



## KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA CỦA CAO METHANOL RỄ ME KEO (*Pithecellobium dulce* (ROXB.) BENTH.) TRÊN CHUỘT BỊ STRESS OXY HÓA

Nguyễn Thị Ái Lan, Trà Lâm Tuấn Vũ và Đái Thị Xuân Trang\*

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đái Thị Xuân Trang (email: [dtxtrang@ctu.edu.vn](mailto:dtxtrang@ctu.edu.vn))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 19/06/2018

Ngày nhận bài sửa: 03/08/2018

Ngày duyệt đăng: 27/02/2019

### Title:

Study on antioxidant activities of methanolic extract from *Pithecellobium dulce* (roxb.) Benth. Roots in induced oxidative stress mice

### Từ khóa:

Alloxan monohydrate, kháng oxy hóa, Me Keo (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.), malondialdehyde (MDA), peroxyde hóa lipid

### Keywords:

Alloxan monohydrate, antioxidant, DPPH, lipid peroxidation, malondialdehyde (MDA), *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth

### ABSTRACT

In the present study, antioxidant activities of the methanol extracts from *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. roots (PDR) were investigated by employing established in vitro systems, which included radical scavenging DPPH and ferric reducing. Alloxan was used at dose 135 mg/kg body weight to induce oxidative stress in mouse models. Lipid peroxidation in vivo activities was then conducted on these alloxan-induced mice. The results obtained from radical scavenging DPPH activity showed that the methanol root extract of PDR had a lower scavenging power of 8.7 times compared to that of Vitamin C ( $EC_{50}=54.704 \mu\text{g/mL}$  and  $EC_{50}=6.307 \mu\text{g/mL}$ , respectively). The total ferric reducing ability determination by  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$  transformation method which revealed that the reducing activity of methanol extract from PDR ( $EC_{50} = 26.66 \mu\text{g/mL}$ ) was 1.93 folds lower than that of a standard Trolox ( $EC_{50}=11.206 \mu\text{g/mL}$ ). The PDR possessed high ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging activity with 88.7% at concentration of 10  $\mu\text{g/mL}$ . The extracts of PDR contained relatively high levels of total polyphenols and flavonoids, with  $56.682 \pm 0.76 \text{ mg GAE/g}$  and  $380.3 \pm 18.9 \text{ mg QE/g}$ , respectively. The in vivo antioxidant activities were determined by measuring the formation of malondialdehyde (MDA) in brain, cardiac and skeletal muscle of the test mice. The results showed that the root extract from PDR significantly decreased serum MDA levels in mouse models and could be compared to that of the drug Glucophage.

### TÓM TẮT

Khả năng kháng oxy hóa in vitro của cao methanol rễ Me keo (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.) được xác định thông qua khả năng trung hòa gốc tự do DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) khả năng khử sắt và khả năng kháng sự peroxyde hóa lipid in vivo được thực hiện ở chuột bị stress oxy hóa bởi alloxan monohydrate (AM). Alloxan monohydrate (AM) được sử dụng với hàm lượng 135 mg/kg trọng lượng để gây tăng glucose huyết dẫn đến stress oxy hóa trên chuột. Kết quả cho thấy hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của cao methanol rễ Me keo ( $EC_{50}=54,704 \mu\text{g/mL}$ ) thấp hơn vitamin C ( $EC_{50}=6,307 \mu\text{g/mL}$ ) 8,7 lần. Khả năng khử  $\text{Fe}^{3+}$  thành  $\text{Fe}^{2+}$  của rễ Me keo ( $EC_{50} = 26,66 \mu\text{g/mL}$ ) thấp hơn chất chuẩn Trolox ( $EC_{50} = 11,21 \mu\text{g/mL}$ ) là 1,93 lần. Rễ Me keo có khả năng kháng gốc tự do ABTS<sup>+</sup> với hiệu suất đạt 88,7% khi nồng độ cao chiết rễ Me keo là 10  $\mu\text{g/mL}$ . Hàm lượng polyphenol tổng (total polyphenol content, TPC) và flavonoid toàn phần (total flavonoid content, TFC) đo được của cao methanol rễ Me keo lần lượt là  $56,682 \pm 0,76 \text{ mg GAE/g}$  và  $380,3 \pm 18,9 \text{ mg QE/g}$ . Hiệu quả kháng oxy hóa in vivo trên chuột bị stress oxy hóa được xác định trên các cơ quan như tim, não và cơ xương, dựa trên việc xác định sự giảm hàm lượng malonyl dialdehyde (MDA). Kết quả cho thấy cao methanol rễ Me keo có hiệu quả giảm hàm lượng MDA tương đương thuốc thương mại glucophage.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Ái Lan, Trà Lâm Tuấn Vũ và Đái Thị Xuân Trang, 2019. Khả năng kháng oxy hóa của cao methanol rễ me keo (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.) trên chuột bị stress oxy hóa. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(1A): 47-53.

## 1 GIỚI THIỆU

Bệnh đái tháo đường là một bệnh mãn tính xảy ra khi cơ thể không sản xuất đủ insulin hay không thể sản xuất insulin (Barcelón and Rajpathak, 2001). Việc thiếu hoặc sử dụng không hiệu quả insulin ở người bị bệnh đái tháo đường có nghĩa là glucose vẫn còn lưu tồn trong máu. Sự tăng glucose huyết làm tăng sản xuất các gốc tự do (reactive oxygen species, ROS) bên trong các tế bào, ROS kích hoạt sự hoạt động của các đồng vị protein kinase-C, làm tăng lượng glucose thông qua quá trình khử aldose, kích hoạt các cytokine làm mô và tế bào bị tổn thương (Dewanjee *et al.*, 2011). Từ đó gây ra sự peroxyde hóa lipid, đồng thời tạo ra các biến chứng thứ phát trong bệnh đái tháo đường liên quan đến thận, mắt, mạch máu, tim và tổn thương thần kinh (Rajaram, 2013).

Sự stress oxy hóa ở người mắc bệnh đái tháo đường tạo ra quá mức các gốc tự do, cụ thể các gốc tự do này được tạo ra do sự oxy hóa glucose và quá trình glycation protein phi enzyme. Mức cao bất thường của các gốc tự do và sự suy giảm đồng thời các cơ chế kháng oxy hóa có thể dẫn đến tổn thương các tế bào và enzyme, làm tăng sự peroxyde hóa lipid và làm tăng sự kháng insulin (Khan *et al.*, 2015). Những hậu quả của stress oxy hóa được xem là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến các biến chứng trong bệnh đái tháo đường (Golbidi *et al.*, 2011).

Alloxan monohydrate tham gia vào quá trình oxy hóa tạo ra các gốc tự do gây phá hủy tế bào, ức chế enzyme glucokinase, oxy hóa các nhóm -SH thiết yếu và gây rối loạn cân bằng canxi nội bào trên tuyến tụy của động vật thử nghiệm (Lenzen, 2008). Alloxan monohydrate gây tổn thương và phá hủy nghiêm trọng các tế bào beta tụy, gây xơ vữa động mạch ở tụy và thận. Ở gan, sự tăng stress oxy hóa dẫn đến sự rối loạn chuyển hóa là nguyên nhân của sự tích tụ lipid trong tế bào chất của các tế bào gan gây nên thoái hóa (Zhang *et al.*, 2016). Các chất kháng oxy hóa thu được từ thiên nhiên giúp giảm thiểu các ROS và làm giảm đáng kể khả năng tiến triển của các biến chứng từ sự stress oxy hóa ở một số bệnh trong đó có bệnh đái tháo đường. Một loạt các vitamin, chất bổ sung và một số thành phần từ thực vật có khả năng làm giảm tổn thương do stress oxy hóa trong bệnh đái tháo đường gây ra (Khan *et al.*, 2015).

Cây Me keo là một loại thực vật phổ biến và phân bố rộng rãi trên nhiều quốc gia và châu lục. Đồng thời đây cũng là một loại dược liệu thiên nhiên, được dân gian sử dụng trong điều trị các bệnh về tim mạch, nhồi máu cơ tim, kháng viêm và nhiều bệnh thông thường khác (Sugumaran *et al.*, 2008).

Hiện nay, đã có nhiều nghiên cứu chứng minh về dược tính trên các bộ phận khác nhau của cây Me keo như khả năng kháng peroxyde hóa trên thận chuột (Pal *et al.*, 2012), khả năng kháng oxy hóa của lá và vỏ Me keo đã được nghiên cứu chứng minh (Katekhaye and Kale, 2012), khả năng tiêu diệt ấu trùng truyền bệnh của muỗi *Anopheles stephensi* và *Aedes aegypti* trên lá (Govindarajan *et al.*, 2013) hoặc quả Me keo cũng được chứng minh là có chứa các hoạt chất kháng oxy hóa (Wall-Medrano *et al.*, 2016). Mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát sự kháng oxy hóa của cao methanol rễ Me keo trên chuột bị stress oxy hóa bởi alloxan monohydrate.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Vật liệu

Rễ cây Me Keo (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth.) được thu tại huyện Cầu Kè, tỉnh Trà Vinh.

Chuột nhắt trắng *Mus musculus* L. khỏe mạnh, sạch bệnh, do viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1 Điều chế cao methanol rễ Me keo

Rễ Me keo (RMK) được rửa sạch, cắt nhỏ và sấy khô ở nhiệt độ 50°C cho đến khô, mẫu sau đó được xay nhuyễn và được ngâm dầm 24 giờ trong methanol. Sau đó, dịch chiết được lọc để loại bỏ cặn, giai đoạn này được thực hiện lặp lại 3 lần. Dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, cô quay loại bỏ dung môi và thu được cao methanol rễ Me keo.

#### 2.2.2 Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Khả năng kháng oxy hóa của RMK được đánh giá thông qua khả năng trung hòa gốc tự do DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) theo phương pháp của Sharma *et al.* (2012). DPPH có màu tím được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng  $\lambda = 517$  nm. Khi có chất kháng oxy hóa sẽ trung hòa DPPH, làm giảm độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng  $\lambda = 517$  nm (Sharma *et al.*, 2012).

Cao RMK được pha loãng trong methanol theo dãy nồng độ từ 20, 40, 50, 60, 70 và 80  $\mu\text{g/mL}$ . DPPH có nồng độ 1 mM (100  $\mu\text{L}$ ) được lần lượt cho vào mỗi giếng chứa 100  $\mu\text{L}$  dịch chiết RMK (20 - 80  $\mu\text{g/mL}$ ). Hỗn hợp được ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng  $\lambda = 517$  nm. Vitamin C được sử dụng như chất kháng oxy hóa chuẩn. Tỷ lệ giảm độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm khi có và không có chất kháng oxy hóa được xem như hiệu suất phản ứng.

### 2.2.3 Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp khử sắt

Phương pháp khử sắt dựa trên nguyên tắc khi có sự hiện diện của chất kháng oxy hóa thì  $K_3Fe(CN)_6$  sẽ phản ứng với chất kháng oxy hóa tạo thành phức  $K_4Fe(CN)_6$ . Sau đó,  $K_4Fe(CN)_6$  tiếp tục phản ứng với  $FeCl_3$  tạo thành  $KFe[Fe(CN)_6]$  phức này được phát hiện ở bước sóng 700 nm. Nồng độ chất kháng oxy hóa càng cao thì phức tạo ra càng nhiều dẫn đến giá trị mật độ quang ở bước sóng 700 nm sẽ càng tăng (Andrea *et al.*, 2017).

Khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp khử sắt được thực hiện theo phương pháp của Andrea *et al.* (2017) có hiệu chỉnh như sau: 100  $\mu$ L cao methanol RMK ở các nồng độ khảo sát 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 và 90  $\mu$ g/mL được cho vào 100  $\mu$ L đệm phosphate 0,2 M pH 6,6 tiếp tục thêm vào 100  $\mu$ L  $K_3Fe(CN)_6$  1%. Hỗn hợp được ủ ở 50°C trong 20 phút bằng bể ủ. Tiếp theo, thêm 100  $\mu$ L TCA (trichloroacetic acid) 10% rồi ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. 100  $\mu$ L phân dịch nổi sau ly tâm được cho vào 100  $\mu$ L nước và 20  $\mu$ L  $FeCl_3$  0,1%, lắc đều. Hỗn hợp sau phản ứng được đo mật độ quang phổ ở bước sóng 700 nm. Hiệu quả kháng oxy hóa được xác định dựa vào giá trị  $EC_{50}$  là lượng mẫu làm tăng mật độ quang đạt 0,5 (Alam, 2013; Andrea *et al.*, 2017). Trolox nồng độ từ 0- 100  $\mu$ g/mL được sử dụng như chất đối chứng dương và các bước tiến hành tương tự như cao methanol RMK.

### 2.2.4 Khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp trung hòa gốc ABTS<sup>+</sup>

Cation ABTS<sup>+</sup> là một gốc tự do bền, màu xanh, độ hấp thụ quang phổ của ABTS<sup>+</sup> được xác định ở bước sóng 734 nm. Khi cho chất kháng oxy hóa vào dung dịch chứa ABTS<sup>+</sup>, các chất kháng oxy hóa sẽ khử ion ABTS<sup>+</sup> thành ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)]. Sự giảm độ hấp thụ của dung dịch ABTS<sup>+</sup> ở bước sóng 734 nm chính là hiệu suất kháng oxy hóa của chất khảo sát (Nenadis *et al.*, 2004).

Khả năng kháng oxy hóa của RMK dựa trên khả năng khử gốc tự do ABTS<sup>+</sup> được thực hiện theo phương pháp của Nenadis *et al.* (2004) có hiệu chỉnh như sau: Hỗn hợp phản ứng gồm 100  $\mu$ l dung dịch ABTS<sup>+</sup> (500  $\mu$ g/mL) với 100  $\mu$ l cao methanol RMK ở các nồng độ từ 5, 6, 7, 8, 9 và 10  $\mu$ g/mL. Phản ứng được ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm của (Nenadis *et al.*, 2004).

Hoạt tính kháng oxy hóa của mẫu được xác định dựa vào hiệu quả trung hòa hoặc loại bỏ 50% gốc tự do có trong phản ứng gọi là giá trị  $EC_{50}$  (Effective

concentration of 50%). Giá trị  $EC_{50}$  của mẫu càng nhỏ thì hiệu quả kháng oxy hóa càng cao (Miliauskas *et al.*, 2004). Giá trị  $EC_{50}$  của mẫu được tính dựa vào phương trình tuyến tính của từng mẫu có dạng  $y=ax+b$ .

### 2.2.5 Gây stress oxy hóa ở chuột bằng alloxan monohydrate

Chuột được gây stress oxy hóa bằng cách tiêm vào khoang bụng dung dịch alloxan monohydrate (AM) pha trong nước muối sinh lý (0,9%) với liều 135 mg/kg trọng lượng chuột. Sau 5 ngày tiêm AM, chuột được kiểm tra tình trạng stress oxy hóa dựa trên lượng glucose huyết tăng so với bình thường, hàm lượng glucose huyết được kiểm tra bằng máy đo glucose huyết ACCU – CHEK<sup>®</sup> Active (Accu Chek, Đức). Các chuột có glucose huyết  $\geq$  200 mg/dL được xem là tăng glucose huyết dẫn đến stress oxy hóa và được chọn đưa vào nghiên cứu (Zhao *et al.*, 2013).

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 7 nhóm, mỗi nhóm 6 con. Các nhóm được bố trí gồm chuột bình thường; chuột bình thường uống cao chiết RMK nồng độ 450 mg/kg/ lần  $\times$  2 lần/ ngày; chuột stress oxy hóa không điều trị, chuột stress oxy hóa uống cao chiết RMK nồng độ 150, 300 và 450 mg/kg/ lần  $\times$  2 lần/ ngày và stress oxy hóa uống thuốc thương mại Glucophage (850 mg, Merck) nồng độ 170 mg/kg lần  $\times$  2 lần/ ngày và cao methanol RMK (150, 300 và 450 mg/kg lần  $\times$  2 lần/ ngày). Nồng độ glucophage dùng cho thử nghiệm được tính toán dựa trên phương pháp xác định liều hiệu quả của thuốc giữa người và chuột nhất trắng là 1/12 (Nguyễn Thượng Dong, 2014).

Sau 28 ngày khảo sát, chuột được giải phẫu, các cơ quan gồm cơ, não và tim được tách lấy để xác định sự peroxyde hóa lipid.

### 2.2.6 Khảo sát khả năng kháng oxy hóa của cao chiết rễ Me keo in vivo

Sự peroxyde hóa lipid được thực hiện theo phương pháp của Lovric *et al.* (2008) có hiệu chỉnh như sau: 100 mg cơ (hoặc não hoặc tim) được nghiền trong 0,4 mL dung dịch KCl 0,9% lạnh. Sau đó, 0,2 mL đệm phosphate natri 25 mM, pH 3 được thêm vào và ủ ở 37°C trong 60 phút. Phản ứng được kết thúc bằng 0,2 mL TCA 10%. Hỗn hợp sau phản ứng được ly tâm 13000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ 4°C. Phần dịch nổi ở trên được lấy 0,4 mL cho vào ống nghiệm chứa 0,2 mL TBA (thiobarbituric acid) 0,8%. Hỗn hợp phản ứng sau đó được ủ ở 100°C trong 30 phút và để nguội. Phức tạo ra giữa MDA và TBA được phát hiện bằng cách đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 532 nm. Hàm lượng MDA được biểu diễn như  $\mu$ M/L.

2.2.7 Thống kê phân tích số liệu

Số liệu được trình bày bằng MEAN ± SEM. Kết quả được xử lý thống kê theo phương pháp ANOVA bằng phần mềm Excel (2013) và Minitab 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

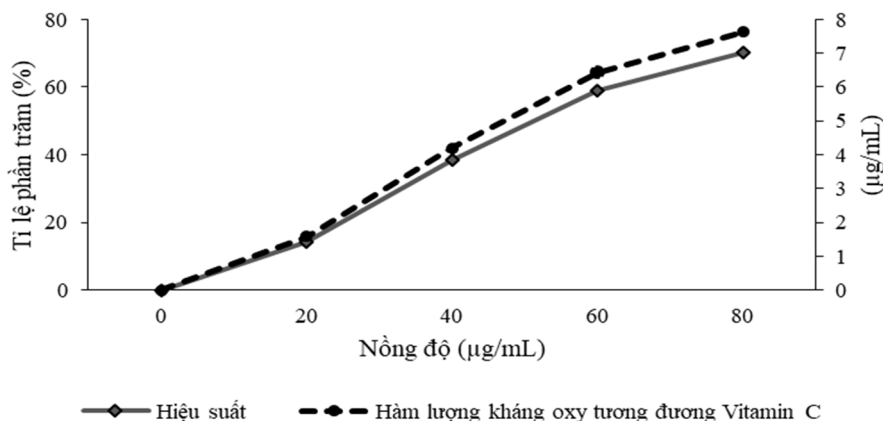
3.1 Hiệu quả kháng oxy hóa của cao chiết rễ Me keo in vitro

3.1.1 Hiệu quả kháng oxy hóa của RMK bằng phương pháp DPPH

Hiệu quả kháng oxy hóa của RMK được xác định dựa trên hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH. Kết quả trình bày ở Hình 1 cho thấy nồng độ cao

chiết tăng tỷ lệ thuận với hiệu suất kháng DPPH có giá trị tương ứng từ 14,3±7,13% đến 70,1±5,99%.

Hiệu quả loại bỏ gốc tự do RMK (EC<sub>50</sub>=54,704 µg/mL) thấp hơn so với vitamin C (EC<sub>50</sub>=6,307 µg/mL) 8,7 lần. Tuy nhiên, RMK có khả năng kháng oxy hóa cao hơn một số thảo dược trong các nghiên cứu trước đây như cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) gồm cao ethanol lá, trái xanh, rễ cây Nhàu với giá trị EC<sub>50</sub> lần lượt là 917,16 µg/ml, 1025,2 µg/ml và 1531,4 µg/mL (Đái Thị Xuân Trang và ctv., 2012), vỏ Me keo (150,23 µg/mL) và lá cây Me keo (250,32 µg/mL) (Katekhaye and Kale, 2012), hạt Me keo có giá trị là 160 µg/mL (Bagchi and Kumar, 2016).



Hình 1: Hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết rễ Me keo

3.1.2 Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp khử sắt

Hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong RMK được tính tương đương với Trolox. Kết quả cho thấy, nồng độ cao methanol tăng từ 20 µg/mL đến 100 µg/mL thì hàm lượng chất kháng oxy hóa tăng dần tương ứng từ 11,5±0,4 đến 39,1 ±0,60 µg/mL (Bảng 1). Kết quả này cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa tỷ lệ thuận với nồng độ RMK.

Hiệu quả khử Fe<sup>3+</sup> thành Fe<sup>2+</sup> của chất chuẩn Trolox và RMK được xác định bằng cách sử dụng

nồng độ mà tại đó đạt giá trị OD = 0,5 (OD<sub>0,5</sub>) được xem như giá trị EC<sub>50</sub> (Moein *et al.*, 2008). Sự khử Fe<sup>3+</sup> thường được xem là một chỉ thị hoạt động cho điện tử, đây là một cơ chế quan trọng của hoạt động kháng oxy hóa (Nabavi *et al.*, 2008). Nồng độ càng thấp thể hiện khả năng khử ion Fe<sup>3+</sup> thành ion Fe<sup>2+</sup> của mẫu càng mạnh, hay nói cách khác là khả năng kháng oxy hóa càng cao (Ferreira *et al.*, 2007). Khả năng kháng oxy hóa dựa trên khả năng khử Fe<sup>3+</sup> thành ion Fe<sup>2+</sup> của RMK (EC<sub>50</sub> = 26,66 µg/mL) thấp hơn chất chuẩn Trolox (EC<sub>50</sub> = 11,21 µg/mL) là 1,93 lần.

Bảng 1: Hiệu quả khử sắt của cao methanol rễ Me keo

Nồng độ cao methanol (µg/mL)	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương Trolox (µg/mL)	Hiệu suất hấp thu gốc tự do (%)
20	11,5 <sup>h</sup> ±0,4	44,3 <sup>h</sup> ±0,92
30	15,5 <sup>g</sup> ±0,56	52,4 <sup>g</sup> ±0,96
40	17,6 <sup>f</sup> ±0,36	55,7 <sup>f</sup> ±0,53
50	22,3 <sup>e</sup> ±1,62	61,76 <sup>e</sup> ±1,76
60	26,0 <sup>d</sup> ±0,61	65,5 <sup>d</sup> ±0,56
70	31,1 <sup>c</sup> ±0,25	69,6 <sup>c</sup> ±0,18
80	35,0 <sup>b</sup> ±0,29	72,2 <sup>b</sup> ±0,17
90	39,1 <sup>a</sup> ±0,60	74,4 <sup>a</sup> ±0,30

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự theo sau trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

**3.1.3 Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp ABTS+**

Kết quả cho thấy rằng, hiệu suất loại bỏ gốc tự do ABTS<sup>+</sup> của RMK tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê khi tăng nồng độ RMK từ 5 - 10 µg/mL (Bảng 2).

Từ kết quả thực nghiệm cho thấy rằng, RMK (EC<sub>50</sub>= 7,03±0,6 µg/mL) có khả năng trung hòa gốc

tự do ABTS<sup>+</sup> kém hơn so với Trolox (EC<sub>50</sub> = 0,037 ± 0,004 µg/mL). Tuy nhiên, RMK có khả năng trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup> tốt hơn nhiều loại cao methanol khác như Dong củ (*Maranta arundinacea* L., EC<sub>50</sub>= 297,4 µg/mL), quả Bàu (*Lagenaria siceraria*, EC<sub>50</sub>= 19000 µg/mL) (Mayakrishnan *et al.*, 2012).

**Bảng 2: Hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup> của cao methanol RMK**

Nồng độ cao methanol (µg/mL)	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương Trolox (µg/mL)	Hiệu suất hấp thu gốc tự do (%)
5	0,057 <sup>d</sup> ±0,0004	78,8 <sup>d</sup> ±0,23
6	0,056 <sup>d</sup> ±0,0004	79,9 <sup>d</sup> ±0,28
7	0,056 <sup>d</sup> ±0,0002	79,7 <sup>d</sup> ±0,17
8	0,060 <sup>c</sup> ±0,0004	82,8 <sup>c</sup> ±0,28
9	0,065 <sup>b</sup> ±0,000	86,3 <sup>b</sup> ±0,02
10	0,069 <sup>a</sup> ± 0,0001	88,7 <sup>a</sup> ±0,09

Ghi chú: Các giá trị có mẫu tự theo sau trong cùng một cột khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

**3.2 Hiệu quả khảo sát khả năng kháng peroxyde hóa lipid của cao chiết rễ Me keo in vivo**

Malondialdehyde (MDA) là một trong những sản phẩm của quá trình oxy hóa lipid. Mức độ oxy

hoá trong huyết tương và mô được chứng minh là tương ứng với nồng độ MDA (Lovric *et al.*, 2008). Vì vậy, xác định hàm lượng MDA tạo ra là một trong những phương pháp xác định mức độ oxy hóa ở trong các hệ thống sinh học (Martysiak-Żurowska and Stołyhwo, 2006).

**Bảng 3: Hàm lượng MDA ở tim, não và cơ xương của chuột thí nghiệm**

Nhóm thí nghiệm	Hàm lượng MDA (µM/L)		
	Tim	Não	Cơ xương
Chuột bình thường	5,12 <sup>a</sup> ±2,86	9,39 <sup>b</sup> ±0,22	10,14 <sup>bc</sup> ±3,06
Chuột tiêm AM không điều trị	6,82 <sup>a</sup> ±3,76	15,9 <sup>a</sup> ±0,94	16,11 <sup>a</sup> ±2,87
Chuột tiêm AM uống glucophage (170 mg/kg)	6,27 <sup>a</sup> ±4,00	9,24 <sup>b</sup> ±2,0	11,4 <sup>bc</sup> ±3,51
Chuột bình thường uống RMK (450 mg/kg)	3,38 <sup>a</sup> ±0,90	8,93 <sup>b</sup> ±2,05	8,70 <sup>c</sup> ±2,24
Chuột tiêm AM uống RMK (150 mg/kg)	7,81 <sup>a</sup> ±1,25	10,7 <sup>b</sup> ±1,00	12,61 <sup>ab</sup> ±2,87
Chuột tiêm AM uống RMK (300 mg/kg)	7,36 <sup>a</sup> ±2,74	10,5 <sup>b</sup> ±2,11	12,27 <sup>b</sup> ±1,54
Chuột tiêm AM uống RMK (450 mg/kg)	4,79 <sup>a</sup> ±3,78	9,9 <sup>b</sup> ±2,00	11,72 <sup>bc</sup> ±2,04

Ghi chú: n = 6; Các số liệu có mẫu tự theo sau khác nhau trong cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (p<0,05)

Kết quả trình bày ở Bảng 3 cho thấy rằng, hàm lượng MDA tạo ra ở tim, não và cơ xương của nhóm chuột tiêm AM không điều trị cao lần lượt 1,33; 1,69 và 1,58 lần so với nhóm đối chứng bình thường (p<0,05). Điều này phù hợp với nghiên cứu của Matough *et al.* (2012), sự tăng glucose huyết kéo dài dẫn đến rối loạn chức năng, gây tổn hại đến nhiều cơ quan trong cơ thể. Bên cạnh đó, chuột stress oxy hóa bởi AM được điều trị bằng RMK với liều tương ứng 150, 300 và 450 mg/kg có hàm lượng MDA tạo ra ở tim, não và cơ xương giảm so với nhóm đối chứng tiêm AM không điều trị. Hàm lượng MDA ở mô não và cơ xương ở các nhóm chuột tiêm AM được điều trị đều giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng tiêm AM không điều trị, và khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng bình thường (p>0,05). Điều này cho thấy

rằng, RMK có tác dụng kháng sự peroxyde lipid ở mô não và cơ xương chuột gây stress oxy hóa bởi alloxan monohydrate. Tuy nhiên, kết quả từ Bảng 3 cho thấy hàm lượng MDA ở mô tim của các nhóm chuột khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng chuột bình thường, như vậy có thể AM không ảnh hưởng đến mô tim chuột.

Ở các nồng độ khảo sát, RMK đều có khả năng kháng peroxyde lipid ở tim, não và cơ xương. Kết quả cho thấy rằng, ở nghiệm thức chuột tiêm AM uống RMK liều 450 mg/kg trọng lượng có hàm lượng MDA tạo ra ở tim, não và cơ xương là thấp hơn so với liều khảo sát 150 và 300 mg/kg. Như vậy, RMK liều 450 mg/kg trọng lượng được kết luận là nồng độ có khả năng kháng peroxyde tốt nhất ở chuột bị stress oxy hóa do alloxan monohydrate gây ra.

#### 4 KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, rễ Me keo (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth) đã được chứng minh có khả năng kháng oxy hóa *in vitro* và *in vivo* trên chuột bị stress bởi sự tăng glucose huyết do alloxan monohydrate gây ra. Đây cũng là cơ sở khoa học quan trọng về tiềm năng sử dụng rễ cây Me keo theo hướng điều trị các bệnh do stress oxy hóa gây ra.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alam, M.N., Bristi, N.J. and Rafiquzzaman, M., 2013. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. 21(2): 143-152.
- Andrea, J., Franziska, Z., Alice, L. *et al.*, 2017. Bacterially produced recombinant influenza vaccines based on virus-like particles. Plos One. 8 (11): e78947.
- Bagchi, S. and Kumar, K.J., 2016. Studies on water soluble polysaccharides from *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. seeds. Carbohydrate Polymers. 138: 215-221.
- Barcelóv, A. and Rajpathak S., 2001. Incidence and prevalence of diabetes mellitus in the Americas. Pan American Journal of Public Health. 10(5): 300-308.
- Đái Thị Xuân Trang, Nguyễn Thị Mai Phương, Võ Thị Ngọc Diễm và Quách Tú Huệ, 2012. Khảo sát hiệu quả hạ đường huyết và kháng oxy hóa của cao chiết cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) ở chuột bệnh tiểu đường. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 23b: 115-124.
- Dewanjee, S., Maiti, A., Sahu, R., Dua, T.K. and Mandal, V., 2011. Effective control of type 2 diabetes through antioxidant defense by edible fruits of *Diospyros peregrine*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Article ID 675397, 7 pages.
- Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Boas, M. and Barros, L., 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. Food Chemistry. 100: 1511-1516.
- Golbidi, S., Ebadi, A. and Laher, I., 2011. Antioxidants in the treatment of diabetes. Current Diabetes Reviews. 7(2): 106-125.
- Govindarajan, M., Rajeswary, M. and Sivakumar, R., 2013. Larvicidal & ovicidal efficacy of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. (Fabaceae) against *Anopheles stephensi* Liston & *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). Indian Journal of Medical Research. 138: 129-134.
- Katekhay, S.D. and Kale, M.S., 2012. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. wood bark and leaves. Free Radicals and Antioxidants. 2(3): 47-57.
- Khan, A.N., Khan, R.A., Ahmad, M. and Mushtaq, N., 2015. Role of antioxidant in oxidative stress and diabetes mellitus. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 3(6): 217-220.
- Lenzen, S., 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia. 51(2): 216-226.
- Lovric, J., Mesic, M., Macan, M., Koprivanac, M., Kelava, M. and Bradamante, V., 2008. Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. Periodicum Biologorum. 110(1): 63-67.
- Martysiak-Żurowska, M. and Stołyhwo, A., 2006. Content of malondialdehyde (MDA) in infant formulae and follow-on formulae. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 56(3): 323-328.
- Matough, F.A., Budin, S.B., Hamid, Z.A., Alwahaibi, N. and Mohamed, J., 2012. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. Sultan Qaboos University Medical Journal. 12 (1): 1-18.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., and Beek, T.A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry. 85: 231-237.
- Moein, M.R., Moein, S. and Ahmadizadeh, S., 2008. Radical Scavenging and Reducing Power of *Salvia mirzayanii* Subfractions. Molecules. 13: 2804-2813.
- Mayakrishnan, V., Veluswamy, S., Sundaram, S., Kannappan, P. and Abdullah, N., 2012. Free radical scavenging potential of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl fruits extract. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 20-26.
- Nabavi, M., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F. and Jafari, M., 2008. Free radical scavenging activity and antioxidant capacity of *Eryngium caucasicum* Trautv and *Froripia subpinnata*. Pharmacologyonline. 3: 19-25.
- Nenadis, N., Wang, L.F., Tsimidou, M. and Zhang, H.Y., 2004. Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS Assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 4669-4674.
- Nguyễn Thượng Đông, 2014. Phương pháp xác định độc tính của thuốc. NXB Y học. 355-368.
- Pal, P.B., Pal, S., Manna, P. and Sil, P.C., 2012. Traditional extract of *Pithecellobium dulce* fruits protects mice against CCl<sub>4</sub> induced renal oxidative impairments and necrotic cell death. Pathophysiology. 19: 101-114.
- Rajaram, K., 2013. Antioxidant and antidiabetic activity of *Tectona grandis* linn. in alloxan induced albino rats. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 6 (3): 174-177.

- Sharma, S., Hullatti, K.K., Sachin, K. and Tiwari, K.B., 2012. Comparative antioxidant activity of *Cuscuta reflexa* and *Cassytha filiformis*. Journal of pharmacy research. 5(1): 44-443.
- Sugumaran, M., Vetrichelvan, T. and Quine, S.D., 2008. Free radical scavenging activity of folklore: *Pithecellobium dulce* Benth. leaves. Ethnobotanical Leaflets. 12: 446-451.
- Wall-Medrano, A., González-Aguilar, G.A., Loarca-Piña, G.F. *et al.*, 2016. Ripening of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. [Guamúchil] Fruit: Physicochemical, Chemical and Antioxidant Changes. Plant Foods for Human Nutrition. 71: 396-401.
- Zhang, X., Laubiea, B., Houzelot, V., Plasaria, E., Echevarriac, G. and Simonnota, M., 2016. Ncreasing purity of ammonium nickel sulfate hexahydrate and production sustainability in a nickel phytomining process. Chemical engineering research and design. 106: 26-32.
- Zhao, H., Li, Z. and Tian, G. *et al.*, 2013. Effect of traditional Chinese medicine on rats with type II diabetes induced by high-fat diet and streptozocin: a urine metabonomic study. African Health Sciences, 13(3): 673-681.