

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÂY NGUYÊN

NGUYỄN MINH TRUNG

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG HẠ ĐƯỜNG HUYẾT CỦA
SẢN PHẨM VI BAO CAO CHIẾT TỪ CÂY TRÂM VỎ ĐỎ
(*Syzygium zeylanicum* (L.) DC.)

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học
Mã số: 9420201

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Đắk Lắk – 2024

Công trình được hoàn thành tại: Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Nguyễn Quang Vinh

Phản biện 1: PGS.TS. Ngô Đại Nghiệp

Phản biện 2: PGS.TS. Trần Thanh Trúc

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hoài

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường họp tại Viện Công nghệ Sinh học và Môi Trường, Trường Đại học Tây Nguyên

Vào lúc ... giờ ... ngày ... tháng ... năm...

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

- Thư viện Trường Đại học Tây Nguyên
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề/tính cấp thiết của đề tài

Tăng đường huyết mạn tính là đặc trưng cơ bản bệnh đái tháo đường (ĐTĐ), là bệnh rối loạn chuyển hóa phổ biến do thiếu hoặc suy giảm hoạt tính insulin. ĐTĐ có nhiều biến chứng liên quan tới hầu hết các cơ quan trong cơ thể như suy thận, thoái hóa võng mạc, thần kinh, tim mạch hay hoại tử chi. Theo các tài liệu y khoa, tăng đường huyết kéo dài trong đái tháo đường là nguyên nhân cơ bản dẫn đến các biến chứng nguy hiểm của đái tháo đường. Do đó, kiểm soát gia tăng đường huyết là mục tiêu tiên quyết trong phòng trị đái tháo đường.

Hiện nay, nhiều loại thuốc giúp kiểm soát đường huyết được sử dụng rộng rãi trong điều trị đái tháo đường và cho thấy những hiệu quả nhất định. Tuy nhiên, những loại thuốc này lâu dài gây ra nhiều tác dụng phụ. Hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học vai trò quan trọng trong nền y học cổ truyền ở các nước phương Đông. Các nghiên cứu cho thấy, hợp chất tự nhiên có tác dụng kiểm soát đường huyết tương đương thuốc với độ an toàn tốt hơn, tính tương hợp sinh học cao, tác động đa mục tiêu điều trị và đặc biệt là khả năng sản xuất với quy mô lớn bằng công nghệ sinh học

Trâm vỏ đỏ (*Syzygium zeylanicum* (L.) DC) có tiềm năng ứng dụng kiểm soát đường huyết thông qua tác dụng đa mục tiêu. Tuy nhiên, các thông tin về thành phần, cấu trúc các hợp chất hóa học, hoạt chất quyết định đến khả năng hạ đường huyết, và đặc biệt là khả năng bền hóa hoạt tính bằng các vật liệu bao gói phù hợp nhằm nâng cao khả năng ứng dụng thực tiễn còn chưa được công bố. Một nghiên cứu toàn diện về khả năng vi bao cao chiết và đánh giá hiệu quả tác động trên cơ sở nghiên cứu thành phần hoạt chất, cơ chế tác động phù hợp còn chưa được tiến hành. Trên cơ sở đó, tiến hành thực hiện đề tài: “Nghiên cứu khả năng hạ đường huyết của sản phẩm vi bao cao chiết từ cây Trâm vỏ đỏ (*Syzygium zeylanicum* (L.) DC.)”

2. Mục tiêu nghiên cứu

Xác định được thành phần các hợp chất chính trong cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ và khả năng hạ đường huyết thông qua tác động đa mục tiêu của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ trên mô hình *in vitro* và *in vivo*, làm cơ sở nghiên cứu phát triển các sản phẩm bảo vệ sức khoẻ trong kiểm soát đường huyết.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

Nội dung 1. Đánh giá ảnh hưởng của trích ly phân đoạn đến khả năng kiểm soát đường huyết đa mục tiêu của cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ.

Nội dung 2. Phân lập các hợp chất, định lượng và đánh giá tương quan với hoạt tính sinh học của các loại cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ.

Nội dung 3. Vi bao cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ và đánh giá khả năng kiểm soát đường huyết đa mục tiêu của sản phẩm vi bao.

Nội dung 4. Nghiên cứu xây dựng mô hình dự đoán thời hạn bảo quản của sản phẩm vi bao.

4. Những đóng góp mới của luận án

– Cung cấp những dữ liệu quan trọng về hiệu quả hạ đường huyết của cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ và sản phẩm vi bao thông qua tác động đa mục tiêu gồm: Ổn định đường huyết lúc đói, chống tăng đường huyết sau ăn, chống oxy hóa, kháng viêm, ổn định hệ vi sinh vật đường ruột và điều hoà biểu hiện của các gene liên quan đến quá trình tăng đường huyết ở mô hình cá ngựa vằn gây bệnh đái tháo đường. Cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ và sản phẩm vi bao có khả năng điều hoà biểu hiện một số gene liên quan đến kiểm soát quá trình sinh tổng hợp chất béo như gene *SREBF1*, *ACCI*, và *FASN*; cải thiện kháng insulin thông qua gene insulin (*INS*), và thụ thể insulin (*INSRAI* và *INSRBI*); ức chế hấp thu glucose qua thành ruột thông qua gene *SGLT1* và cải thiện chuyển hóa glucose thông qua gene *GLP1*.

– Phân lập và xác định được cấu trúc của các hợp chất chính trong vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ thể hiện hoạt tính tiềm năng trong kiểm soát

đường huyết. Trong đó, gallic acid, catechin, epicatechin, ellagic acid, quercetin, caffeine và apigenin là các thành phần chống oxy hóa quan trọng. Ethyl gallate và rutin là thành phần chính ức chế α -glucosidase.

– Sử dụng maltodextrin kháng tiêu hóa làm chất mang vi bao gói cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ bằng phương pháp sấy phun đã nâng cao được tính sinh khả dụng của sản phẩm, nhờ vào sự tương tác phân tử giữa vật liệu bao gói và các hợp chất trong cao chiết.

– Xây dựng được mô hình dự đoán thời hạn bảo quản của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ (Mô hình tuân theo quy luật hàm bậc nhất: $C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$). Sản phẩm vi bao gói ổn định ở điều kiện nhiệt độ (40 °C) và độ ẩm môi trường bảo quản (75%), với thời gian bán rã và suy thoái 90% hoạt tính lần lượt là 346,57 ngày và 1.151,29 ngày, so với cao chiết không vi bao lần lượt là 231,05 ngày và 767,53 ngày.

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan đại tháo đường

1.1.1. Tăng đường huyết và Đái tháo đường

Tăng đường huyết (hyperglycemia), dấu hiệu rối loạn chuyển hóa, là dấu hiệu đặc trưng của đái tháo đường, bệnh lý rối loạn chuyển hóa rất phổ biến ở loài người. Tăng đường huyết kéo dài gây ra các biến chứng nguy hiểm, đe dọa sức khỏe, tính mạng người bệnh. Kiểm soát gia tăng đường huyết là mục tiêu tiên quyết trong phòng trị đái tháo đường.

1.1.2. Cơ chế tăng đường huyết trong đái tháo đường

Sự tổn thương tế bào β dẫn đến mất khả năng sản xuất insulin là cơ chế bệnh sinh cơ bản của đái tháo đường tuýp 1 (Roep et al., 2021). Sự rối loạn trong xuất tiết insulin và glucagon dẫn đến mất khả năng kiểm soát đường huyết là cơ chế bệnh sinh cơ bản của đái tháo đường tuýp 2 (Knudsen et al., 2019; Khin et al., 2023).

Kháng insulin gây ảnh hưởng đến hầu hết các mô cơ quan trong cơ thể, gây nên các rối loạn như suy giảm hiệu suất hấp thu glucose ở mô cơ, tăng sản sinh glucose và triglyceride ở gan, tăng phân giải mỡ và

tích lũy đại thực bào ở mô mỡ. Các rối loạn chuyển hóa này càng làm nghiêm trọng thêm sự kháng insulin, gây tăng đường huyết và đái tháo đường tuýp 2 (Oh & Olefsky, 2016).

1.1.3. Hệ vi sinh đường ruột và nguy cơ đái tháo đường

Nhiều bằng chứng khoa học cho thấy mối liên hệ mật thiết giữa hệ vi sinh đường ruột và đái tháo đường (Li et al., 2020). Hệ vi sinh đường ruột tác động đến sự cân bằng glucose nội mô qua nhiều cơ chế khác nhau.

1.2. Các phương pháp tiếp cận hiện đại trong điều trị đái tháo đường

1.3. Tiềm năng phòng chống đái tháo đường thông qua khả năng kiểm soát đường huyết của các polyphenol từ thực vật

1.3.1. Hợp chất tự nhiên từ thực vật trong hỗ trợ phòng chống đái tháo đường

Các hợp chất tự nhiên có nguồn gốc từ thực vật, chủ yếu là cây thuốc, được quan tâm nhờ khả năng cung cấp đa dạng và phong phú các hợp chất với nhiều giá trị dược học, hoạt tính sinh học chống lại nhiều bệnh lý khác nhau, bao gồm hoạt tính chống đái tháo đường (Ahmadu & Ahmad, 2021).

1.3.2. Khả năng kiểm soát đường huyết của các hợp chất polyphenol

Polyphenol có tác dụng hữu ích đối với sức khỏe con người ở các khía cạnh khác nhau như cải thiện bệnh lý tim mạch, cao huyết áp, rối loạn chuyển hóa, béo phì, ung thư và đặc biệt khả năng kiểm soát đường huyết trong đái tháo đường (Dominguez Avila et al., 2017; Durazzo et al., 2019).

1.3.3. Các cơ chế kiểm soát đường huyết của các hợp chất polyphenol

Các cơ chế gồm (1) điều hòa quá trình xuất tiết các hormone và phục hồi chức năng tuyến tụy; (2) ức chế enzyme tiêu hóa tinh bột và giảm lượng đường hấp thu qua ruột; (3) cải thiện độ nhạy insulin ở các mô, cơ quan; (4) giảm sản xuất glucose và sinh tổng hợp chlesterol ở gan; (5) tăng quá trình hấp thu và chuyển hóa glucose ở cơ; (6) điều hòa quá trình sinh tổng hợp chất béo; (7) điều hòa hoạt động não bộ và

giảm cảm giác thèm ăn; (8) điều hòa hệ vi sinh đường ruột (Xu et al., 2018; Sun et al., 2020; Jiang et al., 2022; Xia et al., 2021).

1.4. Chi Trâm (*Syzygium* sp.) và tiềm năng ứng dụng phòng chống đái tháo đường

1.4.1. Khả năng kiểm soát đường huyết của một số cây thuốc thuộc Chi Trâm

Các cây thuốc chi Trâm được ghi nhận có khả năng chống oxy hóa và hạ đường huyết trên các mô hình gây đái tháo đường. Các loài có tiềm năng bao gồm *S. alternifolium*, *S. aqueum*, *S. aromaticum*, *S. calophyllifolium*, *S. cumini*, *S. malaccense*, *S. polyanthum*, và *S. samarangense* (Zulcafli et al., 2020)

1.4.2. Trâm vỏ đỏ (*Syzygium zeylanicum* (L.) DC.)

Các nghiên cứu về khả năng chống đái tháo đường của Trâm vỏ đỏ còn khá ít và chưa có tính hệ thống, đặc biệt hiệu quả kiểm soát đường huyết trên các mô hình *in vitro* và *in vivo* còn hạn chế. Các dữ liệu về thành phần hóa học, cấu trúc và hoạt tính sinh học cũng như mối liên hệ giữa cấu trúc – hoạt tính chưa được nghiên cứu đầy đủ. Đồng thời, phương pháp bảo vệ các hoạt chất và nâng cao tính sinh khả dụng của hoạt chất chưa được nghiên cứu.

1.5. Công nghệ vi bao gói các hợp chất tự nhiên ứng dụng trong phòng chống đái tháo đường

1.5.1. Công nghệ vi bao gói các hợp chất tự nhiên

Sự bao gói (encapsulation) các hợp chất tự nhiên/thuốc bên trong vật liệu bao gói, giúp bảo vệ các thành phần hợp chất tự nhiên trước các tác nhân gây phân hủy từ môi trường ngoài và bên trong cơ thể, giúp duy trì độ ổn định và nâng cao hoạt tính sinh học. Công nghệ này giúp tăng tính sinh khả dụng, khả năng hòa tan, tính thấm qua màng, giúp kiểm soát giải phóng các hoạt chất phù hợp với mục đích sử dụng (Dias et al., 2015).

1.5.2. Công nghệ vi bao gói các hợp chất tự nhiên bằng kỹ thuật sấy phun

Nguyên lý cơ bản của kỹ thuật sấy phun dựa trên việc làm khô rất nhanh các hạt huyền phù hoặc nhũ tương rất nhỏ bằng dòng khí nóng, các hạt này sau đó rơi xuống phần đáy của buồng sấy và được thu hồi trong một hệ thống phù hợp (Gharsallaoui et al., 2007).

Hầu hết polyphenol đều kém bền dưới tác dụng bất lợi của môi trường, dễ bị phân hủy dưới tác dụng của các enzyme, tương tác với các thành phần phối trộn khác, dẫn đến mất hoạt tính hoặc kém ổn định trong điều kiện tiêu hóa, suy giảm tính sinh khả dụng. Sấy phun cho thấy hiệu quả vi bao gói các hợp chất polyphenol với hiệu suất cao, tăng độ bền và sinh khả dụng (Sosnik & Seremeta, 2015).

1.6. Mô hình cá ngựa vằn trong nghiên cứu đái tháo đường

1.6.1. Các loại thể của mô hình cá ngựa vằn

Mô hình cá ngựa vằn (Zebrafish, *Danio rerio*) được sử dụng rộng rãi để đánh giá tính an toàn và khả năng hạ đường huyết của các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học (Holtta-Vuori et al., 2010).

1.6.2. Các nghiên cứu về rối loạn kiểm soát đường huyết và đái tháo đường trên cá ngựa vằn

Các phương pháp khác nhau đã được phát triển để gây dựng các mô hình đái tháo đường khác nhau trên cá ngựa vằn bao gồm đái tháo đường tuýp 1, đái tháo đường tuýp 2 (Cao et al., 2023).

Các hướng nghiên cứu liên quan kiểm soát đường huyết trong đái tháo đường gồm: (1) Sự khởi phát, tiến triển và biến chứng của đái tháo đường; (2) Tác động của các gene, các con đường chuyển hóa và chức năng của mô/cơ quan; (3) Sàng lọc thuốc điều trị đái tháo đường; (4) Các nghiên cứu về rối loạn hành vi liên quan đái tháo đường.

1.7. Thực trạng và hướng tiếp cận nghiên cứu

Các dữ liệu hiện có về khả năng kiểm soát đường huyết và chống đái tháo đường của các cây thuốc thuộc Chi Trâm chủ yếu dựa trên chiết xuất hoặc cao chiết phân đoạn, và có rất ít nghiên cứu về phân lập hoặc

xác định các dẫn xuất của hợp chất có hoạt tính sinh học. Các báo cáo chủ yếu tập trung ở một số loài phổ biến, trong khi tiềm năng của các loài khác như *S. densiflorum*, *S. mundagam*, và đặc biệt là *S. zeylanicum* (L.), Trâm vỏ đỏ cần được quan tâm.

Trâm vỏ đỏ thu thập tại Đắk Lắk có tiềm năng ứng dụng cao trong hỗ trợ và điều trị đái tháo đường thông qua khả năng kiểm soát đường huyết. Thông tin khoa học về các hoạt chất, dẫn xuất và cơ chế tác động cụ thể còn chưa đầy đủ và có hệ thống. Bên cạnh đó, khả năng bảo vệ hoạt tính, tăng cường khả năng tác động trên các mô hình *in vivo*, đánh giá độc tính và các đánh giá chuyên sâu hơn nhằm đưa ra cách tiếp cận ứng dụng cụ thể còn chưa được tiến hành nghiên cứu.

Chương 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.3. Phương pháp nghiên cứu và chỉ tiêu đánh giá

2.3.1. Phương pháp trích ly cao chiết thô và các loại cao chiết phân đoạn

Bột vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ được trích ly bằng dung môi ethanol 50% trong nước cất với tỷ lệ bột:dung môi là 1:10 (w/v) trong 24 giờ. Quá trình lặp lại ít nhất 3 lần cho đến khi dịch chiết thu được không còn màu đặc trưng. Cao chiết thô được phân bố trong nước cất và tiến hành trích ly phân đoạn theo phương pháp được mô tả bởi Nguyen et al. (2021)

2.3.2. Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định theo phương pháp Folin–Ciocalteu với một số điều chỉnh nhỏ được mô tả lại bởi Nguyen và Eun (2011). Tổng hàm lượng flavonoid được xác định theo phương pháp so màu tiến hành bởi Zhishen et al. (1999).

2.3.3. Phương pháp đánh giá các hoạt tính sinh học trên mô hình *in vitro*

Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH^{*} theo phương pháp so màu bởi Brand-Williams et al. (1995). Khả năng trung hòa gốc tự do ABTS⁺⁺ theo phương pháp so màu tiến hành bởi Re et al. (1999).

Hoạt tính kháng viêm *in vitro* thông qua khả năng ức chế biến tính albumin trứng theo Dharmadeva et al. (2018).

Khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase được xác định theo các phương pháp mô tả bởi Kwon et al. (2016).

Khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh theo phương pháp khuếch tán đĩa thạch mô tả bởi Singh et al. (2016). Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) xác định dựa trên phương pháp resazurin-based turbidometric (TB) được mô tả bởi Teh *et al.* (2017).

Hoạt tính kích thích sinh trưởng lợi khuẩn trong điều kiện tăng đường huyết *in vitro* theo phương pháp mô tả bởi Xie et al. (2017).

2.3.4. Phương pháp đánh giá khả năng chống đái tháo đường trên mô hình cá ngựa vằn

Cá ngựa vằn (Zebrafish, *Danio rerio*) được nuôi theo tiêu chuẩn phòng thí nghiệm cá ngựa vằn, hướng dẫn của Westerfield et al. (2000).

Phương pháp đánh giá tính an toàn của các loại cao chiết theo hướng dẫn của OECD 203 và 423

Cá được cho ăn cưỡng bức theo Collymore et al. (2013) với maltodextrin là nguồn cung cấp đường bột, các nghiệm thức bổ sung cao chiết ở nồng độ 75 mg/kg khối lượng cá với đối chứng là acarbose. Đường huyết sau ăn được xác định bằng máy đo đường huyết (MulticareIn, Biochemical Systems International, Italia).

Cá ngựa vằn được gây đái tháo đường theo Zang *et al.* (2017). Sau đó, cá được ngâm với cao chiết ở nồng độ 10 mg/L dịch nuôi, đối chứng dương sử dụng metformin 20 μ M. Mức đường huyết được xác định tại các thời điểm cách nhau 5 ngày trong 20 ngày theo Zang *et al.* (2013).

Thành phần ruột cá được thu nhận. Các vùng siêu biến động V3-V4 của 16S rRNA được giải trình tự bằng phương pháp đầu cặp (paired-end sequencing) Illumina MiSeq. Phân tích tin sinh học được tiến hành nhằm đánh giá đa dạng hệ vi sinh đường ruột.

Mức độ biểu hiện gene liên quan đến kiểm soát đường huyết và đái tháo đường được phân tích bằng phản ứng chuỗi polymerase định lượng gene thời gian thực (qRT-PCR). Gene tham chiếu là β -actin.

2.3.5. Phương pháp phân lập các hợp chất tinh khiết

Cao chiết phân đoạn tiềm năng được tách qua sắt ký cột hở với pha tĩnh là silica gel và pha động là dung môi thích hợp theo kết quả sắc ký bản mỏng TLC. Các kỹ thuật cộng hưởng từ hạt nhân ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HSQC, HMBC); phổ Noisy và Cosy dùng để xác định cấu hình không gian, phổ LC-MS để xác định công thức phân tử, cấu trúc phân tử và khối lượng phân tử.

2.3.6. Định lượng các hợp chất bằng sắc ký lỏng cao áp (UHPLC)

Các hợp chất polyphenol trong cao chiết được phân tích trên máy sắc ký lỏng cao áp (Thermo-Ultimate 3000UPLC, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

2.3.7. Phương pháp phân tích tương quan (Correlation analysis) và phân tích thành phần chính (Principal Component Analysis, PCA)

Mối liên hệ giữa hàm lượng hoạt chất với hoạt tính sinh học được xác định bằng phân tích tương quan Pearson. Thành phần tác động chính đối với các hoạt tính sinh học và mối liên hệ giữa các các yếu tố phân tích được trực quan hóa bằng phân tích PCA.

2.3.8. Chuẩn bị hỗn hợp sấy phun

Năm hỗn hợp khác nhau được chuẩn bị cho sấy phun theo công thức ở Bảng 2.3

2.3.9. Phương pháp sấy phun

Hỗn hợp được làm khô bằng máy sấy phun (Model YC-015, ShangHai Pilotech, Trung Quốc). Nhiệt độ đầu vào và ra tương ứng là $140\text{ }^\circ\text{C}$ và $97.3\text{ }^\circ\text{C}$. Tốc độ nạp mẫu là 120 mL/h .

Bảng 2.3. Các công thức sấy phun

Công thức	Thành phần (g/100 g)					SZE
	RMD	GA	α CD	β CD	γ CD	
T1	19	-	-	-	-	1
T2	17	2	-	-	-	1
T3	17	-	2	-	-	1
T4	17	-	-	2	-	1
T5	17	-	-	-	2	1

RMD: maltodextrin kháng tiêu hóa, GA: gum Arabic, α CD: α -cyclodextrin, β CD: β -cyclodextrin, γ CD: γ -cyclodextrin, SZE: cao chiết Trâm vô đó, “-”: Không bổ sung

2.3.10. Phương pháp đánh giá các tính chất hạt vi bao

- Độ ẩm xác định bằng máy phân tích OHAUS MB95. Hoạt độ nước được đo bằng máy phân tích HygroPalm HP23-AW-A (Rotronic AG).
- Mật độ khối, Độ hòa tan, Tốc độ hấp thu nước, Độ trương nước Hiệu suất vi bao, Mức độ giải phóng hợp chất polyphenol theo phương pháp được mô tả lại bởi Navarro-Flores et al. (2020)
- Khả năng phân tán theo phương pháp mô tả bởi Shittu et al. (2007)
- Hình thái của các hạt vi bao được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét Phenom ProX (ThermoFisher Scientific) ở mức điện áp 15 kV.

2.3.11. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học của sản phẩm vi bao

Khả năng trung hòa DPPH[•] và ABTS^{•+} theo phương pháp so màu, Brand-Williams et al. (1995) và Re et al. (1999).

Khả năng ức chế α -amylase và α -glucosidase xác định bằng các phương pháp được tiến hành bởi Kwon et al. (2016).

2.3.12. Phương pháp đánh giá khả năng hạ đường huyết trên mô hình cá ngựa vằn

Tính an toàn của sản phẩm vi bao theo hướng dẫn của OECD 203 và 423.

Khả năng chống tăng đường huyết sau ăn được tiến hành tương tự đối với các loại cao chiết, bột vi bao sử dụng ở 75 mg/kg khối lượng cá. Maltodextrin kháng tiêu hóa, cao chiết thô và acarbose làm đối chứng.

Khả năng hạ đường huyết trên cá ngựa vằn đái tháo đường tiến hành tương tự đối với cao chiết, bột vi bao được sử dụng ở 20 mg/L.

2.3.13. Phương pháp đánh giá khả năng kiểm soát đường huyết thông qua điều hòa biểu hiện gene của sản phẩm vi bao cao chiết

Tác động điều hòa biểu hiện gene của sản phẩm vi bao được đánh giá bằng phương pháp tương tự đối với cao chiết.

2.3.14. Phương pháp đánh giá khả năng kháng viêm của sản phẩm vi bao cao chiết

Ấu trùng 3 ngày tuổi được gây viêm bằng CuSO₄ 20 μ M trong 2 giờ trước khi điều trị với bột vi bao ở nồng độ 50, 100, 150 mg/L trong

24 giờ. Cao chiết ở nồng độ tương đương 2,5; 5; 7,5 mg/L và ibuprofen 2 mg/L là đối chứng. Chi tiêu đánh giá là tỷ lệ viêm tại các thời điểm 2, 4, 6, và 24 giờ tác động.

2.3.15. Chuẩn bị mẫu bảo quản ở điều kiện cưỡng bức

Mẫu được bảo quản ở điều kiện cưỡng bức và xây dựng mô hình động học được tiến hành theo Lago & Noreña (2017). Bố trí thí nghiệm theo Bảng 2.5.

2.3.16. Phương pháp xác định các thông số động học suy giảm hoạt chất và dự đoán thời gian bảo quản

Động học suy giảm các hợp chất tự nhiên/hoạt tính sinh học được đánh giá bằng phương trình bậc nhất: $C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$. Thời gian phân hủy 90% (D), Chu kỳ bán rã ($t_{1/2}$) và hệ số nhiệt động (Q_{10}) được xác định theo Lago & Noreña (2017)

2.3.17. Phân tích dữ liệu nghiên cứu

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism version 10.1.2 (324) (San Diego, CA, USA). Phân tích tương quan (Pearson's Correlation Analysis) và phân tích thành phần chính (Principal Component Analysis, PCA) thực hiện bằng phần mềm R phiên bản 4.1.2 với gói FactoMineR.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của trích ly phân đoạn đến thành phần hoạt chất và khả năng hạ đường huyết đa mục tiêu của các loại cao chiết từ vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ

3.1.1. Ảnh hưởng của trích ly phân đoạn đến hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số

Bảng 3.1 cho thấy trích ly phân đoạn có khả năng tập trung cao các hợp chất polyphenol và flavonoid trong các phân đoạn ethyl acetate và n-

Bảng 3.1. Hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số của các loại cao chiết từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ (*S. exaltatum* (L.) DC.)

Cao chiết	TPC (mg GAE/g CK)	TFC (mg QE/g CK)
CE	531,64 ± 3,64 ^c	473,44 ± 24,67 ^c
EAF	904,11 ± 2,23 ^a	897,66 ± 15,55 ^a
BF	810,90 ± 7,61 ^b	710,21 ± 0,00 ^b
WF	482,42 ± 5,10 ^d	427,30 ± 5,43 ^d

Ghi chú: Giá trị trung bình ± SEM (n = 3). Các ký tự khác nhau (a-d) mô tả sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các loại cao chiết theo Fisher's Least Significant Difference (LSD) test ($\alpha = 0,05$).

Bảng 2.5. Điều kiện bảo quản của sản phẩm vi bao

Điều kiện	Nhiệt độ (°C)	Độ ẩm không khí (%RH)	Thời điểm lấy mẫu phân tích (ngày)
Cưỡng bức	40	75	0
	60	90	10
		75	20
		90	30
			40
			50

butanol với giá trị hàm lượng tổng số lần lượt là 904,11 - 810,90 mg GAE/g và 897,66 - 710,21 mg QE/g.

3.1.2. Ảnh hưởng của trích ly phân đoạn đến khả năng kiểm soát đường huyết đa mục tiêu trên mô hình *in vitro* của các loại cao chiết từ vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ

3.1.2.1. Hoạt tính chống oxy hóa

Bảng 3.2 cho thấy khả năng trung hòa gốc tự do DPPH[•] cũng như ABTS^{•+} có sự khác biệt đáng kể giữa các loại cao chiết ($p < 0,05$) và khả năng trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} cao hơn so với gốc tự do DPPH[•]. EAF có hoạt tính cao nhất. Các hợp chất chống oxy hóa tập trung trong phân đoạn ethyl acetate.

3.1.2.2. Khả năng kháng viêm *in vitro*

Bảng 3.3 cho thấy khả năng ức chế biến tính albumin của các loại cao chiết tăng dần theo sự thay đổi nồng độ cao chiết từ 1,56 đến 50 $\mu\text{g/mL}$ sau đó giảm xuống khi nồng độ tăng lên 100 $\mu\text{g/mL}$ và có sự khác nhau đáng kể giữa các loại cao chiết ($p < 0,05$). Quá trình trích ly phân đoạn ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính kháng viêm của cao chiết Trâm vỏ đỏ.

3.1.2.3. Khả năng ức chế enzyme tiêu hóa tinh bột

a. Hoạt tính ức chế α -amylase

Bảng 3.4 cho thấy sự khác biệt đáng kể giữa các loại cao chiết về khả năng ức chế α -amylase. Trong đó, cao chiết thô thể hiện hoạt tính ức α -amylase là cao nhất và cao chiết ethyl acetate là thấp nhất. Đồng tương tác của các hợp chất trong cao chiết làm khả năng ức chế α -amylase cao chiết thô cao hơn so với các loại cao chiết phân đoạn.

Bảng 3.2. Hoạt tính chống oxy hóa của các loại cao chiết từ vỏ thân Trâm vỏ đỏ (*S. zeylanicum* L.) DC.)

Cao chiết	Hoạt tính chống oxy hóa (g TE/g CK)	
	DPPH	ABTS
CE	1,26 ± 0,01 ^b	1,40 ± 0,04 ^e
EAF	1,50 ± 0,05 ^a	3,27 ± 0,06 ^d
BF	1,13 ± 0,01 ^c	1,51 ± 0,04 ^{bc}
WF	1,04 ± 0,00 ^f	1,70 ± 0,09 ^b

Ghi chú: Giá trị trung bình ± SEM (n = 3). Các ký tự khác nhau (a-d) mô tả sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các loại cao chiết theo Fisher's Least Significant Difference (LSD) test ($\alpha = 0,05$).

Bảng 3.4. Khả năng ức chế enzyme thủy phân tinh bột của các loại cao chiết từ vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ (*S. zeylanicum* L.) DC.)

Cao chiết	Khả năng ức chế enzyme, IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	
	α -amylase	α -glucosidase
CE	4,19 ± 0,01 ^d	0,41 ± 0,01 ^b
EAF	12,32 ± 0,01 ^a	0,43 ± 0,01 ^b
BF	5,88 ± 0,00 ^b	0,37 ± 0,01 ^c
WF	4,52 ± 0,00 ^f	0,69 ± 0,01 ^a
Acarbose (Đối chứng đường)	5,91 ± 0,09 ^b	16037,86 ± 5,08 ^a

Ghi chú: Giá trị trung bình ± SEM (n = 3). Các ký tự khác nhau (a-d) mô tả sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các loại cao chiết theo Fisher's Least Significant Difference (LSD) test ($\alpha = 0,05$).

b. Hoạt tính ức chế α -glucosidase

Bảng 3.4 cho thấy có sự khác biệt đáng kể giữa các loại cao chiết về khả năng ức chế α -glucosidase. Trong đó, BF có hoạt tính ức chế enzyme cao nhất và thấp nhất là cao chiết phân đoạn nước WF. Tất cả các loại cao chiết đều có hoạt tính ức chế α -glucosidase cao hơn rõ rệt so với acarbose ($p < 0,05$). Các hợp chất tiềm năng trong hỗ trợ giảm đường huyết thông qua ức chế enzyme tiêu hóa tinh bột tập trung cao ở hai phân đoạn ethyl acetate và n-butanol.

3.1.2.4. Khả năng kháng hại khuẩn và kích thích sinh trưởng lợi khuẩn trong điều kiện in vitro

a. Khả năng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn gây bệnh

Bảng 3.5 cho thấy đường kính vùng kháng khuẩn tăng dần theo chiều tăng nồng độ ở tất cả các loại cao chiết. Trong đó, hoạt tính của EAF cao hơn đáng kể so với các loại cao chiết còn lại ($p < 0,05$).

Bảng 3.6 cho thấy sự khác biệt đáng kể trong hoạt tính ức chế của các loại cao chiết khác nhau đối với từng loại vi khuẩn. Sự tập trung các hợp chất polyphenol và flavonoid về cao chiết EAF (Bảng 3.1) có thể đã giúp nâng cao hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết này.

b. Khả năng kích thích sinh trưởng lợi khuẩn của cao chiết trong điều kiện in vitro

Bảng 3.7 cho thấy sự khác biệt đáng kể trong khả năng kích thích sinh trưởng *L. casei* của các loại cao chiết ($p < 0,05$). Trong điều kiện nuôi cấy không bổ sung glucose, hoạt tính của EAF là lớn nhất, thấp nhất là CE. Hoạt tính này phụ thuộc vào thành phần hoạt chất và nồng độ tác dụng, nồng độ độ cao có thể gây ức chế ngược. Trong điều kiện môi trường nuôi cấy bổ sung glucose, hoạt tính thay đổi đáng kể ($p < 0,05$). Thành phần hoạt tính kích thích lợi khuẩn là một nhóm chất nhất định được tách về phân đoạn ethyl acetate trong quá trình trích ly.

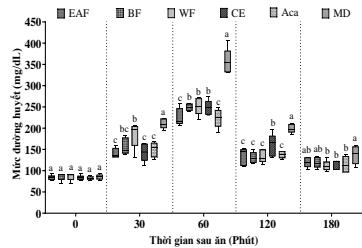
3.1.3. Khả năng kiểm soát đường huyết của cao chiết trên mô hình *in vivo*

3.1.3.5. Đánh giá độc tính của các loại cao chiết trên mô hình cá ngựa vằn

Bảng 3.8 cho thấy, độ an toàn của các loại cao chiết đối với ấu trùng cá 5 ngày tuổi là khác nhau. Bảng 3.9 cho thấy cao chiết đều thuộc nhóm độc tính thấp theo OECD 423. Bảng 3.10 cho thấy các loại cao chiết an toàn với cá ngựa vằn trưởng thành ở nồng độ 75 mg/kg (đối với đường uống) và nồng độ 10 mg/L dịch nuôi (ngâm)

3.1.3.6. Khả năng làm chậm gia tăng đường huyết sau ăn

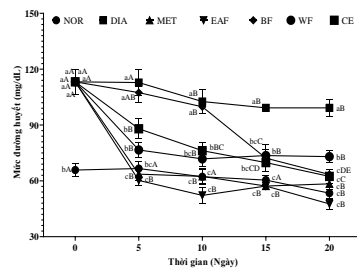
Hình 3.1 cho thấy, cao chiết làm chậm đáng kể sự gia tăng đường huyết sau ăn trên cá ngựa vằn. Hiệu quả tác động khác nhau đáng kể giữa các loại cao chiết theo thời gian ($p < 0,05$). Tác dụng làm chậm gia tăng đường huyết sau ăn rõ rệt nhất của các loại cao chiết sau 60 phút cho ăn. Cao EAF có hoạt tính tương đương acarbose.



Hình 3.1. Tác dụng của các loại cao chiết từ vỏ thân Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC.) và acarbose đối với đường huyết sau ăn ở cá ngựa vằn khỏe mạnh

3.1.3.7. Hiệu quả hạ đường huyết trên mô hình cá ngựa vằn đái tháo đường

Hình 3.2 cho thấy mức độ tác động khác nhau đáng kể của các loại cao chiết và metformin đối với mức đường huyết của cá đái tháo đường trong 20 ngày điều trị. Các loại cao chiết EAF, WF, CE và metformin cho hiệu quả giảm mức đường huyết rõ rệt sau 5 ngày tác động, BF cho thấy hiệu quả sau 15 ngày. Cao chiết phân đoạn ethyl acetate có tiềm năng kiểm soát đường huyết cao nhất.



Hình 3.2. Tác dụng của các loại cao chiết từ vỏ thân Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC.) và metformin đối với đường huyết ở cá ngựa vằn đái tháo đường.

3.1.4. Tiềm năng chống đái tháo đường đa mục tiêu của cao chiết phân đoạn ethyl acetate từ vỏ thân Trâm vồ đỏ

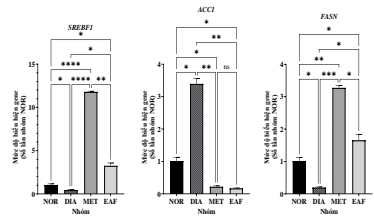
3.1.4.8. Tác động phục hồi hệ vi sinh đường ruột cá ngựa vằn đái tháo đường

Hình 3.3, Hình 3.4, Hình 3.5 cho thấy sự phân bố hệ vi sinh đường ruột của cá đái tháo đường điều trị với EAF tương đồng với cá ngựa vằn bình thường hơn so với nhóm điều trị với metformin. Hình 3.6 cho thấy các con đường chuyển hóa ở nhóm điều trị với EAF có độ tương đồng cao với cá bình thường, trong khi metformin làm thay đổi đáng kể các quá trình trao đổi chất.

3.1.4.9. Khả năng điều hòa biểu hiện gene liên quan kiểm soát đường huyết trên mô hình cá ngựa vằn

a. Tác động điều hòa biểu hiện gene liên quan sinh tổng hợp chất béo

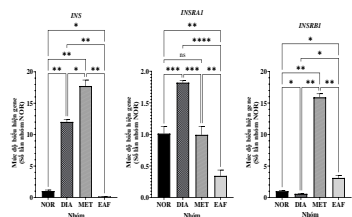
Hình 3.7 cho thấy EAF cải thiện biểu hiện gene *SREBF1*, *FASN* và giảm biểu hiện gene *ACC1* so với nhóm đối chứng không điều trị ($p < 0,05$). EAF có thể cải thiện tình trạng đái tháo đường tương tự metformin đối với các con đường chuyển hóa chất béo.



Hình 3.7. Ảnh hưởng của cao chiết phân đoạn ethyl acetate từ vỏ thân Trâm vồ đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC.) đến biểu hiện một số gene liên quan chuyển hóa chất béo

b. Tác động biểu hiện gene insulin và thụ thể insulin

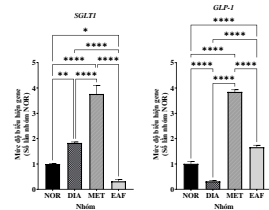
Hình 3.8 cho thấy EAF làm giảm đáng kể biểu hiện gene *INS* và *INSRA1*, và tăng biểu hiện gene *INSRB1* ở mức độ thấp hơn so với metformin ($p < 0,01$). Cùng với mức đường huyết ổn định (Hình 3.2), EAF có thể đã cải thiện tình trạng kháng insulin ở cá đái tháo đường.



Hình 3.8. Ảnh hưởng của cao chiết phân đoạn ethyl acetate từ vỏ thân cây Trâm vồ đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC.) đến biểu hiện gene insulin và thụ thể sau 20 ngày tác động.

c. Tác động biểu hiện gene liên quan hấp thu và chuyển hóa glucose

Hình 3.9 cho thấy EAF có thể kiểm soát lượng glucose xâm nhập vào máu bằng cách ức chế biểu hiện gene *SGLT1* và tăng chuyển hóa glucose thông qua biểu hiện gene *GLP-1*.



Hình 3.9. Ảnh hưởng của cao chiết phần đoạn ethyl acetate từ vỏ thân cây Trâm vồ đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC.) đến biểu hiện gene liên quan hấp thu và chuyển hóa glucose sau 20 ngày tác động.

3.2. Phân lập các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học từ vỏ thân cây Trâm vồ đỏ

3.2.1. Các hợp chất có tiềm năng kiểm soát đường huyết

Nghiên cứu cô lập được 10 hợp chất polyphenol có tiềm năng từ vỏ thân Trâm vồ đỏ gồm ellagic acid, epicatechin, ethyl gallate, quercetin, quercitrin, rutin, vitexin, gallic acid, chlorogenic acid, catechin.

3.2.2. Hàm lượng các hợp chất polyphenol trong các loại cao chiết từ vỏ thân cây Trâm vồ đỏ

Bảng 3.11 cho thấy, catechin có hàm lượng cao nhất trong CE (11.079,7 µg/g), tiếp theo là chlorogenic acid, rutin, ellagic acid và epicatechin (5405,5 µg/g đến 8714,81 µg/g), trong khi gallic acid, ethyl gallate, quercetin và quercitrin có hàm lượng thấp hơn (2708,73 đến 3514,38 µg/g). Caffeine và apigenin có hàm lượng thấp nhất chiếm từ 447,13 đến 493,46 µg/g. Các hợp chất có mức độ tập trung cao trong phân đoạn ethyl acetate và chứa tất cả các thành phần được phân tích trong cao chiết thô với hàm lượng cao.

Bảng 3.11. Thành phần và hàm lượng các hợp chất polyphenol trong cao chiết từ vỏ thân Trâm vồ đỏ (*S. zeylanicum* L. (DC.))

Hợp chất polyphenol (µg/g CK)	Cao chiết				WF
	CE	EAF	BF	WF	
GA	2.708,73 ± 0,01 ^{BF}	47.476,10 ± 0,14 ^{AB}	2.296,90 ± 0,32 ^H	560,627 ± 0,30 ^{JI}	
Gal	11.079,70 ± 0,01 ^{GA}	70.040,80 ± 0,24 ^{BA}	16.876,90 ± 0,11 ^{BA}	1.5454 ± 0,19 ^{GF}	
E-Gal	5.405,4 ± 0,01 ^{DE}	43.851,00 ± 0,01 ^{AC}	7.753,74 ± 0,23 ^{BE}	5.879,54 ± 0,61 ^{EA}	
Caf	493,46 ± 0,01 ^{CD}	4.922,62 ± 0,23 ^{AI}	1.257,84 ± 0,05 ^{BI}	717,77 ± 0,28 ^{EH}	
EG	2.657,29 ± 0,00 ^{CG}	5.215,96 ± 0,17 ^{HI}	4.167,87 ± 0,11 ^{BF}	1.866,99 ± 0,19 ^{DE}	
RT	7.230,78 ± 0,01 ^{EC}	14.301,30 ± 0,41 ^{AG}	13.714,90 ± 0,23 ^{BB}	3.454,38 ± 0,39 ^{CG}	
EA	5.603,90 ± 0,01 ^{BD}	23.183,90 ± 0,15 ^{AE}	2.344,92 ± 0,23 ^{CG}	761,42 ± 0,36 ^{IG}	
Querce	2.460,51 ± 0,01 ^{BH}	3.954,62 ± 0,24 ^J	1.048,00 ± 0,16 ^{CI}	604,5 ± 0,49 ^{HI}	
Ap	447,13 ± 0,00 ^{BI}	1.345,67 ± 0,27 ^{JK}			
CHA	8.714,81 ± 0,01 ^{AB}	21.945,10 ± 0,15 ^{BD}	9.264,81 ± 0,15 ^{BD}	4.598,40 ± 0,26 ^{BB}	
Querci	3.514,38 ± 0,02 ^{DE}	25.237,70 ± 0,27 ^{AD}	10.845,7 ± 0,40 ^{BC}	2.630,44 ± 0,45 ^{BD}	

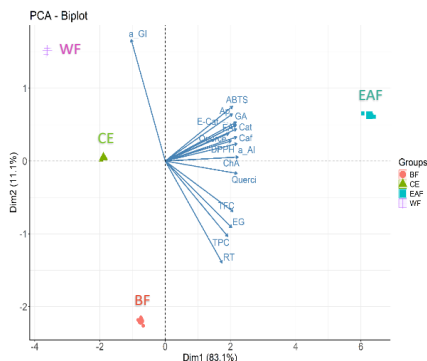
Ghi chú: Giá trị trung bình ± SEM (n = 5). Các ký tự khác nhau (a-d) mô tả sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hàm lượng hoạt chất giữa các loại cao chiết (theo hàng) và các ký tự khác nhau (A-E) mô tả sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các hoạt chất trong cùng một cao chiết (cột) theo Fisher's Least Significant Difference (LSD) test (α = 0,05).

3.2.3. Phân tích tương quan (Pearson correlation analysis) giữa các hoạt chất và hoạt tính sinh học của cao chiết

Bảng 3.12 cho thấy mối liên quan chặt chẽ giữa thành phần và hàm lượng các polyphenol với hoạt tính sinh học của các loại cao chiết. Trong đó, flavonoid là thành phần chính của các polyphenol. Ellagic acid, quercetin, apigenin, chlorogenic acid liên quan đến khả năng trung hòa DPPH[•]. Gallic acid, catechin, epicatechin, caffeine, ellagic acid, chlorogenic acid, quercitrin liên quan đến khả năng trung hòa ABTS^{•+}. Tương quan thuận giữa hầu hết các hợp chất tự nhiên với giá trị IC₅₀ của ức chế α -amylase. Ethyl gallate và rutin liên quan chặt chẽ đến khả năng ức chế α -glucosidase.

3.2.4. Phân tích thành phần chính (Principal component analysis, PCA) về thành phần hoạt chất và hoạt tính sinh học của cao chiết

Hình 3.20 cho thấy sự tách biệt rõ rệt và có ý nghĩa thống kê giữa thành phần của các loại cao chiết. Ethyl acetate tập hợp hầu hết các thành phần có hoạt tính chống oxy hóa cao. Gallic acid, catechin, epicatechin, ellagic acid, quercetin, caffeine và apigenin chống oxy hóa tốt hơn chlorogenic acid, quercitrin, ethyl gallate và rutin. Mức độ tập trung các hợp chất này làm giảm hoạt tính ức chế α -amylase. Tỷ lệ rutin và ethyl gallate liên quan mật thiết đến hoạt tính ức chế α -glucosidase.



Hình 3.20. Phân tích thành phần chính (PCA) Biplot cho tổng hàm lượng polyphenol và flavonoid, khả năng chống oxy hóa, hoạt tính ức chế enzyme, các hợp chất polyphenol của cao chiết từ vỏ thân cây Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* L. (DC.))

3.3. Vi bao gói cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ

3.3.1. Điều kiện và chất mang sử dụng vi bao gói vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ

3.3.1.10. Các tính chất vật lý và đặc điểm hình thái hạt vi bao

Bảng 3.13 cho thấy sản phẩm vi bao theo các công thức khác nhau có các thuộc tính lý hóa khác nhau. Trong đó, công thức T1 và T2 có độ hòa tan và độ trương nở cao nhất. Hình 3.21 cho thấy các hạt vi bao đều có dạng hình cầu đường kính nhỏ hơn 10 μm . Sự phân bố kích thước hạt và độ co (shrinkage) của hạt vi bao ở các công thức khác nhau thay đổi đáng kể. Hạt T1 có kích thước và độ co lớn nhất.

3.3.1.11. Hiệu suất sấy, hiệu quả vi bao, và thành phần hoạt chất của hạt vi bao

Bảng 3.14 cho thấy hiệu quả vi bao gói và hàm lượng polyphenol tổng số của các vi nang không khác biệt đáng kể giữa các công thức. Hiệu quả vi bao gói của các công thức đều cao hơn 97% chứng tỏ rằng maltodextrin kháng tiêu hoá hoặc hỗn hợp maltodextrin với các vật liệu khác đều phù hợp.

3.3.2. Động học giải phóng polyphenol từ hạt vi bao

Hình 3.22 cho thấy các công thức T1 có thể giúp phân tán tốt hơn các thành phần hoạt chất vào dung dịch. Bảng 3.15 cho thấy các mô hình mô hình bậc 0, bậc 1, Higuchi và Korsmeyer-Peppas đều phù hợp để biểu thị động học giải phóng hoạt chất của các vi nang ($R^2 > 0,93$). Mô hình Higuchi là phù hợp với T1 và T2, mô hình bậc nhất phù hợp hơn với T3, T4 và T5.

Bảng 3.13. Các thuộc tính lý hóa của sản phẩm vi bao gói cao chiết vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ

Công thức	Vật liệu vi bao	Độ ẩm (%)	Hoạt độ nước	Mật độ khối (g/cm ³)	Độ phân tán (%)	Độ hòa tan (%)	Độ hấp thụ nước (mg/g)	Khả năng trương nở (mg/g)
T1	RMD	3,07±0,206 ^c	0,402±0,001 ^a	0,47±0,01 ^a	58,09±1,79 ^a	95,06±0,09 ^a	92,61±3,81 ^c	192,60±3,67 ^a
T2	RMD-GA	2,98±0,22 ^c	0,341±0,001 ^d	0,43±0,01 ^b	59,82±1,43 ^b	94,59±0,07 ^b	93,17±0,84 ^c	175,05±2,23 ^b
T3	RMD- α CD	3,31±0,33 ^b	0,344±0,001 ^c	0,42±0,00 ^b	62,83±1,63 ^b	94,00±0,20 ^b	116,89±2,41 ^b	157,23±5,62 ^c
T4	RMD- β CD	4,24±0,20 ^{ab}	0,354±0,001 ^b	0,40±0,01 ^b	59,01±1,49 ^b	92,51±0,23 ^c	148,37±3,25 ^a	123,71±3,97 ^d
T5	RMD- γ CD	4,77±0,40 ^a	0,345±0,001 ^c	0,48±0,02 ^a	59,29±2,24 ^a	93,69±0,14 ^b	98,65±3,98 ^c	148,72±3,58 ^c

Ghi chú: Giá trị trung bình \pm SEM (n = 3). Các ký tự khác nhau (a-d) mô tả sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (theo kết) theo Fisher's Least Significant Difference (LSD) test ($\alpha = 0,05$).

3.3.3. Hoạt tính hạ đường huyết *in vitro* của sản phẩm vi bao

3.3.3.12. Khả năng chống oxy hóa

Bảng 3.16 cho thấy khả năng chống oxy hóa của các sản phẩm vi bao gói có liên quan chặt chẽ đến mức độ các polyphenol được giải phóng. Hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH và ABTS của vi nang T1 là cao nhất.

Bảng 3.16. Khả năng chống oxy hóa của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân cây Trâm vồ đỏ

Công thức	Vật liệu bao gói	Giá trị IC ₅₀ (mg/mL) của khả năng dập tắt gốc tự do	
		DPPH	ABTS
T1	RMD	1,28±0,02 ^c	1,22 ± 0,01 ^f
T2	RMD-GA	1,46±0,03 ^a	1,35 ± 0,03 ^a
T3	RMD- αCD	1,40±0,01 ^a	1,26 ± 0,01 ^{bc}
T4	RMD- βCD	1,31±0,03 ^{bc}	1,26 ± 0,02 ^{bc}
T5	RMD-γCD	1,42±0,04 ^a	1,30 ± 0,03 ^{ab}

Ghi chú: Giá trị trung bình ± SEM (n = 3). Các ký tự khác nhau (a-c) mô tả sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (theo cột) theo Fisher's Least Significant Difference (LSD) test ($\alpha = 0,05$).

3.3.3.13. Khả năng ức chế enzyme tiêu hóa tinh bột

Bảng 3.17 cho thấy dịch phân tán từ các hạt vi bao có tác dụng ức chế cao đối với hoạt động của cả hai enzyme. Các vi nang T1 và T3 thể hiện hoạt tính ức chế α-amylase cao nhất. Đối với khả năng ức chế α-glucosidase, vi nang T1 có hiệu quả cao nhất, thấp nhất là T2.

Bảng 3.17. Khả năng ức chế enzyme của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân cây Trâm vồ đỏ

Công thức	Vật liệu bao gói	Giá trị IC ₅₀ (mg/mL) của khả năng ức chế enzyme	
		α-amylase	α-glucosidase
T1	RMD	50,13±0,44 ^f	22,24 ± 0,53 ^f
T2	RMD-GA	56,03 ± 0,86 ^b	31,02 ± 0,50 ^a
T3	RMD- αCD	48,78 ± 1,11 ^c	28,83 ± 0,53 ^b
T4	RMD- βCD	58,55 ± 1,10 ^{ab}	27,92 ± 0,34 ^b
T5	RMD-γCD	59,56 ± 1,33 ^a	28,50 ± 0,34 ^b

Ghi chú: Giá trị trung bình ± SEM (n = 3). Các ký tự khác nhau (a-c) mô tả sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức (theo cột) theo Fisher's Least Significant Difference (LSD) test ($\alpha = 0,05$).

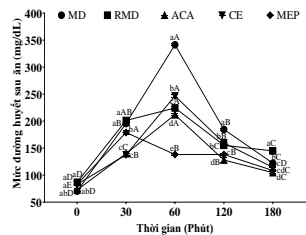
3.3.4. Khả năng kiểm soát đường huyết của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân cây Trâm vồ đỏ trên mô hình cá ngựa vằn

3.3.4.1. Tính an toàn của sản phẩm vi bao

Bảng 3.18 cho thấy sản phẩm vi bao an toàn với ấu trùng cá ngựa vằn ở nồng độ từ 300 mg/L trở xuống. Giá trị LD₅₀ là 376,67 mg/L. Bảng 3.19 cho thấy các sản phẩm vi bao không độc đối với cá ngựa vằn trưởng thành ở nồng độ thử nghiệm giới hạn, 5.000 mg/kg theo OECD 423.

3.3.4.2. Khả năng chống gia tăng đường huyết sau ăn của sản phẩm vi bao

Hình 3.23 cho thấy các nghiệm thức bổ sung cao chiết (CE), maltodextrin kháng tiêu hóa (RMD), bột vi bao (MEP), và acarbose đều làm

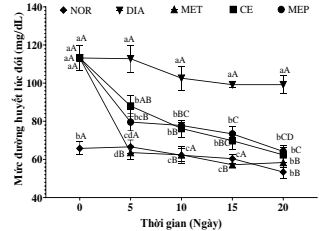


Hình 3.23. Khả năng làm chậm quá trình gia tăng đường huyết sau ăn của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân Trâm vồ đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC) trên mô hình cá ngựa vằn.

chậm đáng kể sự gia tăng đường huyết sau ăn. MEP thể hiện hoạt tính thấp hơn CE và acarbose sau 30 phút ($p < 0,0001$). Tuy nhiên, hiệu quả giảm đường huyết sau ăn vượt trội hơn so sau 60 phút.

3.3.4.3. Hiệu quả hạ đường huyết của sản phẩm vi bao trên mô hình cá đái tháo đường

Hình 3.24 cho thấy mức đường huyết lúc đói ở cá ngựa vằn đái tháo đường giảm đáng kể được điều trị với CE và MEP sau 5 ngày tác động ($p < 0,0001$). Mức đường huyết giảm đều về bình thường, tương đương cá khỏe mạnh, sau 20 ngày tác động.

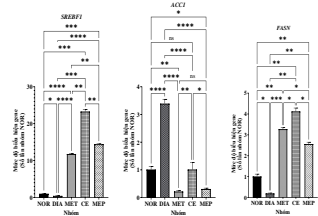


Hình 3.24. Tác động của sản phẩm vi bao cao chiết từ thân Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC) lên đường huyết lúc đói của cá ngựa vằn đái tháo đường sau 20 ngày điều trị.

3.3.5. Tác động của sản phẩm vi bao lên khả năng điều hòa biểu hiện gene liên quan kiểm soát đường huyết trên mô hình cá ngựa vằn

3.3.5.4. Tác động điều hòa biểu hiện gene liên quan sinh tổng hợp chất béo

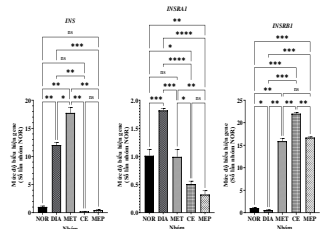
Hình 3.25 cho thấy sản phẩm vi bao cao chiết (MEP) gia tăng biểu hiện gene *SREBF1*, *FASN* và giảm biểu hiện gene *ACCI*. Mức độ tác động có sự khác biệt đáng kể đối với metformin và cao chiết không được vi bao gói (CE).



Hình 3.25. Ảnh hưởng bột vi bao cao chiết từ vỏ thân Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC.) đến biểu hiện một số gene liên quan chuyển hóa chất béo sau 20 ngày tác động.

3.3.5.5. Tác động biểu hiện gene insulin và thụ thể insulin của sản phẩm vi bao

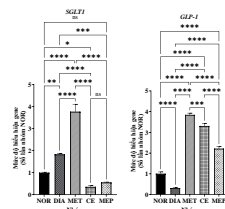
Hình 3.26 cho thấy tác dụng điều hòa khác nhau đối với biểu hiện gene insulin (*INS*) và các thụ thể (*INSRA1* và *INSRB1*) của cá đái tháo đường của MEP sau 20 ngày tác động. Sự khác biệt thể hiện trong mức độ điều hòa biểu hiện gene giữa các nhóm điều trị và giữa các gene.



Hình 3.26. Ảnh hưởng bột vi bao cao chiết từ vỏ thân Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC.) đến biểu hiện gene insulin và thụ thể sau 20 ngày tác động.

3.3.5.6. Tác động biểu hiện gene liên quan đến hấp thu và chuyển hóa glucose

Hình 3.27 cho thấy MEP có hiệu quả trong khả năng tái lập cân bằng hấp thu glucose vào máu thông qua điều hòa *SGLT1*. Mức độ điều hòa tăng *GLP-1* của MEP thấp hơn so với CE và metformin ($p < 0,0001$) cho thấy MEP có thể giúp giảm bớt các tác dụng phụ tương tự metformin.

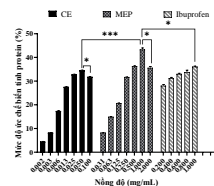


Hình 3.27. Ảnh hưởng bột vi bao cao chiết từ vỏ thân cây Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC.) đến biểu hiện gene liên quan hấp thu và chuyển hóa glucose sau 20 ngày tác động.

3.3.6. Khả năng kháng viêm của sản phẩm vi bao

3.3.6.7. Khả năng chống biến tính protein

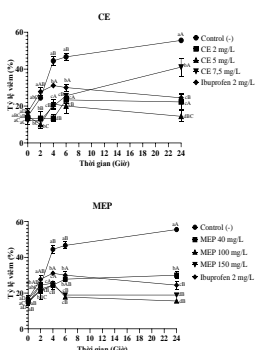
Hình 3.28 cho thấy tương quan thuận giữa khả năng kháng viêm *in vitro* với nồng độ của CE, MEP và Ibuprofen ($p < 0,001$). MEP có tỷ lệ ức chế biến tính tối đa 43% ở 1,0 mg/mL, cao hơn đáng kể so với CE 0,05 mg/mL (34,61 %, $p < 0,01$) và ibuprofen 1,0 mg/L (36 %, $p < 0,05$).



Hình 3.28. Khả năng chống biến tính protein của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân cây Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC) so với cao chiết không được vi bao và thuốc kháng viêm ibuprofen.

3.3.6.8. Khả năng bảo vệ ấu trùng cá ngựa vằn trước tác nhân gây viêm

Hình 3.29 cho thấy sự phụ thuộc giữa liều lượng và thời gian điều trị trong hoạt động kháng viêm *in vivo* của CE và MEP. CE ở liều cao có thể ảnh hưởng đến hiệu quả kháng viêm. Trong khi đó, MEP ở nồng độ tương đương thể hiện hoạt tính rõ rệt sau 4 giờ (chậm hơn 2 giờ so với CE), nhưng hiệu quả duy trì tự Ibuprofen đến 24 giờ.



Hình 3.29. Khả năng kháng viêm của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân Trâm vò đỏ (*S. zeylanicum* (L.) DC) trên mô hình ấu trùng cá ngựa vằn.

3.3.7. Sự khác biệt về liên kết hóa học trong sản phẩm vi bao cao chiết

Phổ hồng ngoại (FTIR) cho thấy sự khác biệt trong các liên kết trước và sau khi vi bao gói (Hình 3.30). Sự tương tác giữa các

polyphenol trong CE với RMD có khả năng đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát giải phóng các polyphenol, từ đó tác động sự gia tăng đáng chú ý hoạt tính chống oxy hóa, kháng viêm và khả năng kiểm soát đường huyết *in vitro* và *in vivo* của cao chiết trong điều kiện vi bao gói so với trạng thái tự do, thể hiện ở Bảng 3.20

3.3.8. Các con đường tác động kiểm soát đường huyết trên mô hình cá ngựa vằn của sản phẩm vi bao cao chiết vỏ thân cây Trâm vồ đỏ

Hình 3.31 cho thấy sản phẩm vi bao cao chiết có thể giúp kiểm soát sự gia tăng đường huyết sau ăn và ổn định đường huyết lúc đói ở mức an toàn nhờ tác động đa mục tiêu dựa trên hoạt tính của sản phẩm vi bao và sự kiểm soát giải phóng hoạt chất

3.4. Xây dựng mô hình dự đoán thời hạn bảo quản của sản phẩm vi bao

3.4.1. Sự suy giảm hàm lượng polyphenol theo thời gian bảo quản

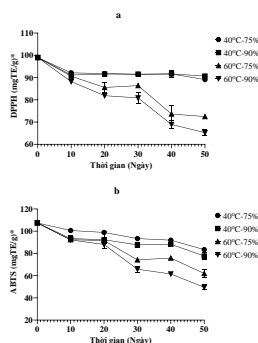
Hình 3.32 cho thấy nhiệt độ và độ ẩm tương đối của môi trường bảo quản có sự tương tác nhất định đến mức độ hút ẩm của bột, có thể dẫn đến sự thay đổi trong thành phần hoạt chất và hoạt tính sinh học. Sự suy giảm hàm lượng polyphenol tổng số ở tất cả các điều kiện thực nghiệm. Trong đó, hàm lượng ổn định hơn ở điều kiện nhiệt độ và độ ẩm thấp.

3.4.2. Sự thay đổi hoạt tính chống oxy hóa của sản phẩm vi bao

Hình 3.33 cho thấy khả năng chống oxy hóa của bột ổn định hơn ở nhiệt độ và độ ẩm thấp; khả năng trung hòa gốc tự do ABTS^{•+} suy giảm nhanh hơn khả năng trung hòa gốc tự do DPPH[•] khi nhiệt độ và độ ẩm thay đổi. Sự suy giảm hàm lượng polyphenol theo thời gian có thể tác động đến khả năng chống oxy hóa của bột sấy phun.

3.4.3. Sự thay đổi hoạt tính ức chế ức chế α -amylase và α -glucosidase.

Hình 3.34 cho thấy độ ổn định hoạt tính ức chế α -amylase tốt hơn so với α -glucosidase trong cùng



Hình 3.33. Ảnh hưởng của nhiệt độ (40 và 60 °C) và độ ẩm tương đối (75 và 90%) đến khả năng chống oxy hóa của sản phẩm cao chiết vỏ thân Trâm vồ đỏ

điều kiện. Nhiệt độ và độ ẩm thấp, hoạt tính ức chế α -amylase giảm 26 đến 30%, ức chế α -glucosidase giảm từ 82 đến 88% sau 50 ngày. Độ ẩm thấp hơn cho thấy sự ổn định hoạt tính hơn.

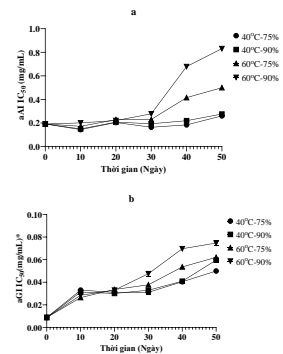
3.4.4. Động học suy giảm hàm lượng polyphenol của sản phẩm vi bao cao chiết theo điều kiện bảo quản

Bảng 3.21 mức độ thoái hóa hoạt chất polyphenol trong sản phẩm vi bao tuân theo quy luật hàm bậc nhất, trong đó điều kiện bảo quản ở 40 °C và độ ẩm tương đối (75 và 90%) đến khả năng ức chế α -amylase và α -glucosidase của sản phẩm vi bao cao chiết vô thân bán rã và suy giảm 90% hoạt tính lần lượt là 346,57 ngày và 1.151,29 ngày, cao hơn đáng kể so với cao chiết không vi bao là 231,05 ngày và 767, 53 ngày.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

1. Quá trình trích ly phân đoạn tập trung được các hoạt chất trong phân đoạn ethyl acetate; đồng thời, nâng cao khả năng kiểm soát đường huyết đa mục tiêu thông qua hoạt tính chống oxy hóa, kháng viêm, ức chế enzyme tiêu hóa tinh bột, chống gia tăng đường huyết sau ăn, ổn định đường huyết lúc đói, khôi phục hệ vi sinh vật đường ruột và điều hòa biểu hiện gene liên quan sinh tổng hợp chất béo (*SREBF1*, *ACCI*, *FASN*), insulin và thụ thể insulin (*INS*, *INSRA1*, *INSRBI*), hấp thu và chuyển hóa glucose (*SGLT1*, *GLP1*); Các hợp chất chính trong phân đoạn ethyl acetate gồm: ellagic acid, (-)-epicatechin, ethyl gallate, quercetin, quercetrin, rutin, vitexin, gallic acid, chlorogenic acid, và catechin. Trong đó, gallic acid, catechin, epicatechin, ellagic acid, quercetin, caffeine và apigenin là các thành phần chống oxy hóa quan trọng. Ethyl gallate và rutin là thành phần chính ức chế α -glucosidase. Tỷ lệ hàm lượng, và sự



Hình 3.34 Ảnh hưởng của nhiệt độ (40 và 60 °C) và độ ẩm tương đối (75 và 90%) đến khả năng ức chế α -amylase và α -glucosidase của sản phẩm vi bao cao chiết vô thân Trâm vô đo theo thời gian bảo quản

tương tác giữa các thành phần có thể ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của cao chiết;

2. Vi bao gói cao chiết từ vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ với maltodextrin kháng tiêu hóa bằng phương pháp sấy phun giúp nâng cao hiệu quả kiểm soát đường huyết đa mục tiêu của cao chiết trên mô hình *in vitro* và *in vivo*. Tương tác giữa vật liệu bao gói và các hợp chất trong cao chiết có thể nâng cao tính sinh khả dụng của sản phẩm vi bao gói. Trong đó, sản phẩm vi bao có khả năng kiểm soát tốt quá trình sinh tổng hợp chất béo thông qua điều hòa biểu hiện gene *SREBF1*, *ACCI*, và *FASN*; cải thiện kháng insulin thông qua gene insulin (*INS*), và thụ thể insulin (*INSRA1* và *INSRB1*); ức chế hấp thu glucose qua thành ruột thông qua gene *SGLT1* và cải thiện chuyển hóa glucose thông qua gene *GLPI*. Đồng thời, mô hình dự đoán thời hạn bảo quản sản phẩm vi bao tuân theo quy luật hàm bậc nhất: $C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$. Sản phẩm vi bao ổn định ở điều kiện nhiệt độ (40 °C) và độ ẩm môi trường bảo quản (75%), với thời gian bán rã và suy thoái 90% hoạt tính lần lượt là 346,57 ngày và 1.151,29 ngày, so với cao chiết không vi bao lần lượt là 231,05 ngày và 767,53 ngày.

Kiến nghị

- + Nghiên cứu tối ưu hóa điều kiện sơ chế, trích ly và vi bao cao chiết để nâng cao hiệu quả khai thác các hợp chất cũng như nâng cao hoạt tính sinh học của các hợp chất tự nhiên từ vỏ thân cây Trâm vỏ đỏ.
- + Nghiên cứu đánh giá các tác động của cao chiết và sản phẩm vi bao trên các mô hình nghiên cứu tiền lâm sàng và lâm sàng để có thể phát triển thành các dạng thực phẩm thuốc cũng như thực phẩm chức năng trong phòng chống bệnh đái tháo đường.
- + Nghiên cứu thử nghiệm sản xuất một số sản phẩm thực phẩm có khả năng ổn định đường huyết hỗ trợ phòng ngừa và điều trị đái tháo đường.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

+ 03 (ba) bài báo đăng trên Tạp chí Khoa học quốc tế thuộc hệ thống SCIE

1. **Minh-Trung Nguyen**, Van-Chuyen Hoang, Minh-Dinh Tran, Quang-Vinh Nguyen* (2022). Microencapsulation of *Syzygium zeylanicum* (L.) DC. extract using spray drying: Effects of wall materials on physicochemical characteristics and biological activities of the microcapsules. *Journal of Food Processing and Preservation*, 00, e16647. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16647> (ISI – SCIE, Q2, IF 2,5)
2. **Minh-Trung Nguyen**, Bich Huyen Bui Thi, Shila Maskey, Minh-Dinh Tran, Quang-Vinh Nguyen* (2023). *In vitro* and *in vivo* antioxidant and antihyperglycemic potentials of phenolic fractions of *Syzygium zeylanicum* (L.) DC trunk-bark. *Food Science & Nutrition*, 00, 1– 10. DOI: 10.1002/fsn3.3373. (ISI – SCIE, Q1, IF 3,9)
3. **Minh-Trung Nguyen**, Thi-Bich-Huyen Bui, Van-Hung Pham, Minh-Dinh Tran, Quang-Vinh Nguyen* (2023). *Syzygium zeylanicum* (L.) DC. polyphenols exhibit anti-diabetic activity by modulation of *ACCI*, *SGLT1*, and *GLP-1* genes and restoration of gut microbiota in overfeeding and high glucose exposure-induced diabetic zebrafish. *Journal of functional foods*, Volume 112, January 2024, 105921. DOI: 10.1016/j.jff.2023.105921. (ISI – SCIE, Q1, IF 5,6)

+ 02 (hai) bài báo đăng trên Tạp chí Khoa học trong nước thuộc hệ thống tính điểm của Hội đồng Giáo sư Nhà nước

4. **Nguyễn Minh Trung**, Bùi Thị Bích Huyền, Nguyễn Quang Vinh* (2023). Nghiên cứu động học suy giảm hàm lượng polyphenol và hoạt tính sinh học của bột sấy phun cao chiết Trâm vỏ đỏ (*Syzygium zeylanicum* (L.) DC.) trong điều kiện

cường bức. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 59(5).
DOI: 10.22144/ctujos.2023.197

5. **Nguyễn Minh Trung**, Bùi Thị Bích Huyền, Mai Quốc Quân, Huỳnh Ngọc Phương Dung, Nguyễn Ngọc Hà Giang, Lê Thị Thùy, Nguyễn Quang Vinh* (2023). Khả năng hạ đường huyết, kháng oxy hóa, kháng khuẩn của cao chiết phân đoạn n-butanol từ vỏ thân cây Trâm vò đỏ (*Syzygium zeylanicum* L.). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, Số đặc biệt, Chất lượng và An toàn thực phẩm vì sức khỏe cộng đồng, Tập I – Tháng 6/2023, tr. 335-343.

+ 01 (một) báo cáo toàn văn đăng trên Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2022

6. **Nguyễn Minh Trung**, Bùi Thị Bích Huyền, Nguyễn Ngọc Hà Giang, Nguyễn Quang Vinh* (2022). Thành phần hợp chất phenolic, khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kích thích sinh trưởng lợi khuẩn của cao chiết từ vỏ thân cây Trâm vò đỏ (*Syzygium zeylanicum* (L.) DC.). *Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ Sinh học Toàn quốc 2022*, Đại học Tây Nguyên