

Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme urease của một số loài thực vật thu hái tại Tây Nguyên và Nam Bộ

Lê Hữu Thọ^{1,2,3}, Nguyễn Xuân Hải^{1,2,3}, Lê Minh Khang^{1,2}, Trương Thành Nhân^{1,2}, Đỗ Văn Nhật Trường^{1,2,3}, Nguyễn Trung Nhân^{1,2,3}, Nguyễn Thị Thanh Mai^{1,2,3,*}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Trong hướng nghiên cứu điều trị bệnh viêm loét dạ dày do vi khuẩn *Helicobacter pylori*, tác dụng ức chế enzyme urease là một mục tiêu quan trọng. Trong nghiên cứu này, 44 loài thực vật từ Tây Nguyên và Nam Bộ đã được thu thập dựa trên ba phương pháp lựa chọn thử nghiệm sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme urease. Tại nồng độ thử nghiệm 250 $\mu\text{g/mL}$, 15 mẫu cây có khả năng ức chế hơn 50% enzyme. Tiếp đó, 5 loài cây có hoạt tính ức chế urease tốt nhất được xác định là củ Nghệ trắng (*Curcuma aromatica*), thân Trâm bầu (*Combretum quadrangulare*), thân Sến đỏ (*Shorea roxburghii*), lá Chè xanh (*Camellia sinensis*) và hạt Móc mèo (*Caesalpinia bonducella*) có khả năng ức chế enzyme urease mạnh với giá trị IC_{50} lần lượt là 22,5, 58,5, 80,8, 86,6 và 97,7 $\mu\text{g/mL}$, so với chất đối chứng dương hydroxyurea ($\text{IC}_{50} = 6,5 \mu\text{g/mL}$). Trong đó, củ Nghệ trắng có hoạt tính mạnh nhất, có tiềm năng phát triển thành thuốc hỗ trợ và điều trị bệnh viêm loét dạ dày do vi khuẩn *H. pylori* gây ra. Nghiên cứu này nhằm góp phần bổ sung dữ liệu cơ sở về các cây thuốc Việt Nam có khả năng điều trị các căn bệnh liên quan đến bệnh viêm loét dạ dày theo cơ chế ức chế vi khuẩn *H. pylori*.

Từ khoá: enzyme urease, viêm loét dạ dày, *Helicobacter pylori*, cây thuốc Việt Nam

¹Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

²Phòng thí nghiệm Phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

³Phòng thí nghiệm Phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Liên hệ

Nguyễn Thị Thanh Mai, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Phòng thí nghiệm Phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Phòng thí nghiệm Phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: nttmai@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 20-10-2023
- Ngày sửa đổi: 25-3-2024
- Ngày chấp nhận: 30-8-2024
- Ngày đăng:

DOI:



1 MỞ ĐẦU

Viêm loét dạ dày – tá tràng là hiện tượng lớp niêm mạc dạ dày bị tổn thương do enzyme pepsin và acid được tiết ra từ tế bào thành dạ dày. Đây là căn bệnh mãn tính, có diễn biến chu kỳ, thường tái phát và dễ gây biến chứng nguy hiểm như chảy máu hay loét dạ dày thậm chí có thể phát triển thành ung thư dạ dày dẫn đến ảnh hưởng chất lượng cuộc sống và công việc của người mắc bệnh¹. Tỷ lệ mắc bệnh loét dạ dày – tá tràng chiếm khoảng 10 – 15% dân số thế giới, hàng năm tăng thêm khoảng 0,2% và có khuynh hướng xảy ra ở người trẻ ngày càng nhiều. Bệnh loét tá tràng thường gặp theo tỷ lệ giới tính 3 nam:1 nữ. Mỗi năm có từ 60.000 đến 80.000 ca loét dạ dày mới, trong khi loét tá tràng vào khoảng 200.000 đến 400.000 người/năm và trong 90% các ca bệnh, vi khuẩn *Helicobacter pylori* được phát hiện có trong niêm mạc dạ dày của bệnh nhân².

Vi khuẩn *H. pylori* được xem là nguyên nhân chính của bệnh viêm loét dạ dày tá tràng. Chúng thường nằm dưới lớp chất nhầy của niêm mạc dạ dày, bám lên trên mặt hoặc chui sâu vào khe giữa các tế bào biểu mô dạ dày. Chúng phát triển trong môi trường pH 5,5 – 8,0 và phát triển tối ưu ở pH trung tính³. Thông thường dạ dày tiết ra acid để tiêu hóa thức ăn đồng thời cũng có một lớp nhày để bảo vệ lớp niêm mạc.

Nhưng khi acid dịch vị tăng lên nhiều hoặc lớp nhầy được tiết ra ít hơn nên không đủ bảo vệ niêm mạc thì yếu tố bên ngoài rất dễ tấn công. Khi *H. pylori* xâm nhập vào dạ dày, sẽ chui qua lớp nhầy, “đánh chiếm” và dễ dàng đi vào lớp niêm mạc dạ dày. Sau đó vi khuẩn sẽ phá hủy bằng cách tiết ra các enzyme và một số độc tố tế bào, từ đó làm tổn thương lớp niêm mạc và gây viêm loét dạ dày. *H. pylori* có thể tồn tại trong môi trường acid dạ dày, xâm nhập và cư trú ở niêm mạc dạ dày nhờ enzyme urease^{2,4}.

Enzyme urease (EC 3.5.1.5, urea amidohydrolase) là một loại enzyme thủy phân có chứa ion Ni^{2+} trong cấu trúc. Enzyme này xúc tác quá trình thủy phân urea thành amoniac và carbon dioxide. Trong cơ thể, amoniac được tạo ra để kiểm hóa môi trường bao bọc xung quanh vi khuẩn để kháng acid của dạ dày và giúp chúng tồn tại được trong môi trường acid dạ dày. Đồng thời, chúng cũng kích thích dạ dày tăng tiết acid làm phá vỡ niêm mạc dạ dày dẫn đến tình trạng viêm loét ngày càng trầm trọng hơn. Vi khuẩn *H. pylori* có thể tồn tại trong vật chủ hàng chục năm thậm chí suốt cả đời. Quá trình này kéo dài dẫn đến viêm dạ dày mãn tính, loét dạ dày – tá tràng và có nguy cơ gây ung thư dạ dày^{2,4}.

Nhiều công trình nghiên cứu tìm kiếm thuốc điều trị bệnh viêm loét dạ dày do *H. pylori* theo các cơ chế

Trích dẫn bài báo này: Thọ L H, Hải N X, Khang L M, Nhân T T, Trường D V N, Nhân N T, Mai N T T. Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme urease của một số loài thực vật thu hái tại Tây Nguyên và Nam Bộ. *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2024; ():1-17.

Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



53 nghiên cứu khác nhau đã được thực hiện. Một số chiết
54 xuất từ các dược liệu tự nhiên được báo cáo rất tiềm
55 năng như lá Chè xanh⁵, lá Dầu tằm⁶, cây Cẩn tây⁷,...
56 Bên cạnh đó, các hoạt chất là thành chất chính như
57 hợp chất pinostropin từ củ Ngải bún⁸ và curcumin từ
58 củ Nghệ vàng⁹ được báo cáo có khả năng điều trị vết
59 loét dạ dày rất khả quan. Nghiên cứu này thực hiện
60 chọn lựa và sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme urease
61 của 46 cao chiết của 44 loài cây được thu hái tại các
62 tỉnh thành ở Tây Nguyên và Nam Bộ Việt Nam để tìm
63 ra các cây thuốc tiềm năng trong điều trị bệnh viêm
64 loét dạ dày do *H. pylori*.

65 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

**66 Sàng lọc chọn lựa và thu thập đối tượng
67 nghiên cứu**

68 Đến nay, rất ít công trình nghiên cứu về hoạt tính ức
69 chế enzyme urease của các dược liệu Việt Nam. Quy
70 trình chọn lựa mẫu dược liệu Việt Nam phụ thuộc
71 vào các tiêu chí chọn đặc thù riêng. Yếu tố lựa chọn
72 đầu tiên (PPLC1) là tham khảo các nghiên cứu khoa
73 học trước đây về dược liệu có hoạt tính ức chế en-
74 zyme urease, ức chế sự phát triển của vi khuẩn *H. py-*
75 *lori* và các nghiên cứu *in vivo* về khả năng chống loét
76 dạ dày ở động vật thực nghiệm. Dựa theo phương
77 pháp chọn lựa này, 17 loài đã được tìm thấy gồm Cẩn
78 tây (*Apium graveolens*), Chè xanh (*Camellia sinensis*),
79 Dầu tằm (*Morus alba*), Cà đại hoa trắng (*Solanum*
80 *torvum*), Dã quỳ (*Tithonia diversifolia*), Đậu phộng
81 (*Arachis hypogaea*), Khế chua (*Averrhoa carambola*),
82 Trâu cổ (*Ficus pumila*), Sung (*Ficus racemosa*), Trứng
83 cá (*Muntingia calabura*), Diệp hạ châu (*Phyllanthus*
84 *urinaria*), Riềng (*Alpinia officinarum*), Ngải bún (*Boe-*
85 *senbergia pandurata*), Nghệ vàng (*Curcuma longa*),
86 Ngải đen (*Kaempferia parviflora*), Mã đề (*Plantago*
87 *major*) và Gừng gió (*Zingiber zerumbet*). Ngoài sự
88 chọn lựa cây thuốc dựa theo các nghiên cứu khoa
89 học liên quan, phương pháp sàng lọc dược liệu theo
90 công dụng dân gian điều trị các bệnh đau dạ dày –
91 tá tràng, các bệnh liên quan đến đường tiêu hóa như
92 rối loạn tiêu hóa, lợi tiểu, các bệnh liên quan đến gan,
93 thận (PPLC2). Dựa vào phương pháp sàng lọc này,
94 15 loài được tìm thấy gồm Cà phê (*Coffea arabica*),
95 Xáo tam phân (*Paramignya trimeria*), Rau má (*Cen-*
96 *tella asiatica*), Vối (*Cleistocalyx operculatus*), Mật gấu
97 (*Gymnanthemum amygdalinum*), Keo ong dú (*Trig-*
98 *ona minor*), Chùm lè (*Azima sarmentosa*), Ngành
99 ngành (*Cratoxylum prunifolium*), Nghệ trắng (*Cur-*
100 *cuma aromatica*), Nghệ lâu (*Curcuma xanthorrhiza*),
101 Nghệ đen (*Curcuma zedoaria*), Mướp đắng (*Mo-*
102 *mordica charantia*), Gừng đại (*Zingiber cassumunar*),
103 Đinh lăng (*Polyscias fruticosa*) và Gùì đỏ (*Willughbeia*

104 *cochinchinensis*). Ngoài ra, phương pháp lựa chọn
105 ngẫu nhiên (PPLC3) cũng được thực hiện góp phần
106 làm phong phú mẫu thử. Các loài thực vật được
107 lựa chọn theo phương pháp này gồm nấm Ngọc cầu
108 (*Cynomorium songaricum*), Thông đỏ (*Taxus wallichi-*
109 *ana*), Xấu hổ (*Mimosa pudica*), Thuốc dòi (*Pouzolzia*
110 *zeylanica*), Sao đen (*Hopea odorata*), Móc mèo (*Ca-*
111 *saipinia bonducella*), Săng mã (*Carallia brachiata*),
112 Trâm bầu (*Combretum quadrangulare*), Gắm (*Gne-*
113 *tum montanum*), Cò ke (*Microcos paniculata*), Duối
114 ô rô (*Streblus ilicifolia*) và Sến đỏ (*Shorea roxburghii*)
115 (Bảng 1).

116 44 loài thực vật được lựa chọn và thu hái ở các khu vực
117 bao gồm Thành phố Đà Lạt, Tỉnh Lâm Đồng; Thành
118 phố Buôn Ma Thuột, Tỉnh Đắk Lắk; Huyện Trảng
119 Bom, Tỉnh Đồng Nai; Thành phố Thủ Đức, Thành
120 phố Hồ Chí Minh; Huyện Giồng Trôm, Tỉnh Bến Tre;
121 Huyện Tịnh Biên, Tỉnh An Giang; Huyện U Minh
122 Thượng, Tỉnh Cà Mau và Thành phố Phú Quốc, Tỉnh
123 Kiên Giang từ tháng 6 đến tháng 12 năm 2022. Trong
124 đó có 2 loài sử dụng 2 bộ phận dùng khác nhau. Các
125 mẫu cây nghiên cứu được định danh bởi GS.TS. Trần
126 Công Luận, Trường Đại học Tây Đô, Cần Thơ. Các
127 mẫu dược mã hóa và lưu giữ tại Bộ môn Hóa Dược,
128 Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM
129 (Bảng 1).

130 Hóa chất và thiết bị

131 Enzyme urease chiết xuất từ Đậu rựa (*Canavalia*
132 *ensiformis*) (9002-13-5), urea (57-13-6, >99,5%) và
133 hydroxyurea (127-07-1, 98%) được mua từ Sigma
134 – Aldrich. Phenol đỏ được cung cấp bởi Schar-
135 lau, Na₂HPO₄.2H₂O, NaH₂PO₄.12H₂O, DMSO,
136 **methanol** và ethanol xuất xứ từ Trung Quốc, độ tinh
137 khiết > 99%. Cuvette thủy tinh 1,5 mL của Hellma
138 (Đức), máy quang phổ UV-1800 của SHIMADZU
139 (Nhật Bản).

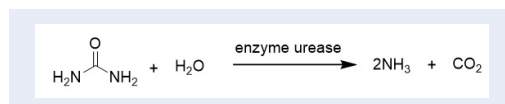
140 Điều chế mẫu cao chiết

141 Các mẫu cây tươi sau khi thu hái được tiến hành phơi
142 khô tự nhiên và cắt nhỏ. Tiến hành trích Soxhlet
143 khoảng 100 g mẫu dược liệu khô với 500 mL dung
144 môi methanol trong 8 h liên tục. Dịch chiết được cô
145 quay dưới áp suất kém thu hồi dung môi, sau đó tiến
146 hành đông khô đến khối lượng không đổi thu được
147 các mẫu cao chiết dùng cho thử nghiệm hoạt tính ức
148 chế enzyme urease.

**149 Nguyên tắc thử hoạt tính ức chế enzyme
150 urease**

151 Thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme urease được
152 thực hiện bằng phương pháp trắc quang. Chất nền

153 urea bị enzyme urease thủy phân sinh ra ammoniac
 154 (Hình 1). Hàm lượng ammoniac sinh ra này được xác
 155 định bằng cách sử dụng thuốc thử phenol đỏ để xác
 156 định hoạt tính của mẫu thử. Phenol đỏ (phenolsul-
 157 fonphthalein – C₁₉H₁₄O₅S) là một chất chỉ thị acid
 158 base và là một acid yếu, có màu vàng trong môi trường
 159 acid với bước sóng hấp thụ cực đại tại 433 nm và màu
 160 hồng trong môi trường base với bước sóng hấp thụ
 161 cực đại tại 556 nm. Lượng ammoniac sinh ra tạo môi
 162 trường base và sẽ làm thuốc thử phenol đỏ chuyển hoá
 163 thành dạng base liên hợp. Khi mẫu thử có khả năng
 164 ức chế enzyme urease sẽ làm giảm hàm lượng ammo-
 165 niac sinh ra và làm giảm cường độ màu của thuốc thử
 166 phenol đỏ của dung dịch. Dựa vào cường độ màu của
 167 dung dịch khi có và không có chất ức chế sẽ tính được
 168 giá trị phần trăm ức chế enzyme urease của mẫu thử
 tại nồng độ khảo sát.



Scheme 1: Phản ứng thủy phân urea với xúc tác enzyme urease

169

170 Quy trình thử hoạt tính ức chế enzyme ure- 171 ase

172 Thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme urease được
 173 thực hiện dựa trên quy trình tham khảo¹⁰ và được
 174 tối ưu hóa các điều kiện phòng thí nghiệm. Cụ thể,
 175 mẫu cao chiết tại các nồng độ thử nghiệm khác nhau
 176 được ủ với 50 µL enzyme urease 30 U/mL trong môi
 177 trường đệm phosphate pH 7,0 (0,01 M) ở nhiệt độ
 178 phòng trong 30 phút. Dung dịch sau đó được thêm
 179 tiếp 500 µL urea 60 mM và tiếp tục ủ 20 phút. Sau đó,
 180 cho 30 µL thuốc thử phenol đỏ (1 mg/mL) vào hỗn
 181 hợp sau phản ứng, lắc đều, ủ trong 10 phút và đo độ
 182 hấp thụ quang ở bước sóng 556 nm. Mẫu trắng được
 183 thực hiện tương tự như mẫu thử nhưng không có en-
 184 zyme. Mẫu đối chứng được thực hiện tương tự như
 185 trên nhưng không cho mẫu thử. Mỗi mẫu cao chiết
 186 được hòa tan trong đệm phosphate pH 7,0 (0,01
 187 M) chứa 0,03% DMSO và pha loãng tại các nồng độ
 188 thử nghiệm 250, 100, 50, 25 và 10 µg/mL, thực hiện
 189 khảo sát mỗi nồng độ được đo 3 lần. Kết quả được
 190 đánh giá thông qua giá trị phần trăm ức chế I (%) và
 191 giá trị IC₅₀. Trong quy trình này, hydroxyurea được
 192 sử dụng làm chất đối chứng dương.

193 Đánh giá hoạt tính ức chế

194 Khả năng ức chế của mẫu khảo sát được tính dựa trên
 195 phần trăm ức chế I (%) theo công thức:

196 $I(\%) = (A \text{ đối chứng} - A \text{ mẫu thử}) \times 100\% / A \text{ đối chứng}$
 197 Trong đó, A đối chứng là giá trị mật độ quang của
 198 dung dịch không chứa mẫu khảo sát và A mẫu thử
 199 là giá trị mật độ quang của dung dịch chứa mẫu khảo
 200 sát. Dựa vào giá trị phần trăm ức chế I tại các nồng độ
 201 thử nghiệm sẽ tìm được giá trị nồng độ ức chế được
 202 50% enzyme urease trong thí nghiệm này, gọi là giá trị
 203 IC₅₀.

204 Tất cả các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần
 205 và hoàn toàn ngẫu nhiên. Phân tích thống kê được
 206 thực hiện bằng phần mềm Microsoft Excel 365. Sử
 207 dụng phương pháp phân tích phương sai một chiều
 208 (ANOVA), kết quả được tính dựa trên giá trị trung
 209 bình với độ lệch chuẩn ($p < 0,05$) cho thấy ý nghĩa
 210 thống kê.

4

Bảng 1: Danh mục các cây thuốc được chọn lựa và tính chất dược lý của chúng

TT	Tên khoa học	Tên địa phương	Bộ phận dùng	Họ	Tính chất dược lý	Nơi thu hái	Mã lưu trữ
<i>PPLC1: Lựa chọn theo công bố khoa học về hoạt tính sinh học liên quan đến enzyme urease, vi khuẩn H. pylori và khả năng chống loét dạ dày</i>							
1	<i>Apium graveolens</i>	Cần tây	Toàn cây	Cần tây (Apiaceae)	Dịch chiết ethanol có hoạt tính chống loét dạ dày do indomethacin ở chuột thử nghiệm. ⁷	Đà Lạt, Lâm Đồng	SL9001
2	<i>Camellia sinensis</i>	Chè xanh	Lá	Chè (Theaceae)	Dịch chiết lá có khả năng ức chế enzyme urease và <i>H. pylori</i> . ⁵	Đà Lạt, Lâm Đồng	SL9002
3	<i>Morus alba</i>	Dâu tằm	Lá	Dâu tằm (Moraceae)	Chiết xuất EtOH 80% từ lá có khả năng ức chế sự phát triển <i>H. pylori</i> . ⁶	Đà Lạt, Lâm Đồng	SL9003
4	<i>Solanum torvum</i>	Cà đại hoa trắng	Quả chứa chín	Cà (Solanaceae)	Cao chiết CHCl ₃ ức chế sự phát triển <i>H. pylori</i> . ¹¹	Đà Lạt, Lâm Đồng	SL9004
5	<i>Tithonia diversifolia</i>	Dã quỳ	Lá	Cúc (Asteraceae)	Dịch chiết CH ₂ Cl ₂ và hoạt chất chính tagitinin C có khả năng chống loét dạ dày do ethanol ở chuột thử nghiệm. ¹²	Đà Lạt, Lâm Đồng	SL9005
6	<i>Arachis hypogaea</i>	Đậu phộng	Vỏ hạt	Đậu (Fabaceae)	Vỏ phôi hạt chứa gen UreB như một loại vaccine ăn được nhằm kiểm soát hoặc ngăn chặn nhiễm <i>H. pylori</i> . ¹³	Trảng Bàng, Tây Ninh	SL9006
7	<i>Averrhoa carambola</i>	Khế chua	Lá	Chua me	Các dịch chiết của lá có hoạt tính chống loét dạ	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9007A
8			Hoa				SL9007B
9	<i>Ficus pumila</i>	Trâu cổ	Thân	Dâu tằm (Moraceae)	Dịch chiết ethanol từ lá có khả năng chống loét dạ dày trên các mô hình thử nghiệm khác nhau	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9008A
10			Quả				SL9008B
11	<i>Ficus racemosa</i>	Sung	Quả chứa chín	Dâu tằm (Moraceae)	Dịch chiết lá có khả năng chống loét dạ dày do ethanol ở chuột thử nghiệm. ¹⁶	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9009
12	<i>Muntingia calabura</i>	Trứng cá	Lá	Trứng cá (Muntingiaceae)	Dịch chiết methanol của lá bảo vệ dạ dày hiệu quả trong thí nghiệm thắt môn vị gây loét dạ dày ở chuột. ¹⁷	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9010

Continued on next page

Table 1 continued

13	<i>Phyllanthus urinaria</i>	Diệp hạ châu	Toàn cây	Diệp hạ châu (Phyllanthaceae)	Cao chiết CHCl ₃ có khả năng ức chế, ngăn chặn sự bám dính thành dạ dày của <i>H. pylori</i> , làm giảm mức độ sản xuất interleukin (IL)-8 trong tế bào AGS. ¹⁸	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9011
14	<i>Alpinia officinarum</i>	Riềng	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Dịch chiết EtOAc làm giảm khả năng sản xuất IL-8, chống viêm loét dạ dày do <i>H. pylori</i> . ¹⁹	Tỉnh Biên, An Giang	SL9012
15	<i>Boesenbergia pandurata</i>	Ngải bún	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Cao chiết methanol và hoạt chất chính pinostropin có khả năng chống loét dạ dày do ethanol ở chuột thử nghiệm. ⁸	Tỉnh Biên, An Giang	SL9013
16	<i>Curcuma longa</i>	Nghệ vàng	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Chiết xuất curcumin từ củ Nghệ ức chế sự phát triển <i>H. pylori</i> , làm giảm mức độ sản xuất interleukin (IL)-8, IL-1 β , (TNF)- α và cyclooxygenase (COX)-2 ở niêm mạc dạ dày của bệnh nhân viêm dạ dày do nhiễm <i>H. pylori</i> . ^{9,20}	Tỉnh Biên, An Giang	SL9014
17	<i>Kaempferia parviflora</i>	Ngải đen	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Chiết xuất EtOAc có khả năng ức chế sự phát triển <i>H. pylori</i> . ²¹	Tỉnh Biên, An Giang	SL9015
18	<i>Plantago major</i>	Mã đề	Toàn cây	Mã Đề (Plantaginaceae)	Dịch chiết ethanol có hoạt tính chống loét dạ dày do indomethacin ở chuột thử nghiệm. ²²	Tỉnh Biên, An Giang	SL9016
19	<i>Zingiber zerumbet</i>	Gừng gió	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Hợp chất zerumbone từ củ có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày khỏi tác động của viêm loét dạ dày do ethanol và ức chế sự phát triển <i>H. pylori</i> . ²³	Tỉnh Biên, An Giang	SL9017
PPLC2: Lựa chọn theo công dụng dân gian có khả năng điều trị các bệnh liên quan đến dạ dày-tá tràng							
20	<i>Coffea arabica</i>	Cà phê	Hạt chưa chín	Thiến thảo (Rubiaceae)	Dùng trị bệnh tiêu chảy, thận hư, viêm gan. ^{24,25}	Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk	SL9101

Continued on next page

6

Table 1 continued

21	<i>Paramignya trimera</i>	Xáo tam phân	Rễ	Cam (Rutaceae)	Dùng trị bệnh xơ gan cổ trướng, ung thư gan, đại tràng ²⁶	Trảng Bom, Đồng Nai	SL9102
22	<i>Centella asiatica</i>	Rau má	Toàn cây	Hoa tán (Apiaceae)	Dùng trị bệnh đau dạ dày, viêm thấp khớp ²⁷	Bình Chánh, Hồ Chí Minh	SL9103
23	<i>Cleistocalyx operculatus</i>	Vối	Nụ hoa	Sim (Myrtaceae)	Dùng kháng viêm, trị khó tiêu và rối loạn tiêu hóa ²⁸	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9104
24	<i>Gymnanthemum amygdalinum</i>	Mật gấu	Lá	Cúc (Asteraceae)	Dùng trị bệnh viêm gan, đau dạ dày, nhuận tràng ^{29,30}	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9105
25	<i>Trigona minor</i>	Keo ong dú	Keo	Ong mật (Apidae)	Dùng trị bệnh đau dạ dày ³¹	Giồng Trôm, Bến Tre	SL9106
26	<i>Azima sarmentosa</i>	Chùm lé	Thân	Thứ mật (Salvadoraceae)	Dùng trị đau bao tử, lợi tiểu. ³²	Tịnh Biên, An Giang	SL9107
27	<i>Cratoxylum prunifolium</i>	Ngành ngành	Thân	Ban (Hypericaceae)	Dùng trị viêm ruột, tiêu chảy ³³	Tịnh Biên, An Giang	SL9108
28	<i>Curcuma aromatica</i>	Nghệ trắng	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Dùng trị bệnh viêm gan, tiêu chảy và các vấn đề về dạ dày. ^{33,34}	Tịnh Biên, An Giang	SL9109
29	<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	Nghệ lầu	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Dùng trị các bệnh về dạ dày, tiêu chảy, gan và thận. ³⁵	Tịnh Biên, An Giang	SL9110
30	<i>Curcuma zedoaria</i>	Nghệ đen	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Dùng trị bệnh về dạ dày. ³⁶	Tịnh Biên, An Giang	SL9111

Continued on next page

Table 1 continued

31	<i>Momordica charantia</i>	Mướp đắng	Quả	Bầu bí (Cucurbitaceae)	Dùng trị đau dạ dày. ³⁷	Tỉnh Biên, An Giang	SL9112
32	<i>Zingiber cassumunar</i>	Gừng đại	Củ	Gừng (Zingiberaceae)	Dùng trị bệnh loét dạ dày – tá tràng, tiêu chảy và rối loạn đường ruột ³⁸	Tỉnh Biên, An Giang	SL9113
33	<i>Polyscias fruticosa</i>	Đình lăng	Củ	Cuồng (Araliaceae)	Dùng làm thuốc bổ chữa tiêu hóa kém, trị bệnh trĩ sỏi thận và khó tiểu ³³	Phú Quốc, Kiên Giang	SL9114
34	<i>Willughbeia cochinchinensis</i>	Gùi đỏ	Thân	Trúc đào (Apocynaceae)	Dùng trị tiêu chảy, lợi tiểu. ³⁹	Phú Quốc, Kiên Giang	SL9115
PPLC3: Lựa chọn ngẫu nhiên							
35	<i>Cynomorium songarium</i>	Nấm ngọc cầu	Củ	Nấm Malta (Cynomoriaceae)	Dùng để tăng cường sinh lý, trị nhức mỏi, viêm khớp và bổ thận ⁴⁰	Đà Lạt, Lâm Đồng	SL9201
36	<i>Taxus wallichiana</i>	Thông đỏ	Vỏ thân	Thanh tùng (Taxaceae)	Dùng trị bệnh hen suyễn ³³	Đà Lạt, Lâm Đồng	SL9202
37	<i>Mimosa pudica</i>	Xấu hổ	Lá	Legumes (Họ Đậu)	Dùng trị bệnh đái tháo đường, chống co giật và trầm cảm ⁴¹	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9203
38	<i>Pouzolzia zeylanica</i>	Thuốc dò	Lá	Tầm ma (Urticaceae)	Dùng trị đau họng, ho khan, tiêu viêm và viêm mũi da ⁴²	Thủ Đức, Hồ Chí Minh	SL9204
39	<i>Hopea odorata</i>	Sao đen	Quả	Dầu (Dipterocarpaceae)	Dùng trị vết thương và tiểu không tự chủ ⁴³	Quận 2, Hồ Chí Minh	SL9205

Continued on next page

Table 1 continued

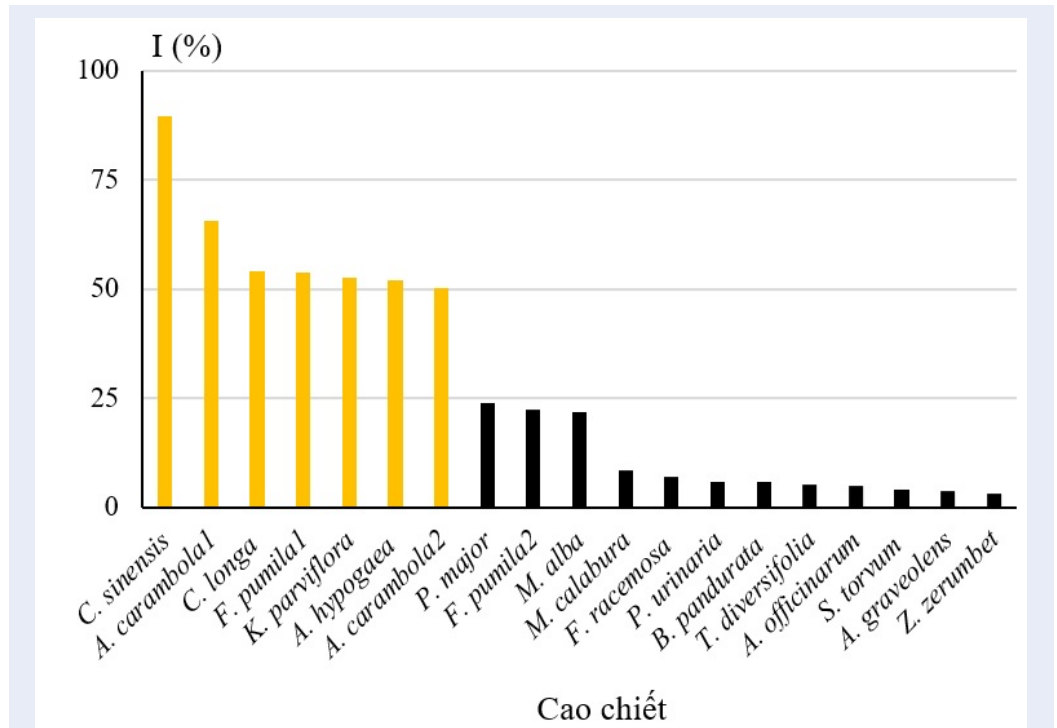
40	<i>Caesalpinia bonducella</i>	Móc mèo	Hạt	Vang (Caesalpinaceae)	Dùng trị các chứng viêm nhiễm, bệnh đái tháo đường, rối loạn tim mạch và ung thư ⁴⁴	Tỉnh Biên, An Giang	SL9206
41	<i>Carallia brachiata</i>	Săng mã	Thân	Đước (Rhinophoraceae)	Dùng chữa lành vết thương, trị loét miệng và viêm họng ⁴⁵	Tỉnh Biên, An Giang	SL9207
42	<i>Combretum quadrangulare</i>	Trâm bầu	Thân	Trâm bầu (Combretaceae)	Dùng để tẩy giun và trị tiêu chảy ⁴⁶	Tỉnh Biên, An Giang	SL9208
43	<i>Gnetum montanum</i>	Gắm	Lá	Dây gắm (Gnetaceae)	Dùng trị bệnh viêm khớp, gút và viêm phế quản ⁴⁷	Tỉnh Biên, An Giang	SL9209
44	<i>Microcos paniculata</i>	Cò ke	Thân	Đay (Tiliaceae)	Dùng trị bệnh cảm lạnh, sổ mũi và cầm máu ³³	Tỉnh Biên, An Giang	SL9210
45	<i>Streblus ilicifolia</i>	Duối ô rô	Thân	Dâu tằm (Moraceae)	Dùng chữa mụn nhọt, tiêu độc và làm đẹp da ⁴⁸	Tỉnh Biên, An Giang	SL9211
46	<i>Shorea roxburghii</i>	Sến đỏ	Thân	Dầu (Dipterocarpaceae)	Dùng trị bệnh kiết lỵ ⁴⁹	Phú Quốc, Kiên Giang	SL9212

211 **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

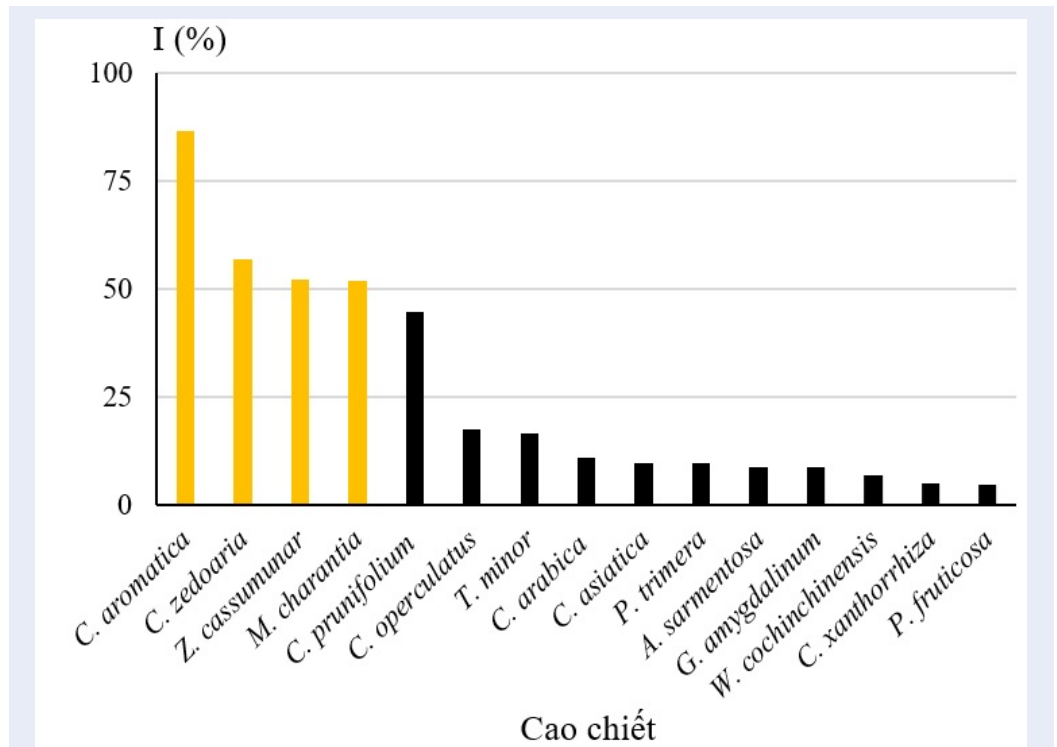
212 **Thử nghiệm sàng lọc hoạt tính ức chế en-**

213 **zyme urease**

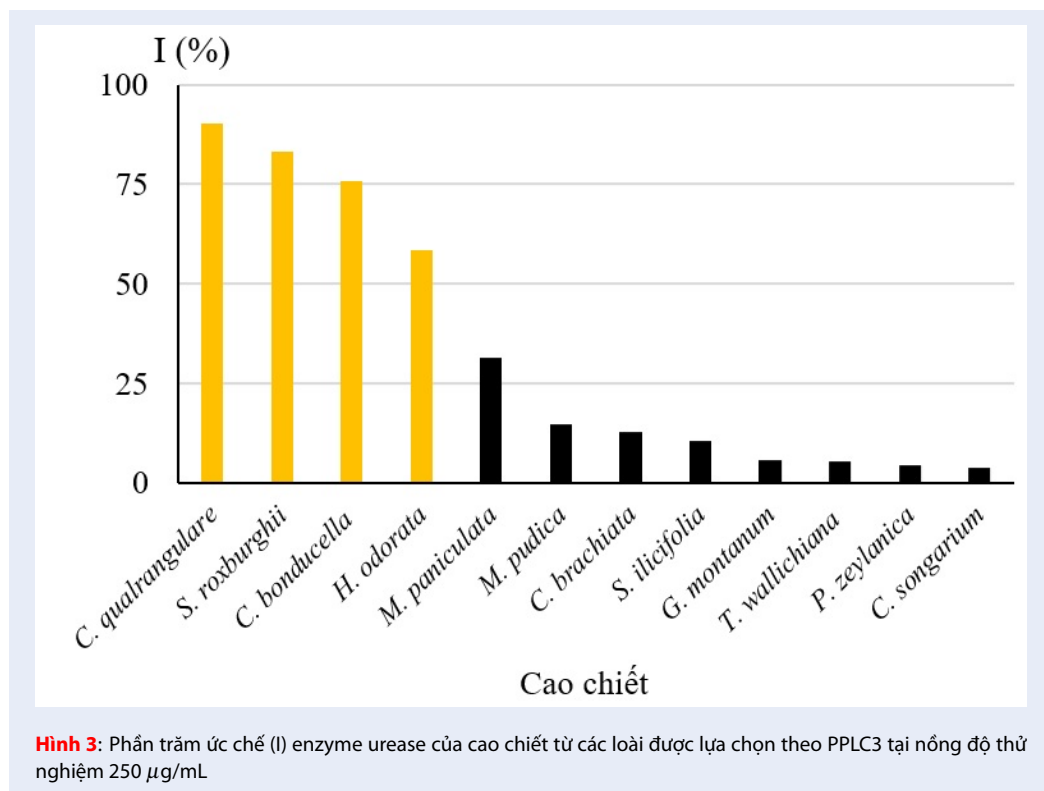
214 Tất cả các cao chiết methanol của 44 loài thực vật
215 được thử hoạt tính ức chế enzyme urease tại nồng độ
216 250 $\mu\text{g/mL}$. Trong 19 cao chiết của 17 loài được lựa
217 chọn theo PPCL1, có 7 cao chiết (chiếm 37,8%) có khả
218 năng ức chế hơn 50 % enzyme (Hình 1, Bảng 2). Cao
219 chiết lá Chè xanh (*C. sinensis*) ức chế enzyme mạnh
220 nhất với 89,5%, điều này chứng minh phương pháp
221 nghiên cứu này phù hợp với công bố trước đây⁵. Theo
222 PPCL2, đã tìm thấy 4/15 loài (chiếm 26,7%) có khả
223 năng ức chế 50% enzyme. Hoạt tính ức chế enzyme
224 urease của củ Nghệ trắng (*C. aromatica*) thể hiện tốt
225 nhất, ở nồng độ 250 $\mu\text{g/mL}$ ức chế 86,5%. (Hình 2,
226 Bảng 2) cho thấy tiềm năng của củ Nghệ trắng trong
227 các nghiên cứu tiếp theo liên quan đến khả năng điều
228 trị bệnh viêm loét dạ dày do vi khuẩn *H. pylori* gây
229 ra. Đối với PPLC3, 4/12 cao chiết (chiếm 33,3%) có
230 khả năng ức chế hơn 50% enzyme. Thân Trâm bầu
231 (*C. quadrangulare*) và thân Sến đỏ (*S. roxburghii*) có
232 tiềm năng ức chế enzyme này rất tốt với giá trị phần
233 trăm ức chế lần lượt là 90,4 và 83,2% (Hình 3, Bảng 2).
234 Tóm lại, thử nghiệm sàng lọc khả năng điều trị bệnh
235 viêm loét dạ dày do *H. pylori* thông qua mô hình thử
236 nghiệm ức chế enzyme urease của 44 loài đã tìm thấy
237 15 loài có tiềm năng ức chế hơn 50% enzyme urease ở
238 nồng độ 250 $\mu\text{g/mL}$ để thử nghiệm đánh giá sâu hơn.



Hình 1: Phần trăm ức chế (I) enzyme urease của cao chiết từ các loài được lựa chọn theo PPLC1 tại nồng độ thử nghiệm 250 µg/mL



Hình 2: Phần trăm ức chế (I) enzyme urease của cao chiết từ các loài được lựa chọn theo PPLC2 tại nồng độ thử nghiệm 250 µg/mL



Bảng 2: Phần trăm ức chế (I) enzyme urease của 46 cao chiết tại nồng độ thử nghiệm 250 µg/mL

TT	Mẫu cao chiết sàng lọc		I (%)
Các loài được lựa chọn theo PPCL1			
1	Chè xanh	Lá	89,5 ± 2,9
2	Khế chua	Lá	65,8 ± 1,0
3	Nghệ vàng	Củ	54,0 ± 1,6
4	Trầu cổ	Thân	53,8 ± 4,2
5	Ngải đen	Củ	52,6 ± 1,3
6	Đậu phộng	Vỏ hạt	55,2 ± 1,3
7	Khế chua	Hoa	50,2 ± 2,6
8	Mã đề	Toàn cây	23,9 ± 2,9
9	Trầu cổ	Quả	22,5 ± 1,0
10	Dâu tằm	Lá	21,9 ± 2,7
11	Trứng cá	Lá	8,6 ± 1,4
12	Sung	Quả chưa chín	7,2 ± 3,4
13	Diệp hạ châu	Toàn cây	5,9 ± 0,8
14	Ngải bún	Củ	5,8 ± 1,7
15	Dã quỳ	Lá	5,2 ± 1,1
16	Riềng	Củ	5,0 ± 3,0
17	Cà dại hoa trắng	Quả chưa chín	4,1 ± 2,6
18	Cần tây	Toàn cây	3,8 ± 2,8
19	Gừng gió	Củ	3,1 ± 1,2
Các loài được lựa chọn theo PPCL2			
20	Nghệ trắng	Củ	86,5 ± 1,8
21	Nghệ đen	Củ	56,9 ± 2,5
22	Gừng đại	Củ	52,1 ± 3,5
23	Mướp đắng	Quả	52,0 ± 2,6
24	Ngành ngạnh	Thân	44,7 ± 5,4
25	Vối	Nụ hoa	17,5 ± 1,5
26	Keo ong dú	Keo	16,5 ± 1,8
27	Cà phê	Hạt chưa chín	10,9 ± 1,5
28	Rau má	Toàn cây	9,9 ± 1,2
29	Xáo tam phân	Rễ	9,8 ± 0,1
30	Chùm lé	Thân	8,9 ± 3,5
31	Mật gấu	Lá	8,8 ± 3,9
32	Gùi đỏ	Thân	7,0 ± 2,1
33	Nghệ lâu	Củ	5,1 ± 1,8
34	Đinh lăng	Củ	4,8 ± 1,7
Các loài được lựa chọn theo PPCL3			
35	Trâm bầu	Thân	90,4 ± 1,0
36	Sến đỏ	Thân	83,2 ± 1,9
37	Móc mèo	Hạt	75,9 ± 3,5
38	Sao đen	Quả	58,5 ± 1,6
39	Cò ke	Thân	31,5 ± 0,9
40	Xấu hổ	Lá	14,7 ± 2,8
41	Săng mã	Thân	12,6 ± 2,8
42	Duối ô rô	Thân	10,6 ± 1,1
43	Gấm	Lá	5,6 ± 2,2
44	Thông đỏ	Vỏ thân	5,2 ± 1,3
45	Thuốc dòi	Lá	4,2 ± 3,1
46	Nấm ngọc cầu	Củ	3,6 ± 0,5

Continued on next page

Table 2 continued

Hydroxyurea*	92,9 ± 0,3
--------------	------------

Kết quả I (%) được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn $n = 3$, cho thấy sự khác biệt các giá trị phần trăm ức chế trong một mẫu thử nghiệm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). *Chất đối chứng dương.

239 Các cao chiết tiềm năng được thử nghiệm ở nồng độ
 240 thấp hơn 100, 50, 25 và 10 $\mu\text{g/mL}$. Tại nồng độ 100
 241 $\mu\text{g/mL}$, 15 cao chiết này đều có khả năng ức chế en-
 242 zyme và 5/15 mẫu ức chế hơn 50% enzyme urease.
 243 Tại nồng độ 50 và 25 $\mu\text{g/mL}$, 15 cao chiết đều có khả
 244 năng ức chế enzyme và có 1 mẫu ức chế hơn 50% en-
 245 zyme urease. Tại nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$, có 6/15 mẫu cây
 246 có khả năng ức chế enzyme này (Bảng 3). Kết quả
 247 đánh giá cho thấy cao chiết methanol của củ Nghệ
 248 trắng (*C. aromatica*) có hoạt tính mạnh nhất với giá
 249 trị IC_{50} là 22,5 $\mu\text{g/mL}$, so với chất đối chứng dương
 250 hydroxyurea ($\text{IC}_{50} = 6,5 \mu\text{g/mL}$). Tiếp theo đó là các
 251 cao chiết methanol của thân Trâm bầu (*C. quadran-*
 252 *gulare*), thân Sến đỏ (*S. roxburghii*), lá Chè xanh (*C.*
 253 *sinensis*) và hạt Móc mè (*C. bonducella*) với IC_{50} lần
 254 lần là 58,5, 80,8, 86,6 và 97,7 $\mu\text{g/mL}$. Trong khi đó,
 255 10/15 mẫu cây còn lại có hoạt tính trung bình với giá
 256 trị IC_{50} từ 170 - 240 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả hoạt tính này
 257 kết hợp với PPLC1 cho phép đề nghị củ Nghệ trắng,
 258 vỏ hạt Đậu phộng, lá và hoa Khế chua, thân Trâu cổ,
 259 củ Nghệ vàng và củ Ngải đen ức chế sự phát triển vi
 260 khuẩn *H. pylori* theo cơ chế phụ thuộc vào enzyme
 261 urease. Theo PPLC2, quả Sao đen, củ Gừng dại và
 262 quả Mướp đắng được lựa chọn có thể điều trị bệnh
 263 về viêm loét dạ dày và các bệnh liên quan đường tiêu
 264 hóa có thể theo cơ chế ức chế enzyme urease. Đối với
 265 PPLC3, thân Trâm bầu, thân Sến đỏ và hạt Móc mè
 266 là ba loài cây mới lần đầu tiên được phát hiện có khả
 267 năng ức chế enzyme urease.
 268 Tìm hiểu thành phần hóa học các dược liệu có tác
 269 dụng ức chế enzyme urease mạnh ($\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$)
 270 cho thấy các dược liệu Trâm bầu, củ Nghệ trắng,
 271 hạt Móc mè có thành phần chính là terpenoid⁵⁰⁻⁵⁶.
 272 Lá Chè xanh chứa hàm lượng lớn các hợp chất
 273 flavonoid^{46,57} và diarylheptanoid được tìm thấy rất
 274 nhiều trong củ Nghệ vàng (*C. longa*)⁵⁸ và củ Nghệ
 275 trắng (*C. aromatica*)^{52,53}. Các hợp chất này được dự
 276 đoán rất có tiềm năng trong việc hỗ trợ và điều trị các
 277 bệnh viêm loét dạ dày do nhiễm khuẩn *H. pylori*. Điển
 278 hình, hợp chất diarylheptanoid (-)-hannokinol từ củ
 279 Nghệ trắng (*C. aromatica*) đã được báo cáo ức chế en-
 280 zyme urease với giá trị IC_{50} 244,4 μM ⁵⁹. Bên cạnh đó,
 281 cây Sến đỏ chưa được nghiên cứu về thành phần hóa
 282 học và hoạt tính sinh học. Trong số các loài được tìm
 283 thấy có hoạt tính, ngoài lá Chè xanh đã được chứng
 284 minh có tác dụng ức chế urease trong các nghiên cứu
 285 trước đây, bốn loài còn lại là lần đầu tiên được đánh
 286 giá tác dụng ức chế enzyme urease cũng như ức chế vi
 287 khuẩn *H. pylori*.

288 KẾT LUẬN

289 Nghiên cứu thực hiện sàng lọc hoạt tính ức chế en-
 290 zyme urease đã tìm thấy 15/46 mẫu cao chiết tiềm

năng từ 44 loài được chọn lựa thu hái ở các tỉnh thành 291
 Tây Nguyên và Nam Bộ. Thử nghiệm tiếp theo đã 292
 xác định 5 loài thực vật có tác dụng ức chế mạnh en- 293
 zyme urease với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 100 $\mu\text{g/mL}$ là củ 294
 Nghệ trắng (*C. aromatica*), thân Trâm bầu (*C. quad-* 295
rangulare), thân Sến đỏ (*S. roxburghii*), lá Chè xanh 296
 (*C. sinensis*) và hạt Móc mè (*C. bonducella*). Trong 297
 đó, củ Nghệ trắng có hoạt tính mạnh nhất với giá 298
 trị IC_{50} là 22,5 $\mu\text{g/mL}$, so với chất đối chứng dương 299
 hydroxyurea ($\text{IC}_{50} = 6,5 \mu\text{g/mL}$), có tiềm năng trong 300
 điều trị bệnh viêm loét dạ dày do vi khuẩn *H.pylori* gây 301
 ra. Ngoài trừ lá Chè xanh, đây là công bố mới nhất về 302
 khả năng ức chế enzyme urease của các dược liệu còn 303
 lại. Cây Trâm bầu, Sến đỏ và Móc mè lần đầu tiên 304
 được tìm thấy tác dụng ức chế enzyme urease, đây là 305
 tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo giúp tìm ra 306
 dược liệu có khả năng điều trị bệnh viêm loét dạ dày 307
 do *H. pylori*. 308

LỜI CẢM ƠN 309

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành 310
 phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ 311
 Chương trình mã số NCM 2020-18-01. 312

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT 313

H.pylori: *Helicobacter pylori* 314
 IC_{50} : là nồng độ mà tại đó ức chế 50% hoạt tính của 315
 enzyme 316
 PPLC1: Phương pháp lựa chọn dược liệu theo các 317
 nghiên cứu trước đây về ức chế enzyme urease và vi 318
 khuẩn *H.pylori* 319
 PPLC2: Phương pháp lựa chọn dược liệu theo công 320
 dụng dân gian liên quan đến bệnh viêm loét dạ dày và 321
 các bệnh liên quan 322
 PPLC3: Phương pháp lựa chọn dược liệu theo ngẫu 323
 nhiên 324

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH 325

Các tác giả cam đoan không có bất kỳ xung đột lợi ích 326
 nào trong bài nghiên cứu này. 327

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ 328

Lê Hữu Thọ thử nghiệm hoạt tính sinh học, xử lý số 329
 liệu và viết bản thảo. Nguyễn Xuân Hải định hướng 330
 sàng lọc và thu thập nguyên vật liệu nghiên cứu. Lê 331
 Minh Khang và Trương Thành Nhân thử nghiệm hoạt 332
 tính sinh học. Đỗ Văn Nhật Trường điều chế cao 333
 chiết. Nguyễn Thị Thanh Mai và Nguyễn Trung Nhân 334
 phân bố cục và chỉnh sửa bản thảo chi tiết. Tất cả các 335
 tác giả đã đọc và chấp nhận bản thảo cuối cùng. 336

Bảng 3: Kết quả hoạt tính ức chế enzyme urease của 15 cao chiết từ cây thuốc Việt Nam

TT	Mẫu cao chiết sàng lọc		Phần trăm ức chế (I%)					IC50 (µg/mL)
			250 µg/mL	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	
1	Nghệ trắng	Củ	86,5 ± 1,8	66,1 ± 2,4	59,3 ± 1,7	50,7 ± 3,6	38,0 ± 4,4	22,5
2	Trâm bầu	Thân	90,4 ± 1,0	56,5 ± 1,3	48,6 ± 1,4	40,5 ± 1,1	31,1 ± 1,4	58,5
3	Sến đỏ	Thân	83,2 ± 1,9	54,2 ± 1,9	43,2 ± 1,1	30,9 ± 1,9	13,6 ± 1,6	80,8
4	Chè xanh	Lá	89,5 ± 2,9	56,3 ± 3,2	22,5 ± 0,9	15,5 ± 2,6	2,9 ± 0,7	86,6
5	Móc mèo	Hạt	75,9 ± 3,5	51,2 ± 0,4	23,6 ± 1,2	15,5 ± 0,7	2,4 ± 0,8	97,7
6	Khế chua	Lá	65,8 ± 1,0	36,8 ± 3,6	24,2 ± 0,6	16,6 ± 2,4	6,6 ± 3,0	173,4
7	Sao đen	Quả	58,5 ± 1,6	34,2 ± 5,2	21,7 ± 2,5	8,1 ± 1,8	-	184,5
8	Trâu cổ	Thân	53,8 ± 4,2	33,3 ± 1,0	15,2 ± 1,8	4,3 ± 2,0	-	219,1
9	Nghệ đen	Củ	56,9 ± 2,5	20,3 ± 3,8	14,6 ± 3,1	5,6 ± 2,4	-	221,2
10	Đậu phộng	Vỏ hạt	55,2 ± 1,3	25,1 ± 1,0	10,5 ± 3,5	1,8 ± 1,0	-	223,2
11	Ngải đen	Củ	52,6 ± 1,3	28,0 ± 2,3	16,3 ± 3,0	6,0 ± 0,4	-	232,5
12	Khế chua	Hoa	50,2 ± 2,6	24,1 ± 1,7	11,9 ± 1,5	1,7 ± 3,4	-	234,1
13	Gừng đại	Củ	52,1 ± 3,5	23,8 ± 1,6	15,2 ± 0,6	6,5 ± 3,6	-	237,1
14	Nghệ vàng	Củ	54,0 ± 1,6	21,4 ± 3,8	11,9 ± 2,7	3,1 ± 2,7	-	238,1
15	Mướp đắng	Quả	52,0 ± 2,6	21,7 ± 4,3	9,04 ± 2,1	3,4 ± 0,7	-	238,4
	Hydroxyurea*							6,5

Kết quả I (%) được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn n = 3, cho thấy sự khác biệt các giá trị phần trăm ức chế giữa các nồng độ trong một mẫu thử nghiệm có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

-Không thể hiện hoạt tính ức chế.

*Chất đối chứng dương

337 TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 338 1. Mortelé KJ, Rocha TC, Streeter JL, Taylor A. Multimodality
339 imaging of pancreatic and biliary congenital anomalies. Ra-
340 diographics. 2006;26(3):715-731;Available from: [https://doi.
341 org/10.1148/rg.263055164](https://doi.org/10.1148/rg.263055164).
- 342 2. Thăng HT. Bệnh loét dạ dày-tá tràng. Huế: Nhà xuất bản Đại
343 Học Huế; 2014;.
- 344 3. Kusters JG, Van Vliet AH, Kuipers E. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006;19(3):449-490;Available from: [https://doi.org/10.1128/
345 CMR.00054-05](https://doi.org/10.1128/CMR.00054-05).
- 346 4. Amtul Z, Siddiqui R, Choudhary M. Chemistry and mech-
347 anism of urease inhibition. Current Medicinal Chemistry. 2002;9(14):1323-1348;Available from: [https://doi.org/10.2174/
348 0929867023369853](https://doi.org/10.2174/0929867023369853).
- 349 5. Hassani AS, Ordouzadeh N, Ghaemi A, Amirmozafari N, Hamdi
350 K, Nazari R. In vitro inhibition of Helicobacter pylori urease
351 with non and semi fermented Camellia sinensis. Indian Journal
352 of Medical Microbiology. 2009;27(1):30-34;Available from:
353 [https://doi.org/10.1016/S0255-0857\(21\)01749-7](https://doi.org/10.1016/S0255-0857(21)01749-7).
- 354 6. Cho Y-J, Ju I-S, Kim B-O, Kim J-H, Lee B-G, An B-J, Choo J-W. The
355 antimicrobial activity against Helicobacter pylori and antiox-
356 idant effect from the extracts of mulberry leaves (Morus alba
357 L.). Applied Biological Chemistry. 2007;50(4):334-343;.
- 358 7. Kacho HA, Masoumi M, Farhadi P. Evaluation of the antibac-
359 terial potential of essential oil and extract of Apium grave-
360 olens L. As an environmentally friendly technology against He-
361 licobacter pylori. Avicenna Journal of Environmental Health
362 Engineering. 2021;8(1):28-32;Available from: [https://doi.org/
363 10.34172/ajehe.2021.05](https://doi.org/10.34172/ajehe.2021.05).
- 364 8. Abdelwahab SI, Mohan S, Abdulla MA, Sukari MA, Abdul AB,
365 Taha MME, Syam S, Ahmad S, Lee K-H. The methanolic ex-
366 tract of Boesenbergia rotunda (L.) Mansf. and its major com-
367 pound pinostrobin induces anti-ulcerogenic property in vivo:
368 possible involvement of indirect antioxidant action. Journal
369 of ethnopharmacology. 2011;137(2):963-970;Available from:
370 <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.010>.
- 371 9. Koosirirat C, Linpisarn S, Changsom D, Chawansuntati K,
372 Wipasa J. Investigation of the anti-inflammatory effect of Cur-
373 cuma longa in Helicobacter pylori-infected patients. Interna-
374 tional immunopharmacology. 2010;10(7):815-818;Available
375 from: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.04.021>.
- 376 10. Tanaka T, Kawase M, Tani S. α -Hydroxyketones as inhibitors of
377 urease. Biorg Med Chem. 2004;12(2):501-505;Available from:
378 <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2003.10.017>.
- 379 11. Hsu Y-M, Weng J-R, Huang T-J, Lai C-H, Su C-H, Chou C-
380 H. Solanum torvum inhibits Helicobacter pylori growth and
381 mediates apoptosis in human gastric epithelial cells. Oncol-
382 ogy Reports. 2010;23(5):1401-1405;Available from: [https://
383 doi.org/10.3892/or_00000777](https://doi.org/10.3892/or_00000777).
- 384 12. Sánchez-Mendoza ME, Reyes-Ramírez A, Cruz Antonio L,
385 Martínez Jiménez L, Rodríguez-Silverio J, Arrieta J. Bioassay-
386 guided isolation of an anti-ulcer compound, tagitinin C, from
387 Tithonia diversifolia: role of nitric oxide, prostaglandins and
388 sulfhydryls. Molecules. 2011;16(1):665-674;Available from:
389 <https://doi.org/10.3390/molecules16010665>.
- 390 13. Yang C-y, Chen S-y, Duan G-c. Transgenic peanut
391 (Arachis hypogaea L.) expressing the urease subunit B gene of
392 Helicobacter pylori. Current microbiology. 2011;63:387-
393 391;Available from: [https://doi.org/10.1007/s00284-011-9991-
394 4](https://doi.org/10.1007/s00284-011-9991-4).
- 395 14. Pal A, Chinnaiyan S, Mallik A, Bhattacharjee C. Anti-ulcer activ-
396 ity of leaves of Averrhoa carambola Linn. International Journal
397 of Pharmacological Research. 2019;9(05):e5209;.
- 398 15. Ashraf MV, Thamotharan G, Sengottuvelu S, Sherief HS,
399 Sivakumar T. Evaluation of anti ulcer activity of Ficus pumila
400 L. leaf extract in albino rats. Global Journal of Research on
401 Medicinal Plants Indigenous Medicine. 2012;1(8):340;.
- 402 16. Fatima S, Haider N, Begum MJ, Salman M, Khan H, Sana G,
403 Ahmad S, Siddiqi A, Shamim M. Study of antitumor activity of
404 leaves extract of Ficus racemosa linn in various solvents on ex-
405 perimental animals. HIV Nursing. 2023;23(3):2061-2067;.
- 406 17. Zakaria ZA, Balan T, Suppaiah V, Ahmad S, Jamaludin F. Mechanism (s) of action involved in the gastroprotective activity of Muntingia calabura. Journal of Ethnopharmacology. 2014;151(3):1184-1193;Available from: [https://doi.org/
407 10.1016/j.jep.2013.12.045](https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.12.045).
- 408 18. Lai C-H, Fang S-H, Rao YK, Geethangili M, Tang C-H, Lin Y-J,
409 Hung C-H, Wang W-C, Tzeng Y-M. Inhibition of Helicobacter
410 pylori-induced inflammation in human gastric epithelial AGS
411 cells by Phyllanthus urinaria extracts. Journal of Ethnophar-
412 macology. 2008;118(3):522-526;Available from: [https://doi.
413 org/10.1016/j.jep.2008.05.022](https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.05.022).
- 414 19. Ma X, You P, Xu Y, Ye X, Tu Y, Liu Y, Yang M, Liu D. Anti-Helicobacter pylori-associated gastritis effect of the ethyl acetate extract of Alpinia officinarum Hance through MAPK signaling pathway. Journal of Ethnopharmacology. 2020;260:113100;Available from: [https://doi.org/10.1016/j.jep.
415 2020.113100](https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113100).
- 416 20. Ali NJMJ. In vitro studies of antimicrobial activity of (Curcuma longa L.) rhizomes against helicobacter pylori. Iraq Medical Journal. 2017;1(1):7-9;.
- 417 21. Chaichanawongsaraj N, Amonyngcharoen S, Saifah E, Poovoranawan YJAJoB. The effects of Kaempferia parviflora on anti-internalization activity of Helicobacter pylori to HEp-2 cells. African Journal of Biotechnology. 2010;9(30):4796-4801;.
- 418 22. Paseban M, Mousavi Fayzabadi V, Tayyebi Meibodi N, Yousefi M, Hosseini A, Rakhshandeh H. The effect of hydro-alcoholic extract of Plantago major on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. Internal Medicine Today. 2019;25(1):16-21;.
- 419 23. Sidahmed HMA, Hashim NM, Abdulla MA, Ali HM, Mohan S, Abdelwahab SI, Taha MME, Fai LM, Vadivelu J. Antisecretory, gastroprotective, antioxidant and anti-Helicobacter pylori activity of zerumbone from Zingiber zerumbet (L.) Smith. PloS one. 2015;10(3):e0121060;Available from: [https://doi.org/10.
420 1371/journal.pone.0121060](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121060).
- 421 24. Alemu MA, Birhanu Wubneh Z, Adugna Ayanaw M. Antidiarrheal effect of 80% methanol extract and fractions of the roasted seed of Coffea arabica Linn (rubiceae) in Swiss albino mice. Evidence-Based Complementary Alternative Medicine. 2022;2022:1-12;Available from: [https://doi.org/10.1155/2022/
422 9914936](https://doi.org/10.1155/2022/9914936).
- 423 25. Bisht S, Sisodia S. Coffea arabica: A wonder gift to medical science. Journal of Natural Pharmaceuticals. 2010;1(1):58-65;Available from: <https://doi.org/10.4103/2229-5119.73595>.
- 424 26. Cuong NM, Huong TT, Khanh PN, Van Tai N, Ha VT, Tai BH, Kim YH. Paratrimers A and B, two new dimeric monoterpene-linked coumarin glycosides from the roots and stems of Paramignya trimeria. Chemical Pharmaceutical Bulletin. 2015;63(11):945-949;Available from: [https://doi.org/10.
425 1248/cpb.c15-00336](https://doi.org/10.1248/cpb.c15-00336).
- 426 27. Das AJ. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Centella asiatica (Indian pennywort). Journal of Biologically Active Products from Nature. 2011;1(4):216-228;Available from: [https://doi.org/10.1080/22311866.2011.
427 10719089](https://doi.org/10.1080/22311866.2011.10719089).
- 428 28. Mai TT, Yamaguchi K, Yamanaka M, Lam NT, Otsuka Y, Chuyen NV. Protective and anticataract effects of the aqueous extract of Cleistocalyx operculatus flower buds on β -Cells of streptozotocin-diabetic rats. Journal of Agricultural Food Chemistry. 2010;58(7):4162-4168;Available from: [https://doi.
429 org/10.1021/jf904304w](https://doi.org/10.1021/jf904304w).
- 430 29. Das AK, Sivaperuman C. Gymnanthemum amygdalinum (Delile) Sch. Bip. ex Walp (Asteraceae)-A new report to the flora of Andaman and Nicobar Islands, India. Journal on New Biological Reports. 2021;10(1):13-15;.
- 431 30. Erukainure OL, Chukwuma CI, Sanni O, Matsabisa MG, Islam MS. Histochemistry, phenolic content, antioxidant, and anti-diabetic activities of Vernonia amygdalina leaf extract. Journal of Food Biochemistry. 2019;43(2):e12737;Available from: <https://doi.org/10.1111/jfbc.12737>.

- 478 31. Nguyen HX, Nguyen MTT, Nguyen NT. Some epoxyylig- 549
 479 nans from the Vietnamese propolis of stingless Bee Trig- 550
 480 ona minor and their bioactivities. Vietnam Journal of Chem- 551
 481 istry. 2023;61(52);Available from: <https://doi.org/10.1002/vjch.202300074>. 552
- 482 32. Chopra RN, Nayar SL. Glossary of Indian medicinal plants: 553
 483 Council of Scientific and Industrial Research; 1956;. 554
 484 33. Bích ĐH, Chung ĐQ, Chương BX, Dong NT, Đàm ĐT, Hiến PV, 555
 485 Lộ VN, Mai PD, Mãn PK, Nhu ĐT. Cây thuốc và động vật làm 556
 486 thuốc ở Việt Nam. Hà Nội: NXB Khoa học và kỹ thuật Hà Nội; 557
 487 2004;. 558
 488 34. Dhiman A, Sharma M, Sharma M. Ethnopharmacological pro- 559
 489 file of *Curcuma aromatica* Salisb. Journal of Mountain Re- 560
 490 search. 2023;18(1):267-279;Available from: <https://doi.org/10.51220/jmr.v18i1.29>. 561
- 491 35. Rahmat E, Lee J, Kang Y. Javanese turmeric (*Curcuma xan-* 562
 492 thorrhiza Roxb.): Ethnobotany, phytochemistry, biotechnol- 563
 493 ogy, and pharmacological activities. Evidence-Based Com- 564
 494 plementary Alternative Medicine. 2021;2021:1-15;Available 565
 495 from: <https://doi.org/10.1155/2021/9960813>. 566
- 496 36. Khare CP. Indian medicinal plants: an illustrated dictionary. 567
 497 Germany: Springer Science & Business Media; 2008;Available 568
 498 from: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-70638-2>. 569
- 499 37. Kumar KS, Bhowmik D. Traditional medicinal uses and 570
 500 therapeutic benefits of *Momordica charantia* Linn. Interna- 571
 501 tional Journal of Pharmaceutical Sciences Review Research. 572
 502 2010;4(3):23-28;. 573
- 503 38. Lim TK. Edible medicinal and non-medicinal plants. New York: 574
 504 Springer; 2012;Available from: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-2534-8>. 575
- 505 39. Itharat A, Houghton PJ, Eno-Amooquaye E, Burke P, Sampson 576
 506 JH, Raman A. In vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plants 577
 507 used traditionally to treat cancer. Journal of Ethnopharmacol- 578
 508 ogy. 2004;90(1):33-38;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.014>. 579
- 509 40. Tian F-z, Chang H-s, Liu J-x, Zheng J, Cheng D, Lu Y. 580
 510 *Cynomorium songaricum* extract alleviates memory impair- 581
 511 ment through increasing CREB/BDNF via suppression of 582
 512 p38MAPK/ERK pathway in ovariectomized rats. Evidence- 583
 513 Based Complementary Alternative Medicine. 2019;2019:1- 584
 514 10;Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/9689325>. 585
- 515 41. Ahmad H, Sehgal S, Mishra A, Gupta R. *Mimosa* 586
 516 *pudica* L.(Laajvanti): an overview. Pharmacognosy 587
 517 Reviews. 2012;6(12):115-124;Available from: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.99945>. 588
- 518 42. Nguyen DT, Vo TXT. Investigation of toxicity, antimicrobial 589
 519 activity and cough treatment of products produced from 590
 520 *Pouzolzia zeylanica* plants growing in Vietnam. Malaysian 591
 521 Applied Biology. 2020;49(3):43-51;Available from: <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v49i3.1540>. 592
- 522 43. Hafez Kabir MS, Hossain MM, Kabir MI, Ahmad S, Chakraborty 593
 523 N, Rahman MA, Rahman MM. Antioxidant, antidiarrheal, hy- 594
 524 poglycemic and thrombolytic activities of organic and aqueous 595
 525 extracts of leaves *Hopea odorata* and in silico PASS predic- 596
 526 tion of its isolated compounds. BMC Complementary Alterna- 597
 527 tive Medicine. 2016;16(474);Available from: <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1461-x>. 598
- 528 44. Kandasamy V, Balasundaram U. *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. 599
 529 as a promising source of pharmacological compounds to 600
 530 treat Poly Cystic Ovary Syndrome (PCOS): A review. Journal of 601
 531 Ethnopharmacology. 2021;279:114375;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114375>. 602
- 532 45. Patil PD, Chavan N. A comparative study of nutrients and min- 603
 533 eral composition of *Carallia brachiata* (Lour.) Merril. Interna- 604
 534 tional Journal of Advanced Science Research. 2015;1(2):90- 605
 535 92;Available from: <https://doi.org/10.7439/ijasr.v1i2.1783>. 606
- 536 46. Ferrara L, Montesano D, Senatore A. The distribution of min- 607
 537 erals and flavonoids in the tea plant (*Camellia sinensis*). Il far- 608
 538 maco. 2001;56(5-7):397-401;Available from: [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(01\)01104-1](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(01)01104-1). 609
- 539 47. Xiang W, Jiang B, Li X-M, Zhang H-J, Zhao Q-S, Li S- 610
 540 H, Sun H-D. Constituents of *Gnetum montanum*. *Fitoter-* 611
 541 *apia*. 2002;73(1):40-42;Available from: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(01\)00370-7](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(01)00370-7). 612
- 542 48. Nguyen NT, Dang PH, Nguyen HX, Do TN, Le TH, Le TQ, Nguyen 613
 543 MT. Tyrosinase Inhibitors from the Stems of *Streblus ilici-* 614
 544 *folius*. Evidence-Based Complementary Alternative Medicine. 615
 545 2021;2021:1-7;Available from: <https://doi.org/10.1155/2021/5561176>. 616
- 546 49. Zhao LL, Makinde EA, Olatunji OJ. Protective effects of ethyl 617
 547 acetate extract from *Shorea roxburghii* against diabetes in- 618
 548 duced testicular damage in rats. Environmental Toxicology. 619
 549 2021;36(3):374-385;Available from: <https://doi.org/10.1002/tox.23043>. 620
- 550 50. Banskota AH, Tezuka Y, Tran KQ, Tanaka K, Saiki I, Kadota S. 621
 551 Thirteen novel cycloartane-type triterpenes from *Combretum* 622
 552 *quadrangulare*. Journal of Natural Products. 2000;63(1):57- 623
 553 64;Available from: <https://doi.org/10.1021/np990336q>. 624
- 554 51. Nguyen HH, Duong TH, Truong Nguyen H, Vo TS, Mai 625
 555 DT, Nguyen Thi Thuong H, Bui XH, Nguyen NH, Do 626
 556 THT. α -Glucosidase Inhibitory cycloartanes from the 627
 557 Vietnamese *Combretum quadrangulare*. Chemistry & 628
 558 Biodiversity. 2022;19(10):e202200562;Available from: 629
 559 <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200562>. 630
- 560 52. Pintatum A, Maneerat W, Logie E, Tuentner E, Sakavitsi ME, 631
 561 Pieters L, Berghe WV, Sripisut T, Deachathai S, Laphookhieo 632
 562 S. In vitro anti-inflammatory, anti-oxidant, and cytotoxic ac- 633
 563 tivities of four curcuma species and the isolation of com- 634
 564 pounds from *Curcuma aromatica* rhizome. Biomolecules. 635
 565 2020;10(5):799-813;Available from: <https://doi.org/10.3390/biom10050799>. 636
- 566 53. Umar NM, Parumasivam T, Aminu N, Toh S-M. Phytochemical 637
 567 and pharmacological properties of *Curcuma aromatica* Salisb 638
 568 (wild turmeric). Journal of Applied Pharmaceutical Science. 639
 569 2020;10(1):180-194;. 640
- 570 54. Dang PH, Nguyen MTT, Nguyen HX, Vu DTT, Van Truong S, 641
 571 Nguyen NT. Three new cassane-type furanoditerpenes from 642
 572 the seed of Vietnamese *Caesalpinia bonducella*. Phytochem- 643
 573 istry Letters. 2015;13:99-102;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.05.018>. 644
- 574 55. Nguyen NT, Vu DTT, Nguyen MTT. The study on chemical con- 645
 575 stituents from the seed of *Caesalpinia bonducella* F. (Cae- 646
 576 salpiniaaceae). VNUHCM Journal of Science and Technology 647
 577 Development. 2011;14(2):5-11;Available from: <https://doi.org/10.32508/stdj.v14i2.1937>. 648
- 578 56. Peter S, Tinto WF, McLean S, Reynolds WF, Yu M. Cas- 649
 579 sane diterpenes from *Caesalpinia bonducella*. Phytochem- 650
 580 istry. 1998;47(6):1153-1155;Available from: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)80090-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)80090-3). 651
- 581 57. Bạch DPB, Ái MNN, Nghinh XNT, Chiếm TĐ, Xuân PNT. Ứng 652
 582 dụng hỗ trợ vì sống trong chiết xuất polyphenol từ lá chè Việt 653
 583 Nam (*Camellia sinensis* (L.)). Tạp Chí Khoa Học Trường Đại Học 654
 584 Quốc Tế Hồng Bàng. 2022:79-88;. 655
- 585 58. Rafatullah S, Tariq M, Al-Yahya MA, Mossa JS, Ageel AM. 656
 586 Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) for gastric and duo- 657
 587 denal antiulcer activity in rats. Journal of Ethnopharmacol- 658
 588 ogy. 1990;29(1):25-34;Available from: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(90\)90094-A](https://doi.org/10.1016/0378-8741(90)90094-A). 659
- 589 59. Le TH, Bui TQ, Dang PH, Nguyen HX, Van Do TN, Nguyen MTT, 660
 590 Nguyen NT. Chemical properties and inhibitory activities of 661
 591 tyrosinase, α -glucosidase, and urease from chloroform ex- 662
 592 tract of *Curcuma aromatica* Salisb. rhizomes. Vietnam Jour- 663
 593 nal of Chemistry. 2023;61(52);Available from: <https://doi.org/10.1002/vjch.202300062>. 664

A screening study on the urease inhibitory activity of plants collected in Central Highland and Southern Vietnam

Tho Huu Le^{1,2,3}, Hai Xuan Nguyen^{1,2,3}, Khang Minh Le^{1,2}, Nhan Thanh Truong^{1,2}, Truong Nhat Van Do^{1,2,3}, Nhan Trung Nguyen^{1,2,3}, Mai Thanh Thi Nguyen^{1,2,3,*}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

In research on treating gastric ulcers induced by *H. pylori* bacteria, urease inhibition has proven to be a practical therapeutic approach. In this investigation, 44 medicinal plant species collected from Central Highlands and Southern Vietnam were meticulously selected through three distinct methods to screen their anti-urease activities. At a concentration of 250 $\mu\text{g/mL}$, fifteen plants exhibited more than 50% inhibition of the enzyme. Subsequently, further assessment of the urease inhibition capability was conducted at many different concentrations, revealing that rhizomes of *C. aromatica*, stems of *C. quadrangulare* and *S. roxburghii*, seeds of *C. bonducella*, and green tea leaves (*C. sinensis*) demonstrated the ability to potently inhibit urease with IC_{50} values of 22.5, 58.5, 80.8, 86.6, and 97.7 $\mu\text{g/mL}$, respectively, compared to the positive control, hydroxyurea ($\text{IC}_{50} = 6.5 \mu\text{g/mL}$). Among them, *C. aromatica* rhizomes exhibited the highest level of inhibition, suggesting a promising prospect for development into a pharmaceutical agent to support the treatment of *H. pylori*-induced stomach ulcers. The primary objective of this study is to contribute essential data on Vietnamese medicinal plants capable of treating gastric ulcer-related ailments by targeting *H. pylori* inhibition.

Key words: urease, gastric ulcers, *H.pylori*, Vietnamese medicinal plants

¹Faculty of Chemistry, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

³Research Lab for Drug Discovery and Development, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

Correspondence

Mai Thanh Thi Nguyen, Faculty of Chemistry, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Research Lab for Drug Discovery and Development, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: nttmai@hcmus.edu.vn

History

- Received: 20-10-2023
- Revised: 25-3-2024
- Accepted: 30-8-2024
- Published Online:

DOI :



Cite this article : Le T H, Nguyen H X, Le K M, Truong N T, Do T N V, Nguyen N T, Nguyen M T T. **A screening study on the urease inhibitory activity of plants collected in Central Highland and Southern Vietnam.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.* 2024; ():1-1.