

DOI: <https://doi.org/10.59294/HIUJS.KHHT.2024.036>

BÀO CHẾ VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG ỨC CHẾ ENZYME α -GLUCOSIDASE *IN VITRO* CỦA CAO LÁ VỎI (*SYZYGIUM NERVOSUM*, MYRTACEAE)

Nguyễn Thị Mĩ Phương, Ninh Thị Như Hà và Võ Mộng Thắm*
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng được quy trình bào chế cao lá vối (*Syzygium nervosum*, Myrtaceae) giàu flavonoid, đánh giá tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase và kháng khuẩn *in vitro* của cao lá vối. **Phương pháp nghiên cứu:** Lá vối được sấy khô, nghiền thành bột có kích thước tối đa 0.5 mm và chiết có hỗ trợ siêu âm với các thông số khảo sát như: dung môi, nhiệt độ, thời gian, tỷ lệ dung môi/ được liệu. Hoạt tính kháng α -glucosidase được đánh giá bằng phương pháp sử dụng cơ chất pNPG. Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá bằng phương pháp pha loãng trong thạch. **Kết quả:** Xây dựng được quy trình bào chế cao lá vối giàu flavonoid (276.3 ± 5.0 mg RE/g) bằng phương pháp siêu âm với dung môi ethanol-nước 40 %, nhiệt độ 80 °C, thời gian 90 phút, tỷ lệ dung môi/được liệu (1/20 g/mL). Cao lá vối có khả năng ức chế α -glucosidase với IC₅₀ là 2.2 μ g/mL. Cao lá vối thể hiện khả năng kháng khuẩn trên các dòng vi khuẩn Gram dương *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, và *Bacillus subtilis* (MIC lần lượt là 1.95, 125, 500 μ g/mL), và Gram âm *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, và *Salmonella typhi* (MIC đều là 1000 μ g/mL). **Kết luận:** Nghiên cứu đã xây dựng quy trình bào chế cao lá vối giàu flavonoid, đồng thời đánh giá tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase và khả năng kháng khuẩn của cao lá vối thu được.

Từ khóa: Lá vối; *Syzygium nervosum*, Myrtaceae; Flavonoid; Kháng khuẩn; α -glucosidase.

PREPARATION AND *IN VITRO* α -GLUCOSIDASE INHIBITORY EFFECT OF VOI LEAF EXTRACT (*SYZYGIUM NERVOSUM*, MYRTACEAE)

Nguyen Thi Mi Phuong, Ninh Thi Nhu Ha and Vo Mong Tham

ABSTRACT

Objective: Develop a process for preparing the flavonoid-rich Voi leaf extract (*Syzygium nervosum*, Myrtaceae), then evaluate the α -glucosidase inhibitory effect and *in vitro* antibacterial activity of the extract. **Method:** The *Syzygium nervosum* leaves were dried, ground and extracted by ultrasound assisted extraction with investigated parameters such as: solvent, temperature, time, and the sample to solvent ratio. Anti- α -glucosidase activity was evaluated using the pNPG substrate method. The antibacteria activity was assessed by agar dilution method. **Results:** Developed a process for preparing flavonoid-rich guava leaf extract (276.3 ± 5.0 mg RE/g) using ultrasound method with 40% ethanol-water solvent, 80 °C, 90 minutes, and the sample to solvent ratio of 1/20 g/mL. *Syzygium nervosum* leaves leaf extract has the ability to inhibit α -glucosidase with an IC₅₀ of 2.2 μ g/mL. The extract perform antibacteria activity on Gram positive bacteria *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* (MIC are 1.95, 125, 500 μ g/mL, respectively), and Gram negative bacteria *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella typhi* (MIC = 1000 μ g/mL). **Conclusion:** The study has developed a process for preparing flavonoid-rich *Syzygium nervosum* leaf extract while evaluating its α -glucosidase inhibitory effect and antibacteria activity.

Keywords: voi; *Syzygium nervosum*, Myrtaceae, flavonoids, antibacterial, α -glucosidase

* Tác giả liên hệ: ThS. DS. Võ Mộng Thắm, Email: thamvm@hiu.vn
(Ngày nhận bài: 10/03/2024; Ngày nhận bản sửa: 10/4/2024; Ngày duyệt đăng: 20/4/2024)

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vối là loài thực vật được phân bố rộng rãi ở các vùng nhiệt đới, trong đó có Việt Nam. Ở Việt Nam, cây vối mọc tự nhiên ở ven sông, suối hoặc được trồng ở các tỉnh miền Trung và đồng bằng Bắc Bộ như Lào Cai, Hà Giang, Bắc Giang, Nghệ An, Phú Thọ, Thanh Hóa, các tỉnh Tây Nguyên, Đồng Nai [1]. Người dân thường dùng lá, nụ hoa để pha trà hoặc hãm thành nước để uống với công dụng thanh nhiệt, chữa cảm cúm [2, 3]. Nhiều nghiên cứu gần đây đã chứng minh flavonoid là thành phần chính trong lá vối [4, 5]. Flavonoid là thành phần tự nhiên được ứng dụng nhiều trong y học nhờ hoạt tính kháng oxy hóa, kháng virus, chống ung thư, kháng viêm và có tiềm năng điều hoà đường huyết [6, 7]. Tăng đường huyết sau ăn là tình trạng đặc trưng của bệnh đái tháo đường type 2 và nếu tình trạng tăng đường huyết kéo dài sẽ dẫn đến các biến chứng trên mạch máu lớn, mạch máu nhỏ, biến chứng trên chân, rối loạn tim mạch, bệnh thận [8, 9]. Một trong những giải pháp hiệu quả giúp kiểm soát bệnh đái tháo đường, làm giảm tình trạng tăng đường huyết sau ăn là làm chậm quá trình giải phóng glucose từ tinh bột, oligosaccharid bằng cách ức chế các enzyme thủy phân tinh bột, chẳng hạn như α -glucosidase, α -amylase. Một số hoạt chất thuộc nhóm flavonoid đã được chứng minh rằng có tác dụng ức chế α -glucosidase như kaempferol, quercetin, luteolin [10, 11]. Bên cạnh đó, những loại thuốc và thực phẩm chức năng có nguồn gốc từ tự nhiên đang rất được quan tâm và thu hút nhiều sự chú ý của các nhà khoa học, đặc biệt là bào chế cao lá vối có khả năng ức chế α -glucosidase. Chính vì vậy, đề tài: Bào chế và đánh giá tác dụng ức chế enzyme α -glucosidase *in vitro* của cao lá vối (*Syzygium nervosum*, Myrtaceae) được thực hiện nhằm tận dụng nguồn tài nguyên thiên nhiên phong phú và đầy tiềm năng của Việt Nam, đồng thời tạo tiền đề mở rộng cho các nghiên cứu bào chế các sản phẩm hỗ trợ điều hoà đường huyết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Lá vối (*Syzygium nervosum*, Myrtaceae) được thu hái vào tháng 09/2022 tại Quảng Bình, được định danh bởi tiến sĩ Lưu Hồng Trường. Tiêu bản mẫu dược liệu (LV-QB-22) được lưu giữ tại phòng tiêu bản của Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Lá vối sau khi được thu hái tiến hành sấy khô ở nhiệt độ 50 °C (độ ẩm dưới 8%), nghiền và rây qua rây 0.5 mm thành bột lá vối. Bột lá vối được bảo quản trong túi kín, tránh ánh sáng trực tiếp.

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Hóa học và Hóa Dược, Khoa Dược, trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng từ tháng 10/2023 đến tháng 04/2024.

2.2. Hóa chất và chủng vi khuẩn

Hóa chất: Nước cất 2 lần, ethanol. Chất chuẩn: Rutin ($\geq 94\%$, Sigma Aldrich, số lô 125820573).

Chủng vi khuẩn: *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*, ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 29212), *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*, ATCC 29212), *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, ATCC BAA-1744), *Salmonella typhi* (*S. typhi*, ATCC 14028) được cung cấp bởi MicroBiologics – Mỹ.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp bào chế cao lá vối

Cân chính xác khoảng 20 g bột lá vối vào becher, làm ẩm, thêm dung môi ethanol- nước, chiết bằng phương pháp đun nóng có hỗ trợ siêu âm. Dịch chiết được lọc, để lắng loại tạp, cô quay và sấy thu được cao lá vối.

2.3.2. Định lượng hàm lượng flavonoid

Định lượng hàm lượng flavonoid bằng phương pháp đo quang, hiện màu với thuốc thử và đo độ hấp thụ quang bằng UV-Vis. Quy trình định lượng flavonoid được thực hiện như sau:

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0.01 g chất chuẩn rutin, hòa tan trong dung môi methanol

rồi pha loãng 10 lần thu được dung dịch gốc có nồng độ 1000 $\mu\text{g/mL}$. Dung dịch gốc sau đó được pha loãng đến các nồng độ cần thiết để xây dựng đường chuẩn.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0.01 g cao lá vôi vào bình định mức 10 mL, hòa tan với 1 ít dung môi methanol có hỗ trợ siêu âm, sau đó thêm nước cất vừa đủ đến vạch.

Hút chính xác 1 mL dịch chuẩn hoặc dung dịch thử và 0.3 mL NaNO_2 vào bình định mức 10 mL, để 5 phút. Sau đó thêm 0.3 mL AlCl_3 . Sau 5 phút thêm 1 mL NaOH và nước cất tới vạch, ủ trong tối 30 phút, đo quang phổ UV-Vis ở bước sóng 510 nm.

Hàm lượng flavonoid được tính theo công thức (1).

$$\text{Hàm lượng flavonoid trong cao (mg RE/g)} = \frac{C \times V \times k}{m \times (100 - H) \times 10} \quad (1)$$

Trong đó, C: Nồng độ flavonoid toàn phần trong dung dịch thử ($\mu\text{g RE/mL}$); V: Thể tích dung dịch thử (mL); k: Hệ số pha loãng; m: Khối lượng của cao (g); H: Hàm ẩm của cao (%).

2.3.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế α -glucosidase

Hoạt tính ức chế α -glucosidase được thực hiện theo phương pháp sử dụng cơ chất pNPG được mô tả bởi Muhammad Naeem Qaisar [12] với một số hiệu chỉnh như sau:

Hỗn hợp gồm 60 μL dung dịch chứa mẫu và 50 μL dung dịch đệm phosphate 0.1 M (pH 6.8) có chứa dung dịch α -glucosidase (0.2 U/mL) được ủ trong các giếng của đĩa 96 ở nhiệt độ phòng trong 20 phút.

Sau khi đã tiền ủ, thêm 50 μL dung dịch *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG) được pha trong đệm phosphate 0.1 M (pH 6.8) vào từng giếng và các giếng tiếp tục được ủ trong 10 phút, sau đó kết thúc phản ứng bởi 160 μL Na_2CO_3 0.2M.

Sau đó đo chỉ số quang phổ kế (A) được ghi lại ở bước sóng 405 nm bằng máy đọc vi đĩa (Biotek, USA) và so sánh với một mẫu chứng chứa 60 μL dung dịch đệm thay cho mẫu thử.

Hoạt tính ức chế α -glucosidase được tính theo công thức (2).

$$\text{Khả năng ức chế (\%)} = \frac{A_{\text{chứng}} - A_{\text{mẫu}}}{A_{\text{chứng}} \times 100} \quad (2)$$

Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình của 3 lần đo khác nhau. Acarbose (Sigma, USA) được sử dụng làm chứng dương.

2.3.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn được đánh giá bằng cách xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) sử dụng phương pháp pha loãng trong thạch theo hướng dẫn của CLSI M02-ed13.

Các chủng vi khuẩn được hoạt hóa trong môi trường TSA trong 24 giờ.

Lấy 3 – 5 khóm vi khuẩn cấy vào môi trường canh thang dinh dưỡng cho thử nghiệm kháng sinh tiêu chuẩn 2. ủ ở 37 °C trong 6 giờ. Sử dụng vi khuẩn này pha một huyền濁 vi khuẩn có mật độ vi khuẩn vào khoảng $1.10^6 - 2.10^6$ CFU/mL.

Mẫu thử được pha thành dung dịch gốc trong DMSO có nồng độ 10 mg/mL. Khi sử dụng pha loãng bằng môi trường thử nghiệm tạo thành dãy nồng độ trong môi trường thử nghiệm (có nồng độ sau bằng ½ nồng độ trước) như sau ($\mu\text{g/mL}$): 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8, 3.9, và 1.95.

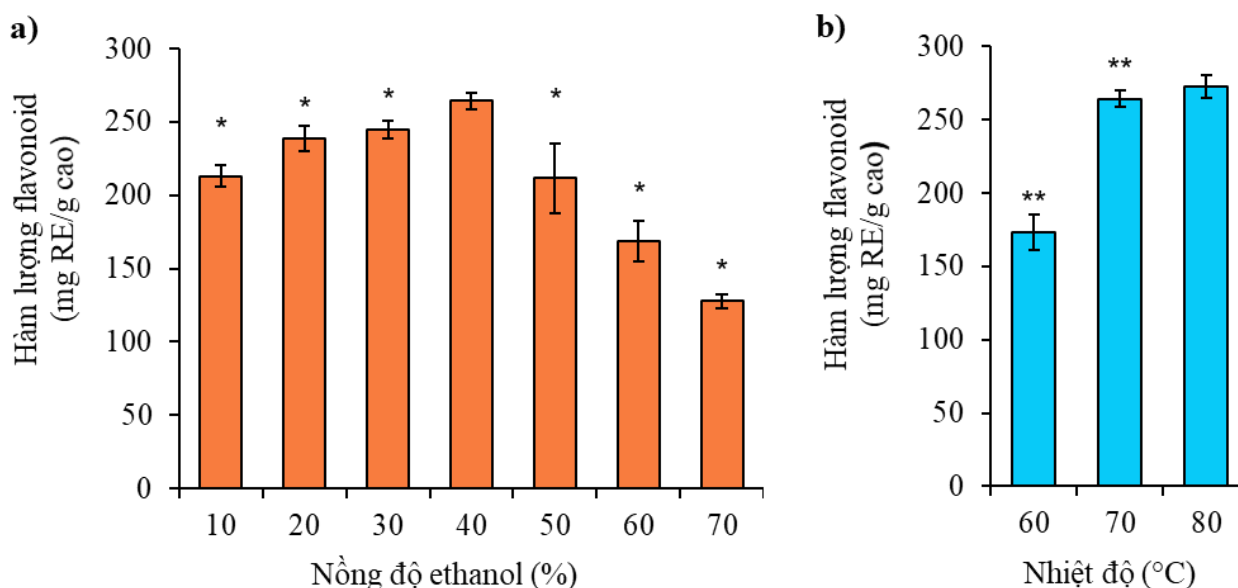
Đối chứng dương là đĩa thạch có cấy khuẩn nhưng không có mẫu thử.

2.3.5. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần, kết quả được thể hiện ở dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn. Sự khác biệt thống kê được phân tích bằng kiểm định T-test ($p < 0.05$) sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2016.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát quy trình bào chế cao lá với



Hình 1. Kết quả khảo sát hàm lượng flavanoid chiết: a) Nồng độ ethanol, b) Nhiệt độ

(*) Khác biệt thống kê so với mẫu ethanol 40% ($p < 0.05$)

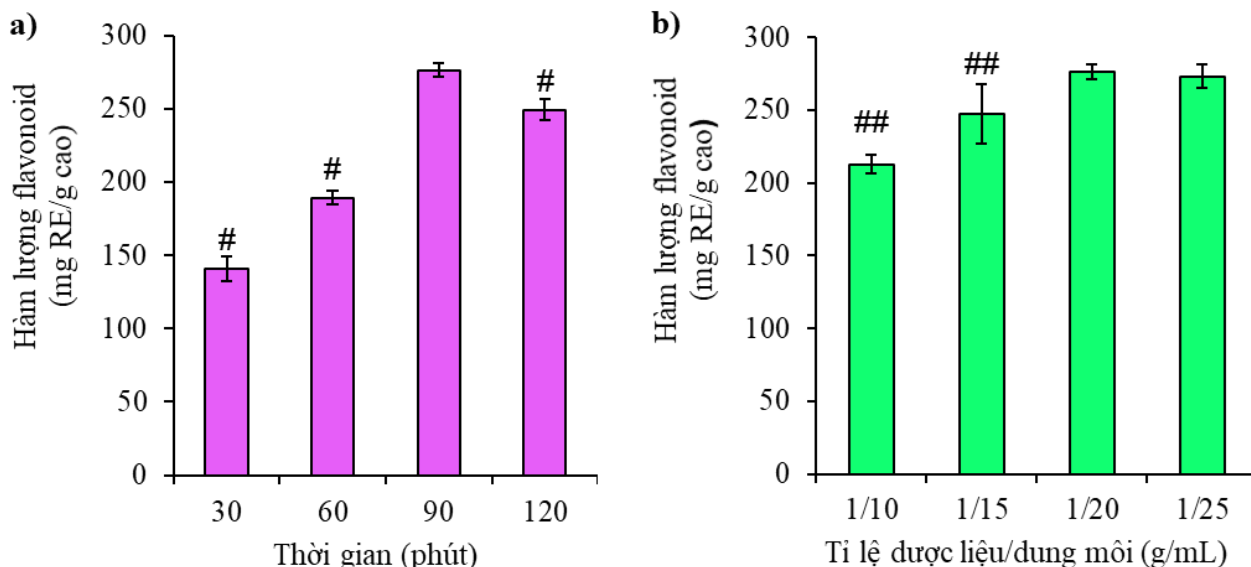
(**) Khác biệt thống kê so với mẫu 80 °C ($p < 0.05$)

Khảo sát dung môi: Điều kiện chiết ban đầu được cố định ở nhiệt độ 70 °C, thời gian 90 phút với tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/20 (g/mL). Nghiên cứu khảo sát các dung môi ethanol – nước với nồng độ ethanol khác nhau từ 10 – 70%. Kết quả được trình bày trong Hình 1a. Hàm lượng flavanoid tăng từ 213.1 ± 7.4 mg RE/g đến 264.3 ± 5.6 mg RE/g khi tăng nồng độ ethanol từ 10 – 40%, sau đó giảm dần còn 127.8 mg RE/g khi nồng độ ethanol tiếp tục tăng đến 70% ($p < 0.05$). Do đó, chọn ethanol 40 % là dung môi để khảo sát các điều kiện chiết khác.

Khảo sát nhiệt độ: Nhiệt độ được khảo sát từ 60 – 80 °C, với các điều kiện cố định ethanol 40 %, thời gian 90 phút, tỉ lệ dược liệu/dung môi 1/20 (g/mL). Kết quả được trình bày trong Hình 1b. Hàm lượng flavanoid tăng từ 173.5 ± 12.0 mg RE/g đến 276.3 ± 5.0 mg RE/g khi tăng nhiệt độ từ 60 – 80 °C. Tuy nhiên, không thể tăng nhiệt độ cao hơn vì quá nhiệt độ sôi của ethanol. Do vậy, nhiệt độ 80 °C được chọn để khảo sát các yếu tố còn lại.

Khảo sát thời gian: Thời gian chiết được khảo sát từ 30 – 120 phút, với các điều kiện cố định ethanol 40%, 80 °C, tỉ lệ dược liệu/dung môi 1/20 (g/mL). Từ Hình 2a có thể thấy hàm lượng flavanoid tăng từ 140.8 ± 8.3 mg RE/g đến 276.3 ± 5.0 mg RE/g khi tăng thời gian chiết từ 30 – 90 phút, nhưng khi tăng thời gian chiết đến 120 phút thì hàm lượng flavonoid giảm còn 249.2 ± 7.4 mg RE/g ($p < 0.05$). Do đó, áp dụng thời gian chiết 90 phút cho các khảo sát tiếp theo.

Khảo sát tỷ lệ dược liệu/dung môi: Tỷ lệ dược liệu/dung môi được khảo sát từ 1/10 – 1/25 (g dược liệu/mL dung môi), với các điều kiện cố định ethanol 40%, 80 °C, thời gian 90 phút. Kết quả được trình bày trong Hình 2b. Hàm lượng flavonoid tăng từ 212.7 ± 6.7 mg RE/g đến 276.3 ± 5.0 mg RE/g khi giảm tỷ lệ dược liệu/dung môi từ 1/10 - 1/20 g/mL, nhưng tăng không đáng kể ở tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/25 g/mL ($p < 0.05$). Do đó, tỷ lệ dược liệu/dung môi được lựa chọn là 1/20 g/mL.

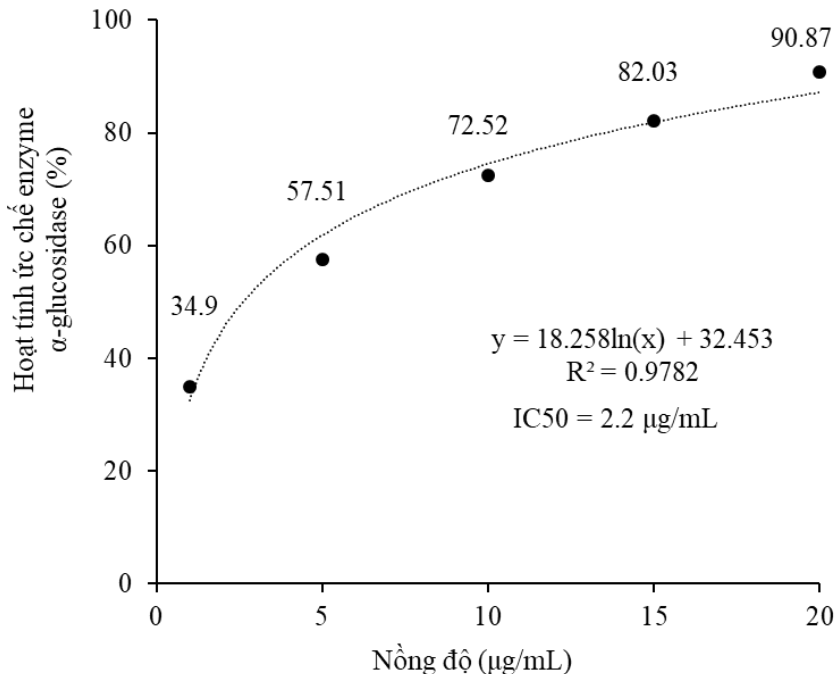


Hình 2. Kết quả khảo sát hàm lượng flavonoid chiết:
 a) Thời gian chiết, b) Tỉ lệ dược liệu/dung môi
 (#) Khác biệt thống kê so với mẫu 90 phút ($p < 0.05$).
 (##) Khác biệt thống kê so với mẫu 1/20 g/mL ($p < 0.05$)

3.2. Đánh giá hoạt tính sinh học

3.2.1. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của cao lá vòi được thể hiện trong Hình 3. Từ phương trình hồi quy có thể xác định được $IC_{50} = 2.2 \mu\text{g/mL}$.

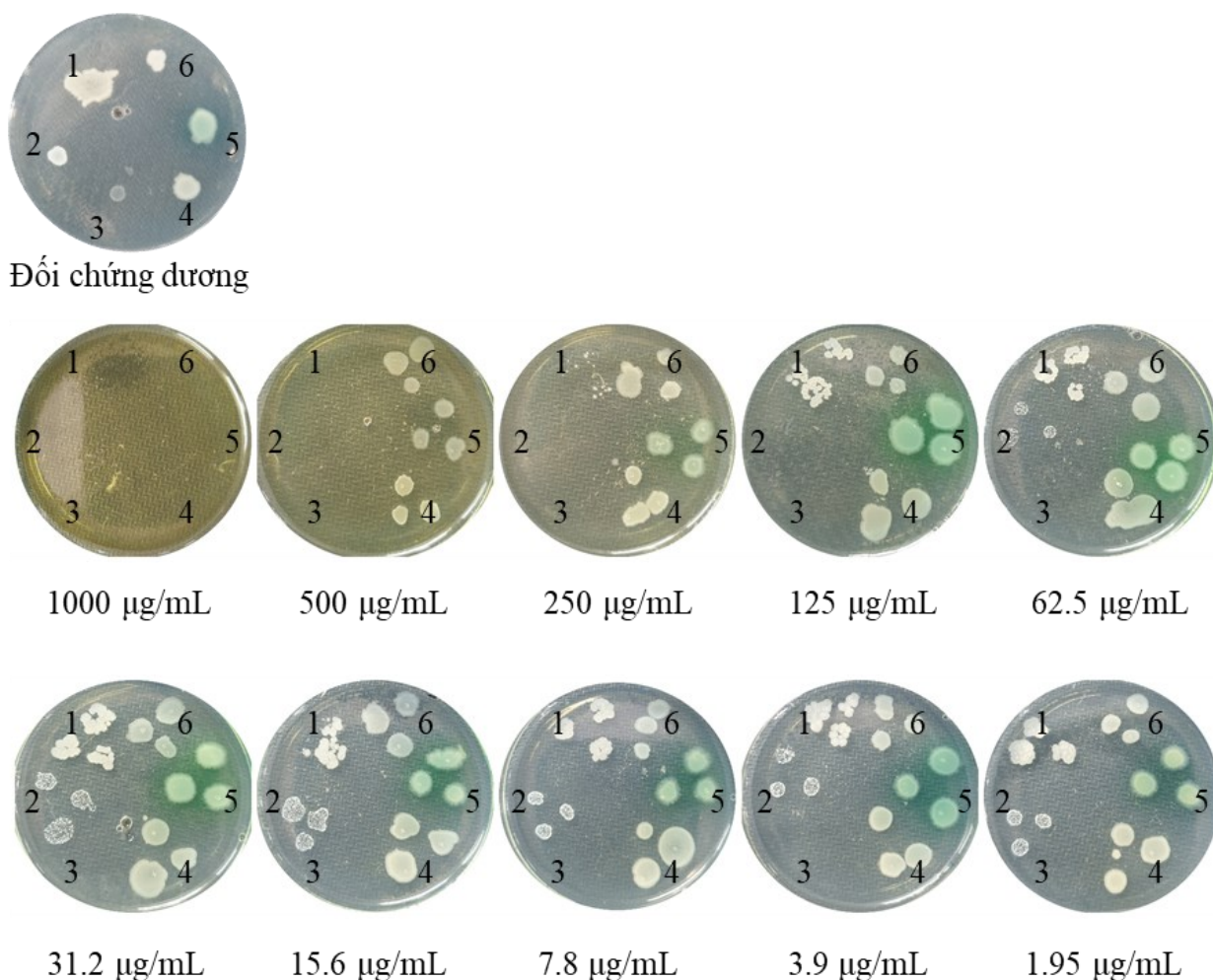


Hình 3. Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của cao lá vòi

3.2.2. Hoạt tính kháng khuẩn

Hoạt tính kháng khuẩn của cao lá vòi được đánh giá bằng cách xác định giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC). Trong phương pháp pha loãng trên thạch, MIC được xác định là nồng độ thấp nhất của cao không có sự xuất hiện của bất kỳ khuẩn lạc. Kết quả đánh giá MIC của cao lá vòi trên 6 dòng vi khuẩn Gram âm và Gram dương được thể hiện trong Hình 4 và Bảng 1.

Kết quả cho thấy cao lá vôi có khả năng kháng khuẩn, trong đó hiệu quả kháng các dòng vi khuẩn Gram dương tốt hơn vi khuẩn Gram âm. Cao lá vôi thể hiện khả năng kháng khuẩn mạnh nhất trên dòng *S. pyogenes* với MIC chỉ 1.95 µg/mL.



Hình 4. Kết quả kháng khuẩn trên 6 dòng vi khuẩn của cao lá vôi. Ký hiệu trên đĩa lần lượt là: (1) *B. subtilis*, (2) *S. aureus*, (3) *S. pyogenes*, (4) *E. coli*, (5) *P. aeruginosa*, và (6) *S. typhi*.

Bảng 1. Giá trị MIC của cao lá vôi trên các dòng vi khuẩn thử nghiệm

	Chủng vi khuẩn thử nghiệm					
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhi</i>
MIC (µg/mL)	500	125	1.95	1000	1000	1000

4. BÀN LUẬN

Dung môi là một yếu tố có vai trò quan trọng trong quá trình chiết xuất dược liệu, lựa chọn dung môi phù hợp giúp hòa tan tốt dược chất, nâng cao hiệu suất chiết. Trong nghiên cứu này, ethanol được lựa chọn sử dụng vì là dung môi xanh, an toàn và không gây ô nhiễm môi trường. Các flavonoid trong dược liệu có thể tồn tại ở cả dạng tự do (tan tốt trong ethanol) và dạng glycoside (tan tốt trong nước), do đó dung môi ethanol 40 – 50% là phù hợp và cho hiệu quả chiết flavonoid cao nhất. Nhiệt độ chiết xuất tăng giúp tăng khả năng khuếch tán của flavonoid từ trong tế bào vào dung môi, đặc biệt khi có sự hỗ trợ của sóng siêu âm tạo ra các bọt khí và sự vỡ bọt khí giúp phá hủy màng tế bào [13]. Quá trình khuếch tán diễn ra từ từ và phụ thuộc vào sự chênh lệch nồng độ, việc tăng thời gian chiết hoặc tăng tỷ lệ dung môi/dược liệu đều làm tăng lượng flavonoid chiết được. Tuy nhiên, khi đến ngưỡng

nhất định lượng flavonoid chiết được sẽ tăng không đáng kể vì phần lớn flavonoid trong tế bào đã khuếch tán vào dung môi và nồng độ flavonoid đạt cân bằng. Do đó xét về mặt kinh tế, điều kiện chiết để thu được hàm lượng flavonoid tối ưu từ bột lá vối được xác định là nhiệt độ 80 °C, thời gian chiết 90 phút, dung môi ethanol 40% với tỷ lệ dược liệu/dung môi 1/20 g/mL.

Cao lá vối có hàm lượng flavonoid cao, đạt 276.3 ± 5.0 mg RE/g (tương đương 42.3 mg RE/g bột lá vối, hoặc 20.9 mg quercetin/g bột lá vối), cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Khánh Thùy Linh (8.34 mg quercetin/g dược liệu khô) [14].

Cao lá vối thể hiện khả năng ức chế enzyme α -glucosidase mạnh ($IC_{50}=2.2$ μ g/mL), chứng tỏ cao lá vối có tiềm năng rất lớn để được ứng dụng trong hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường dưới dạng các sản phẩm dùng hàng ngày.

Cao lá vối thể hiện khả năng kháng khuẩn trên một số dòng vi khuẩn Gram dương và Gram âm, trong đó hiệu quả kháng khuẩn mạnh nhất trên vi khuẩn *S. pyogenes*. Điều này có thể do cao lá vối chứa nhiều hoạt chất flavonoid, đây là nhóm hoạt chất đã được chứng minh có hiệu quả kháng khuẩn rất tốt.

5. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, quy trình bào chế cao lá vối đã được xây dựng với các điều kiện: Đun nóng kết hợp siêu âm, dung môi ethanol-nước 40%, nhiệt độ 80°C, thời gian chiết 90 phút, và tỉ lệ dược liệu/dung môi 1/20 g/mL. Cao lá vối thu được chứa hàm lượng flavonoid cao, đạt 276.3 ± 5.0 mg RE/g. Kết quả thử nghiệm đánh giá hoạt tính sinh học cho thấy cao lá vối có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase mạnh ($IC_{50} = 2.2$ μ g/mL). Cao lá vối thể hiện khả năng kháng khuẩn trên các dòng vi khuẩn Gram dương *S. pyogenes*, *S. aureus*, và *B. subtilis* (MIC lần lượt là 1.95, 125, 500 μ g/mL), và Gram âm *E. coli*, *P. aeruginosa*, và *S. typhi* (MIC đều là 1000 μ g/mL). Điều này chứng tỏ nguồn lá vối phong phú ở Việt Nam có thể được tận dụng để sản xuất cao lá vối có hoạt tính sinh học nhằm ứng dụng trong y dược.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài SVTC17.27.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] V. Đ. Hải, "Nghiên cứu đặc điểm tái sinh tự nhiên vối thuốc (*Schima wallichii* Choisy) tại vùng Tây Bắc," *Tạp chí NN và PTMT*, vol. Số 4. pp. 72-76. 2008.
- [2] Đ. T. Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, 2006.
- [3] G. N. Pham, T. T. T. Nguyen, and H. Nguyen-Ngoc, "Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Syzygium nervosum*," *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*, vol. 2020. 2020.
- [4] T.-T. Dao *et al.*, "C-methylated flavonoids from *Cleistocalyx operculatus* and their inhibitory effects on novel influenza A (H1N1) neuraminidase," *Journal of natural products*, vol. 73. no. 10. pp. 1636-1642. 2010.
- [5] B.-S. Min, C. Van Thu, N. T. Dat, N. H. Dang, H.-S. Jang, and T. M. Hung, "Antioxidative flavonoids from *Cleistocalyx operculatus* buds," *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, vol. 56. no. 12. pp. 1725-1728. 2008.
- [6] P. C. H. Hollman and I. C. W. Arts, "Flavonols, flavones and flavanols—nature, occurrence and dietary burden," *Journal of the Science of Food Agriculture*, vol. 80. no. 7. pp. 1081-1093. 2000.
- [7] E. Barber, M. J. Houghton, and G. Williamson, "Flavonoids as human intestinal α -glucosidase inhibitors," *Foods*, vol. 10. no. 8. p. 1939. 2021.

- [8] A. Ceriello *et al.*, "Postprandial hyperglycaemia and cardiovascular complications of diabetes: an update," *Nutrition, metabolism cardiovascular diseases*, vol. 16. no. 7. pp. 453-456. 2006.
- [9] T. Wilke *et al.*, "Epidemiology of urinary tract infections in type 2 diabetes mellitus patients: An analysis based on a large sample of 456.586 German T2DM patients," *Journal of Diabetes its Complications*, vol. 29. no. 8. pp. 1015-1023. 2015.
- [10] S. Kumar, S. Narwal, V. Kumar, and O. Prakash, " α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes," *Pharmacognosy reviews*, vol. 5. no. 9. p. 19. 2011.
- [11] R. Tundis, M. R. Loizzo, and F. Menichini, "Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update," *Mini reviews in medicinal chemistry*, vol. 10. no. 4. pp. 315-331. 2010.
- [12] M. N. Qaisar, B. A. Chaudhary, M. U. Sajid, and N. Hussain, "Evaluation of α -glucosidase inhibitory activity of dichloromethane and methanol extracts of *Croton bonplandianum* Baill," *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 13. no. 11. pp. 1833-1836. 2014.
- [13] M. M. A. Ranjha *et al.*, "Sonication, a potential technique for extraction of phytoconstituents: A systematic review," *Processes*, vol. 9. no. 8. p. 1406. 2021.
- [14] N. K. T. Linh and N. T. N. Trâm, "Xây dựng phương pháp định lượng flavonoid toàn phần trong dịch chiết lá vối (*Cleistocalyx Operculatus*) bằng quang phổ UV-VIS," *Tạp chí Y Dược học quân sự*, vol. 47. no. 4. pp. 5-17. 2022.