

# Đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase *in vitro* của các phân đoạn dịch chiết Hoàng liên ô rô (*Mahonia Nepalensis* DC., Họ Berberidceae)

Bùi Thanh Tùng<sup>1,\*</sup>, Phan Kế Sơn<sup>1</sup>, Đặng Kim Thu<sup>1</sup>, Nguyễn Thanh Hải<sup>1</sup>,  
Nguyễn Xuân Bách<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Kim Thu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Bệnh viện Da liễu Quốc gia, 15 Phương Mai, Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 16 tháng 5 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 14 tháng 9 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 01 tháng 12 năm 2017

**Tóm tắt:** Acetylcholinesterase (AChE) là một enzym đích quan trọng trong điều trị bệnh Alzheimer. Vai trò chính của AChE là thủy phân acetylcholine và dẫn đến ức chế dẫn truyền xung động thần kinh. Dược liệu là một nguồn tiềm năng chứa các chất có khả năng ức chế enzym AChE. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác dụng ức chế AChE của các phân đoạn dịch chiết từ cây Hoàng liên ô rô. Mẫu dược liệu được chiết xuất siêu âm bằng ethanol 96% và chiết phân đoạn lần lượt với n-Hexane, ethyl acetate (EtOAc) và n-Butanol (n-BuOH). Phương pháp được tiến hành theo phương pháp đo quang của Ellman, có thay đổi cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy phân đoạn n-BuOH có hoạt tính ức chế AChE mạnh nhất, tiếp theo là cao tổng EtOH và thấp nhất là phân đoạn EtOAc. Tác dụng ức chế AChE của phân đoạn n-BuOH tăng dần theo nồng độ với IC<sub>50</sub> là  $3,38 \pm 0,07$   $\mu\text{g/mL}$ . Phân tích động học enzyme cho thấy phân đoạn n-BuOH có kiểu ức chế hỗn hợp với Ki là  $3,416 \pm 0,05$   $\mu\text{g/mL}$ . Nghiên cứu cho thấy Hoàng liên ô rô là một dược liệu tiềm năng có tác dụng ức chế AChE có thể sử dụng với mục đích điều trị bệnh Alzheimer.

**Từ khóa:** Hoàng liên ô rô, *Mahonia nepalensis*, enzym acetylcholinesterase, ức chế enzym, động học enzym.

## 1. Đặt vấn đề

Bệnh Alzheimer là rối loạn thoái hóa thần kinh thường gặp nhất và là nguyên nhân phổ biến nhất của chứng mất trí, với các triệu chứng lâm sàng như suy giảm nhận thức tiến triển liên quan đến suy giảm trong các hoạt động của cuộc sống hàng ngày và rối loạn hành vi tiến triển trong suốt quá trình bệnh [1]. Theo giả thuyết cholinergic, việc phát sinh bệnh

Alzheimer có liên quan đến sự thiếu hụt chất dẫn truyền thần kinh acetylcholine trong não tới gần 90% bệnh nhân mắc bệnh Alzheimer là sự suy giảm nồng độ ACh trong vùng dưới đồi và vỏ não [2]. Acetylcholine là chất dẫn truyền thần kinh tại khe synapse, có vai trò quan trọng trong hoạt động của hệ thần kinh và nồng độ acetylcholine được duy trì ổn định bởi enzyme acetylcholinesterase (AChE). AChE là một enzyme có chức năng làm ngưng lại hoạt động của chất dẫn truyền thần kinh acetylcholine tại các synapse thần kinh cholinergic thông qua việc thủy phân acetylcholine tạo thành cholin và acid acetic. Ở các bệnh nhân mắc bệnh Alzheimer, do có sự

\* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-904429676.

Email: tungasia82@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4074>

tích tụ các mảng amyloid và các đám rối thần kinh, khiến cho nồng độ acetylcholine bị suy giảm đáng kể [3]. Do vậy, các thuốc ức chế AChE nhằm duy trì nồng độ acetylcholine đóng một vai trò quan trọng trong việc ngăn chặn sự tiến triển của bệnh Alzheimer.

Các hợp chất tự nhiên từ dược liệu được coi như một nguồn quan trọng cung cấp những hợp chất tiềm năng dùng điều trị các bệnh khác nhau, trong đó có bệnh Alzheimer [4]. Có rất nhiều nghiên cứu đã tiến hành đánh giá hiệu quả của dịch chiết toàn phần với tác dụng chống lại Alzheimer và tiến hành phân lập các hợp chất có tác dụng bảo vệ hiệu quả [5]. Cây Hoàng liên ô rô do từ lâu đã được sử dụng trong các bài thuốc y học cổ truyền và có nhiều tác dụng dược lý quan trọng, gần đây được sự quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu dược liệu. Hoàng liên ô rô có tên khoa học là *Mahonia neplensis* DC., thuộc họ Hoàng liên gai (Berberidaceae). Ngoài ra dân gian còn gọi là cây mật gấu, dùng chữa các bệnh về gan, bệnh về đường tiêu hóa và nhiều tác dụng quý khác. Ở nước ta, năm 1967, cây Hoàng liên ô rô được phát hiện đầu tiên ở vùng núi cao huyện Bát Xát, tỉnh Lào Cai. Ở Việt nam, cây Hoàng liên ô rô có ở các vùng núi cao lạnh như Sìn Hồ - Lai Châu, Sa Pa - Lào Cai, Đồng Văn - Hà Giang và Langbian - Lâm Đồng. Bộ phận dùng bao gồm lá, thân, rễ và quả. Rễ, thân, lá của cây Hoàng liên ô rô đều có chứa alkaloid, saponin, acid amin, sterol, lá chứa tanin. Hoàng liên ô rô chứa chủ yếu là các alkaloid có nhân isoquinolin. Trong đó các alkaloid có khung protoberberin như berberin, palmatin, jatrorrhizin... là thành phần chính [6, 7]. Ngoài ra còn có các alkaloid có khung bisbenzyl isoquinolin như oxyacanthin, berbamin [6, 7]. Theo y học cổ truyền, Hoàng liên ô rô có tác dụng thanh nhiệt ở phế vị, can thuận, lợi tiểu và làm dịu kích thích và thường được dùng để chữa ho lao, sốt con, đau lưng gối, chữa viêm ruột, ỉa chảy, viêm da, dị ứng, ăn uống không tiêu [6, 7]. Mặc dù đã có một số nghiên cứu liên quan đến tác dụng kháng khuẩn, chống viêm, chống oxy hóa của Hoàng liên ô rô nhưng chưa có nghiên cứu về khả năng ức chế enzyme AChE, do đó việc đánh giá tác

dụng này của Hoàng liên ô rô sẽ góp phần chứng minh tác dụng dược lý của dược liệu này và khả năng ứng dụng trong điều trị bệnh suy giảm trí nhớ hoặc bệnh Alzheimer. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng bảo vệ thần kinh của Hoàng liên ô rô để điều trị bệnh Alzheimer và các bệnh thoái hóa thần kinh khác thông qua khả năng ức chế AChE của các dịch chiết từ thân của cây Hoàng liên ô rô.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phần thân phơi khô của cây Hoàng liên ô rô thu hái vào tháng 9 năm 2015 ở Bắc Cạn. Mẫu nghiên cứu được giám định thực vật học bởi Bộ môn Dược liệu - Dược cổ truyền, Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Hóa chất, dung môi

5,5'-dithio-bis-(2-nitro) benzoic acid (DTNB) (Himedia, Ấn Độ), Acetylthiocholine iodide (Sigma, Singapore), Acetylcholinesterase (Sigma, Singapore), Berberine chloride (Himedia, Ấn Độ). Các dung môi công nghiệp bao gồm n-hexane, ethyl acetat (EtOAc), n-butanol, ethanol (EtOH) (Shouguang, Trung Quốc) và nước cất (H<sub>2</sub>O). Thiết bị: Máy đo quang UV Aligent technologies Cary 60 UV-Vis, Mỹ.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp chiết xuất dược liệu:** Mẫu thân cây được rửa sạch, phơi và sấy khô ở 50°C, thái nhỏ. Dược liệu (1 kg) sẽ được chiết xuất bằng ethanol 96% (3L × 3 lần) bằng phương pháp siêu âm. Dịch chiết được lọc qua giấy lọc và gộp lại, cô dịch chiết bằng máy cô quay chân không thu được 78,45 g cặn ethanol. Hòa cặn với khoảng 300 mL nước cất rồi chiết phân đoạn lần lượt với n-hexan, ethyl acetat và n-butanol (mỗi dung môi 3 lần mỗi lần 300 mL). Thu được cặn từ dịch chiết n-hexan (17,45 g) ethyl acetat (20,86 g), n-butanol (25,06 g).

### 2.3. Phương pháp đánh giá khả năng ức chế enzym AChE

Phương pháp đo quang *in vitro* được dùng để đánh giá tác dụng ức chế enzym acetylcholinesterase được xây dựng bởi Ellman vào năm 1961 [8]. Nguyên tắc của phương pháp như sau: Cơ chất acetylthiocholin iodid (ACTI) bị thủy phân nhờ xúc tác của AChE tạo thiocholin. Sản phẩm thiocholin phản ứng với thuốc thử acid 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoic (DTNB) tạo thành hợp chất acid 5-thio-2-nitrobenzoic có màu vàng. Lượng hợp chất màu được tạo thành này tỷ lệ thuận với hoạt độ của AChE. Dựa vào xác định độ hấp thụ của mẫu thử ở 412 nm để đánh giá hoạt tính của AChE.

Tiến hành phương pháp: Hỗn hợp phản ứng bao gồm 700  $\mu\text{L}$  dung dịch đệm natri phosphat (pH 8,0); 100  $\mu\text{L}$  dung dịch thử ở các nồng độ khác nhau và 100  $\mu\text{L}$  dung dịch enzyme AChE 0,5 IU/mL. Trộn đều và đem ủ 15 phút tại 25°C. Các dịch chiết được thử và chất chuẩn dương (Berberine chloride) được hòa tan trong 10% dimethyl sulfoxide (DMSO). Sau đó, thêm 50  $\mu\text{L}$  of DTNB 2,5 mM và 50  $\mu\text{L}$  ACTI 2,5 mM và trộn đều. Tiếp tục ủ hỗn hợp trong 10 phút ở 25°C. Sau đó, dung dịch được đo độ hấp thụ ở bước sóng 412 nm. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Berberin clorid được sử dụng làm chứng dương. Phần trăm ức chế hoạt độ enzym AChE (% I) được tính theo công thức:

$$\%I = \frac{A_c - A_t}{A_c - A_o} \times 100$$

Trong đó: %I: phần trăm hoạt tính AChE bị ức chế

Ac: độ hấp thụ của mẫu chứng (không chứa 20  $\mu\text{L}$  dung dịch thử)

At: độ hấp thụ của mẫu thử

Ao: độ hấp thụ của mẫu trắng (1 mL dung dịch đệm sodium phosphate)

Giá trị ức chế enzym AChE  $IC_{50}$  của các mẫu thử được tính dựa vào đồ thị log (nồng độ mẫu thử) và % ức chế.

### 2.4. Phương pháp xác định đặc điểm động học ức chế enzym AChE

Động học ức chế enzym AChE của phân đoạn dịch chiết n-BuOH được tiến hành theo phương pháp mô tả trước đây [9]. Hỗn hợp phản ứng gồm 700  $\mu\text{L}$  dung dịch đệm sodium phosphate (pH 8,0); 100  $\mu\text{L}$  dung dịch thử ở các nồng độ phân đoạn dịch chiết n-BuOH (0; 2,5; 5 và 10  $\mu\text{g/mL}$ ) và 100  $\mu\text{L}$  dung dịch enzym AChE 0,5 IU/mL. Trộn đều và đem ủ 15 phút tại 25°C. Sau đó, thêm 50  $\mu\text{L}$  of DTNB 2,5 mM và 50  $\mu\text{L}$  với các nồng độ khác nhau của cơ chất ACTI (5; 2,5; 1,25 mM) và trộn đều. Tiến hành đo độ hấp thụ dung dịch được ở bước sóng 412 nm trong vòng 5 phút. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Sử dụng các đồ thị  $1/[ACTI]$  và  $1/V$  (1/tốc độ phản ứng) (đồ thị Lineweaver – Burk) để xác định kiểu động học ức chế enzym. Hằng số ức chế  $K_i$  được xác định là điểm giao của các đường [nồng độ phân đoạn dịch chiết n-BuOH] và  $1/V$  (1/tốc độ phản ứng) (đồ thị Dixon plot).

### 2.5. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test student sử dụng phần mềm SigmaPlot 10 (Systat Software Inc, Mỹ). Số liệu được biểu diễn dưới dạng  $X \pm SD$ . Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

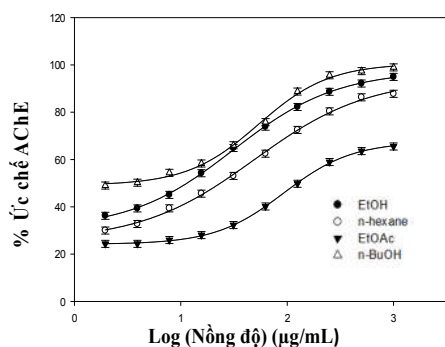
## 3. Kết quả

Khả năng ức chế enzyme AChE phụ thuộc vào nồng độ của phân đoạn dịch chiết. Tác dụng ức chế AChE của các phân đoạn dịch chiết Hoàng liên ô rô và chuẩn dương berberin clorid được thể hiện ở bảng 1 thông qua giá trị  $IC_{50}$ . Hình 2 và 3 thể hiện mối tương quan giữa giá trị Log (nồng độ mẫu thử) và phần trăm tác dụng ức chế enzyme AChE của các phân đoạn

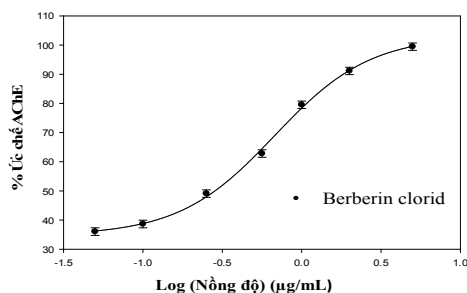
dịch chiết Hoàng liên ô rô và berberin clorid. Tác dụng ức chế AChE của các phân đoạn dịch chiết tăng dần theo nồng độ. Phân đoạn dịch chiết n-BuOH cho thấy có tác dụng ức chế enzyme AChE cao nhất với  $IC_{50}$  là  $3,38 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$ .

Bảng 1. Giá trị  $IC_{50}$  của các phân đoạn dịch chiết từ Hoàng liên ô rô và Berberin clorid

Mẫu thử	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
EtOH	$12,08 \pm 0,33$
n- hexan	$23,51 \pm 1,21$
EtOAc	$126,74 \pm 2,16$
n-BuOH	$3,38 \pm 0,07$
Berberin clorid	$0,282 \pm 0,03$

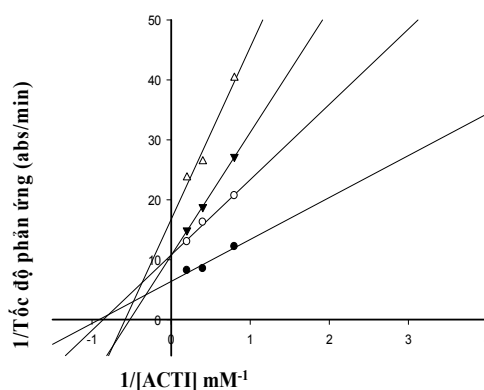


Hình 1. Đồ thị biểu diễn khả năng ức chế hoạt độ enzym AChE của các phân đoạn dịch chiết cây Hoàng liên ô rô. Giá trị  $IC_{50}$  của các phân đoạn dịch chiết được tính dựa vào đồ thị và chuyển từ log [ $\mu\text{g/mL}$ ] sang  $\mu\text{g/mL}$ .

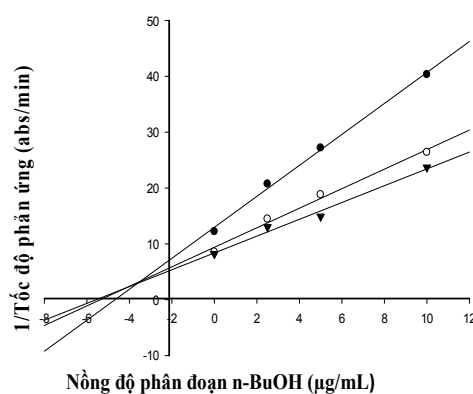


Hình 2. Đồ thị biểu diễn khả năng ức chế hoạt độ enzym AChE của Berberin clorid. Giá trị  $IC_{50}$  Berberin clorid được tính dựa vào đồ thị và chuyển từ log [ $\mu\text{g/mL}$ ] sang  $\mu\text{g/mL}$ .

Động học ức chế enzyme AChE của phân đoạn dịch chiết n-BuOH được thể hiện trong hình 4 (Lineweaver-Burk plot) và hình 5 (Dixon plot). Từ đồ thị Lineweaver-Burk ta xác định được kiểu ức chế enzyme của phân đoạn dịch chiết n-BuOH là ức chế hỗn hợp [10]. Hằng số  $K_i$  được xác định là giá trị tuyệt đối từ điểm giao trên trục Ox của 3 đường trên đồ thị Dixon plot là  $3,416 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ .



Hình 3. Đồ thị Lineweaver-Burk cho phân đoạn dịch chiết n-BuOH. Kí hiệu: ●: 0; ○: 2,5; ▼: 5; Δ: 10  $\mu\text{g/mL}$  phân đoạn dịch chiết EtOAc. Nồng độ cơ chất ACTI được sử dụng là 5; 2,5; 1,25 mM.



Hình 4. Đồ thị Dixon cho phân đoạn dịch chiết n-BuOH để xác định hằng số ức chế  $K_i$ . Kí hiệu:

●: 1,25; ○: 2,5; ▼: 5 mM ACTI. Nồng độ phân đoạn n-BuOH được sử dụng là 0; 2,5; 5; 10  $\mu\text{g/mL}$ . Hằng số  $K_i$  được xác định là giá trị tuyệt đối từ điểm giao trên trục Ox của 3 đường.

#### 4. Bàn luận

Bệnh Alzheimer là một bệnh lý thần kinh suy giảm trí nhớ. Nguyên nhân của bệnh hiện chưa được hiểu rõ nhưng giả thuyết giải thích bệnh sinh được chấp nhận rộng rãi cho thấy có sự liên quan đến thiếu hụt các chất dẫn truyền thần kinh acetylcholine trong não. AChE là enzyme có tác dụng thủy phân ACh thành thành choline. Một số chất ức chế enzyme AChE có tác dụng làm tăng lượng ACh đã được chứng minh có tác dụng cải thiện bệnh Alzheimer như Donepezil, Rivastigmin, Galantamin. Ức chế AChE từ lâu đã là một trong các đích quan trọng để điều trị các chứng rối loạn thần kinh và tìm kiếm các hợp chất mới trong điều trị Alzheimer [11]. Tác dụng ức chế enzyme AChE của các phân đoạn dịch chiết Hoàng liên ô rô được nghiên cứu bằng phương pháp Ellman. Phương pháp này sử dụng cơ chất là acetylthiocholine iodide. Khi acetylthiocholine iodide bị thủy phân do enzyme AChE tạo ra thiocholin và chất này phản ứng với 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoic (DTNB) tạo ra sản phẩm màu vàng. Kết quả nghiên cứu cho thấy tác dụng ức chế AChE của các phân đoạn dịch chiết tăng dần theo nồng độ. Phân đoạn dịch chiết n-BuOH và dịch chiết tổng EtOH cho thấy có khả năng ức chế cao nhất với  $IC_{50}$  là  $3,38 \pm 0,07$  và  $12,08 \pm 0,33 \mu\text{g/mL}$ . Phân đoạn EtOAc có tác dụng ức chế enzyme AChE thấp nhất với  $IC_{50}$  là  $126,74 \pm 2,16 \mu\text{g/mL}$ , so với chuẩn dương berberin clorid là  $0,282 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ . Từ các kết quả này cho thấy, các chất có tác dụng ức chế enzyme AChE tập trung nhiều trong phân đoạn dịch chiết n-BuOH.

Động học ức chế enzyme AChE của dịch chiết từ cây Hoàng liên ô rô chưa được nghiên cứu trước đây. Ngoài ra, do phân đoạn dịch chiết n-BuOH có giá trị  $IC_{50}$  thấp nhất trong các phân đoạn dịch chiết (tác dụng ức chế enzyme AChE cao nhất) nên chúng tôi sử dụng phân đoạn dịch chiết n-BuOH để nghiên cứu động học ức chế enzyme AChE. Đồ thị Lineweaver-Burk mô tả động học ức chế enzyme của phân đoạn dịch chiết n-BuOH. Hình 4 cho thấy kiểu ức chế là kiểu ức chế hỗn hợp [12]. Hằng số Ki

được xác định là giá trị tuyệt đối từ điểm giao trên trục Ox của 3 đường trên đồ thị Dixon, được vẽ theo  $1/(tốc\ độ\ phản\ ứng)$  theo nồng độ phân đoạn dịch chiết n-BuOH. Giá trị Ki được xác định theo đồ thị hình 5 là  $3,416 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ .

Kiểu ức chế hỗn hợp là kiểu ức chế đặc trưng của dược liệu, nguyên nhân là do trong thành phần dịch chiết có chứa một loạt các hợp chất có nhiều cơ chế tác dụng khác nhau [10]. Cơ chế ức chế cho thấy các hợp chất có hoạt tính trong phân đoạn dịch chiết n-BuOH có thể cạnh tranh với ACTI để gắn vào vị trí liên kết cơ chất của enzyme AChE hoặc kết hợp với enzyme AChE hoặc kết hợp với phức hợp AChE-ACTI. Trong trường hợp ACTI ở nồng độ cao, các hợp chất có hoạt tính trong phân đoạn dịch chiết có thể liên kết vào vị trí thứ hai của enzyme AChE. Điều này được khẳng định khi quan sát trên đồ thị thấy giá trị  $K_{max}$  tăng và  $V_{max}$  giảm khi nồng độ phân đoạn dịch chiết n-BuOH tăng.

Phân đoạn n-BuOH của dịch chiết cây Hoàng liên ô rô có tác dụng ức chế enzyme AChE cao nhất trong các phân đoạn là do chứa các hợp chất khác nhau có hoạt tính sinh học. Kết quả tác dụng ức chế enzyme AChE là do tác dụng hiệp đồng của các hợp chất này trong phân đoạn dịch chiết này. Do đó, tiếp tục nghiên cứu sâu hơn để phân lập, xác định các hợp chất có hoạt tính trong dịch chiết cây Hoàng liên ô rô cụ thể là phân đoạn n-BuOH và làm sáng tỏ cơ chế tác dụng của các hợp chất này là rất cần thiết.

#### 5. Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá được tác dụng ức chế enzyme AChE của các phân đoạn dịch chiết từ thân cây Hoàng liên ô rô. Kết quả cho thấy phân đoạn dịch chiết n-BuOH có tác dụng ức chế enzyme AChE cao nhất ( $IC_{50} = 3,38 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$ ), và kiểu ức chế động học enzyme hỗn hợp, một kiểu ức chế đặc trưng của dược liệu. Kết quả này mở ra các hướng nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học của phân đoạn dịch

chiết n-BuOH để phân tách được hoạt chất tinh khiết có tiềm năng trong phòng, điều trị các bệnh liên quan đến Alzheimer và các rối loạn thần kinh.

### Tài liệu tham khảo

- [1] Essa Musthafa M, Vijayan Reshmi K, Castellano-Gonzalez Gloria, Memon Mustaq A, Braid Nady, Guillemín Gilles J. Neuroprotective effect of natural products against Alzheimer's disease. *Neurochemical research* 37(9) (2012) 1829.
- [2] Orhan Ilkay, Kartal Murat, Naz Qamar, Ejaz Asma, Yilmaz Gülderem, Kan Yüksel, *et al.* Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish Salvia species. *Food Chemistry* 103(4) (2007) 1247.
- [3] Blennow Kaj, De Leon Mony J., Zetterberg Henrik. Alzheimer's disease. *The Lancet* 368(9533) (2006) 387.
- [4] Howes Melanie-Jayne R, Perry Nicolette SI, Houghton Peter J. Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytotherapy Research* 17(1) (2003) 1.
- [5] Ansari Niloufar, Khodaghali Fariba. Natural products as promising drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease: molecular mechanism aspect. *Current neuropharmacology* 11(4) (2013) 414.
- [6] Lợi Đỗ Tất. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Nhà xuất bản Y học (2014) 190.
- [7] Hằng Nguyễn Thu. Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng kháng khuẩn của cây Hoàng liên ô rô mọc ở Đèo Gió- tỉnh Cao Bằng. Khóa luận tốt nghiệp dược sĩ 1996-2001.
- [8] Ellman George L., Courtney K. Diane, Andres Valentino, Featherstone Robert M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7(2) (1961) 88.
- [9] Crowch Catherine Megan, Okello Edward Jonathan. Kinetics of acetylcholinesterase inhibitory activities by aqueous extracts of *Acacia nilotica* (L.) and *Rhamnus prinoides* (L.Hr.). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 3(10) (2009) 469.
- [10] Bone Kerry, Mills Simon. Principles and practice of phytotherapy: modern herbal medicine. Elsevier Health Sciences (2013).
- [11] Krall Wanda J, Sramek John J, Cutler Neal R. Cholinesterase inhibitors: a therapeutic strategy for Alzheimer disease. *Annals of Pharmacotherapy* 33(4) (1999) 441.
- [12] Cornish-Bowden Athel, Cornish-Bowden Athel. Fundamentals of enzyme kinetics. (2012).

## Evaluation of Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Fractions from *Mahonia nepalensis* (Berberidaceae) Extract

Bui Thanh Tung<sup>1</sup>, Phan Ke Son<sup>1</sup>, Dang Kim Thu<sup>1</sup>, Nguyen Thanh Hai<sup>1</sup>,  
Nguyen Xuan Bach<sup>1</sup>, Nguyen Thi Kim Thu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>VNU School of Medicine and Pharmacy,  
144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>National Hospital of Dermatology and Venereology,  
15 Phuong Mai, Dong Da, Hanoi, Vietnam

**Abstract:** Acetylcholinesterase (AChE) is a key target in the treatment of Alzheimer's disease. Principal role of AChE hydrolyzes the neurotransmitter acetylcholine. Medicinal plants are the potential source of AChE inhibitors. In this study, we studied the AChE inhibitory activities of extraction *Mahonia nepalensis*. This medicinal plant was extracted with ethanol 96% and subsequently fractionated with n-hexane, ethyl acetate (EtOA) and n-butanol (n-BuOH) solvents. These fractions were evaluated the AChE inhibitory activity by Ellman's colorimetric method.

Results showed that n-BuOH fraction had the strongest AChE inhibitory activity, followed by EtOH extract and the EtOAc fraction was the weakest. The n-BuOH fraction inhibited AChE activity in a dose-dependent manner with an  $IC_{50}$  value of  $3.38 \pm 0.07 \mu\text{g/mL}$ . Detailed kinetic analysis indicated that n-BuOH fraction was mixed inhibition type with  $K_i$  value of  $3.416 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ . Our data suggests that the *Mahonia nepalensis* may be a promising source of AChE inhibitors for Alzheimer's disease.

*Keywords:* *Mahonia nepalensis*, acetylcholinesterase inhibitory, extraction, fraction, kinetics.