

## KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA VÀ BẢO VỆ TẾ BÀO MIN6 TUY TẠNG CỦA DỊCH TRÍCH METHANOL LÁ XOÀI NON (*Mangifera indica* L.)

Nguyễn Thị Ái Lan 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: 04/02/2018

Ngày nhận bài sửa: 29/03/2018

Ngày duyệt đăng: 29/10/2018

### Title:

Antioxidant and Protective Effects of Young Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves Extract against Tunicamycin-Induced Cell Death with Endoplasmic Reticulum (ER) Stress in MIN6 Pancreatic  $\beta$ -Cells

### Từ khóa:

Bệnh đái tháo đường, kháng oxy hóa, lá xoài non, *Mangifera indica* L., stress mạng nội chất, tế bào MIN6

### Keywords:

Diabetes, ER stress, MIN6 cell, *Mangifera indica* L., pancreatic cell, tunicamycin

### ABSTRACT

Protective effect of young mango (*Mangifera indica* L.) leaves extract against endoplasmic reticulum (ER) stress was conducted in MIN6 pancreatic  $\beta$ -cells in vitro. The MIN6 cell line was cultured with 5  $\mu$ g/mL tunicamycin added in 24 hours of exposure and 5% CO<sub>2</sub> to induce ER stress and cell death. Cytotoxicity effects of young mango leaves extract on MIN6 cells were observed at various concentration from 50 to 500  $\mu$ g/mL. Protective effects of the extract were also examined. The results showed that the young mango leaves extract exhibited no cytotoxicity effects on MIN6 cells in 48 hours of culture. The maximal concentration of the extract to protect MIN6 cells against cell death with ER stress was 500  $\mu$ g/mL. In addition, the antioxidant effects of the young mango leaves extract were recorded in this study. The methods including 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), reducing power (RP) assays and 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>+</sup>) assays were used to determine antioxidant effects of the extract. The EC<sub>50</sub> values were 26.64 $\pm$ 0.88  $\mu$ g/mL in DPPH assays, 12.11 $\pm$ 1.15  $\mu$ g/mL in ABTS<sup>+</sup> assays and 45.7 $\pm$ 0.50  $\mu$ g/mL in reducing power assays. It is proved that the young mango leaves have potential in diabetes treatment by against cell death in pancreatic  $\beta$ -cells through ER stress pathway.

### TÓM TẮT

Khả năng bảo vệ tế bào  $\beta$  tụy tạng khỏi sự phá hủy bởi stress mạng nội chất của dịch trích lá xoài non (*Mangifera indica* L.) được thực hiện in vitro trên tế bào MIN6. Sự chết của tế bào MIN6 được gây ra do tunicamycin ở nồng độ 5  $\mu$ g/mL, sau 24 giờ ủ ở điều kiện 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Khả năng gây độc đối với tế bào MIN6 của dịch trích lá xoài non (LXN) được khảo sát ở nồng độ từ 50 đến 500  $\mu$ g/mL ở điều kiện ủ 37°C và 5% CO<sub>2</sub> trong 48 giờ. Khả năng bảo vệ tế bào MIN6 của dịch trích LXN cũng được khảo sát. Kết quả khảo sát cho thấy, ở các nồng độ khảo sát LXN không gây độc tế bào MIN6 trong 48 giờ. Nồng độ dịch trích LXN có khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi sự chết bởi stress mạng nội chất tốt nhất là 500  $\mu$ g/mL. Bên cạnh đó, thí nghiệm đã chứng minh dịch trích LXN có hiệu quả kháng oxy hóa. Kết quả khảo sát khả năng kháng oxy hóa bằng phương pháp trung hòa gốc tự do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), khử sắt (RP) và 2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>+</sup>) có giá trị EC<sub>50</sub> lần lượt là 27,64  $\pm$  0,88; 12,11  $\pm$  1,15 và 45,7  $\pm$  0,50  $\mu$ g/mL. Kết quả chứng minh, LXN có tiềm năng hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường theo cơ chế kháng oxy hóa và bảo vệ tế bào  $\beta$  của tụy tạng khỏi sự chết bởi stress mạng nội chất.

Trích dẫn: Nguyễn Thị Ái Lan và Đái Thị Xuân Trang, 2018. Khả năng kháng oxy hóa và bảo vệ tế bào MIN6 tụy tạng của dịch trích methanol lá xoài non (*Mangifera indica* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(7A): 85-93.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Nguyên nhân gây ra bệnh đái tháo đường type 2 là do sự kháng insulin ở cơ quan đích (gan, cơ vân, mô mỡ) kèm theo suy giảm chức năng tế bào  $\beta$  tụy. Bệnh đái tháo đường type 2 chiếm khoảng từ 90 - 95% trong tổng số bệnh nhân bệnh đái tháo đường và thường gặp ở lứa tuổi trên 40. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, do chất lượng đời sống được nâng cao nên bệnh đái tháo đường type 2 xuất hiện ở nhiều lứa tuổi. Năm 2010, trên toàn cầu, số người mắc bệnh đái tháo đường khoảng 258 triệu người và theo dự đoán số lượng này sẽ tăng thêm 1,5 lần (khoảng 439 triệu người) vào năm 2030 (Đỗ Trung Quân, 2001, Sung *et al.*, 2012, Kazuo *et al.*, 2014). Bệnh đái tháo đường (BĐTĐ) thường là nguyên nhân biến chứng của các bệnh hiểm nghèo như: bệnh tim, mạch vành, tai biến mạch máu não, mù mắt, suy thận... Ngày nay, có nhiều loại thuốc điều trị BHYTĐ nhưng đều có tác dụng phụ như buồn nôn, ói mửa, vàng da, ú mật, mất bạch cầu hạt, thiếu máu... (Khan *et al.*, 1991, Paul *et al.*, 2016). Vì vậy, các nhà khoa học trong và ngoài nước có xu hướng nghiên cứu các hoạt chất sinh học từ thực vật có khả năng điều trị BHYTĐ và không gây ra các tác dụng phụ.

Trên thế giới, lá xoài (*Mangifera indica* L.) thường được sử dụng để chữa các bệnh như: ho, sốt và trị lành các vết thương (Bbosa, 2007b). Cây xoài được xem là một loại dược liệu quan trọng vì chứa hàm lượng lớn hợp chất hóa học có hoạt tính sinh học như: polyphenol, terpene, polyalcohol, acid béo, đường, lignin... (Rodeiro *et al.*, 2007). Nhiều nghiên cứu khoa học đã chứng minh cây xoài có khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, chống co thắt, điều hòa miễn dịch, kháng viêm, bảo vệ gan, kháng hoạt động của ký sinh trùng và điều trị bệnh đái tháo đường (Garrido *et al.*, 2001, Rodeiro *et al.*, 2007, Shah *et al.*, 2010). Dịch chiết ethanol lá xoài đã được chứng minh có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase (Prashanth *et al.*, 2001a) và enzyme  $\alpha$ -glucosidase ( $IC_{50} = 314 \mu\text{g/mL}$ ) (Prashanth *et al.*, 2001b). Năm 2007, lá xoài đã được Bbosa *et al.* (2007) chứng minh có khả năng ức chế hoạt động của vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (MIC = 6,25  $\mu\text{g/mL}$ ), *Escherichia coli* (MIC = 50  $\mu\text{g/mL}$ ), *Clostridium tetani* và *Pseudomonas aeruginosa* (Bbosa *et al.*, 2007a). Thành phần hóa học của lá xoài được xác định gồm: saponin, glucoside, sterol không bão hòa, polyphenol, acid euxanthin, mangiferin, mangin, galic và tanin. Trong đó, mangiferin là một xanthonoid có nhiều tác dụng sinh học đang được quan tâm như: hoạt tính kháng viêm, chống dị ứng, kháng oxy hóa. Hàm lượng mangiferin trong LXN được chứng minh nhiều khác biệt có ý

nghĩa thống kê so với lá xoài già ( $P < 0,05$ ) (Ramírez *et al.*, 2016). Năm 2009, dịch chiết từ lá và vỏ thân cây xoài đã được nghiên cứu trên mô hình chuột BHYTĐ type 1 và type 2. Kết quả từ nghiên cứu đã khẳng định dịch chiết có khả năng gây hạ glucose huyết trên chuột BHYTĐ type 2 và không gây ảnh hưởng đến chuột bình thường (Bhowmik *et al.*, 2009).

Mangiferin ly trích từ lá xoài đã được chứng minh có tác dụng điều trị BHYTĐ, ngăn ngừa các biến chứng do bệnh gây ra như tim mạch, giảm lipid máu, giảm LDL\_C (cholesterol xấu) và tăng HDL\_C (cholesterol tốt) ở chuột BHYTĐ ở nồng độ 10-20 mg/kg trọng lượng sau 14 ngày (Muruganandan *et al.*, 2005, Gururaja *et al.*, 2015). Ngoài ra, mangiferin còn có tác dụng bảo vệ tế bào gan, kháng viêm ở chuột với liều lượng từ 15-30 mg/kg trọng lượng. Nồng độ mangiferin có khả năng gây ra độc tính cấp trên chuột là  $> 1000$  mg/kg trọng lượng/ngày, đây là một hàm lượng có khả năng gây độc rất thấp (Ramírez *et al.*, 2016).

Việt Nam là nước có bề dày lịch sử về sự tồn tại và phát triển của thuốc cổ truyền. Thuốc cổ truyền được người dân tin dùng vì ít tác dụng phụ hơn thuốc hóa dược. Trong lĩnh vực y học cổ truyền, quả xoài (*Mangifera indica* L.) có tác dụng nhuận tràng, lợi tiêu, giải nhiệt, tiêu hóa kém... (Đỗ Tất Lợi, 2011). LXN được sử dụng để điều trị các bệnh về hô hấp trên như: ho, viêm phế quản, tiêu chảy, kiết lị, viêm ngứa da (20-30 g/ngày) (Nguyễn Thượng Dong và *ctv.*, 2003). Ở Đồng bằng sông Cửu Long, cây xoài được trồng phổ biến và là nguồn thu nhập chính của nhiều hộ gia đình. Tuy nhiên, nguồn thu nhập chính mang lại là từ trái xoài, một lượng lớn lá xoài không được sử dụng. Vì vậy, nếu có thể khai thác nguồn lá xoài một cách hợp lý để ly trích các hợp chất có khả năng điều trị BHYTĐ sẽ nâng cao giá trị và hình thành chuỗi giá trị liên hoàn của cây xoài. Bên cạnh đó, LXN là chế phẩm thiên nhiên đảm bảo được yêu cầu an toàn, rẻ tiền. Với những kết quả nghiên cứu trên, LXN có tiềm năng rất lớn để trở thành nguồn dược liệu quý. Vì vậy, trong nghiên cứu này LXN được nghiên cứu khả năng điều trị BHYTĐ thông qua giá khả năng kháng oxy hóa, kháng stress mạng nội chất ở tế bào tụy tạng.

## 2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Tunicamycin (Sigma, Nhật Bản) được sử dụng là chất gây chết tế bào MIN6 thông qua cơ chế ức chế N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase, ngăn cản quá trình tổng hợp glycoprotein ở những giai đoạn đầu. Do đó, Tunicamycin có thể làm tăng lượng glycoprotein chưa xoắn cuộn trong mạng nội

chất gây stress mạng nội chất trong thời gian dài dẫn đến tình trạng chết tế bào (Rojas *et al.*, 2014).

Trong nghiên cứu này, tế bào tụy tạng dòng MIN6 được cung cấp bởi viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản. Tế bào tụy tạng MIN6 được nuôi trong môi trường DMEM (Dulbecco's Modification of Eagle's Medium), 25 mM glucose, 15% FCS (fetal calf serum), 1% natri pyruvat, 83  $\mu$ M  $\beta$ -mercaptoethanol trong tủ ủ đảm bảo điều kiện 37°C và 5% CO<sub>2</sub> trong suốt thời gian thử nghiệm. Tế bào MIN6 là dòng tế bào kết dính. Vì vậy, trong quá trình nuôi cấy, bề mặt đĩa plastic đóng vai trò là giá thể để tế bào MIN6 bám vào. Sau 2-3 ngày, tỷ lệ diện tích huyền phù tế bào/ thể tích bề mặt đĩa nuôi cấy tăng khoảng  $\geq$  85% so với thời điểm ban đầu (Lee *et al.*, 2014). Khi đó, tế bào được tiến hành cấy chuyển sang môi trường mới. Dòng tế bào MIN6 mang những điểm thuận lợi cho việc ứng dụng nghiên cứu BĐTĐ vì đây là nơi tổng hợp enzyme glucokinase và protein vận chuyển Glut2 (glucose transporter 2). Protein vận chuyển Glut2 đóng vai trò vận chuyển glucose từ máu qua màng tế bào. Sau đó, các phân tử glucose được chuyển hóa thành glucose-6-phosphate bởi enzyme glucokinase. Vì vậy, khi tế bào tụy tạng MIN6 bị phá hủy sẽ dẫn đến tình trạng tập trung quá mức lượng glucose huyết trong máu và dẫn đến tình trạng tăng glucose huyết. Bên cạnh đó, theo Skelin *et al.* (2010), dòng tế bào MIN6 cũng được chứng minh là dòng tế bào tốt nhất để nghiên cứu bệnh đái tháo đường (Skelin *et al.*, 2010).

LXN được thu hái ở huyện Cầu Kè, tỉnh Trà Vinh vào lúc vào sáng sớm ở những vườn không phun xịt thuốc hóa học. Lá được thu có vị trí từ số 1 đến 15 của đỉnh sinh trưởng cành. Theo nghiên cứu của Ramirez *et al.* (2016), LXN được miêu tả có màu nâu đỏ và xanh nhạt. Những lá có màu xanh đậm hơn được xem là lá già.

### 2.1 Định danh mẫu thực vật bằng phương pháp giải trình tự ADN vùng ITS

Xoài được trồng phổ biến trên thế giới và Việt Nam là loài thông dụng có nguồn gốc ở Ấn Độ. Bên cạnh đó, một số loài xoài có nguồn gốc Đông Nam Á. Loài xoài Đông Nai (*Mangifera dongnaiensis*) là cây đặc hữu của Việt Nam. Ở Việt Nam, cây xoài được trồng nhiều ở khắp các tỉnh thành trong cả nước như: Tiền Giang, Vĩnh Long, Trà Vinh, Hậu Giang, Tây Ninh, Bình Thuận, Sơn La. Ngoài ra, ở Miền Bắc còn có hai loài gần với cây xoài là cây quèo (*Mangifera reba*) và cây muôm (*Mangifera foetida*) (Võ Văn Chi, 2004). Vì vậy, trong nghiên cứu này, sau khi định danh về hình thái của thực vật theo Phạm Hoàng Hộ (2003), mẫu vật được ly trích ADN và giải trình tự

các nucleotide vùng ITS (internal transcribed spacer - điểm sao chép bên trong) bằng đoạn môi ITS 1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' và ITS 4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (White *et al.*, 1990) để xác định chính xác tên khoa học của nguồn nguyên liệu sử dụng trong nghiên cứu.

### 2.2 Điều chế dịch trích methanol LXN

LXN được rửa sạch, cắt nhỏ và sấy khô ở nhiệt độ 50°C cho đến khi trọng lượng không đổi, mẫu vật 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 chiết tổng của mẫu vật.

### 2.3 Khảo sát khả năng kháng oxy hóa của dịch trích LXN

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

Khả năng kháng oxy hóa của LXN 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. Vì vậy, 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).

Dịch trích LXN được pha loãng trong methanol theo dãy nồng độ từ 30, 40, 50, 60, 70, 80 và 90  $\mu$ g/mL. DPPH có nồng độ 1 mM (100  $\mu$ L) được lần lượt cho vào mỗi giếng chứa 100  $\mu$ L dịch chiết LXN (30 - 90  $\mu$ 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. Trolox (0-3 mM) 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.

#### 2.3.2 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<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> sẽ phản ứng với chất kháng oxy hóa tạo thành phức K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>. Sau đó, K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> tiếp tục phản ứng với FeCl<sub>3</sub> tạo thành KFe[Fe(CN)<sub>6</sub>] 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 µL dịch trích LXN ở các nồng độ khảo sát 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL được cho vào 100 µL đệm phosphate 0,2 M pH 6,6 tiếp tục thêm vào 100 µL K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 1%. Hỗn hợp được ủ ở 50°C trong 20 phút bằng bể ủ. Tiếp theo, thêm 100 µL TCA (Trichloroacetic acid) 10% rồi ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. 100 µL phần dịch nổi sau ly tâm được cho vào 100 µL nước và 20 µL FeCl<sub>3</sub> 0,1%, lắc đều. Hỗn hợp sau phản ứng được đo mật độ quang phổ ở bước sóng 700 nm. Kết quả được tính toán bởi giá trị EC<sub>50</sub> là lượng mẫu làm tăng mật độ quang đạt 0,5 (Alam, 2013; Andrea *et al.*, 2017). BHA (Butylated hydroxyanisole) nồng độ từ 0-100 µg/mL được sử dụng như chất đối chứng dương và các bước tiến hành tương tự như dịch trích LXN.

2.3.3 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, được đặc trưng ở độ hấp thụ 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 LXN 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 µl dịch trích LXN ở các nồng độ từ 30, 40, 50, 60, 70, 80 và 90 µg/mL và 100 µg/mL dung dịch ABTS<sup>+</sup> (500 µg/mL). Hỗn hợp được ủ trong tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng λ = 734 nm của (Nenadis *et al.*, 2004).

Hiệu quả kháng oxy hóa 50% (EC<sub>50</sub>: effective concentration of 50%) được tính dựa vào đường chuẩn y = ax + b. Hoạt tính kháng oxy hóa của

mẫu càng cao, thể hiện qua giá trị EC<sub>50</sub> loại bỏ gốc tự do càng nhỏ (Miliauskas *et al.*, 2004)

2.4 Khảo sát khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi quá trình chết của dịch trích LXN

Khảo sát khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi quá trình chết của dịch trích LXN được tiến hành bằng cách nuôi tế bào trong môi trường DMEM. Tế bào MIN6 (10<sup>4</sup> tế bào/mL) được nuôi trong môi trường DMEM có bổ sung tunicamycin (5 µg/mL) (Rojas *et al.*, 2014) trong điều kiện có dịch trích LXN ở các nồng độ khảo sát 50, 100, 200, 300, 400 và 500 µg/mL hoặc không có bổ sung dịch trích LXN ở thời điểm khảo sát 24 và 48 giờ. Ảnh hưởng của dịch trích LXN đến sự sống của tế bào cũng được thực hiện tương tự bằng cách nuôi tế bào trong môi trường DMEM có bổ sung dịch trích ở các nồng độ từ 50 đến 500 µg/mL. Sau mỗi thời điểm khảo sát, môi trường nuôi cấy cũ được loại bỏ, 110 µL môi trường DMEM: WST<sub>8</sub> (10:1) được thêm vào và ủ với điều kiện 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Sau 2 giờ, tế bào được đo bằng máy đo quang phổ ở bước sóng λ = 450 nm. Những tế bào còn sống sẽ tiết ra enzyme dehydrogenase chuyển một phân tử hydro từ NADPH kết hợp với dung dịch WST<sub>8</sub>, làm thay đổi màu của dung dịch WST<sub>8</sub> từ vàng nhạt sang màu cam (Lee *et al.*, 2014, Liu *et al.*, 2016).

2.5 Thống kê phân tích số liệu

Các thí nghiệm trong nghiên cứu được tiến hành 3 lần lặp lại ngẫu nhiên. Số liệu được trình bày bằng MEAN ± SEM. Kết quả được xử lý thống kê theo phương pháp ANOVA bằng phần mềm Excel và Minitab 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Định danh mẫu thực vật bằng phương pháp giải trình tự vùng ITS

Sau khi thu hái, định danh dựa vào hình thái bên ngoài, lá thực vật được tiến hành giải trình tự nucleotide vùng ITS. Kết quả BlastN trình tự nucleotide của lá thực vật được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1: Kết quả Blast trình tự các nucleotide vùng ITS của lá thực vật trên NCBI

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
AB598045.1	None	846	468	71%	0.0	96%
KJ833767.1	None	749	749	60%	0.0	98%
JX856471.1	None	651	651	52%	0.0	98%

Trong nghiên cứu này, theo kết quả BlastN (Basic Local Alignmet Search Tool) trong NCBI (National Center for Biotechnology Information), sự tương đồng của trình tự các nucleotid vùng ITS của mẫu thực vật và cây *Mangifera indica* L.

khoảng 96 - 98% (Bảng 1). Kết quả trên chứng minh rằng, mẫu thực vật được sử dụng trong nghiên cứu này có tên thường gọi là xoài và có tên khoa học ở cấp độ loài là *Mangifera indica* L.

**3.2 Hiệu quả kháng oxy hóa của dịch trích LXN**

**3.2.1 Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH**

Kết quả thực nghiệm cho thấy rằng LXN (30-90 µg/mL) có khả năng trung hòa gốc tự do DPPH, làm giảm màu dung dịch từ màu tím sang màu vàng nhạt. Kết quả về hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương Trolox và hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2: Hàm lượng chất kháng oxy hóa tính tương đương µg/mL Trolox và hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH của LXN**

Nồng độ dịch trích (µg/mL)	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương Trolox (µg/mL)	Hiệu suất trung hòa gốc tự do (%)
30	4,78 <sup>a</sup> ±0,56	13,91 <sup>a</sup> ±0,68
40	7,77 <sup>f</sup> ±1,61	17,58 <sup>f</sup> ±1,98
50	15,94 <sup>c</sup> ±2,56	27,61 <sup>c</sup> ±3,14
60	26,62 <sup>d</sup> ±1,51	40,72 <sup>d</sup> ±1,85
70	32,08 <sup>e</sup> ±1,14	47,43 <sup>e</sup> ±1,40
80	36,9 <sup>b</sup> ±1,1	53,35 <sup>b</sup> ±1,34
90	44,82 <sup>a</sup> ±0,25	63,08 <sup>a</sup> ±0,31

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

Kết quả trình bày ở Bảng 2 cho thấy rằng, hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong LXN khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các nồng độ khảo sát (P<0,05). Hàm lượng chất kháng oxy hóa và khả năng kháng oxy hóa tăng tỷ lệ thuận với nồng độ dịch trích. Khi tăng nồng độ dịch trích từ 30-90 µg/mL thì khả năng kháng oxy hóa của LXN tăng từ 13,91 ± 0,68% đến 63,08 ± 0,31%.

Hiệu suất loại bỏ gốc tự do DPPH của chất chuẩn Trolox và LXN được đánh giá dựa vào hiệu suất trung hòa 50% gốc tự do (EC<sub>50</sub>). Kết quả này cho thấy, khả năng kháng oxy hóa của LXN (EC<sub>50</sub> = 27,64 ± 0,88 µg/mL) thấp hơn chất chuẩn Trolox (EC<sub>50</sub> = 4,264 ± 0,092 µg/mL) là 6,8 lần. Tuy nhiên, LXN có khả năng trung hòa gốc tự do cao hơn so với Vọng cách (*Premna serratifolia* L., EC<sub>50</sub> = 42,16 µg/mL) (Nishaa *et al.*, 2012), Cà gai leo (*Solanum hainanense* Hance, EC<sub>50</sub> = 1734 µg/mL) (Mayakrishnan *et al.*, 2012), Hà Thủ Ô Trắng (*Streptocaulon juvenas* Merr, EC<sub>50</sub> = 349,35 µg/mL) (Đái Thị Xuân Trang và *ctv.*, 2015), lá Chùm ngây (*Moringa oleifera*, EC<sub>50</sub> = 600 ± 0,02 µg/mL), thân Chùm ngây (*Moringa oleifera*, EC<sub>50</sub> = 1070 ± 0,11) (Phan Thị Bích Trâm và Nguyễn Thị Diễm My, 2016).

**3.2.2 Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp khử sắt của dịch trích LXN**

Hàm lượng chất kháng oxy hóa có trong dịch trích LXN được tính tương đương với Butylated hydroxyanisole (BHA) dựa vào đường chuẩn y = 0,012x + 0,143 (R<sup>2</sup> = 0,9926). Kết quả cho thấy, nồng độ dịch trích tăng từ 100 µg/mL đến 500 µg/mL thì hàm lượng chất kháng oxy hóa tăng dần tương ứng từ 35,5 ± 0,70 đến 99,9 ± 3,72 µg/mL (Bảng 3). Kết quả này cho thấy hoạt tính kháng oxy hóa tỷ lệ thuận với nồng độ dịch trích. Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu Samrot *et al.* (2016), đã chứng minh dịch trích LXN có hoạt tính kháng oxy hóa và kháng khuẩn.

**Bảng 3: Hàm lượng chất kháng oxy hóa tính tương đương µg/mL BHA và hiệu suất khử sắt của dịch trích LXN**

Nồng độ dịch trích (µg/mL)	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương BHA (µg/mL)	Hiệu suất khử sắt (%)
100	10,5 <sup>e</sup> ±0,7	39,4 <sup>e</sup> ±1,92
200	19,8 <sup>d</sup> ±0,3	57,2 <sup>d</sup> ±0,41
300	32,0 <sup>c</sup> ±1,2	69,0 <sup>c</sup> ±0,83
400	34,9 <sup>b</sup> ±0,5	70,9 <sup>b</sup> ±0,33
500	44,1 <sup>a</sup> ±0,3	75,7 <sup>a</sup> ±0,11

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

Hiệu quả kháng oxy hóa của dịch trích LXN ở các nồng độ khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê (P<0,5). Kết quả này cho thấy rằng hiệu quả kháng oxy hóa của dịch trích LXN (EC<sub>50</sub> = 313,9 µg/mL) thấp hơn khả năng kháng oxy hóa của BHA (EC<sub>50</sub> = 30,1 µg/mL) là 10,3 lần. Tuy nhiên, LXN có khả năng hấp thu gốc tự do cao hơn cây Óc chó (*Juglans regia* L., EC<sub>50</sub> = 950 µg/mL) (Quang-Vinh and Jong-Ban, 2011).

**3.2.3 Hiệu quả kháng oxy hóa bằng phương pháp ABTS<sup>+</sup>**

Kết quả thực nghiệm cho thấy rằng dịch trích LXN có khả năng trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup>. Hiệu suất hấp thu gốc tự do của LXN tăng tỷ lệ thuận với nồng độ dịch trích. Hiệu suất hấp thu gốc tự do của LXN tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê khi tăng nồng độ dịch trích từ 30 - 90 µg/mL (Bảng 4).

Kết quả thực nghiệm cho thấy rằng LXN (EC<sub>50</sub> = 45,683±0,498 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, LXN có khả năng trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup> tốt hơn nhiều loại dịch trích 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) (Majakrishnan *et al.*, 2012).

**Bảng 4: Hàm lượng chất kháng oxy hóa tính tương đương µg/mL Trolox và hiệu suất trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup> của dịch trích LXN**

Nồng độ dịch trích (µg/mL)	Hàm lượng chất kháng oxy hóa tương đương Trolox (µg/mL)	Hiệu suất trung hòa gốc tự do (%)
30	0,021 <sup>c</sup> ±0,001	54,1 <sup>c</sup> ±1,0
40	0,026 <sup>dc</sup> ±0,001	58,0 <sup>dc</sup> ±1,0
50	0,029 <sup>d</sup> ±0,003	60,1 <sup>d</sup> ±2,3
60	0,040 <sup>c</sup> ±0,000	67,8 <sup>c</sup> ±1,2
70	0,049 <sup>b</sup> ±0,000	74,6 <sup>b</sup> ±0,3
80	0,055 <sup>ab</sup> ±0,004	78,62 <sup>ab</sup> ±2,6
90	0,057 <sup>a</sup> ±0,009	79,8 <sup>a</sup> ±6,2

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

Ức chế sự hình thành các gốc tự do sẽ giảm sự ảnh hưởng của các phân tử hữu cơ và vô cơ gây tổn hại đến tế bào. Vì các gốc tự do tồn tại ở nhiều trạng thái như: gốc hydroxyl, anion superoxide, hydrogen peroxide và lipid peroxy và đây là các gốc tự do có khả năng gây nguy cơ mắc bệnh cao. Nghiên cứu này đã chứng minh LXN có khả năng kháng oxy hóa. Điều này chứng tỏ LXN có tiềm năng ứng dụng trong điều trị bệnh ở người.

**3.2.4 Hiệu quả bảo vệ tế bào MIN6 khỏi quá trình chết do tunicamycin gây ra của LXN**

Trong thí nghiệm này, tế bào MIN6 được gây chết bằng tunicamycin và khảo sát khả năng bảo vệ tế bào MIN6 tránh khỏi sự chết này bằng dịch trích methanol LXN. Tuy nhiên, để khẳng định cơ sở khoa học về độ an toàn của LXN với tế bào MIN6 tụy tạng, dịch trích đã được khảo sát khả năng gây độc trên tế bào MIN6 trong 48 giờ ở nồng độ từ 50 đến 500 µg/mL trong điều kiện ủ 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Kết quả về tỷ lệ tế bào sống của tế bào MIN6 khi ủ với dịch trích LXN sau 48 giờ được trình bày trong Bảng 5.

Theo kết quả thí nghiệm, tỷ lệ tế bào sống của bào MIN6 khi được nuôi trong môi trường có bổ sung dịch trích LXN khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung LXN. Vì vậy, LXN được kết luận là không gây độc cho tế bào MIN6 sau 48 giờ ủ ở các nồng độ khảo sát từ 50 đến 500 µg/mL. Từ đó có thể kết luận rằng, dịch trích LXN không là nguyên nhân gây chết tế bào MIN6 tụy tạng. Vì vậy, các nồng độ

dịch trích 50, 100, 200, 300, 400 và 500 µg/mL được tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

**Bảng 5: Ảnh hưởng của dịch trích LXN đến sự phát triển của tế bào MIN6 tụy tạng**

Nồng độ dịch trích (µg/mL)	Tỷ lệ tế bào sống (%)
0	100 <sup>a</sup> ±0,0
50	103,3 <sup>a</sup> ±19,3
100	125,4 <sup>a</sup> ±16,5
200	119,3 <sup>a</sup> ±24,5
300	125,0 <sup>a</sup> ±12,0
400	124,9 <sup>a</sup> ±32,2
500	117,9 <sup>a</sup> ±12,6

Ghi chú: các chữ cái giống nhau trong cùng 1 cột khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P>0,05)

Sau khi chứng minh dịch trích LXN không gây độc cho tế bào MIN6, thí nghiệm khảo sát khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi sự chết được thực hiện. Trong thí nghiệm này, nồng độ của tunicamycin được sử dụng để gây chết tế bào MIN6 là 5 µg/mL trong thời gian từ 24 đến 48 giờ (Osowski and Urano, 2011, Puyal *et al.*, 2013).

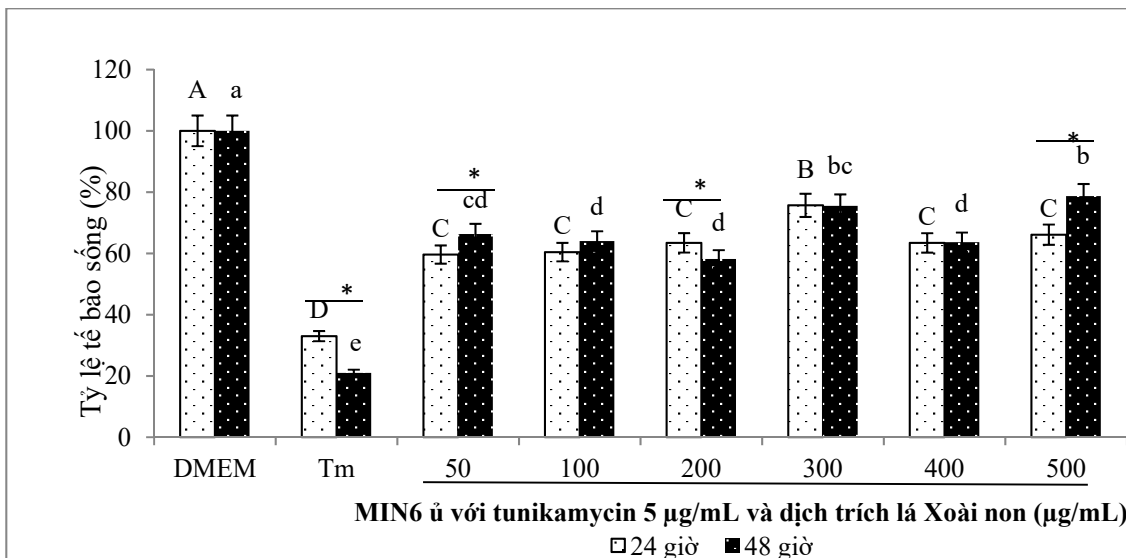
Ở mức thời gian 24 giờ, khả năng bảo vệ tế bào MIN6 khỏi stress mạng nội chất dẫn đến sự chết của LXN (ở các nồng độ từ 50-500 µg/mL) được khảo sát khi ủ tế bào MIN6 với tunicamycin ở nồng độ 5 µg/mL. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở Hình 1 cho thấy, khi tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường có tunicamycin và dịch trích LXN trong thời gian 24 giờ thì tỷ lệ sống của tế bào cao khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức tế bào chỉ được nuôi trong môi trường có tunicamycin (33,2 ± 2,65%) (P<0,05). Tỷ lệ sống của tế bào MIN6 ở các nghiệm thức tăng tỷ lệ thuận với nồng độ LXN khảo sát, ở nồng độ 50 µg/mL tỷ lệ sống của tế bào MIN6 là 59,6 ± 7,58%; tỷ lệ sống của tế bào đạt 66,1 ± 3,62 % ở nồng độ dịch trích LXN 500 µg/mL.

Ở mức thời gian 48 giờ, khi tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường có tunicamycin nồng độ 5 µg/mL, tỷ lệ sống của tế bào chỉ còn 21,0 ± 1,28%. Nhưng khi tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường có tunicamycin nồng độ 5 µg/mL có bổ sung thêm dịch trích LXN ở các nồng độ 50, 100, 200, 300, 400 và 500 µg/mL thì tỷ lệ sống của tế bào MIN6 ở các nghiệm thức lần lượt tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức chỉ nuôi trong môi trường có tunicamycin lần lượt là: 66,3 ± 11,8; 64,0 ± 1,56; 58,1 ± 0,40; 75,5 ± 3,10; 63,6 ± 9,21 và 78,7 ± 2,12 (%) (Hình 1). Khi xét ở cùng thời điểm khảo sát 48 giờ, kết quả cho thấy tỷ lệ sống của tế bào ở nồng độ LXN 500 µg/mL cao khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nồng độ

còn lại. Từ kết quả này, ở nồng độ 500 µg/mL, LXN đạt hiệu quả bảo vệ tế bào MIN6 khỏi tổn thương stress mạng nội chất tốt nhất.

Những kết quả trên cho thấy rằng LXN ở các nồng độ khảo sát có khả năng bảo vệ tế bào tụy tạng MIN6 khỏi quá trình chết do stress mạng nội chất. Ở nồng độ 500 µg/mL, dịch trích LXN có khả năng bảo vệ tế bào MIN6 tốt nhất. Tỷ lệ tế bào

MIN6 sống ở các thời điểm khảo sát 24 giờ và 48 giờ cao hơn so với nghiệm thức ủ tunicamycin lần lượt là 2,1 và 3,7 lần. Dịch trích trái dâu tằm đã được chứng minh có khả năng bảo vệ tế bào tụy tạng MIN6 khỏi sự chết là 1,33 lần so với nghiệm thức đối chứng (Lee *et al.*, 2014). Khảo sát này đã chứng minh được khả năng bảo vệ tế bào tụy tạng MIN6 của LXN cao hơn so với dịch trích trái dâu tằm.



**Hình 1: Khả năng bảo vệ tế bào MIN6 tụy tạng khỏi quá trình chết của LXN**

Ghi chú: DMEM: tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường DMEM; Tm: tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường DMEM có bổ sung Tm (µg/mL), từ 50-500; Tế bào MIN6 được nuôi trong môi trường DEME bổ sung Tm (5 µg/mL) và dịch trích LXN ở các nồng độ từ 50-500 µg/mL). (\*): khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% khi so sánh giữa thời gian khảo sát 24 giờ và 48 giờ ở cùng nồng độ dịch trích LXN. Các chữ cái khác nhau chỉ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%, chữ in hoa so sánh các nồng độ khảo sát ở thời điểm 24 giờ, chữ cái thường so sánh ở thời điểm 48 giờ

Các tế bào trong cơ thể có khả năng tự điều chỉnh để thích nghi với chức năng của nó và tự bảo vệ trước các tác nhân gây tổn thương. Tế bào có khuynh hướng duy trì các thông số sinh lý nội môi. Khi rơi vào trạng thái stress sinh lý hay stress do nhân tố kích thích bệnh lý, tế bào có thể thích nghi để duy trì sự sống hoặc chết. Stress oxy hóa được chứng minh là nguyên nhân dẫn đến sự tổn thương và chết của tế bào tụy tạng gây ra BĐTĐ type 2 và có mối quan hệ chặt chẽ với bệnh béo phì (Zhao *et al.*, 2006). Vì vậy, thực vật có khả năng bảo vệ tế bào tụy tạng khỏi stress mạng nội chất đóng vai trò quan trọng trong việc tìm kiếm nguồn dược liệu điều trị BĐTĐ. Từ kết quả này, LXN có nhiều triển vọng ứng dụng trong lĩnh vực dược liệu về hợp chất kháng oxy hóa và kháng stress mạng nội chất trong việc hỗ trợ điều trị BĐTĐ.

#### 4 KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Trong nghiên cứu này, kết quả giải trình tự các nucleotide vùng ITS cho thấy vật liệu sử dụng

trong nghiên cứu có tên tiếng Việt thông dụng là xoài và tên khoa học là *Mangifera indica* L. Kết quả thí nghiệm cho thấy rằng, dịch trích LXN không gây độc tính cho tế bào MIN6 tụy tạng. Bên cạnh đó, dịch trích LXN được khẳng định có khả năng bảo vệ tế bào tụy tạng khỏi sự chết do stress mạng nội chất gây ra bởi tunicamycin. LXN cũng được chứng minh có khả năng kháng oxy hóa. Từ những kết quả này cho thấy rằng, LXN có tiềm năng trở thành nguồn dược liệu hỗ trợ điều trị BĐTĐ.

#### LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn GS. Kaeko Kamei, Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản đã cung cấp dòng tế bào MIN6 và các hóa chất, phương tiện để thực hiện các thí nghiệm nuôi cấy tế bào.

#### 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.
- Bbosa, G.S., Aloysius, L., Nathan, M., 2007a. The activity of *Mangifera indica* leaf extracts against the tetanus causing bacterium, *Clostridium tetani*. *African Journal of Ecology*, 45: 54–58.
- Bbosa, G.S., Kyegombe, D.B., Ogwal-Okeng, J., Bukonya-Ziraba, R., Odyek, O. and Waako P., 2007b. Antibacterial activity of *Mangifera indica* (L.). *African Journal of Ecology*, 45: 13–16.
- Đài Thị Xuân Trang, Lâm Hồng Bảo Ngọc và Võ Thị Tú Anh, 2015. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của cao methanol cây hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juvenas* MERR.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 40a: 1-6.
- Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mẫn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Đoàn, 2003. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập II*, NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội, 1252.
- Đỗ Tất Lợi, 2011. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Thời đại Hà Nội.
- Đỗ Trung Quân, 2001. *Bệnh Đái Tháo Đường*. NXB Y học.
- Gabino, G., González, D., Delporte, C., Backhouse, N., Quintero, G., Núñez-Sellés, A.J., Morales, M.A., 2001. Anagelsic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG). *Phytotherapy Research*, 15(1): 18–21.
- Gururaja, G.M., Mundkinajeddu, D., Dethe, S.M., Sangli, G.K., Abhilash, K., and Agarwal, A., 2015. Cholesterol esterase inhibitory activity of bioactives from leaves of *Mangifera indica* (L.). *Pharmacognosy Research*, 7(4): 355-362.
- Jegerlehner, A., Zabel, F., Langer, A., Dietmeier, K., Jennings, G.T., Saudan, P., Bachmann, M.F., 2013. Bacterially Produced Recombinant Influenza Vaccines Based on Virus-Like Particles. *PLoS ONE*, 8(11): e78947.
- Khan, K.S., Rizvi, J.H., Qureshi, R.N., and Mazhar R., 1991. Gestational Diabetes in Developing Country, Experience of Screening at the Aga Khan University Medical Centre, Karachi. *Journal of Pakistan Medical Association*, 41(2): 31-33.
- Lee, J.S., Kim, Y.R., Park, J.M., et al., 2014. Mulberry Fruit Extract Protects Pancreatic  $\beta$ -Cells against Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis via Antioxidative Activity. *Molecule*, 19: 8904-8915.
- Liu, C.L., Zhong, W., He, Y.Y., Li, X., Li, S., and He, K.L., 2016. Genome-wide analysis of tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress response and the protective effect of endoplasmic reticulum inhibitors in neonatal rat cardiomyocytes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 413(1-2): 57–67.
- 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.
- 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.
- Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S., Gupta, P.K., and Lal, J., 2005. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *Original research article journal of ethnopharmacology*, 97: 497-501.
- Nikolaos, N., Lan-fen, W., Hong-Yu, Z., 2004. Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS Assay, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 4669 - 4674.
- Nishaa, S., Vishnupriya, M., Sasikumar, J.M., Christabel, H. P. and Gopalakrishnan, V.K., 2012. Antioxidant activity of ethanolic extract of *Maranta arundinacea* L. tuberous rhizomes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5: 4.
- Osowski, C.M. and Urano, F., 2011, Measuring ER stress and the unfolded protein response using mammalian tissue culture system, *Methods in enzymology*, 490: 71-91.
- Phan Thị Bích Trâm và Nguyễn Thị Diễm My, 2016. Khảo sát hoạt tính các hợp chất kháng oxy hóa trong lá và thân cây chùm ngây (*Moringa oleifera*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 3: 179-184.
- Prashanth, D., Amit, A., Samiulla, D.S., Asha, M.K., and Padmaja, R., 2001a.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of *Mangifera indica* bark. *Fitoterapia*. 72:686–8.
- Prashanth, D., Padmaja, R., and Samiulla, D.S., 2001b. Effect of certain plant extracts on  $\alpha$ -amylase activity. *Fitoterapia*, 72: 179 - 81.
- Puyal, J., Pétremand, J., Dubuis, G., Rummel, C., and Widmann, C., 2013. HDLs protect the MIN6 insulinoma cell line against tunicamycin-induced apoptosis without inhibiting ER stress and without restoring ER functionality. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 381: 291–30.
- Quang-Vinh N. and Jong-Ban E., 2011. Antioxidant activity of solvent extracts from Vietnamese medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(13): 2798-2811.
- Medina Ramírez, N., Monteiro Farias, L., Apolonio Santana F., Viana Leite, J.P., De Souza Dantas, M.I., Lopes Toledo, R.C., De Queiroz, J.H., Duarte Martino, H.S., Rocha Ribeiro, S.M., 2016. Extraction of Mangiferin and Chemical Characterization and Sensorial Analysis of Teas from *Mangifera indica* L. Leaves of the Ubá Variety. *Beverages*, 2(4): 33-45.



- Rodeiro, I., Donato, M.T., Jiménez, N., Garrido, G., Delgado, R., and Gomez-Lechón, M.J., 2007. Effects on *Mangifera indica* L. aqueous extract (Vimang) on primary culture of rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 2506 - 2512.
- Rojas, R., Segovia, C., Trombert, A.N., Santander, J., and Mangué, P., 2014. The Effect of Tunicamycin on the Glucose Uptake, Growth, and Cellular Adhesion in the Protozoan Parasite *Crithidia fasciculata*. *Current Microbiology*, 69: 541 - 8.
- Samrot, A.V., Rohan, B., Kumar, D., Sahiti, K., Raji, P. and Samanvitha, S.K., 2016. Detection of antioxidant and antibacterial activity of *Mangifera indica* using TLC bio-autography. *International journal of pharmaceutical sciences and research*. 7(11): 4467 - 4472.
- Shah, K.A., Patel, M.B., Patel, R.J. and Parmar, P.K., 2010. *Mangifera Indica* (Mango). *Pharmacognosy Reviews*, 4(7): 42-48.
- 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.
- Skelin, M., Rupnik, M., and Cencic, A., 2010. Pancreatic Beta Cell Lines and their Applications in Diabetes Mellitus Research. *ALTEX*, 27: 105 - 13.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J.W., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J., (Eds.). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York: Academic Press Inc; pp. 315 - 322.
- Zhao, Y.F., Feng, D.D., Hernandez, M., and Chen, C., 2006. 3T3-L1 adipocytes induce dysfunction of MIN6 insulin-secreting cells via multiple pathways mediated by secretory factors in a co-culture system. *Endocrine reviews*, 31: 52 - 60.