

# THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA LÁ ĐÌNH LĂNG LÁ NHỎ (*POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.) HARMS)

## CHEMICAL COMPOSITION AND BIOACTIVE ACTIVITY OF LEAVES OF *POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.) HARMS

La Thị Kim Tú, Trương Thị Phương Thảo, Trần Thanh Mến\*

Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam<sup>1</sup>

\*Tác giả liên hệ / Corresponding author: ttmen@ctu.edu.vn

(Nhận bài / Received: 28/3/2023; Sửa bài / Revised: 03/7/2023; Chấp nhận đăng / Accepted: 14/7/2023)

**Tóm tắt** - Nghiên cứu thực hiện nhằm khảo sát hàm lượng dinh dưỡng và hoạt tính sinh học của lá đình lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa*). Kết quả cho thấy, trong 100 g lá đình lăng chứa  $3,44 \pm 0,03\%$  protein,  $0,28 \pm 0,01\%$  chất béo,  $10,50 \pm 0,88\%$  carbohydrate,  $1,77 \pm 0,01\%$  tro và  $58,28 \pm 3,36$  Kcal/100g. Hoạt tính kháng oxy hóa của chiết xuất được xác định bằng phương pháp DPPH, ABTS<sup>+</sup> và RP với giá trị EC<sub>50</sub> lần lượt là  $1151,59 \pm 3,80$  µg/mL;  $107,07 \pm 1,97$  µg/mL và  $49,04 \pm 0,38$  µg/mL. Hàm lượng phenolic và flavonoid tổng của cao chiết được xác định lần lượt là  $156,34 \pm 1,92$  mgGAE/g và  $441,79 \pm 6,14$  mgQE/g cao chiết. Bên cạnh đó, khả năng chống chịu stress oxy hóa (gây ra bởi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hoặc paraquat), khả năng vận động và sinh sản của ruồi giấm được cải thiện khi bổ sung cao chiết ở nồng độ 1 mg/mL. Kết quả nghiên cứu chứng minh lá cây đình lăng lá nhỏ là nguồn dược liệu hữu ích và có tiềm năng ứng dụng cao trong hỗ trợ sức khỏe cho con người.

**Từ khóa** - Cao chiết; đình lăng lá nhỏ; kháng oxy hóa; hàm lượng dinh dưỡng

### 1. Đặt vấn đề

Oxy hóa là quá trình bình thường và cần thiết diễn ra trong tế bào và cơ thể. Stress oxy hóa xảy ra khi có sự mất cân bằng của các gốc tự do và hoạt động của chất chống oxy hóa. Khi hoạt động bình thường, các gốc tự do có thể giúp chống lại mầm bệnh. Khi có nhiều gốc tự do hơn mức bình thường, các gốc tự do có thể làm hư hỏng các cấu trúc của lipid, DNA và protein. Các thành phần protein, lipid và DNA chiếm một phần lớn trong cơ thể, do đó sự tổn thương trong cấu trúc của chúng có thể dẫn đến nhiều bệnh tật nguy hiểm [1].

Từ xa xưa, các loại thảo dược đã được con người sử dụng để làm giảm các triệu chứng của bệnh. Cho dù đã có những tiến bộ to lớn trong y học hiện đại trong những thập kỷ gần đây, thực vật vẫn đóng góp quan trọng cho việc chăm sóc và hỗ trợ sức khỏe cho con người. Nhiều loài thảo dược đã được nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Các chất chống oxy hóa có nguồn gốc tự nhiên đã được chứng minh là có hiệu quả ngăn ngừa các quá trình phá hủy do stress oxy hóa gây ra [2].

Đình lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harm) được sử dụng trong các bài thuốc y học cổ truyền với các tác dụng hạ đường huyết, giải độc, ... Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu khảo sát thành phần dinh dưỡng và đánh giá hoạt tính sinh học của loài thảo dược này. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát thành phần dinh dưỡng và đánh

**Abstract** - The study investigated the nutritional content, antioxidant activities, mobility, reproduction, and development in a fruit fly model of *Polyscias fruticosa* leaf extract. The results showed that *Polyscias fruticosa* leaf contains  $3.44 \pm 0.03\%$  proteins,  $0.28 \pm 0.006\%$  fats,  $10.50 \pm 0.88\%$  carbohydrates,  $1.77 \pm 0.01\%$  ash, and  $58.28 \pm 3.36$  Kcal/100g. Antioxidant activities of leaf extract were examined by DPPH, ABTS<sup>+</sup>, and RP assay, with EC<sub>50</sub> values of  $1151.59 \pm 3.8$  µg/mL,  $107.07 \pm 1.97$  µg/mL, and  $49.04 \pm 0.38$  µg/mL, respectively. The total phenolic and flavonoid content were  $156.34 \pm 1.92$  mg GAE/g extract and  $441.79 \pm 6.14$  mg QE/g extract, correspondingly. Paraquat and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> challenge tests showed that flies fed with leaf extract at 1 mg/mL exhibited longer lifespans, improved motility, and reproduction compared to the control flies. The results prove that *Polyscias fruticosa* has potential medicinal properties for improving human health.

**Key words** - Antioxidant; extract; nutritional content; *Polyscias fruticosa* (L.) Harms

giá hoạt tính sinh học của lá cây đình lăng lá nhỏ từ đó có thể góp phần cung cấp thêm bằng chứng khoa học và tiềm năng sử dụng loài dược liệu này.

### 2. Vật liệu và phương pháp

#### 2.1. Vật liệu

Lá đình lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) được thu tại Thành phố Cần Thơ.

Ruồi giấm *Drosophila melanogaster* dòng Canton S (CS) sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp bởi Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản. Ruồi giấm được nuôi trong môi trường tiêu chuẩn, trong 1 L thức ăn thành phần gồm: agar (8 g), đường saccharose (80 g), nấm men khô (40 g), bột bắp (45 g), propionic acid (3 mL) và natribenzoate (1 g). Thức ăn được đun sôi và cho vào các lọ thí nghiệm (10x4 cm). Ruồi giấm được nuôi giữ với số lượng 30 con cho mỗi lọ và đặt trong điều kiện nhiệt độ 25°C để ruồi sinh sản và phát triển [3].

#### 2.2. Phương pháp

Mẫu lá đình lăng lá nhỏ sau khi thu về được loại bỏ phần sâu và hư, sau đó rửa sạch và để khô nước. Mẫu sau đó được sử dụng để tiến hành khảo sát các chỉ tiêu dinh dưỡng. Bên cạnh đó, mẫu lá cũng được phơi khô, xay nhỏ để điều chế cao chiết sử dụng cho khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính sinh học.

##### 2.2.1. Đo các giá trị dinh dưỡng

<sup>1</sup> Can Tho University, Vietnam (La Thi Kim Tu, Trương Thị Phương Thảo, Trần Thanh Mến)

### Phương pháp xác định độ ẩm

Thí nghiệm xác định theo miêu tả của Lê Thị Hồng Thảo [4], được thực hiện như sau: 2 g mẫu thử được cho vào tủ sấy và sấy  $105 \pm 2^\circ\text{C}$ . Sau khi sấy 5 giờ, cho mẫu vào bình hút ẩm và để 30 phút, đem cân để xác định khối lượng còn lại, thí nghiệm được lặp lại đến khối lượng không đổi.

Độ ẩm M (%) trong mẫu được xác định theo công thức:

$$M (\%) = [(m_0 - m_1) / m_0] * 100 (\%)$$

Trong đó:  $m_0$ : khối lượng mẫu thử trước khi sấy (g);  $m_1$ : khối lượng mẫu thử sau khi sấy (g).

### Phương pháp xác định hàm lượng tro tổng

Tiến hành xác định hàm lượng tro được dựa theo Lê Thị Hồng Thảo [4]. Cân 2 g mẫu thử vào cốc nung. Tiến hành than hóa trên bếp điện đến khi mẫu biến đổi hoàn toàn thành đen. Đặt cốc nung trong lò nung ở nhiệt độ  $550 - 600^\circ\text{C}$  trong thời gian 6 đến 7 giờ cho đến khi tro có màu trắng.

Hàm lượng tro (%) được tính bằng công thức:

$$A (\%) = [(m_1 - m_2) / m_0] * 100 (\%)$$

Trong đó,  $m_0$ : lượng mẫu cân (g);  $m_1$ : khối lượng cốc nung và tro (g);  $m_2$ : khối lượng cốc nung (g).

### Phương pháp xác định hàm lượng protein

Xác định hàm lượng protein bằng phương pháp Kjeldahl. Hàm lượng protein thô được tính theo công thức:

$$P = ((V_S - V_B) \times 0,0014 \times 100 \times 6,25) / m (\%)$$

Trong đó:

m: Khối lượng của mẫu mang đi phân tích (g);

$V_S$ : Thể tích acid  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dùng để chuẩn độ trắng (mL);

$V_B$ : Thể tích acid  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dùng để chuẩn độ mẫu thử (mL).

0,0014: Lượng nitơ (g) tương đương với 1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1N

6,25: Hệ số chung của thực phẩm

### Phương pháp xác định hàm lượng béo

Phương pháp thực hiện theo Ngô Thị Kim Dung và Phạm Phước Nhân [5]. Nguyên liệu được sấy khô sau đó ly trích lipid bằng Soxhlet với dung môi n-Hexane. Tiếp theo, tách dung môi ra khỏi lipid và xác định khối lượng chất béo.

### Phương pháp xác định hàm lượng carbohydrate

Hàm lượng carbohydrate được tính gián tiếp theo Shittu và Abubakar [6]:

$$C (\%) = 100 - (M + A + P + F)$$

Trong đó: C: hàm lượng carbohydrate (%); M: độ ẩm (%); A: hàm lượng tro tổng (%); P: hàm lượng protein (%); F: hàm lượng chất béo (%).

Năng lượng của lá đinh lăng lá nhỏ được tính theo công thức sau [7]:

$$\text{Năng lượng} = P \times 4 + F \times 9 + C \times 4 \text{ (Kcal/100g)}$$

Trong đó: P: hàm lượng protein (%); F: hàm lượng chất béo (%); C: hàm lượng carbohydrate (%).

### 2.2.2. Điều chế cao chiết

Bột lá đinh lăng lá nhỏ được ngâm với ethanol 96% (tỉ lệ 1/5). Sau 48 giờ ngâm ở nhiệt độ phòng, dịch chiết được thu, mẫu được ngâm 5 lần, dịch chiết từ các lần ngâm được

gom lại và cô quay để thu cao chiết ethanol tổng. Cao chiết tổng được trữ trong tủ lạnh ở ngăn mát để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 2.2.3. Định tính sơ bộ thành phần hóa học

Các nhóm hợp chất như alkaloid, flavonoid, saponin, polyphenol, tannin, coumarin và quinone được định tính dựa theo mô tả của Sofowora và cộng sự [8].

### 2.2.4. Định lượng phenolic và flavonoid tổng

#### Định lượng phenolic tổng

Hàm lượng phenolic tổng của cao chiết lá đinh lăng xác định bằng phương pháp Folin – Ciocalteu dựa theo miêu tả của Jayaprakasha [9]. Hỗn hợp phản ứng gồm 250  $\mu\text{L}$  thuốc thử F-C (tỉ lệ 1:4), 250  $\mu\text{L}$  nước cất và 250  $\mu\text{L}$  dịch chiết (1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) lắc đều các ống nghiệm. Sau đó, thêm vào 250  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10% trộn đều các hỗn hợp và để 30 phút ở  $40^\circ\text{C}$  trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Hàm lượng phenolic tổng trong cao chiết đinh lăng được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic.

#### Định lượng flavonoid tổng

Hàm lượng flavonoid tổng số của đinh lăng lá nhỏ được xác định theo phương pháp của Ohadoma và cộng sự [10]. Hỗn hợp phản ứng gồm 40  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{NaNO}_2$  5% trong 200  $\mu\text{L}$  nước cất và 200  $\mu\text{L}$  cao chiết (nồng độ 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó, thêm 40  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{AlCl}_3$  10% trộn đều thuốc thử, yên trong 6 phút. Thêm 400  $\mu\text{L}$  dung dịch  $\text{NaOH}$  1M và nước cất cho đủ 1 mL. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 510 nm. Hàm lượng flavonoid tổng trong cao chiết đinh lăng lá nhỏ được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn quercetin.

### 2.2.5. Hoạt tính kháng oxy hóa in vitro

#### Phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH

Phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH được thực hiện theo miêu tả của Lin và Chang [11]. Hỗn hợp phản ứng gồm 100  $\mu\text{L}$  dung dịch DPPH pha loãng trong methanol ở nồng độ  $6 \times 10^{-4}$  M và 100  $\mu\text{L}$  dung dịch theo các nồng độ của cao chiết. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở nhiệt độ phòng, trong điều kiện tối 60 phút. Dung dịch phản ứng sau đó được đo độ quang phổ hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Công thức tính hiệu quả làm sạch gốc tự do DPPH như sau:

$$E (\%) = ((OD_c - OD_m) / OD_c) \times 100.$$

Trong đó: E: Hiệu quả kháng oxy hóa (%);  $OD_c$ : Giá trị OD của mẫu đối chứng âm;  $OD_m$ : Giá trị OD của mẫu thử.

#### Phương pháp trung hòa gốc tự do ABTS<sup>•+</sup>

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết đinh lăng được xác định theo phương pháp ABTS<sup>•+</sup> của Re và cộng sự [12]. Dung dịch ABTS<sup>•+</sup> được chuẩn bị gồm ABTS 7 mM và  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  2,45 mM, trộn đều hai dung dịch (tỉ lệ 1:1) và ủ tối 16 giờ. Sau đó dung dịch được pha loãng bằng methanol, độ hấp thụ của dung dịch ở 734 nm với giá trị  $0,7 \pm 0,02$ . Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho 10  $\mu\text{L}$  cao chiết vào 990  $\mu\text{L}$  gốc tự do ABTS<sup>•+</sup> đã pha loãng và ủ 6 phút trong tối, độ hấp thụ đo ở 734 nm.

Công thức tính hiệu quả làm sạch gốc tự do ABTS<sup>+</sup> như sau:

$$E (\%) = (OD_c - OD_m) / OD_c \times 100.$$

Trong đó: E: Hiệu quả kháng oxy hóa (%); OD<sub>c</sub>: Giá trị OD của mẫu đối chứng âm; OD<sub>m</sub>: Giá trị OD của mẫu thử.

#### Phương pháp khử sắt RP (reducing power)

Thử nghiệm khử sắt RP được tiến hành theo phương pháp của Lin và Yen [13]. Cho 500 μL mẫu thử vào 500 μL K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> (1%), thêm 500 μL dung dịch đệm phosphate (pH = 6,6 - 7,2) vào hỗn hợp và ủ ở 50°C trong 20 phút. Sau khi làm mát bổ sung 500 μL CCl<sub>3</sub>COOH (10%), ly tâm 3000 vòng/10 phút. Tách 500 μL lớp trên bổ sung 500 μL nước cất và 100 μL FeCl<sub>3</sub> (0,1%). Đo độ hấp thụ ở bước sóng 700 nm.

Công thức tính hiệu quả loại bỏ gốc tự do bằng phương pháp khử sắt:

$$E (\%) = (OD_c / OD_m - 1) \times 100$$

Trong đó: E: Hiệu quả kháng oxy hóa (%); OD<sub>c</sub>: Giá trị OD của mẫu đối chứng âm; OD<sub>m</sub>: Giá trị OD của mẫu thử.

Acid gallic được sử dụng làm đối chứng dương ở tất cả các phương pháp DPPH, ABTS<sup>+</sup> và khử sắt. Hiệu quả trung hòa gốc tự do của cao chiết dựa vào hiệu quả kháng oxy hóa 50% (EC<sub>50</sub>).

#### 2.2.6. Hoạt tính kháng oxy hóa in vivo

Trong nghiên cứu này, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và paraquat (PQ) được sử dụng để gây stress cho ruồi và khảo sát khả năng chống chịu của chúng. Ruồi giấm đực mới nở trong vòng 48 giờ được chọn nuôi trong điều kiện thức ăn tiêu chuẩn có bổ sung cao chiết nồng độ 1 mg/mL (nghiệm thức thức ăn tiêu chuẩn hoặc có bổ sung acid gallic được sử dụng làm đối chứng) đến ngày thứ 10, ruồi được giữ trong tình trạng bị đói trong vòng 2 giờ, sau đó ruồi được cho vào các lọ thí nghiệm có giấy thấm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10% hoặc PQ 20 mM được pha trong dung dịch đường glucose 9%. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức (20 ruồi cho mỗi nghiệm thức). Số lượng ruồi còn sống sót được ghi nhận sau mỗi 4 giờ khảo sát [3].

#### 2.2.7. Khảo sát khả năng vận động trên mô hình ruồi giấm

Chọn 20 ruồi đực mới nở trong vòng 48 giờ được nuôi liên tục 10 ngày trong môi trường các nghiệm thức thí nghiệm và ruồi mới nở trong 1 ngày nhằm khảo sát khả năng vận động của ruồi. Thí nghiệm thực hiện theo mô tả của Trần Thanh Mến và cộng sự [3]. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Khả năng di chuyển của ruồi giấm được xác định dựa trên trung bình tổng chiều cao di chuyển của tất cả cá thể trên tổng số cá thể.

#### 2.2.8. Khảo sát ảnh hưởng của cao chiết đến khả năng sinh sản và phát triển trên mô hình ruồi giấm.

5 ruồi đực và 5 ruồi cái ruồi được nuôi 10 ngày trong các nghiệm thức (chưa giao phối) và mới nở trong vòng 1 ngày cho chúng giao phối trong 24 giờ, loại bỏ ruồi bố mẹ, giữ trứng và để chúng phát triển trong môi trường tiêu chuẩn. Ghi nhận kết quả bao gồm số ấu trùng giai đoạn 3 và nhộng và tổng số ruồi nở có trong các nghiệm thức khảo sát.

#### 2.2.9. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích và xử lý thống kê bằng phần

mềm Minitab 16 (One way – ANOVA). Các giá trị trung bình được so sánh bằng phép thử Tukey (P < 0,05 thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa). Các biểu đồ được vẽ bằng Microsoft excel 2016.

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Thành phần hóa học cơ bản trong mẫu lá đỉnh lã

Kết quả được trình bày ở Bảng 1 thể hiện độ ẩm, hàm lượng tro, protein thô, chất béo, carbohydrate và năng lượng trong 100 g lá đỉnh lã lá nhỏ.

Kết quả Bảng 1 cho thấy, độ ẩm lá đỉnh lã là khá cao khoảng 84,02 ± 0,84%. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Poos và Varju [14] cho thấy, độ ẩm của lá cây là rất cao, khoảng 60 - 80%.

Hàm lượng tro là những chất vô cơ sau khi đốt cháy hoặc oxy hóa hoàn toàn chất hữu cơ trong mẫu. Kết quả cho thấy, hàm lượng tro trong đỉnh lã lá nhỏ là 1,77 ± 0,01 %. Bên cạnh đó, một nghiên cứu đã chỉ ra các khoáng chất của đỉnh lã lá nhỏ tương đương các khoáng chất với trong quả xoài sấy trong khoảng 0,81 – 1,8% [15], tuy nhiên hàm lượng tro trong đỉnh lã lá nhỏ thấp hơn cây ngô là 16,6% [16].

Hàm lượng protein là một trong những chỉ tiêu quan trọng trong đánh giá giá trị dinh dưỡng của mẫu. Kết quả Bảng 1, hàm lượng protein lá đỉnh lã là 3,44 ± 0,03%. Nghiên cứu tương tự cho thấy hàm lượng protein của đỉnh lã lá nhỏ tương đương lá cây mật gấu (3,53%) [17].

Hàm lượng chất béo của đỉnh lã lá nhỏ là với 0,28 ± 0,01%. Đỉnh lã lá nhỏ có hàm lượng chất béo cao hơn măng tây (0,16%), trong đó hàm lượng chất béo của lá các loài khuyh điệp từ trong khoảng 0,1 – 7,0% [18]. Điều này phù hợp với nghiên cứu Chapman và cộng sự, đã chứng minh trong lá cây không tích lũy nhiều lipid [19].

Hàm lượng carbohydrate của đỉnh lã lá nhỏ là 10,50 ± 0,88%, lượng năng lượng của các loài đỉnh lã lá nhỏ cũng được xác định là 58,28 ± 3,36 Kcal/100g.

**Bảng 1.** Các giá trị dinh dưỡng và năng lượng của mẫu lá ở đỉnh lã lá nhỏ

Mẫu	Hàm lượng thành phần dinh dưỡng					Năng lượng (Kcal/100g)
	Độ ẩm (%)	Tro (%)	Protein (%)	Chất béo (%)	Carbohydrate (%)	
Đỉnh lã lá nhỏ	84,02 ± 0,84	1,77 ± 0,01	3,44 ± 0,03	0,28 ± 0,01	10,50 ± 0,88	58,28 ± 3,36

Ghi chú: Các giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn có kí hiệu chữ cái khác nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey

#### 3.2. Kết quả định tính trong cao chiết

Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học cho thấy, cao chiết lá đỉnh lã lá nhỏ có sự hiện diện của các hợp chất như phenolic, flavonoid, alkaloid, saponin, coumarin, quinone (Bảng 2). Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu ghi nhận không có sự hiện diện của hợp chất tannin (có thể hàm lượng tannin thấp dưới ngưỡng phát hiện trong nghiên cứu này). Các nhóm hợp chất phenolic, flavonoid, alkaloid, saponin được chứng minh có lợi cho sức khỏe như chống lại tế bào ung thư, tim mạch kháng khuẩn,... [20].

**Bảng 2.** Kết quả định tính các hợp chất tự nhiên có trong cao chiết lá đing lãng lá nhỏ

Hợp chất	Phenolic	Flavonoid	Tannin	Alkaloid	Saponin	Coumarin	Quinone
Cao chiết	+	+	-	+	+	+	+

Chú thích: (+): có hiện diện; (-): không phát hiện

### 3.3. Kết quả định lượng phenolic và flavonoid tổng

Hàm lượng phenolic và flavonoid tổng trong cao chiết đing lãng lá nhỏ được xác định dựa vào phương trình hồi quy  $y = 0,0361 + 0,1079x$ ,  $R^2 = 0,9724$  của chất chuẩn acid gallic và  $y = 0,0041 + 0,0062x$ ,  $R^2 = 0,9872$  với chất chuẩn quercetin. Trong đó, acid gallic là một acid hữu cơ thuộc nhóm phenolic và quercetin là một hợp chất hữu cơ thuộc nhóm flavonoid. Kết quả cho thấy, cao chiết đing lãng lá nhỏ có hàm lượng phenolic và flavonoid tổng lần lượt là  $156,34 \pm 1,92$  mg GAE/g cao chiết và  $441,79 \pm 6,14$  mg QE/g cao chiết. Cao chiết của đing lãng lá nhỏ có hàm lượng phenolic và flavonoid tổng cao hơn cây lộc vừng ( $77,94$  mg GAE/g cao chiết,  $109,65$  mg QE/g cao chiết) [21]. Trong tự nhiên có thể tìm thấy nhiều hợp chất phenolic được chiết xuất từ lá, thân hoặc các bộ phận khác của cây được xem như là những chất kháng oxy hóa tiềm năng. Ưu điểm của những hợp chất này là không độc hại với cơ thể con người và môi trường [22]. Do đó, định lượng phenolic tổng và flavonoid tổng là hai chỉ tiêu quan trọng nhằm đánh giá khả năng kháng oxy hóa từ cao chiết dược liệu.

### 3.4. Hoạt tính kháng oxy hóa in vitro của lá đing lãng lá nhỏ

Khả năng kháng oxy hóa in vitro của cao chiết lá đing lãng được khảo sát thông qua 3 phương pháp DPPH, ABTS<sup>+</sup> và khử sắt (RP). Kết quả Bảng 3 cho thấy, giá trị EC<sub>50</sub> đo được từ các phương pháp DPPH, ABTS<sup>+</sup> và khử sắt (RP) của cao chiết lá đing lãng lần lượt là  $1151,59 \pm 3,8$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $107,07 \pm 1,97$   $\mu\text{g/mL}$  và  $49,04 \pm 0,38$   $\mu\text{g/mL}$  cao hơn so với acid gallic lần lượt  $3,6 \pm 0,30$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $0,44 \pm 0,01$   $\mu\text{g/mL}$  và  $0,68 \pm 0,03$   $\mu\text{g/mL}$ . Các giá trị đều có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê.

**Bảng 3.** Giá trị EC<sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )

Mẫu thử	DPPH	ABTS <sup>+</sup>	Khử sắt
Đing lãng	$1151^a,59 \pm 3,8$	$107,07^a \pm 1,97$	$49,04^a \pm 0,38$
Acid gallic	$3,60^b \pm 0,30$	$0,44^b \pm 0,01$	$0,68^b \pm 0,03$

Ghi chú: Các chữ cái theo sau giá trị trung bình giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa (Tukey,  $p < 0,05$ )

Kết quả nghiên cứu chứng minh cao chiết từ lá đing lãng có hiệu quả kháng oxy hóa cao hơn một số loại cao chiết thực vật khác so với các nghiên cứu trước đây như cây sung ít răng ( $EC_{50} = 2540$   $\mu\text{g/mL}$ ) ở phương pháp DPPH [23]. Nghiên cứu Pérez-Balladares và cộng sự dùng phương pháp RP khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa, cao chiết từ khoai sâm ( $EC_{50} = 731,19$   $\mu\text{g/mL}$ ) có năng lực khử sắt kém hơn đing lãng lá nhỏ [24]. Giá trị EC<sub>50</sub> của cao chiết dược liệu cao hơn so với chất chuẩn là acid gallic. Kết quả này phù hợp vì có nhiều nghiên cứu đã chứng minh acid gallic có tác dụng chống oxy hóa cao [25, 26]

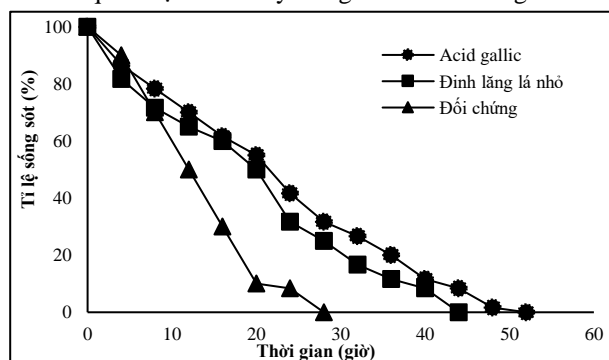
Tùy theo phương pháp khảo sát kháng oxy hóa và điều kiện phản ứng tiến hành khác nhau mà các hoạt chất từ cao

chiết thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa khác nhau. Khả năng kháng oxy hóa cho phép các hợp chất phenolic hoạt động như một chất khử cung cấp hydro và làm ngừng hoạt động của gốc tự do. Ngoài ra, flavonoid là một nhóm các hợp chất có trong thực vật có hoạt tính kháng oxy hoá thông qua quá trình làm sạch hoặc khử gốc tự do [27]. Các hợp chất như phenolic và flavonoid đều có hiện diện trong mẫu lá đing lãng lá nhỏ qua các khảo sát trên. Từ kết quả nghiên cứu của ba phương pháp trên cho thấy, cao chiết đing lãng lá nhỏ có hiệu quả kháng oxy hóa in vitro. Từ đó, nghiên cứu tiếp theo tiến hành khảo sát khả năng kháng oxy hóa in vivo để cung cấp thêm bằng chứng về khả năng kháng oxy hóa của cao chiết dược liệu.

### 3.5. Khả năng kháng oxy hóa in vivo của lá đing lãng lá nhỏ

#### 3.5.1. Phương pháp paraquat (PQ)

Khả năng kháng oxy hóa in vivo của acid gallic và cao chiết dược liệu khi nuôi ruồi trong điều kiện PQ 20 mM được thể hiện qua ba giá trị đó là thời gian sống sót trung bình, thời gian còn 50% sống sót và thời gian sống sót tối đa. Kết quả được trình bày trong Hình 1 và Bảng 4.

**Hình 1.** Khả năng sống sót của ruồi giấm đực CS trong điều kiện PQ 20 mM**Bảng 4.** Hiệu quả kháng oxy hóa in vivo trong điều kiện PQ 20 mM

Môi trường	Thời gian sống sót trung bình (giờ)	Thời gian còn 50% sống sót (giờ)	Thời gian sống sót tối đa (giờ)
Đối chứng	$14,33^c \pm 1,42$	$11,33^b \pm 1,16$	$20,67^b \pm 2,01$
Acid gallic	$24,20^a \pm 1,06$	$21,33^a \pm 1,16$	$41,0^a \pm 1,73$
Đing lãng	$20,87^b \pm 0,95$	$18,67^a \pm 1,53$	$36,67^a \pm 2,08$

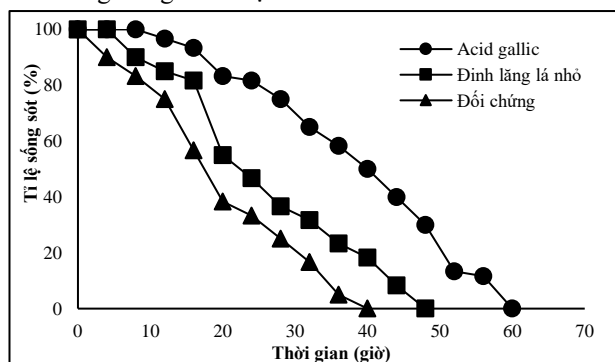
Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Kết quả Bảng 4 cho thấy, thời gian sống của ruồi giấm nuôi 10 ngày có bổ sung vào thức ăn  $0,05$  mg/mL acid gallic và  $1$  mg/mL cao chiết dược kéo dài trong điều kiện stress oxy hóa do paraquat gây ra. Thời gian sống sót trung bình của acid gallic là  $24,20 \pm 1,06$  giờ cao gấp 1,69 lần so với đối chứng ( $14,33 \pm 1,42$  giờ), thời gian còn 50% sống sót là  $21,33 \pm 1,16$  giờ cao gấp 1,88 lần so với đối chứng ( $11,33 \pm 1,16$  giờ), thời gian sống sót tối đa là  $41,0 \pm 1,73$  giờ cao gấp 1,98 lần so với đối chứng ( $20,67 \pm 2,01$  giờ). Nghiên cứu của Mansouri và cộng sự [28] cũng đã chứng minh acid gallic có hiệu quả chống lại stress oxy hóa.

Ruồi giấm nuôi 10 ngày trong môi trường bổ sung cao chiết đinh lăng lá nhỏ (1 mg/mL) có thời gian sống sót trung bình là  $20,87 \pm 0,95$  giờ cao hơn đối chứng 1,46 lần và thấp hơn acid gallic 1,16 lần, thời gian còn 50% sống sót là  $18,67 \pm 1,53$  giờ cao hơn đối chứng 1,65 lần và thấp hơn acid gallic 1,15 lần, thời gian sống sót tối đa là  $36,67 \pm 2,08$  giờ cao gấp 1,77 lần và thấp hơn acid gallic 1,12 lần. Ngoài ra, khi bổ sung cao chiết đinh lăng lá nhỏ nồng độ 1 mg/mL vào thức ăn thì thời gian sống sót trung bình, thời gian còn 50% sống sót và thời gian sống sót tối đa có khác biệt ý nghĩa thống kê so với đối chứng và không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê ở thời gian sống sót tối đa và thời gian còn 50% sống sót giữa các mẫu có cao chiết đinh lăng và mẫu có acid gallic. Điều này chứng tỏ cao chiết lá đinh lăng lá nhỏ có khả năng kháng oxy hóa *in vivo*.

### 3.5.2. Phương pháp $H_2O_2$

Kết quả Hình 2 và Bảng 4 cho thấy thời gian sống sót của ruồi giấm được kéo dài khi bổ sung vào thức ăn 0,05 mg/mL acid gallic, cao chiết nồng độ 1 mg/mL so với đối chứng trong điều kiện  $H_2O_2$  10%.



Hình 2. Khả năng sống sót của ruồi giấm đực CS trong điều kiện  $H_2O_2$  10%

Bảng 4. Hiệu quả kháng oxy hóa *in vivo* trong điều kiện  $H_2O_2$  10%

Môi trường	Thời gian sống sót trung bình (giờ)	Thời gian còn 50% sống sót (giờ)	Thời gian sống sót tối đa (giờ)
Đối chứng	$18,60^c \pm 0,60$	$17,00^b \pm 1,00$	$29,33^c \pm 2,52$
Acid gallic	$39,93^a \pm 0,76$	$40,00^a \pm 2,00$	$55,00^a \pm 3,00$
Đinh lăng	$27,07^b \pm 0,76$	$21,33^b \pm 2,08$	$46,00^b \pm 1,00$

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Tương tự phương pháp PQ, khả năng kháng oxy hóa *in vivo* của acid gallic và cao chiết đinh lăng được thể hiện qua ba giá trị đó là thời gian sống sót trung bình, thời gian còn 50% sống sót và thời gian sống sót tối đa của ruồi khi nuôi trong điều kiện  $H_2O_2$ . Kết quả được trình bày trong Bảng 4 cho thấy, thời gian sống của ruồi giấm nuôi 10 ngày có bổ sung vào thức ăn 0,05 mg/mL acid gallic và 1 mg/mL cao chiết được kéo dài trong điều kiện stress oxy hóa trong điều kiện  $H_2O_2$  so với đối chứng. Thời gian sống sót trung bình của acid gallic là  $39,93 \pm 0,76$  giờ cao gấp 2,1 lần so với đối chứng ( $18,60 \pm 0,06$  giờ), thời gian còn 50% sống sót là  $40,00 \pm 2,00$  giờ cao gấp 1,36 lần so với đối chứng ( $29,33 \pm 2,52$  giờ). Các số liệu khác biệt có ý nghĩa thống kê.

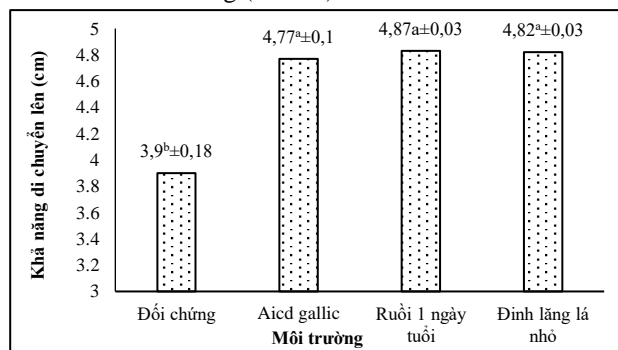
Ruồi giấm nuôi trong môi trường có bổ sung cao chiết

đinh lăng lá nhỏ có thời gian sống sót trung bình là  $27,07 \pm 0,76$  giờ cao gấp 1,46 lần so với đối chứng và thấp hơn acid gallic 1,48 lần, thời gian còn 50% sống sót là  $21,33 \pm 2,08$  giờ cao gấp 1,26 lần và thấp hơn acid gallic 1,88 lần, thời gian sống sót tối đa là  $46,00 \pm 1,00$  giờ cao gấp 1,57 lần và thấp hơn acid gallic 1,2 lần. Ngoài ra, khi bổ sung cao chiết đinh lăng lá nhỏ nồng độ 1 mg/mL vào thức ăn thì thời gian sống sót trung bình, thời gian còn 50% sống sót và thời gian sống sót tối đa có khác biệt ý nghĩa 5% so với đối chứng.

Kết quả định tính và định lượng cho thấy, trong cao chiết đinh lăng lá nhỏ có chứa thành phần phenolic và flavonoid. Các hợp chất phenolic cũng như flavonoid đã được chứng minh là chất kháng oxy hóa do có lợi cho sức khỏe con người, chữa và ngăn ngừa nhiều bệnh tật [20]. Polyphenol có thể tăng cường hoạt động và biểu hiện của các gen quy định các enzyme kháng oxy hóa như glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) và superoxide dismutase (SOD) với khả năng phân hủy hydroperoxide, hydrogen peroxide và anion superoxide, ức chế sự biểu hiện của gen quy định enzyme xanthine oxidase [29]. Đồng thời kết quả kháng oxy hóa *in vitro* của cao chiết đinh lăng lá nhỏ là khá cao được kiểm chứng qua 3 phương pháp DPPH, ABTS<sup>+</sup> và khử sắt RP (Bảng 2). Do đó, hiệu quả kháng oxy hóa *in vivo* của cao chiết lá đinh lăng hoàn toàn phù hợp.

### 3.6. Khả năng vận động trên mô hình ruồi giấm

Kết quả ghi nhận khả năng vận động của ruồi giấm đực 10 ngày tuổi được nuôi trong các nghiệm thức và ruồi 1 ngày tuổi. Kết quả cho thấy, ruồi giấm được bổ sung acid gallic và cao chiết đinh lăng lá nhỏ có khả năng di chuyển lên tốt hơn đối chứng (Hình 3).



Hình 3. Kết quả khả năng vận động của ruồi giấm

Ghi chú: Các chữ cái theo sau giá trị trung bình giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không có ý nghĩa (Tukey,  $p < 0,05$ )

Kết quả Hình 3 thể hiện khả năng vận động của ruồi được nuôi trong các môi trường đối chứng, acid gallic, cao chiết lá đinh lăng và ruồi mới nở 1 ngày tuổi. Kết quả cho thấy khả năng di chuyển của ruồi 1 ngày tuổi là cao nhất với  $4,87 \pm 0,03$  cm cao hơn các nghiệm thức còn lại, tuy nhiên không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với ruồi giấm nuôi trong môi trường bổ sung acid gallic ( $4,77 \pm 0,1$  cm) và môi trường bổ sung cao chiết lá đinh lăng ( $4,82 \pm 0,03$  cm). Kết quả cho thấy, khả năng di chuyển của ruồi giấm đực nuôi trong môi trường bổ sung cao chiết đinh lăng lá nhỏ ( $4,82 \pm 0,03$  cm) cao hơn 18,97% so với đối chứng ( $3,9 \pm 0,18$  cm) và có sự khác biệt mang

ý nghĩa thống kê. Sự di chuyển của ruồi giấm nuôi trong thức ăn có bổ sung cao chiết cao hơn so với ruồi giấm nuôi trong thức ăn có bổ sung acid gallic là 1,03% và thấp hơn ruồi giấm 1 ngày tuổi là 1,03%, tuy nhiên sự khác biệt này không mang ý nghĩa thống kê.

Khả năng di chuyển của ruồi giấm được nuôi trong môi trường bổ sung cao chiết thấp hơn ruồi giấm 10 ngày tuổi với ruồi giấm 1 ngày tuổi là một điều hợp lí, vì đây là ruồi giấm mới nở 1 ngày còn khỏe mạnh nên chúng có khả năng di chuyển lên cao tốt hơn. Theo Karbach và cộng sự thì stress oxy hóa là sự mất cân bằng giữa việc tạo ra quá nhiều ROS và hệ thống kháng oxy hóa của cơ thể, đây là nguyên nhân dẫn đến nhiều bệnh hiểm nghèo như xơ vữa động mạch, thoái hóa thần kinh, viêm khớp và nhiều bệnh khác [30]. Stress oxy hóa còn được biết là nguyên nhân hàng đầu gây nên bệnh tật cho sinh vật. Do đó, việc điều trị các bệnh này bằng liệu pháp bổ sung chất kháng oxy hóa đã gặt hái được nhiều thành công [20]. Nghiên cứu của Chen và cộng sự đã chứng minh hai hợp chất phenolic và flavonoid có hoạt tính chống lão hóa và các bệnh thoái hóa thần kinh như Alzheimer và Parkinson [31]. Kết quả nghiên cứu này đã chứng minh cao chiết đinh lăng lá nhỏ chứa các hợp chất kháng oxy mạnh như phenolic và flavonoid và có hiệu quả kháng oxy hóa *in vitro* và *in vivo*.

### 3.7. Khả năng sinh sản và phát triển trên mô hình ruồi giấm

Kết quả ghi nhận vòng đời ruồi giấm của các nghiệm thức được nuôi trong 10 ngày ở điều kiện thức ăn tiêu chuẩn và thức ăn có bổ sung chất khảo sát. Ruồi giấm mới nở 1 ngày tuổi được sử dụng như làm đối chiếu để so sánh. Kết quả khảo sát được trình bày ở Bảng 5. Từ kết quả cho thấy tất cả các nghiệm thức khảo sát có thời gian xuất hiện của ấu

trùng giai đoạn 3 là ngày thứ 5, thời gian xuất hiện nhộng là ngày thứ 7 và xuất hiện con trưởng thành vào ngày thứ 10 ở điều kiện nhiệt độ 25°C. Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Demerec và Kaufmann về thời gian xuất hiện các giai đoạn của ruồi giấm trong quá trình phát triển [32].

Ruồi giấm trong nghiệm thức bổ sung acid gallic trong thức ăn tiêu chuẩn có tổng số lượng nhộng ghi nhận sau 10 ngày là cao nhất với  $134,00 \pm 2,00$  con cao gấp 2,27 lần so với đối chứng ( $59,00 \pm 2,65$  con) và 1,21 lần so với ruồi giấm mới nở 1 ngày tuổi ( $119,5 \pm 4,04$  con). Tổng số ruồi nở sau 14 ngày ở nghiệm thức acid gallic là cao nhất với  $134,00 \pm 2,00$  con, tiếp theo là ruồi mới nở 1 ngày tuổi ( $119,00 \pm 3,00$  con), ruồi giấm ở nghiệm thức bổ sung cao chiết đinh lăng lá nhỏ ( $77,33 \pm 2,52$  con) và thấp nhất là nghiệm thức đối chứng (thức ăn tiêu chuẩn) ( $58,67 \pm 3,21$  con) có khác biệt mang ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại.

Bên cạnh đó, ấu trùng hóa nhộng của nghiệm thức nuôi trong cao chiết lá đinh lăng là  $77,67 \pm 3,06$  con cao gấp 1,32 lần so với đối chứng ( $59,00 \pm 2,65$  con) và thấp hơn acid gallic ( $134,00 \pm 2,00$  con) là 1,73 lần và 1,54 lần so với ruồi mới nở 1 ngày tuổi ( $119,5 \pm 4,04$  con). Các số liệu trên có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê. Ngoài ra, kết quả thí nghiệm cho thấy ruồi giấm được nuôi trong nghiệm thức đinh lăng lá nhỏ có tổng số ruồi nở sau 14 ngày tăng 24,1% so với ruồi giấm nuôi trong thức ăn tiêu chuẩn không bổ sung cao chiết. Tuy nhiên, nghiệm thức đinh lăng lá nhỏ thấp hơn nghiệm thức acid gallic là 42,29% và thấp hơn 35% so với ruồi giấm 1 ngày tuổi. Qua đây thấy rằng, ruồi giấm được nuôi trong điều kiện có bổ sung cao chiết lá đinh lăng ở nồng độ 1 mg/mL có khả năng cải thiện sức khỏe sinh sản của ruồi giấm CS so với đối chứng.

**Bảng 5.** Vòng đời phát triển của thế hệ tiếp theo của ruồi giấm được nuôi 10 ngày ở nghiệm thức đối chứng, acid gallic (0,05 mg/mL), cao chiết đinh lăng lá nhỏ (1 mg/mL) và ruồi giấm 1 ngày tuổi

Nghiệm thức	Giai đoạn 3		Giai đoạn nhộng			Ruồi trưởng thành		
	Thời gian xuất hiện (ngày)	Số lượng (con)	Thời gian xuất hiện (ngày)	Số lượng xuất hiện đầu tiên (con)	Tổng số nhộng sau 10 ngày (con)	Thời gian xuất hiện (ngày)	Số lượng xuất hiện đầu tiên (con)	Tổng số ruồi được nở sau 14 ngày (con)
Đối chứng	5	$1,67 \pm 0,6$	7	$3,33 \pm 0,58$	$59,00^e \pm 2,65$	10	$4,00 \pm 1,0$	$58,67^e \pm 3,21$
Ruồi giấm 1 ngày tuổi	5	$3,33 \pm 0,6$	7	$6,33 \pm 1,53$	$119,5^b \pm 4,04$	10	$14,00 \pm 1,0$	$119,00^b \pm 3,00$
Acid gallic	5	$2,67 \pm 0,6$	7	$9,67 \pm 0,58$	$134,00^a \pm 2,00$	10	$26,67 \pm 0,6$	$134,00^a \pm 2,00$
Cao chiết	5	$2,33 \pm 0,6$	7	$4,67 \pm 1,16$	$77,67^c \pm 3,06$	10	$10,67 \pm 1,5$	$77,33^c \pm 2,52$

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, khả năng sinh sản của ruồi giấm được nuôi bổ sung cao chiết đinh lăng lá nhỏ thấp hơn acid gallic và ruồi mới nở trong 1 ngày, điều này có thể giải thích là acid gallic là chất kháng oxy hóa chuẩn thương mại có độ tinh sạch cao, ruồi mới nở 1 ngày tuổi còn khỏe mạnh nên khả năng sinh sản tốt. Ruồi giấm của nghiệm thức lá đinh lăng lá nhỏ có khả năng sinh sản tốt hơn đối chứng, kết quả này có thể lí giải bởi cao chiết lá đinh lăng lá nhỏ có khả năng kháng oxy hóa *in vitro* đã được kiểm chứng qua ba phương pháp (DPPH, ABTS<sup>+</sup> và khử sắt RP) (Bảng 2) và có hiệu quả kháng oxy hóa *in vivo* đã được chứng minh bằng phương pháp PQ và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

trên mô hình ruồi giấm.

Stress oxy hóa là nguyên nhân dẫn đến nhiều bệnh về hệ vận động (Alzheimer và Parkinson) và lão hóa [33, 34]. Kết quả khảo sát hiệu quả của cao chiết lá đinh lăng lá nhỏ lên sự vận động, sinh sản và phát triển cho thấy khả năng di chuyển, tổng số lượng ruồi nở sau 14 ngày, thời gian sống sót đều tăng và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng không sử dụng cao chiết, kết quả này phù hợp với thành phần hóa học và hoạt tính kháng oxy hóa đã được chứng minh. Qua đây có thể nhận định rằng khả năng duy trì các chức năng sinh lí như vận động, sinh sản và phát triển trên ruồi của cao chiết lá đinh lăng là do có nhiều thành phần

được chất có khả năng chống lại stress oxy hiệu quả, đó là các chất kháng oxy hóa (phenolic, flavonoid) có thể trung hòa các gốc tự do trong cơ thể.

#### 4. Kết luận

Cao chiết lá đỉnh lăng có khả năng kháng oxy hóa *in vitro* và *in vivo*, cải thiện khả năng vận động và sinh sản của ruồi giấm *Drosophila melanogaster*. Từ kết quả nghiên cứu này cung cấp thêm các bằng chứng khoa học về hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết đỉnh lăng lá nhỏ. Hoạt tính sinh học của lá đỉnh lăng lá nhỏ có liên quan đến sự hiện diện của các nhóm chất như phenolic, flavonoid, có trong cao chiết. Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy tiềm năng ứng dụng của lá đỉnh lăng lá nhỏ trong lĩnh vực dược học, y sinh, trong phòng ngừa và điều trị các bệnh lý liên quan đến oxy hóa và lão hóa. Các nghiên cứu tiếp theo cần phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các nhóm chất có hoạt tính kháng oxy hóa từ cao chiết lá đỉnh lăng lá nhỏ.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B. Calenic *et al.*, "Oxidative stress and volatile organic compounds: interplay in pulmonary, cardio-vascular, digestive tract systems and cancer", *Open Chemistry*, vol. 13, no. 1, 2015.
- [2] G. Pizzino *et al.*, "Oxidative stress: harms and benefits for human health", *Oxidative medicine and cellular longevity*, vol. 2017, 2017.
- [3] T. T. Men *et al.*, "Anti-aging effects of *Lasia spinosa* L. Stem extract on *Drosophila melanogaster*", *Food Science and Technology*, vol. 42, pp. e38721, 2021.
- [4] T. H. T. Le, "Research on extraction and determination of chemical composition of some hibiscus leaf extracts (*Hibiscus rosa-sinensis* L)", The University of Danang - University of Science Education, 2018.
- [5] N. T. K. Dung and P. P. Nhan, "Identifying content of raw oil and protein in some seeds", *Journal of Science and Technology*, vol. 15, pp. 15-18, 2014.
- [6] O. K. Shittu and A. Abubakar, "Evaluation of Phytochemicals, Proximate, Minerals and Anti-nutritional composition of Yam peel", *Maize chaff and Bean coat*, vol. 6, pp. 21-37, 2014.
- [7] L.K. Purcell *et al.*, "Sport nutrition for young athletes", *Paediatrics and child health*, vol. 18, no. 4, pp. 200-202, 2013.
- [8] A. Sofowora, "Recent trends in research into African medicinal plants", *Journal of ethnopharmacology*, vol. 38, no. 2-3, 197-208, 1993.
- [9] G. Jayaprakasha and B. S. Patil., "In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange", *Food chemistry*, vol. 101, no. 1, pp. 410-418, 2007.
- [10] S. Ohadoma *et al.*, "Quantitative estimation of total phenolic and total flavonoid contents of ethylacetate fraction of Chikadoma as a bactericidal agent", *Asian J Sci & Tech*, vol. 11, no. 6, pp. 11012-11014, 2020.
- [11] M.-Y. Lin and F.-J. Chang, "Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356", *Digestive diseases and sciences*, vol. 45, pp. 1617-1622, 2000.
- [12] R. Re *et al.*, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free radical biology and medicine*, vol. 26, no. 9-10, pp. 1231-1237, 1999.
- [13] M.-Y. Lin and C.-L. Yen., "Antioxidative ability of lactic acid bacteria", *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 47, no. 4, pp. 1460-1466, 1999.
- [14] T. Poós and E. Varju., "Drying characteristics of medicinal plants", *International Review of Applied Sciences and Engineering*, vol. 8, no. 1, pp. 83-91, 2017.
- [15] F. D. C. Siacor *et al.*, "Physicochemical properties of spray-dried mango phenolic compounds extracts", *Journal of Agriculture and Food Research*, vol. 2, pp. 100048, 2020.
- [16] F. Lanning, T. Hopkins, and J. Loera., "Silica and ash content and depositional patterns in tissues of mature *Zea mays* L. Plants", *Annals of Botany*, vol. 45, no. 5, pp. 549-554, 1980.
- [17] I. Atangwho *et al.*, "Comparative chemical composition of leaves of some antidiabetic medicinal plants: *Azadirachta indica*, *Vernonia amygdalina* and *Gongronema latifolium*", *African Journal of Biotechnology*, vol. 8, no. 18, 2009.
- [18] A. E. Al-Snafi, "Oils and fats contents of medicinal plants, as natural ingredients for many therapeutic purposes-A review", *IOSR J. Pharm.*, vol. 10, no. 7, pp. 1-41, 2020.
- [19] K. D. Chapman, J. M. Dyer, and R. T. Mullen., "Commentary: why don't plant leaves get fat?", *Plant Science*, vol. 207, pp. 128-134, 2013.
- [20] D. Tungmunnithum *et al.*, "Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview", *Medicines*, vol. 5, no. 3, pp. 93, 2018.
- [21] N. P. Tuan and N. T. A. Lan, "Antioxidant activity,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activities of the extract of *Barringtonia acutangula* leaves". *Hue University of Agriculture and Forestry - Journal of Agricultural Science and Technology*, vol. 6, no. 2, pp. 2983-2993, 2022.
- [22] S. E. Rasmussen *et al.*, "Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease", *Molecular nutrition & food research*, vol. 49, no. 2, pp. 159-174, 2005.
- [23] M. M. Mutungi *et al.*, "Antioxidant and antiproliferative potentials of *Ficus glumosa* and Its Bioactive Polyphenol Metabolites", *Pharmaceuticals*, vol. 14, no. 3, pp. 266, 2021.
- [24] D. Pérez-Balladares *et al.*, "Chemical composition and antioxidant activity of the main fruits, tubers and legumes traditionally consumed in the Andean regions of Ecuador as a source of health-promoting compounds", *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 74, pp. 350-357, 2019.
- [25] N. Ermis, N. Zare, R. Darabi, and M. Alizadeh, "Recent advantage in electrochemical monitoring of gallic acid and kojic acid: A new perspective in food science", *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 17, no. 4, pp. 1-10, 2023.
- [26] L. Sun *et al.*, "Anti-aging mechanism and rheological properties of lignin, quercetin, and gallic acid as antioxidants in asphalt", *Construction and Building Materials*, vol. 369, pp. 130560, 2023.
- [27] R. Baharf, R. Azimi, and M. Mohseni., "Antioxidant and antibacterial activity of flavonoid-, polyphenol-and anthocyanin-rich extracts from *Thymus kotschyanus* boiss & hohen aerial parts", *Journal of food science and technology*, vol. 52, pp. 6777-6783, 2015.
- [28] M. T. Mansouri *et al.*, "A possible mechanism for the anxiolytic-like effect of gallic acid in the rat elevated plus maze", *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, vol. 117, pp. 40-46, 2014.
- [29] P. Palsamy and S. Subramanian, "Modulatory effects of resveratrol on attenuating the key enzymes activities of carbohydrate metabolism in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats", *Chemico-biological interactions*, vol. 179, no. 2-3, pp. 356-362, 2009.
- [30] S. Karbach *et al.*, "eNOS uncoupling in cardiovascular diseases-the role of oxidative stress and inflammation", *Current pharmaceutical design*, vol. 20, no. 22, pp. 3579-3594, 2014.
- [31] Q. Chen *et al.*, "Reactive oxygen species: key regulators in vascular health and diseases", *British journal of pharmacology*, vol. 175, no. 8, pp. 1279-1292, 2018.
- [32] M. Demerec and B. Kaufman, *Drosophila guide: introduction to the genetics and Cytology of Drosophila melanogaster*, The Institution, Washington, 1996, pp. 1-27.
- [33] J. Tchekalarova and R. Tzoneva., "Oxidative Stress and Aging as Risk Factors for Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: The Role of the Antioxidant Melatonin", *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 3, pp. 3022, 2023.
- [34] S. K. Raut and M. Khullar., "Oxidative stress in metabolic diseases: Current scenario and therapeutic relevance", *Molecular and cellular biochemistry*, vol. 478, no. 1, pp. 185-196, 2023.