa kính, lưu trữ ở 4^{o}C.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều chế cao từ thân củ nghệ đen

Bột dược liệu TCNĐ có khối lượng là 500 g được ngâm dầm với 5000 mL ethanol 99,5% ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Sau đó, dịch ngâm dầm được thu lấy, lọc qua giấy lọc và cô đuổi dung môi thu được 26,35 g cao ethanol (ET) TCNĐ. Sau đó, 20 g cao ET TCNĐ được chiết lỏng - lỏng lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần để thu được cao phân đoạn *n*-hexane (HE, 0,34 g), cao phân đoạn dichloromethane (DI, 0,40 g) và cao phân đoạn ethyl acetate (EA, 0,56 g). Các chiết được bảo quản ở 4^{o}C và sử dụng cho các khảo sát tiếp theo. Hiệu suất chiết xuất các cao ET, HE, DI và EA từ TCNĐ lần lượt là 5,27; 1,7; 2 và 2,8%. Trong nghiên cứu của Yoshioka và cộng sự thì các chiết xuất từ ethanol, *n*-hexane, methanol của TCNĐ có hiệu suất chiết xuất lần lượt là 1,23; 1,29 và 1,87% [15]. Như vậy hiệu suất chiết xuất cao từ TCNĐ trong nghiên cứu của chúng tôi là cao hơn nghiên cứu của Yoshioka.

2.2.2. Định tính thành phần hóa học trong các cao thân củ nghệ đen

Thành phần hóa học của các cao TCNĐ gồm: polyphenol, alkaloid, flavonoid, steroid, glysoside, saponin và tannin được định tính sơ bộ bằng các phương pháp định tính các nhóm hợp chất tự nhiên theo mô tả của Biswas và cộng sự [16].

2.2.3. Định lượng thành phần hóa học trong các cao thân củ nghệ đen

Hàm lượng alkaloid (TAC) được xác định theo phương pháp hình thành phức hợp với bromocresol green (BCG), tạo thành sản phẩm có màu vàng theo mô tả của Shamsa và cộng sự [17]. Cao TCNĐ (1 mL) được cho phản ứng với 1 mL HCl 2 N. Sau 5 phút, dung dịch trên được lọc bằng giấy lọc loại bỏ cặn và cho vào bình tách chiết lần lượt thêm vào 5 mL BCG và 5 mL dung dịch đệm phosphate (pH=4,7). Hỗn hợp phản ứng được lắc mạnh bằng bình tách chiết với 10 mL chloroform 2 phút ở nhiệt độ phòng. Tiến hành xác định độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 470 nm. TAC được biểu thị bằng mg atropine (AE) trên 1 g cao chiết, dựa vào đường chuẩn: y=0,0017x+0,0021 (R^2=0,9998).

Hàm lượng polyphenol (TPC) của các cao TCNĐ được thực hiện theo mô tả của Patra và cộng sự [18]. Các cao TCNĐ với thể tích là 500 µL được cho phản ứng với 500 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu và 500 µL Na_2CO_3 10%. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ủ tối 30 phút ở 40^{o}C trong bể điều nhiệt. Cuối cùng, hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 765 nm, ở nhiệt độ phòng. TPC được biểu thị bằng mg gallic acid (GAE) trên 1 g cao chiết, dựa vào đường chuẩn: y = 0,0114x+0,0279 (R^2 = 0,9977).

Hàm lượng flavonoid (TFC) của các cao TCNĐ được thực hiện theo mô tả của Akanni và cộng sự [19]. Các cao TCNĐ với thể tích là 500 µL được cho phản ứng với 100 µL $NaNO_2$ 5%, ủ 5 phút, ở nhiệt độ phòng và sau đó tiếp tục thêm 100 µL $AlCl_3$ 10%, lắc đều. Sau 5 phút, ủ ở nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 1000 µL NaOH 1 M và 800 µL nước khử ion. Cuối cùng, hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 510 nm, ở nhiệt độ phòng. TFC được biểu thị bằng mg quercetin (QE) trên 1 g cao chiết, dựa vào đường chuẩn: y = 0,005x–0,0007 (R^2=0,9995).

2.2.4. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa in vitro của các cao thân củ nghệ đen

Các cao TCNĐ được đánh giá hiệu quả trung hòa gốc tự do 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^{\bullet+}$) theo mô tả của Khorasani và cộng sự [20] có điều chỉnh. Hoạt động trung hòa gốc tự do $ABTS^{\bullet+}$ được đánh giá bằng cách cho 990 µL $ABTS^{\bullet+}$ phản ứng với 10 µL các cao TCNĐ trong 6 phút ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thu quang phổ của hỗn hợp phản ứng xác định ở bước sóng 734 nm.

Các cao TCNĐ được đánh giá hiệu quả trung hòa gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylrylhydrazyl (DPPH) theo mô tả của Mensor và cộng sự [21] có điều chỉnh. Cao TCNĐ có thể tích là 960 µL ở các nồng độ khác nhau được cho phản ứng với 40 µL DPPH (1000 µg/mL). Hỗn hợp phản ứng được ủ tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 517 nm.

Các cao TCNĐ được đánh giá hiệu quả trung hòa gốc tự do nitric oxide ($NO^{\bullet}$) theo mô tả của Ebrahimzadeh và cộng sự [22] có điều chỉnh. Cao TCNĐ với thể tích là 1 mL ở các nồng độ khác nhau được cho phản ứng với 1 mL natri nitroprusside (5 mmol/L) trong 150 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, 0,5 mL thuốc thử Griess được thêm vào và tiến hành đo độ hấp thu quang phổ ở bước sóng 546 nm.

Vitamin C được sử dụng làm chất đối chứng dương ở cả 3 phương pháp chống oxy hóa. Hiệu xuất chống oxy hóa và nồng độ trung hòa 50% gốc tự do (the half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) ở 3 phương pháp chống oxy hóa được xác định theo mô tả của Khorasani và cộng sự [20].

2.2.5. Khảo sát hoạt tính chống đái tháo đường in vitro của các cao thân củ nghệ đen

Hoạt tính ức chế enzym α-amylase của các cao TCNĐ được thực hiện theo mô tả của Mohamed và cộng sự [23] có điều chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm có 100 µL cao TCNĐ ở các nồng độ khác nhau và 100 µL đệm phosphate pH=7 ủ với 100 µL tinh bột (2 mg/mL) ở 37^{o}C trong 5 phút. Enzyme α-amylase (3 U/mL, 100 µL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng và tiếp tục ủ ở ở 37^{o}C trong 15 phút. Sau đó, phản ứng được dừng lại bằng cách thêm 400 µL HCl 1 M. Độ hấp thu quang phổ của hỗn hợp phản ứng được xác định ở bước sóng 660 nm sau khi thêm vào 600 µL thuốc thử iod.

Hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase của cao TCNĐ được xác định theo mô tả của Chipiti và cộng sự [2] có điều

chỉnh. Cao TCNĐ (250 µL) ở các nồng độ khác nhau được ủ với 500 µL enzyme α-glucosidase 1 U/mL (pha trong đệm phosphate 100 mM; pH=6,8) ở 37°C trong 15 phút. Sau đó, 250 µL dung dịch 4-nitrophenyl-D-glucopyranoside 5 mM (pha trong đệm phosphate 100 mM; pH=6,8) được thêm vào và hỗn hợp này được ủ tiếp ở 37°C trong 20 phút. Độ hấp thu quang phổ của *p*-nitrophenol sau phản ứng được đo ở bước sóng 405 nm.

Khả năng ức chế hoạt tính enzyme α-amylase, α-glucosidase được đánh giá dựa vào hiệu suất ức chế (%) và nồng độ (µg/mL) ức chế 50% hoạt tính của enzyme (IC_{50}) theo mô tả của Mohamed và cộng sự [23]. Hoạt tính ức chế α-amylase và α-glucosidase của các cao TCNĐ còn được so sánh với acarbose.

2.2.6. Khảo sát hoạt tính kháng viêm in vitro của các cao thân củ nghệ đen

Bảo vệ tế bào hồng cầu (Red Blood Cells, RBCs) khỏi sự tán huyết do nhiệt: Máu chuột được ly tâm ở 3000 vòng/ phút trong 10 phút, loại bỏ phần dịch trong và rửa ba lần với nước muối sinh lý. Sau đó, máu được pha loãng với nước muối sinh lý để đạt nồng độ là 10% thu được dung dịch RBCs [24]. Cao TCNĐ 1 mL ở các nồng độ khác nhau được cho phản ứng với 1 mL 10% RBCs. Hỗn hợp được ủ ở 56°C, 30 phút và làm mát. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ly tâm 2500 vòng/ phút trong 5 phút. Độ hấp thu quang phổ được xác định ở bước sóng 560 nm.

Ức chế sự biến tính protein: Khả năng ức chế sự biến tính albumin huyết thanh bò (Bovine Serum Albumin, BSA) được thực hiện theo mô tả của Sakat *và cộng sự* (2010) [25] có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 100 µL cao TCNĐ với 100 µL dung dịch BSA 0,5%. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ủ ở 37°C trong 15 phút. Sự biến tính BSA được gây ra bằng cách giữ hỗn hợp phản ứng ở 70°C trong 10 phút. Sau khi làm mát, tiến hành đo độ hấp thu quang phổ tại bước sóng 660 nm.

Khả năng bảo vệ RBCs và ức chế sự biến tính BSA được đánh giá dựa vào hiệu suất ức chế (%) và nồng độ (µg/mL) hiệu quả 50 % (IC_{50}) theo mô tả của Banani và cộng sự [24]. Khả năng bảo vệ RBCs và ức chế sự biến tính BSA của các cao TCNĐ còn được so sánh với diclofenac.

2.2.7. Xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 16.0 kiểm định ANOVA-Tukey's và trình bày dưới dạng MEAN±STDEV. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsof Excel 2013.

3. Kết quả nghiên cứu và khảo sát

3.1. Kết quả định tính và định lượng

Định tính thành phần hóa học của các cao TCNĐ cho thấy sự hiện diện của các thành phần hoạt tính sinh học như: polyphenol, alkaloid, flavonoid, steroid, glysoside, saponin và tannin. Kết quả này có sự tương đồng với nghiên cứu của Ullah và cộng sự [26]. Nghiên cứu đã chọn định lượng polyphenol, alkaloid và flavonoid (Bảng 1) vì đây là những nhóm chất chính có nhiều tác động dược lý quan trọng [5, 6]. Kết quả trình bày trong Bảng 1 cho thấy, TPC, TFC, TAC trong các cao TCNĐ lần lượt dao động từ 78,45±1,34 đến 269,39±2,32 mg GAE/g cao chiết; 32,85±0,50 đến 106,02±3,01 mg QE/g cao chiết và 60,20±1,40 đến 209,22±2,12 mg AE/g cao chiết. Trong đó, cao phân đoạn EA TCNĐ có TPC, TFC và TAC chiếm nhiều nhất. Nghiên cứu của Azahar và cộng sự cho thấy, hàm lượng polyphenol và flavonoid chiết xuất từ lá nghệ đen lần lượt là 125,75±0,17 mg GAE/g cao chiết và 6,12±0,23 mg QE/g cao chiết [27]. Trong nghiên cứu này, hàm lượng polyphenol và flavonoid chiết xuất từ TCNĐ cao hơn lá nghệ đen trong nghiên cứu của Azahar và cộng sự. So sánh với cao ET ly trích từ thân củ nghệ xanh (*Curcuma yunnanensis*, một loài thực vật cùng chi với nghệ đen) có TPC=10,07±0,18 mg GAE/g cao chiết [28], thấp hơn cao ET TCNĐ 14,82 lần. TCNĐ được sử dụng trong nghiên cứu này có TPC cao hơn loài thực vật cùng chi.

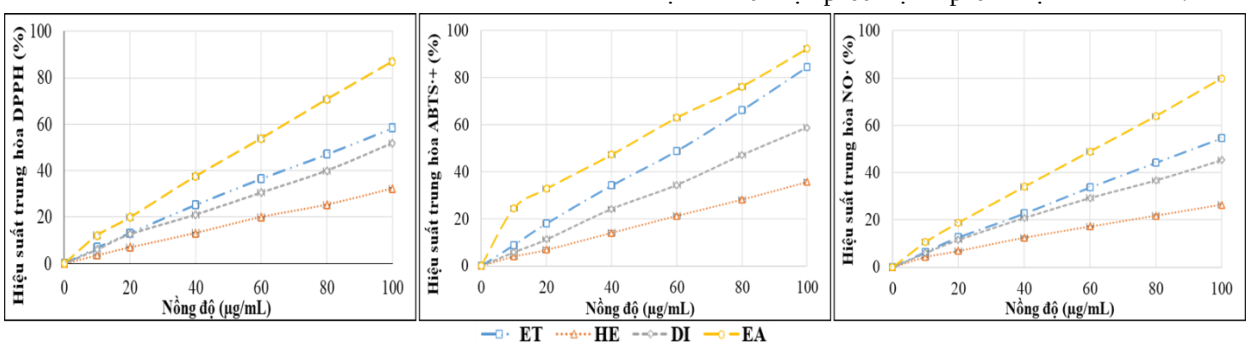
Bảng 1. *Hàm lượng TPC, TFC và TAC trong các cao*

Cao chiết	TPC	TFC	TAC
ET	$149,21^{b}$±1,75	$58,68^{b}$±0,29	$115,10^{b}$±3,40
HE	$78,45^{d}$±1,34	$32,85^{d}$±0,50	$60,20^{d}$±1,40
DI	$109,74^{c}$±3,82	$46,52^{c}$±0,76	$83,73^{c}$±1,22
EA	$269,39^{a}$±2,32	$106,02^{a}$±3,01	$209,22^{a}$±2,12

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự (a, b, c, d) theo sau trong cùng một cột khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). TPC đơn vị là mg GAE/g cao chiết; TFC đơn vị là mg QE/g cao chiết; TAC đơn vị là mg AE/g cao chiết.

3.2. Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa in vitro

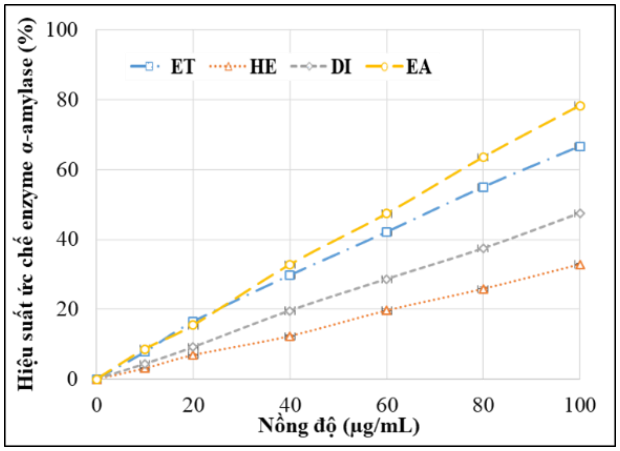
Khả năng chống oxy hóa của các cao TCNĐ được xác định thông qua việc ức chế các ROS mà đại diện là gốc tự do $ABTS^{\bullet+}$ và ức chế RNS mà đại diện là gốc tự do DPPH và $NO^{\bullet}$. Kết quả cho thấy, các cao TCNĐ có khả năng trung hòa cả 3 gốc tự do DPPH, $ABTS^{\bullet+}$ và $NO^{\bullet}$. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao TCNĐ được khảo sát từ nồng độ 10 đến 100 µg/mL với hiệu suất chống oxy hóa dao động từ 3,61±0,47% đến 92,30±1,23%. Hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất được phát hiện ở phân đoạn EA TCNĐ.



Hình 1. *Hiệu suất trung hòa gốc tự do của các cao TCNĐ*

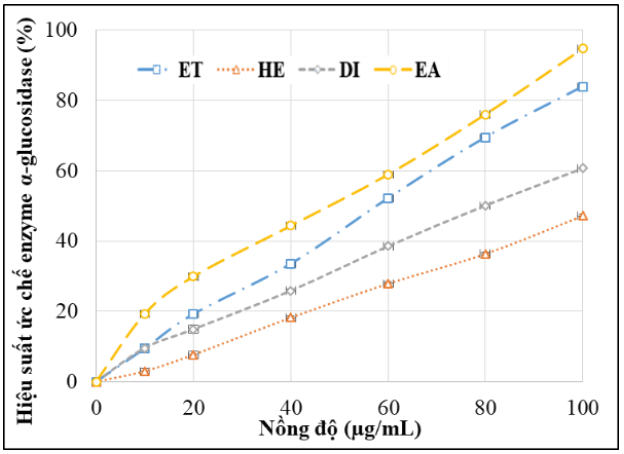
3.3. Kết quả khảo sát hoạt tính chống ĐTĐ in vitro

Hiệu suất ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase lần lượt được trình bày trong Hình 2 và Hình 3. Kết quả cho thấy, cao phân đoạn HE có khả năng ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase yếu nhất. Trong khi đó, cao phân đoạn EA được xác định là có hiệu quả ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase mạnh nhất. Nghiên cứu của Yoshioka và cộng sự cũng cho thấy chiết xuất TCNĐ bằng dung môi ethyl acetate có hiệu quả ức chế enzyme α-glucosidase mạnh nhất [29].



Hình 2. *Hiệu suất ức chế enzyme α-amylase của các cao TCNĐ*

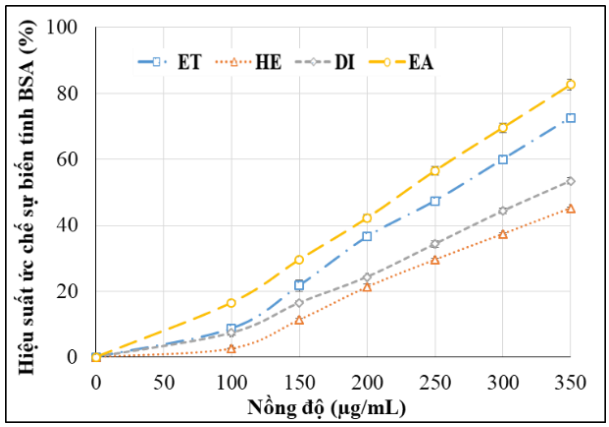
Khả năng kháng ức chế enzyme α-amylase và α-glucosidase của các cao TCNĐ có sự tỷ lệ thuận với TPC, TFC và TAC. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, ngoài khả năng trung hòa các gốc tự do ra thì các chất chống oxy hóa trong thực vật còn có khả năng ức chế enzyme α-glucosidase và α-amylase mạnh [23, 29, 30].



Hình 3. *Hiệu suất ức chế enzyme α-glucosidase của các cao TCNĐ*

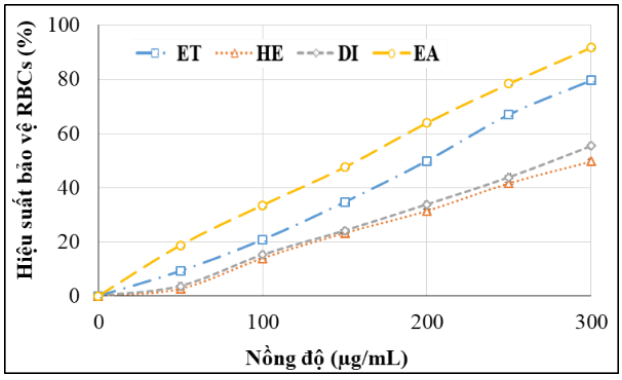
3.4. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng viêm in vitro

Trong nghiên cứu này BSA được sử dụng như nguồn protein bị biến tính. Dưới tác động của nhiệt độ cao, BSA trải qua quá trình biến tính và biểu hiện các kháng nguyên liên quan đến phản ứng quá mẫn loại 3 liên quan đến các bệnh như viêm cầu thận, viêm khớp dạng thấp và lupus ban đỏ [26]. Do đó, ức chế được sự biến tính BSA phần nào đã thể hiện được tiềm năng điều trị bệnh do viêm của các loài thực vật. Các cao TCNĐ có khả năng ức chế sự biến tính BSA từ 2,61±0,05% ở nồng độ 100 µg/mL đến 82,63±1,67% ở nồng độ 350 µg/mL (Hình 4). Nghiên cứu của Ullah và cộng sự cũng cho thấy, cao ethanol TCNĐ có khả năng ức chế sự biến tính của albumin lòng trắng trứng do nhiệt [26].



Hình 4. *Hiệu suất ức chế sự biến tính albumin huyết thanh bò (%)*

Các RBCs cầu giữ vai trò quan trọng đối với cơ thể con người, bảo vệ được RBCs góp phần tăng cường sức khỏe chống được nhiều bệnh tật. Trong nghiên cứu này, các cao TCNĐ đã thể hiện tốt khả năng bảo vệ RBCs thoát khỏi sự tán huyết do nhiệt, hiệu quả bảo vệ đạt 2,65±0,01 đến 91,81±0,25% từ nồng độ 100 đến 300 µg/mL (Hình 5).



Hình 5. *Hiệu suất bảo vệ tế bào hồng cầu (%)*

3.5. So sánh hoạt tính sinh học của các cao thân củ nghệ đen với chất chuẩn

Khả năng chống oxy hóa, chống ĐTĐ và chống viêm *in vitro* của các cao TCNĐ được so sánh lần lượt với vitamin C, acarbose, diclofenac thông qua giá trị IC_{50} được trình bày trong Bảng 2. Các cao TCNĐ có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH, $ABTS^{\bullet+}$ và $NO^{\bullet}$ với giá trị IC_{50} dao động từ 43,63±0,17 đến 194,63±3,32 µg/mL. Theo Blois (2000), mẫu thử có giá trị IC_{50} dao động từ 50 đến 100 µg/mL được xem là chất chống oxy hóa mạnh [31]. Như vậy, cao phân đoạn ET và EA chiết xuất từ TCNĐ được xác định là có hoạt tính chống oxy hóa mạnh. Tuy nhiên, hoạt tính chống oxy hóa của các cao TCNĐ vẫn yếu hơn vitamin C. Trong nghiên cứu của Sharaf và cộng sự, cao ET TCNĐ có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH và $ABTS^{\bullet+}$ với giá trị IC_{50} lần lượt là 82,32 µg/mL và 33,9 µg/mL [32]. So sánh với cao ET ly trích từ thân củ nghệ xanh có khả năng trung hòa gốc tự do $ABTS^{\bullet+}$ với giá trị IC_{50}=87,12±0,59 µg/mL [28], cho thấy hoạt tính trung hòa gốc tự do $ABTS^{\bullet+}$ của thân củ nghệ xanh yếu hơn TCNĐ là 1,46 lần. Như vậy, TCNĐ có hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn loài thực vật cùng chi.

Enzyme α-amylase và α-glucosidase tham gia trực tiếp vào quá trình chuyển hóa tinh bột thành các loại đường đơn giản hơn. Hoạt tính ức chế α-amylase và α-glucosidase góp phần làm chậm quá trình hấp thu glucose ở bệnh nhân ĐTĐ. Trong các cao TCNĐ, cao phân đoạn EA cho thấy, hoạt tính ức chế enzyme α-amylase (63,11±0,52 µg/mL) và α-glucosidase (46,90±0,55 µg/mL) hiệu quả nhất, nhưng vẫn yếu hơn acarbose lần lượt là 3,39 và 6,11 lần.

Khả năng ức chế sự biến tính của BSA và bảo vệ RBCs của các cao TCNĐ được xác định hiệu quả nhất ở cao phân đoạn EA với giá trị IC_{50} lần lượt là 226,96±3,37 µg/mL và 155,62±0,06 µg/mL. So với diclofenac thì cao phân đoạn EA có khả năng ức chế sự biến tính BSA yếu hơn 4,65 lần và bảo vệ RBCs yếu hơn 1,66 lần. Kết quả nghiên cứu cho thấy, TPC, TFC và TAC có mối liên hệ mật thiết với các hoạt tính sinh học ở thực vật. Khi TPC, TFC và TAC cao thì các hoạt tính sinh học ở thực vật cũng cao và ngược lại. Điều này cũng có sự tương đồng với nghiên cứu của Göger và cộng sự [30].

Bảng 2. *Nồng độ trung hòa hoặc ức chế 50% của các cao TCNĐ và chất chuẩn*

Mẫu thử	Giá trị IC_{50}						
	DPPH	**ABTS**	**NO**	**α-amylase**	**α-glucosidase**	**BSA**	**RBCs**
ET	84,53^{c}±0,49	59,60^{c}±0,40	90,93^{c}±0,58	72,88^{c}±0,43	58,20^{c}±0,57	259,74^{c}±2,62	197,20^{c}±0,13
HE	156,22^{a}±0,06	139,92^{a}±1,81	194,63^{a}±3,32	152,95^{a}±1,54	106,15^{a}±0,54	373,57^{a}±2,13	297,60^{a}±2,56
DI	98,32^{b}±0,40	85,13^{b}±0,21	109,92^{b}±0,77	105,38^{b}±0,18	80,68^{b}±0,46	332,71^{b}±5,42	276,58^{b}±1,74
EA	55,35^{d}±0,11	43,63^{d}±0,17	61,23^{d}±0,29	63,11^{d}±0,52	46,90^{d}±0,55	226,96^{d}±3,37	155,62^{d}±0,06
Vitamin C	5,81^{e}±0,02	2,95^{e}±0,02	9,61^{e}±0,06	-	-	-	-
Acarbose	-	-	-	18,63^{e}±0,06	7,67^{e}±0,10	-	-
Diclofenac	-	-	-	-	-	48,78^{e}±0,61	93,92^{e}±0,28

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự (a, b, c, d, e) theo sau trong cùng một cột khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

4. Kết luận

TCNĐ được sử dụng trong nghiên cứu này có chứa polyphenol, alkaloid, flavonoid, steroid, glysoside, saponin và tannin. Cao phân đoạn EA có TPC (269,39±2,32 mg GAE/g cao chiết), TFC (106,02±3,01 mg QE/g cao chiết) và TAC (209,22±2,12 mg AE/g cao chiết) là nhiều nhất. Các cao TCNĐ có hoạt tính chống oxy hóa, chống ĐTĐ và chống viêm hiệu quả. Như vậy, TCNĐ là một nguồn dược liệu đầy hứa hẹn cung cấp các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học tốt chống lại stress oxy hóa, bệnh ĐTĐ và bệnh lý liên quan đến viêm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Zimmet, P., Alberti, K.G., Magliano, D.J., Bennett, P.H., "Diabetes mellitus statistics on prevalence and mortality: facts and fallacies, nature reviews", *Endocrinology*, 12(10), 2016, 616–622.

[2] Chipiti, T., Ibrahim, M.A., Singh, M., Islam, M.S., "*In vitro* α-amylase and α-glucosidase inhibitory effects and cytotoxic activity of *Albizia antunesiana* extracts", *Pharmacognosy Magazine*, 11(2), 2015, S231-S236.

[3] Fatma, M.El.-D., Yousra, T., Raghda, A.El.-S., Wenyi, K., Nora, F.G., "Hepatoprotective effect of actinidia deliciosa against streptozotocin-induced oxidative stress, apoptosis, and inflammations in rats", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 11, 2022, 1-11.

[4] Brownlee, M., "Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications", *Nature*, 414(6865), 2001, 813-820.

[5] Zhang, C., Li, J., Hu, C. *và cộng sự*, "Antihyperglycaemic and organic protective effects on pancreas, liver and kidney by polysaccharides from *Hericium erinaceus* SG-02 in streptozotocin-induced diabetic mice", *Scientific Reports*, 7, 2017, 10847.

[6] Anh, V.T.T., Trang, D.T.X., Kamei, K., Linh, T.C., Pham-Khanh, N.H., Tuan, N.T., Danh, L.T., "phytochemicals, antioxidant and antidiabetic activities of extracts from *Miliusa velutina* flowers", *Horticulturae*, 7, 2021, 555.

[7] Dosoky, N.S., Setzer, W.N., "Chemical composition and biological activities of essential oils of *Curcuma* species", *Nutrients*, 10(9), 2018, 1196.

[8] Yuandani, J.I., Rohani, A.S., Sumantri, I.B., "Immunomodulatory effects and mechanisms of *Curcuma* species and their bioactive compounds: a review", *Frontiers in Pharmacology*, 12, 2021, 643119.

[9] Handajani, J., Narissi, D.H., "The effects of *Curcuma zedoaria* oil on high blood sugar level and gingivitis", *Journal Of Dental Research*, 2015, 69, 69-73.

[10] Liao, J., Xie, X., Gao, J., Zhang, Z., Qu, F., Cui, H., Cao, Y., Han, X., Zhao, J., Wen, W., Wang, H., "Jian-Gan-Xiao-Zhi decoction alleviates inflammatory response in nonalcoholic fatty liver disease model rats through modulating gut microbiota", *Evidence-based complementary and alternative medicine eCAM*, 2021, 5522755, 1-13.https://doi.org/10.1155/2021/5522755

[11] Ayati, Z., Ramezani, M., Amiri, M.S., Moghadam, A.T., Rahimi, H., Abdollahzade, A., Sahebkar, A., Emami, S.A., *"Ethnobotany, phytochemistry and traditional uses of Curcuma spp. and pharmacological profile of two important species (C. longa and C. zedoaria): A Review",* Current Pharmaceutical Design, 2019, 25(8), 871-935.

[12] Lim, T.K., "*Curcuma zedoaria. Inedible medicinal and non-medicinal plants",* Springer Publishing, 2016, 389-416.

[13] Zarshenas, M.M., Jamshidi, S., Zargaran, A., Cardiovascular aspects of geriatric medicines in traditional Persian medicine; a review of phytochemistry and pharmacology", *Phytomedicine*, 2016, 23(11), 1182-1189.

[14] Bộ Y Tế, *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, 2018.

[15] Yoshioka, Y., Yoshimura, N., Matsumura, S., Wada, H., Hoshino, M., Makino, S., Morimoto, M., "α-Glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities of diterpenes from indian mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) and its derivatives", *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2019, 24(22), 4071-4083.

[16] Biswas, S.K., Chowdhury, A., Raihan, S.Z., Muhit, M.A., Akbar, M.A., Mowla, R., "Phytochemical investigation with assessment of cytotoxicity and antibacterial activities of chloroform extract of the leaves of *Kalanchoe pinnata*", *Journal of Plant Physiology*, 7, 2012, 41-46.

[17] Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R., Verdianrizi, M., "Strectrophotometric determinaton of total alkaloids in some Iranian medicinal plants", *Thailand Journal Pharmacity Science*, 32, 2008, 17-20.

[18] Patra, S., Panda, P.K., Panigrahi, D.P., Praharaj, P.P., Bhol, C.S., Mahapatra, K.K., Bhutia, S.K., "*Terminalia bellirica* extract induces anticancer activity through modulation of apoptosis and autophagy in oral squamous cell carcinoma", *Food and Chemical Toxicology*,

136, 2019, 111073.

[19] Akanni, O.O., Owumi, S.E., Adaramoye, O.A., "*In vitro* studies to assess the antioxidative, radical scavenging and arginase inhibitory potentials of extracts from *Artocarpus altilis*, Ficus exasperate and Kigelia africana", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1), 2014, 492-499.

[20] Khorasani, A.E., Mat Taha, R., Mohajer, S., Banisalam, B., "Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from *in vivo* and *in vitro* grown *Trifolium pratense* L. (Red Clover)", *BioMed Research International*, 15(2), 2015, 1-11.

[21] Mensor, L.I., Menezes, F.S., Leitao, G.G., Reis, A.S., dos Santos, T., Coube C.S., "Screening of Brazilian plants extracts for antioxidants activity by the use of DPPH free radical method", *Phytotherapy Research*, 15(2), 2001, 127-130.

[22] Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., "Antioxidant activities of methanol extract of *Sambucus ebulus* L. flower", *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(5), 2009, 447-450.

[23] Mohamed, E.A.H., Siddiqui, M.J.A., Ang, L.F., Sadikun, A., Chan, S.H., Tan, S.C., Yam, M.F., "Potent α-glucosidase and α-amylase inhibitory activities of standardized 50% ethanolic extracts and sinensetin from *Orthosiphon stamineus* Benth as anti-diabetic mechanism", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 2012, 176-189.

[24] Banani, D., Manabendra, D.C., Amitabha, D., Anupam, D.T., Nongalleima Kh., Lokesh D., "Antioxidant and anti-inflammatory activity of aqueous and methanolic extracts of rhizome part of *Drynaria quercifolia* (L.) j. Smith", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 2014, 43-49.

[25] Sakat, S., Juvekar, A.R., Gambhire, M.N., "*In vitro* antioxidant and antiinflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn.", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 2010, 146-155.

[26] Ullah, H.M., Zaman, S., Juhara, F., Akter, L., Tareq, S.M., Masum, E.H., Bhattacharjee, R., "Evaluation of antinociceptive, *in-vivo* & *in-vitro* anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Curcuma zedoaria* rhizome", *BMC complementary and alternative medicine*, 14, 2014, 346.

[27] Azahar, N.F., Gani, S.S.A., Mohd Mokhtar, N.F., "Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions of *Curcuma zedoaria* leaves using response surface methodology", Chemistry Central Journal, 2017, 11(1). 1-10.

[28] Đái Thị Xuân Trang, Trần Chí Linh, Lê Bích Hậu, Phạm Khánh Nguyên Huân và Phùng Thị Hằng, "Hoạt tính kháng oxy hóa và kháng nấm của một số cao chiết thực vật thuộc họ gừng (Zingiberaceae) và họ củ nâu (Dioscoreaceae)", *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(5A), 2020, 52-59.

[29] Yoshioka, Y., Yoshimura, N., Matsumura, S., Wada, H., Hoshino, M., Makino, S., Morimoto, M., "α-Glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities of diterpenes from indian mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) and its derivatives", *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(22), 2019, 4071.

[30] Göger, G., Allak, M., Şen, A., Göger, F., Tekin, M., Özek, G., "Assessment of *Cota altissima* (L.) J. Gay for phytochemical composition and antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic and antimicrobial activities", *Zeitschrift fur Naturforschung-Section C Journal of Biosciences*, 76(7-8), 2021, 317-327.

[31] Blois, M.S., "Antioxidant determination by the use of stable free radicals", *Nature*, 181(4617), 1958, 1199-2000.

[32] Sharaf, S., Sreelekshmia, S., Remanib, P.R., Padmajac, G., Lakshmia, S., "Anti-cancer, anti-bacterial and anti-oxidant properties of an active fraction isolated from *Curcuma zedoaria* rhizomes", Phytomedicine Plus, 2022, 2(1), 1-11.