

**TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH CHIẾT XUẤT ALKALOID TỪ LÁ CÂY SA KÊ
(*Artocarpus altilis*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐÁP ỨNG BỀ MẶT CÓ HOẠT TÍNH
ỨC CHẾ ENZYME α -AMYLASE VÀ α -GLUCOSIDASE**

Nguyễn Thị Ái Lan¹, Nguyễn Tiến Thành¹, Trần Chí Linh^{2*}

¹Bộ môn Hoá Sinh, Khoa Y – Dược, Trường Đại học Trà Vinh

²Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Email: tclinh@ctu.edu.vn

Ngày nhận bài: 21/4/2022; ngày hoàn thành phản biện: 28/4/2022; ngày duyệt đăng: 4/8/2022

TÓM TẮT

Nghiên cứu này báo cáo sự tối ưu hóa đa biến trong quá trình chiết xuất alkaloid từ lá cây sa kê có sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Các thông số về nồng độ ethanol, nhiệt độ siêu âm, thời gian siêu âm và tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi đã được tối ưu hóa. Theo mô hình, điều kiện chiết xuất tối ưu là: ethanol 69%, thời gian siêu âm là 21,33 phút, nhiệt độ siêu âm là 68°C và tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/30 (w/v). Trong điều kiện tối ưu, năng suất chiết alkaloid từ lá cây sa kê là 287,36 ± 2,05 mg AE/g cao chiết, phù hợp với giá trị dự đoán (288,37 mg AE/g cao chiết). Cao tối ưu lá cây sa kê có thể ức chế hoạt động của enzym α -amylase ($IC_{50} = 82,81 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$) và α -glucosidase ($IC_{50} = 43,54 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$). Do đó, lá cây sa kê có thể được sử dụng như một nguồn cung cấp alkaloid tự nhiên mới có ứng dụng hiệu quả như chất ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase trong công nghiệp dược phẩm.

Từ khóa: alkaloid, tối ưu hóa, sa kê, α -amylase, α -glucosidase.

1. MỞ ĐẦU

Alkaloid là một nhóm hợp chất thiên nhiên có tác dụng dược lý đa dạng: kháng khuẩn, chống phân bào, chống viêm, giảm đau, gây tê cục bộ, chống ung thư [1]. Các hợp chất thuộc nhóm alkaloid cho thấy tác dụng sinh học mạnh mẽ trên con người với liều lượng rất nhỏ. Nhiều nghiên cứu cho thấy alkaloid thường xuất hiện nhiều trong thực vật [1]. Do đó, các nhà nghiên cứu vẫn đang có mối quan tâm nhiều đến việc tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid từ thực vật. Hiện nay, các nhà khoa học thường sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt (response surface methodology, RSM) để tối ưu

hóa quy trình chiết xuất các hợp chất chuyển hóa thứ cấp từ thực vật trong đó có alkaloid [2].

Sa kê (*Artocarpus altilis*) là một loài thực vật thân gỗ thường sử dụng trong các bài thuốc dân gian để điều trị phù thũng, viêm gan, vàng da, ghẻ lở, mụn nhọt, tiêu chảy và lỵ. Lá cây sa kê được chứng minh có sự hiện diện đa dạng của các hợp chất thứ cấp trong đó có alkaloid [3]. Nghiên cứu của Ahmad *et al.* (2020) đã tối ưu hóa hiệu suất chiết cao và kháng oxy hóa của trái sa kê bằng phương pháp đáp ứng bề mặt [4]. Tuy nhiên, nghiên cứu để tối ưu hóa điều kiện chiết xuất cao giàu alkaloid cũng như đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -amylase, α -glucosidase vẫn chưa được thực hiện.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất, thiết bị và vật liệu thí nghiệm

Hóa chất: dimethyl sulfoxide (Merck), ethanol (Cemaco), 4-nitrophenyl-D-glucopyranoside (Sigma-Aldrich), atropine (Sigma-Aldrich), bromocresol green (Sigma-Aldrich), chloroform (Chemsol), disodium phosphate (Xilong), enzym α -amylase (Sigma-Aldrich, tụy tạng lợn), enzyme α -glucosidase (Sigma-Aldrich, ruột non lợn), hydrochloric acid (Xilong), iod (Xilong), kali iodua (Xilong), monosodium phosphate (Xilong), tinh bột (Xilong).

Thiết bị: cân phân tích (AB104-S, Mettler Toledo), máy cô quay chân không (Heidolph), máy đo quang phổ (Thermo Scientific Multiskan GO), máy vortex (ZX3, Velp, Ý), micropipette (ThermoLabsystems), tủ sấy (Memmert) và bể điều nhiệt (Memmert).

Vật liệu: cây sa kê được thu lấy lá vào 01/2020 tại quận Bình Thủy, thành phố Cần Thơ. Lá sa kê (LSK) được sử dụng trong nghiên cứu là những lá già khô vừa mới rụng. Mẫu LSK được định danh 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: CT_Aal202001050011. LSK sau khi thu về được rửa sạch, loại bỏ phần sâu bệnh, cắt nhỏ và phơi khô trong bóng râm. Sau đó, LSK được xay nhuyễn thành bột dược liệu và bảo quản trong túi nhựa PE, đặt trong hộp nhựa kính và lưu trữ ở 4°C để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2. Xác định ảnh hưởng của các yếu tố đơn và tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid từ bột dược liệu LSK

Alkaloid trong bột dược liệu LSK được chiết xuất bằng máy siêu âm gia nhiệt (Derui DR-MH30, China) với tần số siêu âm cố định là 40 kHz. Các điều kiện chiết xuất alkaloid trong bột dược liệu LSK lần lượt là ethanol có nồng độ từ 40, 50, 60, 70, 80, 90 đến 99,5% (v/v); nhiệt độ siêu âm được thay đổi lần lượt là 30, 40, 50, 60, 70, 80 và 90°C;

thời gian siêu âm được tăng lần lượt từ 5, 10, 15, 20, 25, 30 đến 35 phút; tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi được thay đổi lần lượt từ 1/10, 1/15, 1/20, 1/25, 1/30, 1/35 đến 1/40 (w/v). Trong quá trình khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đơn nồng độ ethanol 90%, nhiệt độ 30°C, thời gian siêu âm 5 phút và tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/10 (w/v) được cố định. Tiến hành lọc dịch chiết cô đuổi dung môi thu lấy cao chiết và định lượng alkaloid theo mô tả trong mục 2.3. Sau khi tiến hành khảo sát các yếu tố đơn, những yếu tố chính có ảnh hưởng nhiều đến hàm lượng alkaloid (total alkaloids content, TAC) trong cao LSK được sử dụng để xây dựng quy trình chiết xuất tối ưu hóa. Phương pháp đáp ứng bề mặt theo mô hình Box-Behnken với đa yếu tố và ba cấp độ trong phần mềm Design Expert 11.0 được sử dụng để thiết kế thí nghiệm và đánh giá mô hình. Sau khi đã xác định được các điều kiện chiết xuất tối ưu, nhóm nghiên cứu sẽ tiến hành chiết cao tối ưu LSK để đánh giá hoạt tính ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase theo mô tả trong mục 2.4 và 2.5.

2.3. Xác định hàm lượng alkaloid trong cao LSK

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 *et al.* (2008) [5]. Các cao LSK được hòa tan trong dung môi dimethyl sulfoxide để thu được 1 mL cao chiết có nồng độ là 1000 $\mu\text{g/mL}$ cho phản ứng với 1 mL HCl 2N. Sau 5 phút, dung dịch trên được lọc bằng giấy lọc loại bỏ cặn. Dung dịch trên được cho vào bình tách chiết lần lượt thêm vào 5 mL BCG và 5 mL dung dịch đệm phosphate (pH=4,7). Cuối cùng, hỗn hợp phản ứng được lắc mạnh bằng bình tách chiết với 10 mL chloroform 15 phút ở nhiệt độ phòng. Tiến hành xác định độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 470 nm. TAC trong cao LSK được xác định dựa vào đường chuẩn atropine với nồng độ khảo sát từ 10 đến 500 $\mu\text{g/mL}$ (AE, $y = 0,0015x + 0,018$, $R^2=0,9945$).

2.4. Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -amylase của cao tối ưu LSK

Hoạt tính ức chế enzym α -amylase của cao tối ưu LSK được thực hiện theo mô tả của Mohamed *et al.* (2012) [6] có điều chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm có 100 μL cao tối ưu LSK ở các nồng độ khác nhau và 100 μL đệm phosphate pH=7 và 100 μL tinh bột (2 mg/mL) ở 37°C trong 5 phút. Enzyme α -amylase (3 U/mL, 100 μL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng và tiếp tục ủ ở 37°C trong 15 phút. Sau đó, phản ứng được dừng lại bằng cách thêm 400 μL HCl 1 M. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được xác định ở bước sóng 660 nm sau khi thêm vào 600 μL thuốc thử iod.

2.5. Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của cao tối ưu LSK

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của cao tối ưu LSK được xác định theo mô tả của Chipiti *et al.* (2015) [7] có điều chỉnh. Cao tối ưu LSK (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 thụ quang phổ của *p*-nitrophenol giải phóng 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 ($\mu\text{g/mL}$) ức chế 50% hoạt tính của enzyme theo mô tả của Mohamed *et al.* (2012) [6]. Bên cạnh đó, hoạt tính ức chế α -amylase và α -glucosidase của cao tối ưu LSK còn được so sánh với tinh chất acarbose.

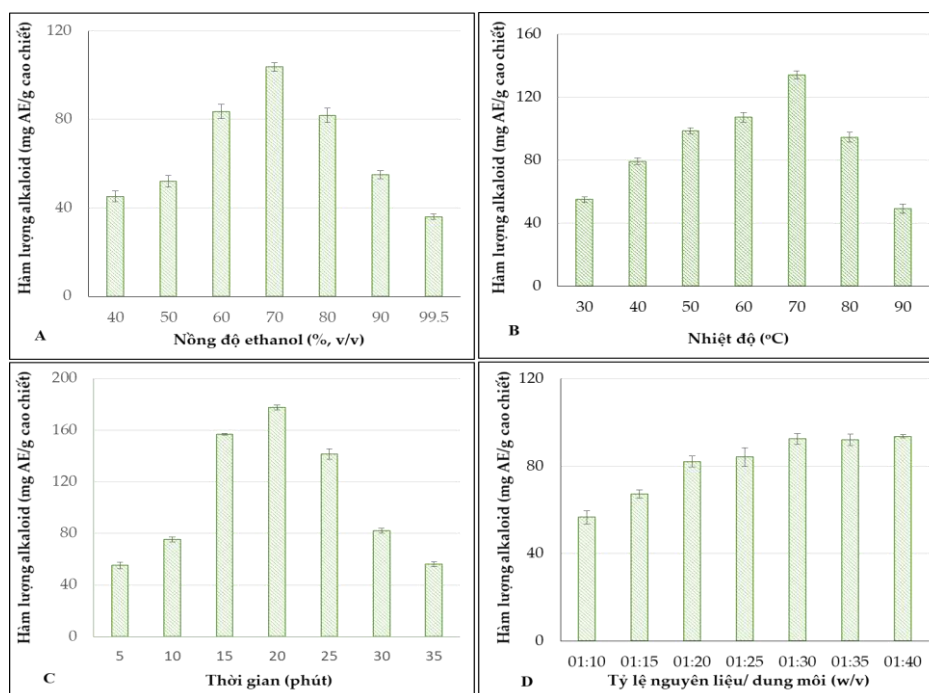
2.6. Xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu trong khảo sát đơn yếu tố và đa yếu tố được lập lại 3 lần, trình bày dưới dạng Mean \pm Stdev và xử lý bằng phần mềm Minitab 16.0 kiểm định ANOVA-Tukey's. Biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Các số liệu và biểu đồ trong mô hình tối ưu được xử lý bằng phần mềm Design Expert 11.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá tác động của các yếu tố đơn đến quá trình chiết xuất alkaloid

Ethanol là dung môi phổ biến có độ hòa tan, độ phân cực, chi phí thấp và an toàn nên thường được sử dụng trong quá trình chiết xuất các hợp chất thiên nhiên. Việc kết ethanol với nước ở nhiều nồng độ khác nhau tạo nên môi trường phân cực đa dạng, giúp tăng cao hiệu quả chiết xuất alkaloid. Quá trình khảo sát ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến việc chiết xuất alkaloid từ LSK được trình bày trong Hình 1A. TAC tăng dần từ 45,11 \pm 2,47 mg AE/g cao chiết ở nồng độ ethanol 40% lên 103,62 \pm 1,89 mg AE/g cao chiết ở nồng độ ethanol 70%, khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). TAC chiết xuất được từ LSK bắt đầu giảm khi nồng độ ethanol vượt quá 70%. Do đó, nồng độ ethanol 60, 70 và 80% được chọn đưa vào thiết kế Box-Behnken.



Hình 1. Hàm lượng alkaloid trong cao LSK dưới tác động của các yếu tố đơn.

Ghi chú: A: Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến TAC; B: Ảnh hưởng của nhiệt độ siêu âm đến TAC; C: Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến TAC; D: Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi đến TAC.

Như được trình bày trong Hình 1B, nhiệt độ cũng có ảnh hưởng đáng kể đến sự biến động của TAC chiết xuất từ LSK. TAC ($134,12 \pm 2,57$ mg AE/g cao chiết) thu được cao nhất khi đánh siêu âm ở 70°C . TAC bắt đầu giảm khi nhiệt độ siêu âm vượt quá 70°C . Nguyên nhân có thể là do các hợp chất thuộc nhóm alkaloid trong LSK bị phân hủy hoặc biến tính khi ở nhiệt độ cao vượt quá 70°C . Hiện tượng này cũng được tìm thấy khi chiết xuất alkaloid trong nghiên cứu của Bin *et al.* (2018) [8]. Nhiệt độ siêu âm 60, 70 và 80°C đã được chọn để đưa vào thiết kế Box-Behnken.

Thời gian siêu âm từ 5 đến 35 phút cũng gây nên sự biến động hàm lượng alkaloid chiết xuất từ LSK. Hình 1C cho thấy, TAC thu được cao nhất là $177,40 \pm 1,89$ mg AE/g cao chiết khi đánh siêu âm trong 20 phút. Sau đó, hàm lượng alkaloid bắt đầu giảm khi kéo dài thời gian siêu âm dài hơn 20 phút. Do đó, thời gian siêu âm 15, 20 và 25 phút được chọn đưa vào thiết kế Box-Behnken.

Trong nghiên cứu này ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi đến TAC chiết xuất từ LSK cũng được đánh giá trong Hình 1D. Kết quả cho thấy, hàm lượng alkaloid chiết xuất từ LSK tăng dần từ $56,63 \pm 3,11$ mg AE/g cao chiết ở tỷ lệ 1/10 (w/v) đến $92,50 \pm 2,50$ mg AE/g cao chiết ở tỷ lệ 1/30 (w/v), khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$). Tuy nhiên khi tiếp tục tăng tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi lên 1/35 và 1/40 (w/v) thì TAC chiết xuất từ LSK có xu hướng ổn định không thay đổi, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/30 ($p > 0,05$). Nguyên nhân

là do hàm lượng chất hòa tan đã đạt đến độ bão hòa, điều này có sự tương đồng với nghiên cứu của Bin *et al.* (2018) [8]. Chính vì vậy, tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi 1/30 (w/v) được cố định trong thiết kế Box-Behnken.

3.2. Kết quả tối ưu hóa quá trình chiết xuất alkaloid từ bột dược liệu LSK

Nghiên cứu đã sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt, thiết kế Box-Behnken để xây dựng 17 nghiệm thức thí nghiệm (Bảng 1). Kết quả cho thấy, TAC trong 17 nghiệm thức dao động từ $82,88 \pm 0,57$ mg AE/g cao chiết đến $287,35 \pm 0,33$ mg AE/g cao chiết. TAC chiết xuất được nhiều nhất rơi vào 5 nghiệm thức trung tâm (từ nghiệm thức 13 đến 17). Dựa vào các giá trị thực nghiệm thu nhận được từ Bảng 1, sử dụng phần mềm Design Expert 11.0 để tiến hành tối ưu hóa nhằm xác định được mô hình dự đoán TAC dưới tác động của ba yếu tố. Áp dụng phương pháp phân tích hồi quy các số liệu thực nghiệm, thu được mô hình dự đoán đa thức bậc hai về TAC:

$$Y_{\text{Alkaloid}} = -8144,10425 + 69,33497 \times A + 158,7281 \times B + 56,54115 \times C - 0,056725 \times A \times B + 0,0427 \times A \times C - 0,00935 \times B \times C - 0,47444 \times A^2 - 1,12961 B^2 - 1,43376 \times C^2.$$

Trong đó, Y là hàm lượng alkaloid dự đoán chiết xuất được từ LSK; A là yếu tố nồng độ ethanol (% v/v); B là yếu tố nhiệt độ siêu âm (°C); C là yếu tố thời gian siêu âm (phút).

Bảng 1. Ma trận thực nghiệm Box-Behnken ba yếu tố của LSK

Nghiệm thức	Các biến độc lập			Hàm lượng alkaloid (mg AE/g cao chiết)
	A (% v/v)	B (°C)	C (phút)	
1	60	60	20	157,96 ^e ±0,37
2	80	60	20	165,99 ^{de} ±0,42
3	60	80	20	97,54 ^f ±0,22
4	80	80	20	82,88 ^g ±0,57
5	60	70	15	199,88 ^c ±0,64
6	80	70	15	190,79 ^{cd} ±0,33
7	60	70	25	211,36 ^b ±0,16
8	80	70	25	210,81 ^b ±0,38
9	70	60	15	165,48 ^{de} ±0,32
10	70	80	15	95,15 ^g ±0,26
11	70	60	25	181,17 ^c ±0,23
12	70	80	25	108,97 ^e ±0,53
13	70	70	20	285,79 ^a ±0,56

14	70	70	20	286,42 ^a ±0,63
15	70	70	20	287,27 ^a ±0,75
16	70	70	20	287,35 ^a ±0,33
17	70	70	20	285,66 ^a ±0,77

Ghi chú: A-Nồng độ ethanol (% v/v); B-Nhiệt độ siêu âm (°C); C-Thời gian siêu âm (phút). Các giá trị có mẫu tự theo sau trong cùng một cột giống nhau khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5%.

Phân tích ANOVA được sử dụng để đánh giá mô hình chiết xuất thực nghiệm và dự đoán được trình bày trong Bảng 2.

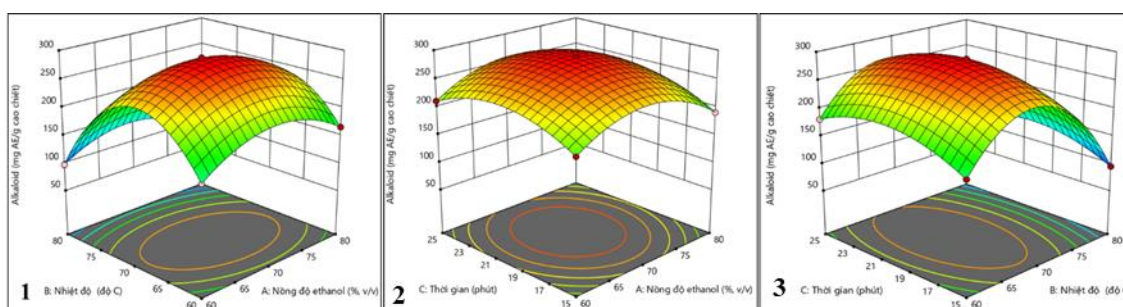
Bảng 2. Phân tích các hệ số tương quan của các yếu tố đến hàm lượng alkaloid

Nguồn	Sum of squares	Df	Mean square	F-value	p-value
Model	85121,16	9	9457,91	15454,08	< 0,0001
A-Nồng độ ethanol	33,09	1	33,09	54,07	0,0002
B-Nhiệt độ	10228,79	1	10228,79	16713,69	< 0,0001
C-Thời gian	465,28	1	465,28	760,26	< 0,0001
AB	128,71	1	128,71	210,31	< 0,0001
AC	18,23	1	18,23	29,79	0,0009
BC	0,8742	1	0,8742	1,43	0,2709
A ²	9477,61	1	9477,61	15486,28	< 0,0001
B ²	53727,58	1	53727,58	87790,06	< 0,0001
C ²	5409,65	1	5409,65	8839,29	< 0,0001
Residual	4,28	7	0,6120		
Lack of Fit	1,75	3	0,5842	0,9231	0,5064
Pure Error	2,53	4	0,6329	N=17	CV=0,4029
Cor Total	85125,45	16	R ² =0,9999	R ² _{Adj} =0,9999	R ² _{Pre} =0,9996

Phương trình hồi quy của TAC có dạng hàm bậc 2 và đạt được sự tương quan khá tốt với phân tích phương sai có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Điều này cho thấy, mô hình này phù hợp và có thể dự đoán chính xác TAC. Phương trình TAC cũng cho thấy các thông số có thể giải thích được sự thay đổi của hàm mục tiêu với hệ số tương quan khá cao ($R^2 = 0,9999$). Từ đó cho thấy sự tương quan mật thiết giữa TAC dự đoán và TAC thu nhận được trong thực nghiệm. Các hệ số trong phương trình hồi quy của TAC đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ngoại trừ các hệ số BC ($p > 0,05$).

Giá trị Lack of Fit của mô hình (0,5064) lớn hơn 0,05 cho thấy sự phù hợp cao với thực nghiệm.

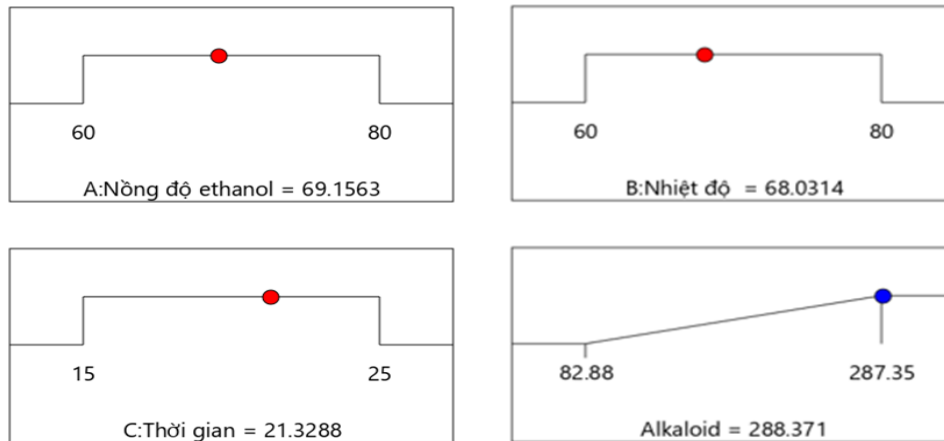
Các biểu đồ bề mặt đáp ứng 3D được tạo ra bằng cách cố định một yếu tố ở mức 0, đồng thời thay đổi hai yếu tố khác trong phạm vi thăm dò. Các biểu đồ 3D này đã mô tả tác động tương tác của các yếu tố đến TAC, như được hiển thị trong Hình 2. Dựa vào Hình 2.1 và Hình 2.2, TAC tăng cùng với nồng độ ethanol, nhiệt độ và bắt đầu giảm sau khi nồng độ ethanol cao hơn 70%, nhiệt độ cao hơn 70°C. Dựa vào Hình 2.3 đến 2.6 có thể thấy việc kéo dài thời gian ly trích quá 20 phút dẫn đến việc giảm TAC.



Hình 2. Bề mặt đáp ứng hàm lượng alkaloid trong cao LSK dưới sự tương tác giữa các yếu tố.

Ghi chú: 1-Mô hình tương tác giữa nhiệt độ và nồng độ ethanol ảnh hưởng đến TAC; 2-Mô hình tương tác giữa nồng độ ethanol và thời gian ảnh hưởng đến TAC; 3-Mô hình tương tác giữa thời gian và nhiệt độ ảnh hưởng đến TAC.

Các thông số chiết xuất tối ưu đạt được từ mô hình với nồng độ ethanol 69,16%, nhiệt độ siêu âm 68,03°C và thời gian siêu âm 21,33 phút. Với các thông số tối ưu này thì giá trị của hàm mục tiêu TAC=288,37 mg AE/g cao chiết (Hình 3). Để kiểm định giá trị tối ưu tìm được từ mô hình dự đoán, nghiên cứu đã chiết xuất alkaloid theo phương án tốt nhất được đề ra: nồng độ ethanol 69%, nhiệt độ siêu âm 68°C và thời gian siêu âm là 21,33 phút và tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi 1/30 (w/v). Kết quả cho thấy, TAC (287,36 ± 2,05 mg AE/g cao chiết) thu được trong thực nghiệm tương đương với TAC dự đoán.



Hình 3. Hàm kỳ vọng và điều kiện chiết xuất tối ưu alkaloid trong bột dược liệu LSK.

3.3. Hoạt tính ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của cao tối ưu LSK

Bệnh đái tháo đường đang gia tăng ở mức báo động và gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người. Một chiến lược quan trọng để kiểm soát tăng đường huyết là ức chế các enzyme tiêu hóa carbohydrate chính như α -amylase và α -glucosidase, cũng đóng một vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa các biến chứng tiểu đường. Các chất ức chế các enzyme α -amylase và α -glucosidase làm chậm quá trình tiêu hóa carbohydrate, do đó, làm giảm tốc độ hấp thu glucose từ ruột non, cũng như làm giảm mức đường huyết sau ăn. Do đó, ức chế α -amylase và α -glucosidase là chìa khóa quan trọng trong quản lý và điều trị bệnh đái tháo đường [7].

Bảng 3. Hoạt tính ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của cao tối ưu LSK

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Hiệu suất ức chế (%)	
	Enzyme α -amylase	Enzyme α -glucosidase
10	8,85 ^f ±0,60	24,15 ^f ±0,12
20	13,10 ^e ±0,33	32,22 ^e ±0,07
40	25,81 ^d ±0,73	47,39 ^d ±0,23
60	36,33 ^c ±0,58	62,39 ^c ±0,48
80	48,05 ^b ±0,62	77,63 ^b ±0,07
100	60,06 ^a ±0,84	93,67 ^a ±0,30
Mẫu thử	Nồng độ ức chế 50% hoạt tính của enzyme (IC_{50})	
	Enzyme α -amylase	Enzyme α -glucosidase
Cao tối ưu LSK	82,81 ^a ±1,25 $\mu\text{g/mL}$	43,54 ^a ±0,09 $\mu\text{g/mL}$
Tinh chất acarbose	2,65 ^b ±0,42 $\mu\text{g/mL}$	7,14 ^b ±0,67 $\mu\text{g/mL}$

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

Trong nghiên cứu này, cao tối ưu LSK có hiệu quả ức chế hoạt động của enzyme α -amylase dao động từ $8,85 \pm 0,60\%$ đến $60,06 \pm 0,84\%$, ức chế enzyme α -glucosidase dao động từ $24,15 \pm 0,12\%$ đến $93,67 \pm 0,30\%$. Kết quả cho thấy ở cùng nồng độ khảo sát khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của cao tối ưu LSK luôn mạnh hơn enzyme α -amylase. Cao tối ưu LSK có nồng độ ức chế 50% hoạt tính của enzyme α -glucosidase ($IC_{50} = 43,54 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$) mạnh gấp 1,90 lần enzyme α -amylase ($IC_{50} = 82,81 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$). Hoạt tính ức chế enzyme α -amylase, α -glucosidase của cao tối ưu LSK điều yếu hơn tinh chất acarbose ($IC_{50, \alpha\text{-amylase}} = 2,65 \pm 0,42 \mu\text{g/mL}$; $IC_{50, \alpha\text{-glucosidase}} = 7,14 \pm 0,67 \mu\text{g/mL}$) lần lượt là 31,25 và 6,10 lần.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp đáp ứng bề mặt đã được áp dụng hiệu quả để tối ưu hóa chiết xuất alkaloid từ LSK. Dựa trên mô hình hồi quy được tính toán, các thông số quan trọng nhất ảnh hưởng đến việc chiết xuất alkaloid là nồng độ ethanol (69%, v/v), nhiệt độ siêu âm (68°C), thời gian siêu âm (21,33 phút) và tỷ lệ nguyên liệu dung môi (1/30, w/v). TAC thực nghiệm thu được là $287,36 \pm 2,05 \text{ mg AE/g}$ cao chiết khi chiết xuất ở điều kiện tối ưu, phù hợp với mô hình dự đoán. Cao tối ưu LSK cho thấy tiềm năng hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường khi ức chế hiệu quả hoạt động của enzyme α -amylase và α -glucosidase.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. Dey, A. Kundu, A. Kumar, *et al.* (2020). "Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids)", *Recent Advances in Natural Products Analysis*, pp. 505-567.
- [2] X. J. Gao, Z. G. Ma, L. Dong, X.Q. Ma, X. Y. Fu (2010). Optimization of extraction process of total alkaloids from radix of *Aconitum flavum* using response surface methodology, *Journal of Chinese Medicinal Materials*, Vol. 33(10), pp. 1628-1632.
- [3] Đái Thị Xuân Trang, Nguyễn Trọng Tuân, Phan Kim Định, Trần Thanh Mến, Trần Chí Linh, 2019. Hoạt tính kháng oxy hoá và kháng khuẩn của lá sa kê (*Artocarpus altilis* L.), *Tạp chí Khoa học và Công Nghệ-Đại học Đà Nẵng*, Vol. 17, pp. 48-54.
- [4] M. N. Ahmad, N. U. Karim, E. Normaya, B. Mat Piah, A. Iqbal, K. H. Ku Bulat (2020). *Artocarpus altilis* extracts as a food-borne pathogen and oxidation inhibitors: RSM, COSMO RS, and molecular docking approaches, *Scientific Reports*, Vol. 10(1), pp. 9566-9580.
- [5] F. Shamsa, H. Monsef, R. Ghamooshi, M. Verdianrizi (2008). Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants, *Thailand Journal Pharmacy Science*, Vol. 32, pp. 17-20.

- [6] E. A. H. Mohamed, M. J. A. Siddiqui, L. F. Ang, A. Sadikun, S. H. Chan, S. C. Tan, M. F. Yam (2012). 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*, Vol. 12(1), pp. 176-189.
- [7] T. Chipiti, M. A. Ibrahim, M. Singh, M. S. Islam (2015). *In vitro* α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects and cytotoxic activity of *Albizia antunesiana* extracts, *Pharmacognosy Magazine*, Vol. 11(2), pp. S231-S236.
- [8] G. A. O. Bin, L. I. Shuang-ling, L. I. U. Feng-jing, C. H. E. Wen-jun, F. E. N. G. Li (2018). Optimization of extraction process for total alkaloids from Maca with different color types, *Science and Technology of Food Industry*, Vol. 39(18), pp. 176-180.

OPTIMIZATION OF ALKALOID EXTRACTION FROM BREADFRUIT (*Artocarpus altilis*) LEAVES BY RESPONSE SURFACE METHOD WITH α -AMYLASE AND α -GLUCOSIDASE ENZYME INHIBITORY ACTIVITY

Nguyen Thi Ai Lan¹, Nguyen Tien Thanh¹, Tran Chi Linh^{2*}

¹Faculty of Medicine-Pharmacy, Tra Vinh University,

²College of Natural Sciences, Can Tho University

*Email: tclinh@ctu.edu.vn

ABSTRACT

The present study reports a multivariable optimization of ultrasound-assisted extraction of alkaloids from breadfruit leaves. The parameters of ethanol concentration, ultrasonic temperature, ultrasonic time and material/solvent ratio have been optimized. According to the models, the optimal extraction conditions were: 69% of ethanol, the ultrasonic time of 21.33 min, the ultrasonic temperature of 68°C and a material/solvent ratio of 1/30 (w/v). Under the optimized conditions, the extraction yield of the alkaloids from breadfruit leaves was 287.36 ± 2.05 mg AE/g extract, which was in agreement with the predicted value (288.37 mg AE/g extract). The optimal extract of breadfruit leaves was able to inhibit the activity of α -amylase enzymes ($IC_{50} = 82.81 \pm 1.25$ μ g/mL) and α -glucosidase ($IC_{50} = 43.54 \pm 0.09$ μ g/mL). Therefore, breadfruit leaves can be used as a novel source of natural alkaloids that have potential applications as inhibitors of α -amylase and α -glucosidase enzymes in the pharmaceutical industries.

Keywords: alkaloid, *Artocarpus altilis*, optimization, α -amylase, α -glucosidase .



Nguyễn Thị Ái Lan sinh ngày 05/02/1988 tại Trà Vinh. Năm 2010, bà tốt nghiệp Cử nhân nhân sư phạm Sinh học; năm 2013, bà nhận học vị Thạc sĩ ngành Sinh thái học tại Trường ĐH Cần Thơ; năm 2021, bà nhận học vị Tiến sĩ ngành Công nghệ Sinh học tại Trường ĐH Cần Thơ. Hiện nay, bà công tác tại Trường Đại học Trà Vinh.

Lĩnh vực nghiên cứu: kháng oxy hoá, điều hoà hoạt động enzyme, bệnh đái tháo đường, bệnh viêm gan, bệnh gout, dược liệu.



Nguyễn Tiến Thành sinh ngày 07/10/1994 tại Trà Vinh. Năm 2016, ông tốt nghiệp cử nhân xét nghiệm y học. Hiện nay, ông công tác tại Trường Đại học Trà Vinh.

Lĩnh vực nghiên cứu: Huyết học, vi sinh, hóa sinh.



Trần Chí Linh sinh ngày 15/09/1994 tại Bến Tre. Năm 2017, ông tốt nghiệp Cử nhân ngành Sinh học tại Trường Đại học Cần Thơ. Năm 2020, ông nhận học vị Thạc sĩ ngành Công nghệ Sinh học tại Trường Đại học Cần Thơ. Hiện nay, ông công tác tại Trường Đại học Cần Thơ.

Lĩnh vực nghiên cứu: Công nghệ sinh học y sinh, hóa sinh, vi sinh vật, mô bệnh học.