



Original Article

Investigation of the Antioxidant, Antibacterial, and Antifungal Activities of *Morus alba* L. Fruit Extract Fractions for Potential Application in Skin Injury Treatment

Duong Thi Thuan^{1,*}, Phan Ai Nhu¹, Nguyen Vu Kieu Giang³, Ta Thi Thanh¹

¹College of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, 120 Hoang Minh Thao, Da Nang, Vietnam

²Da Nang Quality Control Center, 118 Le Dinh Ly, Da Nang, Vietnam

Received 28th October 2025

Revised 10th March 2026; Accepted 26th April 2026

Abstract: Mulberry (*Morus alba* L.), belonging to the Moraceae family, is a medicinal herb rich in polyphenolic compounds. This study was conducted to select the optimal extract fraction from mulberry fruits with antioxidant, antibacterial and antifungal activities for application in the treatment of skin lesions. An 80% ethanol extract of mulberry fruits was fractionated into n-hexane, dichloromethane (DCM), ethyl acetate (EtOAc), n-butanol, and aqueous fractions. The total polyphenol content, antioxidant capacity, antibacterial activity, and antifungal activity of the extract fractions were evaluated using the Folin-Ciocalteu method, the DPPH free-radical scavenging assay, and the agar well diffusion method, respectively. The protective effects against skin damage of gel containing the optimal extract fraction were assessed in a mouse skin model subjected to UV radiation combined with 5% NaOH-induced injury. The results showed that the EtOAc fraction had the highest total polyphenol content and the strongest antioxidant activity. The DCM fraction exhibited the most potent antibacterial activity against *S. aureus*, followed by the EtOAc fraction. The DCM, EtOAc, and n-butanol fractions showed comparable antifungal effects against *C. albicans*. Topical gel containing the EtOAc fraction demonstrated protective effects against skin damage comparable to those of the commercial product Gluta-Hya. In brief, the EtOAc fraction of mulberry presents a promising natural source of bioactive compounds for the development of topical formulations aimed at treating skin damage.

Keyword: *Morus alba* L., polyphenol, antioxidant, antibacterial, antifungal activity.

* Corresponding author.

E-mail address: duongthithuan@dtu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4854>

Khảo sát tác dụng chống oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm của các phân đoạn dịch chiết từ quả dâu tằm (*Morus alba* L.) Định hướng ứng dụng trong điều trị tổn thương da

Dương Thị Thuần^{1,*}, Phan Ái Như¹, Nguyễn Vũ Kiều Giang³, Tạ Thị Thanh¹

¹Trường Y Dược, Đại học Duy Tân, 120 Hoàng Minh Thảo, Đà Nẵng, Việt Nam

²Trung tâm Kiểm nghiệm thành phố Đà Nẵng, 118 Lê Đình Lý, Đà Nẵng, Việt Nam

Nhận ngày 18 tháng 10 năm 2025

Chỉnh sửa ngày 10 tháng 3 năm 2026; Chấp nhận đăng ngày 26 tháng 4 năm 2026

Tóm tắt: Dâu tằm (*Morus alba* L.), thuộc họ Dâu tằm (Moraceae), là loại dược liệu giàu hợp chất polyphenol. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm lựa chọn phân đoạn dịch chiết từ quả dâu tằm có tác dụng chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm tối ưu và ứng dụng trong điều trị tổn thương da. Dịch chiết ethanol 80% từ quả dâu tằm được tách thành các phân đoạn n-hexan, dicloromethan (DCM), ethyl acetat (EtOAc), n-butanol và nước. Hàm lượng polyphenol toàn phần, khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm của các phân đoạn cao chiết được đánh giá lần lượt theo các phương pháp Folin-Ciocalteu, phương pháp bắt gốc tự do DPPH và phương pháp khuếch tán qua giếng thạch. Khả năng chống tổn thương da của gel chứa cao chiết được đánh giá trên da chuột bị tổn thương bởi tia UV và dung dịch NaOH 5%. Kết quả cho thấy phân đoạn EtOAc có hàm lượng polyphenol cao nhất, khả năng chống oxy hóa tốt nhất. Phân đoạn DCM có tác dụng kháng khuẩn *S.aureus* tốt nhất, tiếp theo là phân đoạn EtOAc. Hoạt tính kháng nấm *C.albicans* của các phân đoạn DCM, EtOAc và n-butanol là tương đương nhau. Gel chứa cao chiết EtOAc có tác dụng chống tổn thương da không khác biệt so với chế phẩm thương mại Gluta-Hya. Như vậy, phân đoạn EtOAc từ quả dâu tằm là nguồn hợp chất sinh học đầy tiềm năng cho phát triển chế phẩm điều trị tổn thương da.

Từ khoá: *Morus alba* L., polyphenol, chống oxy hoá, kháng khuẩn, kháng nấm, tổn thương da.

1. Mở đầu

Dâu tằm (*Morus alba* L.), thuộc họ Dâu tằm (Moraceae), phân bố rộng rãi ở các quốc gia vùng Đông Nam Á, bao gồm Việt Nam [1]. Dịch chiết từ quả dâu tằm chứa nhiều hợp chất sinh học như polyphenol, flavonoid, anthocyanin, vitamin, khoáng chất và carbohydrat, với khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm [2]. Có nhiều nghiên cứu cho thấy rằng, các chất chuyển hóa thứ cấp từ thực vật đặc biệt là các

polyphenol có vai trò quan trọng trong điều trị các bệnh mãn tính như tiểu đường, tim mạch, huyết áp, viêm nhiễm và lão hóa [3-5]. Các bệnh lý kể trên liên quan đến tình trạng mất cân bằng oxy hóa hay còn gọi là stress oxy hóa đang ngày càng gia tăng và tình trạng kháng thuốc cũng trở thành thách thức lớn [6]. Điều này dẫn đến nhu cầu cấp thiết trong việc tìm kiếm các nguyên liệu mới, đặc biệt là các nguyên liệu có nguồn gốc thiên nhiên an toàn và hiệu quả. Có nhiều nghiên cứu về tác dụng dược lý của dịch chiết nước và

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: duongthithuan@dtu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4854>

dịch chiết ethanol từ lá hoặc quả dâu tằm như tác dụng kháng khuẩn, tác dụng chống viêm, tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh và tác dụng làm giảm đường huyết [2, 7]. Tuy nhiên, chỉ có một số ít công bố về thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học của các phân đoạn dịch chiết từ quả dâu tằm. Gần đây, Yu và cộng sự đã nghiên cứu về thành phần hóa học, tác dụng chống oxy hóa, chống viêm trên tế bào thực nghiệm của các phân đoạn n-hexan, dicloromethan (DCM), ethyl acetat (EtOAc) và n-butanol của dịch chiết ethanol từ quả dâu tằm Hàn Quốc [8]. Cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm của các phân đoạn dịch chiết cũng như tác dụng chống viêm trên động vật thực nghiệm. Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu lựa chọn được phân đoạn dịch chiết từ quả dâu tằm giàu polyphenol, có khả năng chống oxy hóa, kháng khuẩn và kháng nấm tốt để ứng dụng bào chế sản phẩm điều trị tổn thương da.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Quả dâu tằm chín được thu mua trực tiếp ở Gia Lai vào tháng 4/2024.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss* (được mua từ Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương) cả hai giống trưởng thành, khỏe mạnh có khối lượng 22 ± 2 g được chia ngẫu nhiên thành 3 lô (chứng, chứng dương và lô thử), mỗi lô 5 con. Chuột được nuôi ở điều kiện nhiệt độ 25 ± 2 °C, độ ẩm $65 \pm 5\%$, chu kỳ 12 : 12 giờ sáng tối, ăn thức ăn chuẩn, uống nước tự do.

Thỏ trưởng thành khỏe mạnh (được mua từ trại thỏ Tuấn Anh-Đại Lộc - Quảng Nam), cân nặng 2,0 -2,2 kg, được nuôi ở điều kiện nhiệt độ 25 ± 2 °C, độ ẩm $65 \pm 5\%$, ăn thức ăn chuẩn nuôi thỏ là viên cám do trại thỏ cung cấp.

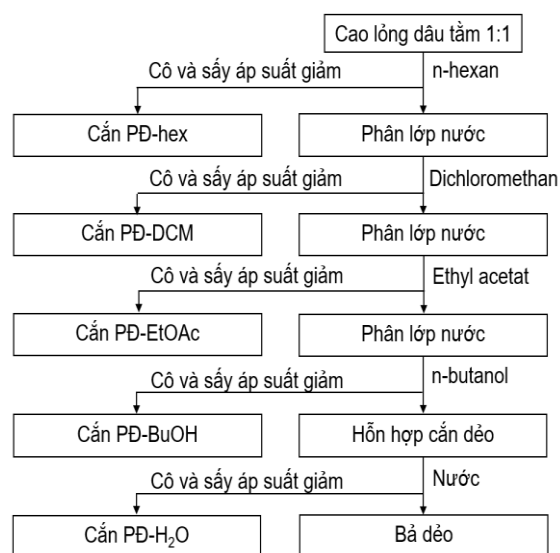
Tất cả động vật được nuôi ổn định tại phòng thí nghiệm 5 ngày trước khi tiến hành các thử nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất quả dâu tằm

Quả dâu tằm khô có độ ẩm đạt dưới 18% được đo bằng cân sấy ẩm hồng ngoại AND MX - 50. Cân 300 g quả dâu tằm, xay thô, làm ẩm bằng dung môi ethanol 80%, cho vào bình ngâm kiệt, đổ dung môi ethanol 80% đến ngập mặt dược liệu khoảng 3 cm, ngâm lạnh 3 ngày rồi rút dịch chiết. Lặp lại 3 lần ngâm kiệt. Gộp dịch chiết, để lắng 2 ngày, gạn lọc rồi cô quay áp suất giảm đến cao lỏng 1:1 (khối lượng dược liệu khô: thể tích dịch chiết =1:1).

2.2.2. Tách phân đoạn dịch chiết từ quả Dâu tằm



Hình 1. Sơ đồ quy trình chiết phân đoạn cao lỏng 1:1 quả dâu tằm.

Lắc cao lỏng thu được với lần lượt các dung môi có độ phân cực tăng dần n-hexan, dichloromethan, ethyl acetat, n-butanol và nước bằng bình lắc gạn. Ở mỗi phân đoạn, lắc lặp lại nhiều lần đến khi lớp dung môi không màu. Gộp dịch chiết ở mỗi phân đoạn và cô loại bỏ dung môi trên máy cô quay áp suất giảm (PT-SV 100, Đức) đến thể chất đặc sệt, tiếp tục sấy chân không ở tủ sấy áp suất giảm (OV-10, Hàn Quốc) ở nhiệt độ 40 °C, áp suất 0,08 atm, thu được căn của phân đoạn n-hexan (PD-hex), phân đoạn

dichloromethan (PĐ-DCM), phân đoạn ethyl acetat (PĐ-EtOAc), phân đoạn n-butanol (PĐ-BuOH), phân đoạn nước (PĐ-H₂O). Quy trình được mô tả như ở Hình 1.

2.2.3. Định lượng polyphenol toàn phần của từng phân đoạn

Xác định hàm lượng polyphenol toàn phần theo phương pháp của Idris và cộng sự dựa trên phản ứng tạo màu với thuốc thử Folin-Ciocalteu, sản phẩm phản ứng có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 765 nm [9].

Dùng ethanol 80% pha loãng 5 phân đoạn dịch chiết thành những dung dịch có nồng độ 2 mg/ml (PĐ-hex), 0,5 mg/ml (PĐ-DCM), 0,1 mg/ml (PĐ-EtOAc), 0,5 mg/ml (PĐ-BuOH) và 1 mg/ml (PĐ-H₂O). Chất chuẩn acid gallic được pha loãng với ethanol 80% thu được dãy nồng độ 30 µg/ml, 40 µg/ml, 55 µg/ml, 70 µg/ml, 90 µg/ml và 120 µg/ml. Thuốc thử Folin – Ciocalteu 10% và Na₂CO₃ 7,5% được pha loãng bằng nước cất.

Lần lượt cho 1 ml mẫu cần xác định (mẫu chuẩn acid gallic hoặc mẫu thử hay mẫu trắng là ethanol 80%) với 2 ml thuốc thử Folin – Ciocalteu, lắc đều và để yên trong 5 phút sau đó thêm 4 ml Na₂CO₃ và 3 ml ethanol 80%, trộn đều và ủ trong bóng tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Mẫu sau khi ủ được đo quang ở bước sóng 765 nm. Thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần ở mỗi mẫu. Hàm lượng được tính dựa trên phương trình chuẩn acid gallic (1 mg acid gallic/1 g cần) với công thức:

$$TPC = C \times k \times \frac{V}{m}$$

Trong đó:

TPC: hàm lượng phenolic tổng (mg GAE/g cần);

C: nồng độ x tính từ đường chuẩn acid gallic (mg/ml);

V: thể tích dung dịch thử (ml);

k: hệ số pha loãng;

m: khối lượng của cần (g).

Hiệu suất chiết polyphenol là tỉ lệ phần trăm giữa lượng polyphenol của từng phân đoạn với tổng lượng polyphenol có trong cao lỏng 1:1 ban đầu đem chiết, được thể hiện bằng công thức sau:

$$X (\%) = \frac{m_{\text{pđ}} \times P_{\text{cần}}}{m_{\text{cao lỏng 1:1}} \times P_{\text{cao lỏng 1:1}}} \times 100$$

Trong đó:

X: hiệu suất chiết (%);

m_{pđ}: khối lượng của mỗi phân đoạn cần khô kiệt (g);

m_{cao lỏng 1:1}: khối lượng của cao lỏng 1:1 (g);

P_{cần}: hàm lượng polyphenol ở mỗi phân đoạn (mg GAE/g cần khô kiệt);

P_{cao lỏng 1:1}: hàm lượng polyphenol toàn phần trong cao lỏng 1:1 (mg GAE/g được liệu khô kiệt).

2.2.4. Đánh giá khả năng chống oxy hoá bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Hoạt tính chống oxy hoá được đánh giá bằng phương pháp DPPH dựa trên sự thay đổi màu sắc của dung dịch DPPH khi phản ứng với các chất chống oxy hoá thông qua việc đo quang. Phương pháp được thực hiện theo phương pháp của Idris và cộng sự [9] có hiệu chỉnh.

Pha loãng các mẫu thử và acid ascorbic bằng methanol được các dãy nồng độ có độ hấp thụ quang trong giới hạn từ 0,2 - 0,8: PĐ-hex, PĐ-BuOH, PĐ-H₂O (0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,8 mg/ml, 1 mg/ml); PĐ-DCM (50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml); PĐ-EtOAc (100 µg/ml, 150 µg/ml, 250 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml) và acid ascorbic (5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml và 25 µg/ml).

Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5 ml các dung dịch mẫu (mẫu thử, dung dịch acid ascorbic hay mẫu đối chứng là methanol) và 5 ml DPPH 0,06 mM. Lắc đều và ủ trong bóng tối 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, đo mật độ quang ở bước sóng 517nm, thực hiện lặp lại 3 lần ở mỗi mẫu.

Khả năng hấp thụ gốc tự do của 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl được tính theo công thức:

$$I\% = \frac{A_{\text{đối chứng}} - A_{\text{thử}}}{A_{\text{đối chứng}}} \times 100$$

Trong đó: I%: khả năng hấp thụ gốc tự do DPPH (%);

A_{thử}: độ hấp thụ quang của mẫu thử.

A_{đối chứng}: độ hấp thụ quang của đối chứng.

Từ kết quả tính được và nồng độ mẫu, xây dựng phương trình đường tuyến tính giữa nồng độ mẫu thử và hoạt tính kháng oxy hóa có dạng

$y = ax + b$, thay giá trị $y = 50$, tính được giá trị IC_{50} (nồng độ có khả năng khử 50% DPPH của mẫu). Giá trị IC_{50} càng nhỏ tương ứng với hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh và ngược lại. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị trung bình của 3 lần đo khác nhau.

2.2.5. Đánh giá khả năng kháng khuẩn và kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch

2.2.5.1. Chuẩn bị vi khuẩn *Staphylococcus aureus* và vi nấm *Candida albicans*

Chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (mã ATCC 6538) và vi nấm *Candida albicans* (mã ATCC 10231) do Trung tâm Kiểm nghiệm dược phẩm Đà Nẵng cung cấp. Pha huyền dịch vi khuẩn, vi nấm trong nước muối sinh lý vô khuẩn 0,9 % trực tiếp từ các khuẩn lạc vi sinh vật mọc trên mặt thạch nuôi cấy đã được rã đông. Điều chỉnh huyền dịch vi khuẩn, vi nấm bằng cách pha loãng với nước muối vô khuẩn 0,9 % để đạt mật độ khoảng $1 - 1,5 \times 10^8$ CFU/ml đối với vi khuẩn và $1 - 5 \times 10^6$ CFU/ml đối với vi nấm (so độ đục tương đương với McFarland 0,5).

2.2.5.2. Chuẩn bị môi trường

Bảng 1. Thành phần của môi trường nuôi cấy vi khuẩn, vi nấm

Môi trường	Thành phần	Khối lượng
Nuôi cấy vi khuẩn	Nutrient Broth	1,3 g
	Glucose	0,2 g
	Vitamin B1	0,2 g
	Agar	1,6 g
Nuôi cấy nấm	Sabouraud dextrose agar	6,5 g

Hoà tan thành phần trong 100 ml nước cất vô khuẩn và hấp tiệt trùng ở nhiệt độ 121°C , áp suất 1 atm trong 15 phút. Đổ môi trường thạch vào đĩa petri với độ dày khoảng 3 mm, để nguội và đông đặc.

2.2.5.3. Trải đĩa

Dùng que bông vô khuẩn nhúng vào huyền dịch và nhẹ nhàng xoay que tăm bông trên thành ống nghiệm để loại bỏ phần huyền dịch thừa. Sau đó, lấy que tăm bông ria vi khuẩn, vi nấm trên bề mặt thạch tương ứng sao cho phủ đều trên mặt thạch và để khô.

2.2.5.4. Tạo giếng

Đục 5 lỗ trên bề mặt thạch với đường kính giếng được sử dụng là 7,62 mm. Mỗi giếng tương ứng với 50 μL với 3 giếng chứa mẫu thử của từng phân đoạn theo dãy nồng độ tăng dần, 1 giếng chứng dương và 1 giếng chứng âm.

Pha loãng mẫu cần với DMSO và khảo sát các dãy nồng độ tương ứng với từng mẫu cần để có thể tạo các vòng vô khuẩn rõ rệt như sau: PĐ-hex, PĐ-DCM, PĐ-EtOAc, PĐ-BuOH (10 mg/ml, 20 mg/ml, 40 mg/ml); PĐ-H₂O (40 mg/ml, 80 mg/ml, 160 mg/ml). Đối chứng âm là DMSO, đối chứng dương là kháng sinh Ampicillin 10 $\mu\text{g/ml}$ (vi khuẩn *S. aureus*) và Nystatin 250 IU/ml (nấm *C. albicans*). Ủ ở 37°C và đọc kết quả sau 18 – 24 giờ đối với vi khuẩn *S. aureus* và 24 – 48 giờ đối với nấm *C. albicans*. Thực hiện lặp lại 3 lần ở mỗi mẫu, lấy kết quả trung bình.

2.2.6. Bào chế gel chứa cao chiết EtOAc

2.2.6.1. Bào chế gel

Cân thành phần công thức theo Bảng 2.

Bảng 2. Thành phần của chế phẩm gel chứa cao chiết EtOAc

STT	Thành phần	Hàm lượng
1	Cao chiết EtOAc	2%
2	NaCMC	2-3%
3	Glycerin	20%
4	Nước cất vừa đủ	100%

Natri carboxymethyl cellulose (NaCMC) được ngâm trong nước cất để trương nở hoàn toàn, sau đó khuấy đều bằng máy khuấy từ cho đến khi tan hoàn toàn. Hỗn dịch NaCMC sau đó được tiệt trùng bằng nồi hấp ở nhiệt độ 121°C , áp suất 1 atm trong 30 phút.

Tất cả các bước tiếp theo được thực hiện trong điều kiện vô trùng tại tủ cấy vô trùng như sau: Cao chiết EtOAc được hoà tan trong glycerin đun nóng đến 60°C để tạo dung dịch A. Dung dịch A được phối hợp từ từ với hỗn dịch NaCMC đã tiệt trùng, khuấy đều đến khi thu được hỗn hợp đồng nhất. Điều chỉnh pH về 5,5 bằng dung dịch NaOH 5%.

Gel bào chế được đóng vào lọ thủy tinh đã được rửa sạch, sấy khô và tiệt trùng trước đó, đảm bảo vô trùng trong suốt quá trình đóng gói.

2.2.6.2. Đánh giá một số tiêu chí chất lượng của gel

- Độ pH: đo bằng máy đo pH.

- Định lượng hàm lượng polyphenol bằng phương pháp đo quang dựa trên phản ứng tạo màu với thuốc thử Folin – Ciocalteu.

- Khả năng kích ứng da: Thí nghiệm được tiến hành theo hướng dẫn thử kích ứng da tại chỗ của Bộ Y tế [10, 11] trên 03 thỏ khỏe mạnh đã được cạo vùng lông đối xứng hai bên cột sống với diện tích khoảng 10 cm × 15 cm để đặt mẫu thử. Một liều gel chứa cao chiết EtOAc (0,5 g), được dàn đều trên miếng gạc kích thước 2,5 cm × 2,5 cm và áp lên vùng da lưng thỏ đã được cạo sạch lông và cố định trong vòng 4 giờ. Sau đó bỏ gạc, rửa sạch vùng da bằng nước rồi quan sát và ghi điểm theo thang điểm ở Bảng 3 tại các thời điểm 1, 4, 12, 24, 48 và 72 giờ sau khi làm sạch mẫu cho phản ứng tại chỗ.

Bảng 3. Mức độ phản ứng trên da thỏ [11]

STT	Phản ứng	Điểm đánh giá
1	Sự tạo vảy và ban đỏ	
1.1	Không ban đỏ	0
1.2	Ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
1.3	Ban đỏ nhận thấy rõ	2
1.4	Ban đỏ vừa phải đến nặng	3
1.5	Ban đỏ nghiêm trọng (đỏ tấy) đến tạo thành vảy để ngăn ngừa sự tiến triển của ban đỏ	4
2	Gây phù nề	
2.1	Không phù nề	0
2.2	Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
2.3	Phù nề nhận thấy rõ (viền phù nề phồng lên rõ)	2
2.4	Phù nề vừa phải (da phồng lên khoảng 1 mm)	3
2.5	Phù nề nghiêm trọng (da phồng lên trên 1 mm và có lan rộng sang các vùng xung quanh)	4
	Tổng điểm kích ứng tối đa có thể	8

+ Đánh giá kết quả: trên mỗi thỏ, điểm phản ứng được tính bằng tổng số điểm ở hai mức độ ban đỏ và phù nề chia cho số lần quan sát. Điểm kích ứng của mẫu thử được lấy trung bình điểm phản ứng của các thỏ đã thử. Điểm kích ứng trung bình của chế phẩm gel được so sánh với thang đánh giá (Bảng 4) để xác định mức độ gây kích ứng da [11].

Bảng 4. Phân loại mức độ kích ứng trên da thỏ [11]

Loại kích ứng	Điểm trung bình
Kích ứng không đáng kể	0 – 0,5
Kích ứng nhẹ	> 0,5 – 2,0
Kích ứng vừa phải	> 2,0 – 5,0
Kích ứng nghiêm trọng	> 5,0 – 8,0

2.2.7. Đánh giá tác dụng điều trị tổn thương da trên chuột thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành theo protocol đã được phê duyệt bởi Hội đồng Đạo đức nghiên cứu Y Sinh của Đại học Duy Tân số 20/CN-HĐĐĐ ngày 16 tháng 12 năm 2024.

2.2.7.1. Gây tổn thương da chuột

Tiến hành theo quy trình của Sun cùng cộng sự có hiệu chỉnh [12]. Cạo lông vùng lưng chuột bằng tông - đơ điện và dao lam nhằm loại bỏ hoàn toàn lông chuột. Trên vùng da đã cạo lông, đánh dấu hình vuông có diện tích 2,0 cm². Một miếng gạc có kích thước 1x1 cm đã được tẩm dung dịch NaOH 5% đắp lên vùng da đã chuẩn bị trong 10 phút nhằm tạo tổn thương thực thể trên da. Tiếp theo, chuột được chiếu UV ở bước sóng 254 nm trong 30 phút để kích thích rối loạn sắc tố và làm tăng mức độ tổn thương da.

2.2.7.2. Đánh giá tác dụng chống tổn thương da của gel chứa cao chiết EtOAc

Chuột nhất trắng được chia thành 3 lô, mỗi lô 5 con. Tiến hành gây tổn thương da như phương pháp ở mục 2.2.7.1. Ngay sau gây tổn thương da, các lô chuột được điều trị như sau:

- Lô 1 (Lô chứng âm): không dùng thuốc, để da liền tự nhiên.

- Lô 2 (Lô chứng dương): bôi lên vùng da đã gây tổn thương chế phẩm Vaseline® Gluta-Hya Serum Burst Lotion Overnight Radian Repair (gọi tắt là Gluta-Hya) với liều 0,3 g/lần, 2 lần/ngày vào 9 giờ sáng và 3 giờ chiều hằng ngày.

- Lô 3 (Lô thử): bôi chế phẩm gel bôi da chứa 2% cao chiết EtOAc liều 0,3g/lần, 2 lần/ngày 2 lần/ngày vào 9 giờ sáng và 3 giờ chiều hằng ngày.

Chuột được quan sát hằng ngày và đánh giá mức độ tổn thương da bằng cách đo diện tích vùng da tổn thương ngay sau khi gây tổn thương và sau 8 ngày điều trị. Diện tích vùng da bị tổn thương được xác định bằng áp giấy lên vùng da đã đánh dấu bằng mực. Hình mực in lại trên giấy sẽ được tính diện tích theo phương pháp hình học. Tiếp tục theo dõi thể trạng của chuột đến ngày thứ 18 để đánh giá khả năng liền da sau khi gây tổn thương.

2.2.8. Phương pháp xử lý kết quả

Số liệu trong đánh giá khả năng kháng khuẩn được xử lý bằng phương pháp thống kê ANOVA 2 yếu tố và hậu kiểm bằng phép Tukey Test, với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Số liệu đánh giá khả năng chống oxy hoá và hàm lượng polyphenol toàn phần được xử lý bằng phương pháp thống kê ANOVA one way và hậu kiểm bằng phép Post hoc test (Bonferroni corrected), với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Khả năng chống tổn thương da được đánh giá bằng phương pháp thống kê t-test.

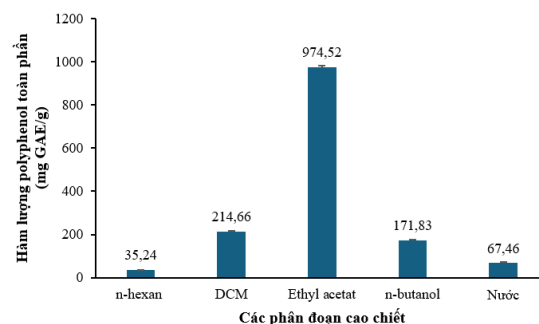
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Hiệu suất chiết và hàm lượng polyphenol toàn phần của từng phân đoạn

Hiệu suất chiết và hàm lượng polyphenol toàn phần của các phân đoạn dịch chiết quả dâu tằm được thực hiện theo phương pháp trình bày ở mục 2.2.3. Kết quả được trình bày ở Bảng 5 và Hình 1.

Bảng 5. Hiệu suất chiết polyphenol của 5 phân đoạn

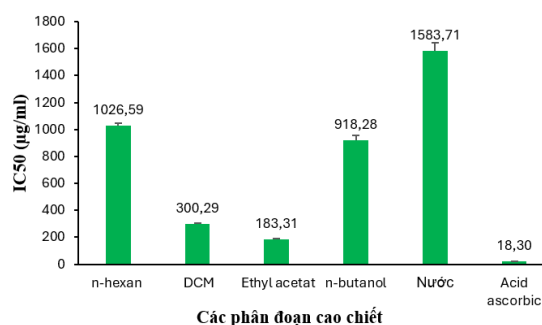
Phân đoạn	Hiệu suất chiết (%)
n-hexan	0,55
DCM	4,09
EtOAc	17,60
n-butanol	18,46
Nước	37,24



Hình 1. Hàm lượng polyphenol toàn phần của 5 phân đoạn chiết từ cao lỏng 1:1.

3.2. Đánh giá khả năng chống oxy hoá bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH

Khả năng chống oxy hoá của các phân đoạn dịch chiết từ quả dâu tằm và chất đối chứng acid ascorbic được đánh giá bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH như trình bày ở mục 2.2.4. Kết quả được trình bày ở Hình 2.



Hình 2. Khả năng chống oxy hóa của các phân đoạn cao chiết từ quả Dâu tằm và acid ascorbic.

Khả năng chống oxy hoá được đánh giá thông qua giá trị IC₅₀ (nồng độ cần thiết để ức chế 50% gốc tự do DPPH). Giá trị IC₅₀ càng thấp, khả năng chống oxy hoá càng mạnh. Kết quả ở Hình 2 cho thấy, trong 5 phân đoạn dịch chiết từ quả dâu tằm, phân đoạn ethyl acetat có giá trị IC₅₀ thấp nhất, chứng tỏ khả năng chống oxy hóa mạnh nhất (183,31 ± 6,66 µg/ml). Kết quả này cũng phù hợp với công bố của Yu và cộng sự về khả năng chống oxy hóa của phân đoạn EtOAc từ quả dâu tằm [8]. Tuy nhiên, hàm lượng polyphenol của phân đoạn này thuộc khoảng

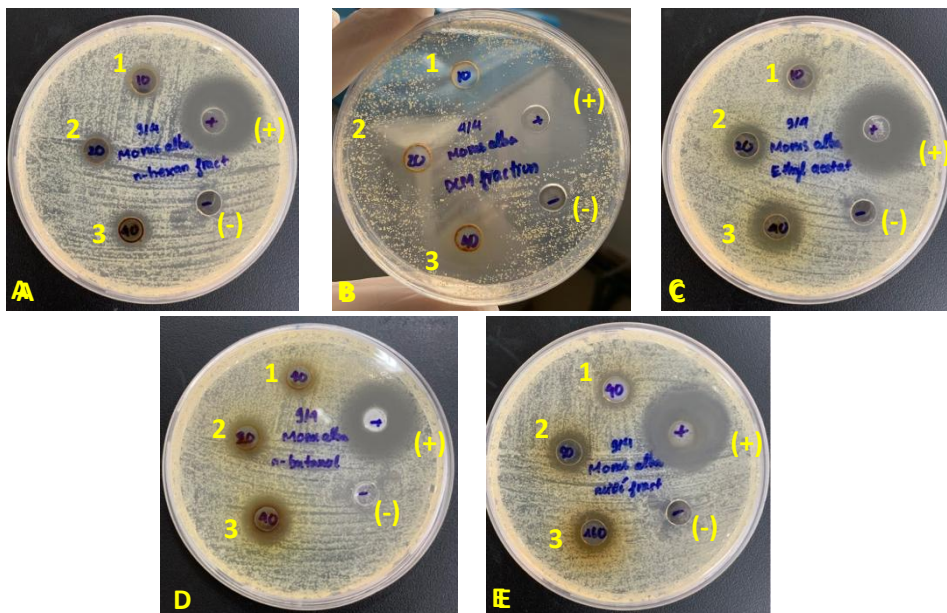
101-250 $\mu\text{g/ml}$ nên được xếp vào loại có khả năng chống oxy hóa vừa phải [13, 14]. So với acid ascorbic, khả năng chống oxy hóa của phân đoạn ethyl acetat thấp hơn 10 lần. Hoạt tính chống oxy hóa mạnh thứ nhì là phân đoạn DCM với giá trị IC_{50} là $300,29 \pm 20,08 \mu\text{g/ml}$, thấp hơn hoạt tính chống oxy hóa của acid ascorbic 16 lần. Với giá trị IC_{50} thuộc khoảng từ 250-500 $\mu\text{g/ml}$ thì phân đoạn DCM có khả năng chống oxy hóa yếu [15]. Các phân đoạn còn lại có giá trị IC_{50} lớn hơn 500 $\mu\text{g/ml}$ bao gồm n-hexan ($1026,59 \pm 20,26 \mu\text{g/ml}$), PD- H_2O ($1583,71 \pm 56,58 \mu\text{g/ml}$), và PD-BuOH ($918,28 \pm 35,72 \mu\text{g/ml}$). Các phân đoạn này mặc dầu có chứa polyphenol nhưng giá trị IC_{50} cao nên thực tế gần như không có hoạt tính chống oxy hoá [14]. Nghiên cứu của Popovici và cộng sự (2017) chỉ ra rằng hợp chất polyphenol có khả năng chống oxy hoá cao do cấu trúc phân tử của chúng, với khả năng nhường electron và nguyên tử hydro, giúp ngừng quá trình oxy hoá gốc tự do. Đặc biệt, flavonoid và acid phenolic trong hợp chất polyphenol có tác dụng làm giảm stress oxy hoá và bảo vệ tế bào khỏi các tổn thương gây ra bởi gốc tự do. Những

hợp chất này đóng vai trò quan trọng trong khả năng chống oxy hoá của các phân đoạn dịch chiết từ quả dâu tằm và sự khác biệt trong khả năng chống oxy hoá của các phân đoạn liên quan trực tiếp đến sự hiện diện và hàm lượng polyphenol trong từng phân đoạn [15]. Hàm lượng polyphenol trong mẫu phải đủ lớn để tạo ra khả năng bẫy gốc tự do theo các cơ chế chuyển nguyên tử hydro (hydrogen atom transfer – HAT) hoặc nhường electron đơn (single electron transfer – SET) hoặc tạo phức chelat với ion kim loại để trung hòa điện tích của gốc tự do [16]. Vì vậy, có thể thấy phân đoạn ethyl acetat có hàm lượng polyphenol cao nhất cũng tương ứng với khả năng chống oxy hoá tốt nhất trong các phân đoạn cao chiết.

3.3. Đánh giá khả năng kháng khuẩn, kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch

3.3.1. Khả năng kháng khuẩn

Khả năng kháng khuẩn của các phân đoạn dịch chiết được thể hiện qua Hình 3 và Bảng 6.



Hình 3. Hình ảnh vòng kháng khuẩn của 5 phân đoạn

(A: PD-hex, B: PD-DCM, C: PD-EtOAc, D: PD-BuOH, E: PD- H_2O).

Chú thích: (1), (2), (3): Nồng độ theo thứ tự tăng dần của từng phân đoạn, (-): Đối chứng âm DMSO, (+): Đối chứng dương Ampicilin 10 $\mu\text{g/ml}$.

Bảng 6. Kết quả vòng kháng khuẩn của 5 phân đoạn trên *Staphylococcus aureus*

Phân đoạn	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)						
	Nồng độ (mg/ml)						
	10	20	40	80	160	Ampicillin (10 µg/ml)	DMSO
n-hexan ^a	9,67 ± 0,58	11,00 ± 0,00	12,00 ± 0,00			32,33 ± 0,58	-
DCM ^b	15,00 ± 1,00	18,67 ± 0,58	22,33 ± 0,58			31,67 ± 0,58	-
Ethyl acetat ^a	10,67 ± 0,58	12,33 ± 1,15	14,67 ± 0,58			32,00 ± 0,00	-
n-butanol ^a	9,67 ± 0,58	11,33 ± 0,58	13,67 ± 0,58			31,67 ± 0,58	-
Nước ^c	-	-	10,33 ± 0,58	11,67 ± 0,58	13,67 ± 0,58	31,67 ± 0,58	-

Ghi chú: Các phân đoạn có các ký hiệu khác nhau (a, b, c) biểu diễn sự khác nhau về tác dụng kháng khuẩn một cách có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ giữa các phân đoạn. Các phân đoạn có cùng ký hiệu a biểu diễn tác dụng kháng khuẩn khác nhau không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Dấu (-) có nghĩa là không tạo ra vòng kháng khuẩn. Số liệu được biểu diễn dạng TB ± SD, n=3.

Kết quả ở Bảng 6 và Hình 3 cho thấy không có sự khác biệt một cách có ý nghĩa thống kê về khả năng kháng khuẩn của các phân đoạn dịch chiết n-hexan, ethyl acetat và n-butanol mặc dù kết quả ở Hình 1 thể hiện sự khác nhau rõ rệt về hàm lượng polyphenol của các phân đoạn này. Phân đoạn DCM mặc dù có hàm lượng polyphenol thấp hơn phân đoạn EtOAc nhưng khả năng kháng khuẩn lại vượt trội. Phân đoạn nước có hàm lượng polyphenol thấp và khả năng kháng khuẩn cũng thấp nhất. Điều này chứng tỏ rằng các polyphenol ở các phân đoạn này là khác nhau. Khả năng kháng khuẩn của các polyphenol phụ thuộc vào cấu tạo hóa học và cấu trúc không gian của chúng như có ít hay nhiều nhóm hydroxyl (-OH), nhóm phenyl (-C₆H₅), nhóm methoxy (-OCH₃) cũng như có sự hiện diện của nhóm glycosyl hóa hay là vị trí của các nhóm thế trong phân tử hợp chất polyphenol [17]. Các hợp chất polyphenol có ít nhóm hydroxyl (-OH), kém phân cực hơn thì dễ thấm qua màng tế bào của vi khuẩn nên khả năng kháng khuẩn tốt hơn. Các chất chứa nhóm glycosyl hóa có thể làm giảm khả năng kháng khuẩn [18]. Ngoài ra, các dung môi sử dụng ngoài chiết được polyphenol còn có thể chứa các chất có tính kháng khuẩn như các tinh dầu, các triterpenoid. Vì vậy làm thay đổi hoạt tính kháng khuẩn của các phân đoạn mà không phụ thuộc vào hàm lượng polyphenol. Như vậy, hiệu quả kháng khuẩn *S.aureus* của các phân đoạn dịch chiết được sắp xếp giảm dần như

sau: PD-DCM > PD-EtOAc = PD-BuOH = PD-hex > PD-H₂O.

3.4.2. Khả năng kháng nấm

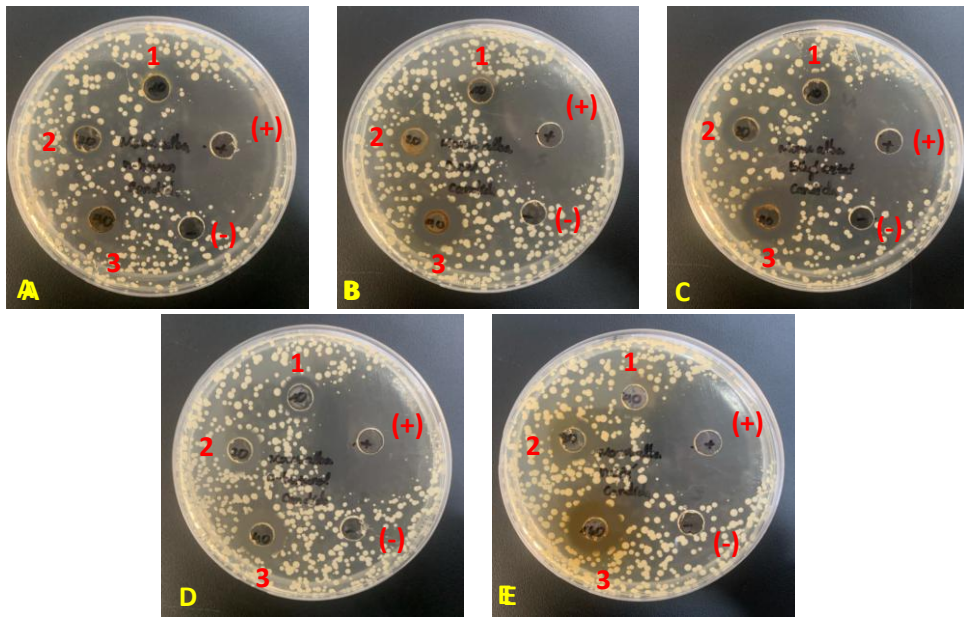
Khả năng kháng nấm của các phân đoạn dịch chiết được thể hiện qua Hình 4 và Bảng 7.

Kết quả ức chế nấm *Candida albicans* của các phân đoạn dịch chiết ở Hình 4 và Bảng 6 cho thấy PD-H₂O là phân đoạn có hiệu quả kháng nấm thấp nhất. Khả năng kháng nấm yếu thứ nhì là PD-hex. Khả năng kháng nấm của ba phân đoạn còn lại gồm PD-DCM, EtOAc, n-butanol cao hơn hai phân đoạn nước và n-hexan. Mặc dù 3 phân đoạn này có sự khác nhau về đường kính vòng ức chế vi nấm nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Dung môi n-hexan kém phân cực, chủ yếu chiết xuất được các hợp chất ít phân cực như terpenoid và flavonoid đơn giản, dẫn đến hàm lượng polyphenol thấp và khả năng kháng nấm hạn chế. Điều này tương ứng với nghiên cứu của Tenório cùng cộng sự (2024) [19]. Trong khi đó, DCM là dung môi có độ phân cực trung bình, có thể chiết xuất hiệu quả các hợp chất flavonoid và acid phenolic như acid caffeic, acid ferulic, có tác dụng làm tổn thương màng tế bào vi sinh vật, giảm tính thấm và ngăn cản các quá trình chuyển hóa quan trọng [18]. PD-EtOAc có thể chiết xuất đa dạng các polyphenol với hàm lượng cao, bao gồm flavonoid quercetin, kaempferol và anthocyanin – những hợp chất được chứng minh

có khả năng ức chế sự phát triển và độc lực của vi nấm thông qua ức chế quá trình phân chia tế bào, tổng hợp ARN và protein [19]. PD-BuOH có thể chiết xuất được flavonoid và tanin [20], cũng góp phần vào khả năng kháng nấm. PD-H₂O mặc dù có hiệu suất chiết cao, nhưng phần lớn polyphenol đã bị chiết ra trong các phân đoạn trước đó, dẫn đến hàm lượng polyphenol còn lại

thấp và khả năng kháng nấm kém. Như vậy, trong 5 phân đoạn cao chiết từ quả dâu tằm, khả năng kháng nấm của PD-H₂O là yếu nhất, tiếp theo là phân đoạn n-hexan. Các phân đoạn PD-EtOAc, PD-BuOH, PD-DCM có hoạt tính kháng nấm mạnh hơn phân đoạn n-hexan. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt tính kháng nấm của 3 phân đoạn PD-EtOAc, PD-BuOH, PD-DCM.



Hình 4. Hình ảnh vùng ức chế nấm của 5 phân đoạn (A: PD-hex, B: PD-DCM, C: PD-EtOAc, D: PD-BuOH, E: PD-H₂O).

Chú thích: (1), (2), (3): Nồng độ theo thứ tự tăng dần của từng phân đoạn, (-): Đối chứng âm DMSO, (+): Đối chứng dương Nystatin (250 IU/ml).

Bảng 7. Kết quả vùng ức chế nấm của 5 phân đoạn trên *Candida albicans*

Phân đoạn	Đường kính vùng ức chế nấm (mm)				
	Nồng độ (mg/ml)				
	10	20	40	Nystatin (250 IU/ml)	DMSO
n-hexan ^a	-	10,67 ± 0,58	11,67 ± 0,58	34,67 ± 0,58	-
DCM ^b	10,17 ± 0,29	11,00 ± 0,00	12,33 ± 0,58	33,67 ± 0,58	-
Ethyl acetat ^b	10,33 ± 0,58	11,33 ± 0,58	13,00 ± 0,00	34,33 ± 0,58	-
n-butanol ^b	10,67 ± 0,58	11,83 ± 0,29	12,83 ± 0,29	34,00 ± 0,00	-
Nước ^c	-	-	9,83 ± 0,29	34,67 ± 0,58	-

Ghi chú: Các phân đoạn có các ký hiệu khác nhau (a, b, c) biểu diễn tác dụng kháng nấm khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ giữa các phân đoạn. Các phân đoạn có cùng ký hiệu b biểu diễn tác dụng kháng nấm khác nhau không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Dấu (-) có nghĩa là không tạo ra vùng ức chế nấm. Số liệu được biểu diễn dạng TB ± SD, n=3.

3.5. Bào chế gel bôi da

Kết quả nghiên cứu ở trên cho thấy phân đoạn EtOAc vừa có hàm lượng polyphenol cao nhất vừa có khả năng chống oxy hóa tốt nhất trong tất cả các phân đoạn. Ngoài ra, phân đoạn EtOAc còn có hoạt tính kháng khuẩn tốt, khả năng kháng nấm không thua kém phân đoạn DCM nên được chọn để bào chế gel bôi da. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng của gel chứa cao chiết EtOAc được tóm tắt ở Bảng 8.

Kết quả ở Bảng 8 cho thấy sản phẩm bào chế được phù hợp với yêu cầu của gel bôi da với độ pH của gel là 5,3, nằm trong khoảng yêu cầu từ 4,5 – 6,5, phù hợp với pH sinh lý của da, giúp đảm bảo tính an toàn và khả năng tương thích sinh học của sản phẩm khi sử dụng ngoài da. Hàm lượng polyphenol toàn phần đạt $19,310 \pm 0,025$ mg/g gel. Polyphenol là hợp chất giúp chống oxy hóa vùng da bị tổn thương, kháng khuẩn và kháng nấm.

Bảng 8. Kết quả đánh giá chất lượng của gel có chứa cao chiết EtOAc

Tiêu chí	Kết quả
Cảm quan	Gel có thể chất đồng nhất, mềm mịn, màu nâu được liệu
Độ pH	$5,3 \pm 0,2$
Hàm lượng polyphenol toàn phần	$19,310 \pm 0,025$ mg GAE /g gel
Khả năng kích ứng da	0 điểm

Ghi chú: Số liệu được biểu diễn dạng TB \pm SD, n=3.

Khả năng kích ứng da được chấm điểm theo thang điểm ở Bảng 3 và phân loại mức độ kích ứng da theo thang điểm ở Bảng 4. Kết quả đánh giá đạt 0 điểm. Đối chiếu với Bảng 4, kết quả này cho thấy gel không gây kích ứng trên da.



Hình 5. Hình đại diện của thử được thử khả năng kích ứng da của gel chứa cao chiết phân đoạn EtOAc từ quả dâu tằm.

3.6. Tác dụng chống tổn thương da

Tác dụng chống tổn thương da trên chuột thí nghiệm của chế phẩm gel bào chế được đánh giá bằng phương pháp so sánh diện tích vùng da bị

tổn thương sau 8 ngày điều trị và khả năng liền da sau 18 ngày điều trị giữa các nhóm như trình bày ở mục 2.2.7.2. Kết quả được trình bày ở Bảng 9 và Hình 6.

Bảng 9. Diện tích da tổn thương sau 8 ngày điều trị

STT	Lô chứng (cm ²)	Lô chứng dương (cm ²)	Lô thử (cm ²)	Diện tích ban đầu (cm ²)
1	1,400	0,800	0,490	1
2	2,080	0,905	0,880	1
3	1,285	0,840	0,800	1
4	2,285	0,500	0,880	1
5	1,350	0,700	1,000	1
TB	1,680 ^a ± 0,466	0,749 ^b ± 0,158	0,810 ^b ± 0,192	1

Ghi chú: Giá trị trung bình của các lô có các ký hiệu khác nhau (a, b) biểu diễn diện tích da tổn thương khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Các lô có cùng ký hiệu b biểu diễn diện tích da tổn thương khác nhau không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Số liệu được biểu diễn dạng TB ± SD, n=5.

Kết quả từ Bảng 9 cho thấy sau 8 ngày điều trị, diện tích da tổn thương trung bình giảm rõ rệt ở nhóm lô chứng dương với diện tích là $0,749 \pm 0,158$ cm² và lô thử là $0,81 \pm 0,192$ cm². Trong khi đó, lô chứng âm không điều trị thì diện tích vùng tổn thương tăng từ 1cm² lên $1,68 \pm 0,466$ cm². Phân tích thống kê cho thấy giữa lô chứng âm với lô chứng dương, lô chứng âm với lô thử có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về diện tích da bị tổn thương với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$, trong khi không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm chứng dương và lô thử.

Kết quả ở Hình 6 thể hiện rõ hiệu quả điều trị tổn thương da của chế phẩm gel bào chế và chế phẩm thương mại Gluta-Hya trên chuột so với nhóm không được điều trị. Lô chứng âm không được điều trị gì thì chỉ sau 2 ngày, diện tích vùng da tổn thương lan rộng hơn so với ban đầu. Lô thử và lô chứng dương đều hiệu quả trong việc giảm diện tích tổn thương da, da liền nhanh hơn. Sau 18 ngày điều trị, các nhóm chuột đều có sự liền da vùng đã tổn thương, nhưng nhóm chứng âm dấu vết liền da lớn, đậm và sẫm màu. Lô thử và lô chứng dương có vết liền da mờ nhỏ, da sáng màu. Kết quả này là do gel bào chế chứa cao chiết phân đoạn ethyl acetat vừa có tác dụng kháng khuẩn vừa có tác dụng chống oxy hóa, làm khôi phục các tổn thương DNA trên da

gây ra bởi tia UV [21, 22]. Kết quả chóng lành vết thương ở lô chuột điều trị bằng chế phẩm Gluta-Hya là do thành phần chứa glutathion là một chất có tác dụng chống oxy hóa mạnh, vừa có tác dụng kháng khuẩn [23, 24]. Ngoài ra, glutathion còn có tác dụng làm sáng da và chống tổn thương da gây ra bởi tia UV. Chế phẩm Gluta-Hya còn chứa tocopherol là một chất chống oxy hóa mạnh, làm lành vết thương và chống nám [25]. Thành phần acid hyaluronic trong chế phẩm Gluta-Hya còn có tác dụng làm lành vết thương và chống lão hóa da [26]. Niacinamid (vitamin B3) có mặt trong chế phẩm Gluta-Hya có tác dụng chống lão hóa, tái tạo cấu trúc bề mặt da và chống viêm [27]. Vì vậy, Gluta-Hya giúp cho vùng da bị tổn thương chóng lành và sáng màu. Kết quả nghiên cứu chứng minh chế phẩm gel chứa cao chiết EtOAc có hiệu quả tương đương với sản phẩm Gluta-Hya trên thị trường. Tuy chế phẩm Gluta-Hya không công bố hàm lượng của các thành phần chính trong công thức do đây là một chế phẩm mỹ phẩm, nhưng kết quả thu được là một bằng chứng cho thấy phân đoạn ethyl acetat chiết xuất từ quả dâu tằm rất có tiềm năng dùng trong bào chế các sản phẩm dược phẩm và mỹ phẩm dùng điều trị da tổn thương.



Hình 6. Hình ảnh đại diện về tác dụng điều trị tổn thương da của gel bào chế:
A: Chuột lô thử; B: Chuột lô chứng dương; C: Chuột lô chứng âm (không điều trị).

4. Kết luận

Từ các kết quả nghiên cứu trên, có thể kết luận rằng trong các phân đoạn dịch chiết từ quả dâu tằm (*Morus alba* L.), phân đoạn EtOAc có hàm lượng polyphenol cao nhất, khả năng chống oxy hoá mạnh nhất. Phân đoạn DCM có hoạt tính kháng khuẩn tốt nhất trên chủng *S.aureus*. Hoạt tính kháng nấm của 3 phân đoạn DCM, EtOAc, và n-butanol là tương đương nhau trên chủng *C.albicans*. Trong khi đó, các phân đoạn n-hexan và phân đoạn nước cho thấy hoạt tính thấp cả về khả năng chống oxy hoá, kháng khuẩn và kháng nấm. Chế phẩm gel bôi da chứa phân đoạn dịch chiết ethyl acetat từ quả dâu tằm thể hiện tác dụng tốt trong điều trị tổn thương da trên chuột thí nghiệm với hiệu quả không thua kém so với sản phẩm thương mại Gluta-Hya trên thị trường.

Tài liệu tham khảo

- [1] P. Kaewkaen, T. T. Un, J. Wattanathorn, S. Muchimapura, W. Kaewrueng, S. Wongcharoenwanakit, Mulberry Fruit Extract Protects against Memory Impairment and Hippocampal Damage in Animal Model of Vascular Dementia. Evidence-based Complementary And Alternative Medicine : Ecam, 2012, pp. 263520.
- [2] G. E. S. Batiha, A. E. A. Snafi, M. M. Thuwaini, J. O. Teibo, H. M. Shaheen, A. P. Akomolafe, T. K. A. Teibo, H. M. A. Kuraishy; A. I. A. Garbeeb, A. Alexiou, *Morus alba*: a Comprehensive Phytochemical and Pharmacological Review. Naunyn-schmiedeberg's Archives of Pharmacology 2023, Vol. 396, No. 7, pp. 1399-1413.
- [3] S. K. Barik, S. Sengupta, R. Arya; S. Kumar, J. J. Kim, R. Chaurasia, Dietary Polyphenols as Potential Therapeutic Agents in Type 2 Diabetes Management: Advances and Opportunities. Advances in Nutrition (Bethesda, Md.), Vol. 16, No. 1, 2025, pp. 100346.
- [4] I. Ferreira, N. Martins, L. Barros, Phenolic Compounds and Its Bioavailability: In Vitro Bioactive Compounds or Health Promoters? Advances in food and nutrition research, Vol. 82, 2017, pp. 1-44.
- [5] C. H. Jelena, R. Giorgio, G. Justyna; M. D. Neda, S. Natasa, B. Artur, G. Giuseppe, Beneficial Effects of Polyphenols on Chronic Diseases and Ageing, In Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications, Galanakis, C. M. Ed. Elsevier: United Kingdom, 2018, pp 69-102.
- [6] R. Araújo, D. B. G. Martins, M. A. Borba, Oxidative Stress and Disease, In the Transcription Factor Nrf2, Morales-Gonzalez, J. A. Morales-González, A. n. Madrigal-Santillan, E. O. Eds. IntechOpen: London, 2016.
- [7] C. H. Peng, L. K. Liu, C. M. Chuang, C. C. Chyau, C. N. Huang, C. J. Wang, Mulberry Water Extracts Possess an Anti-obesity Effect and Ability to Inhibit Hepatic Lipogenesis and Promote Lipolysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 59, No. 6, 2011, pp. 2663-71.
- [8] J. S. Yu, S. H. Lim, S. R. Lee, C. I. Choi, K. H. Kim, Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of White Mulberry (*Morus alba* L.) Fruits on Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264.7 Macrophages, Molecules, Vol. 26, No. 4, 2021, p. 920.
- [9] M. Idri, E. R. Sukandar, A. S. Purnomo, F. Martak, S. Fatmawati, Antidiabetic, Cytotoxic and Antioxidant Activities of *Rhodomyrtus tomentosa* Leaf Extracts, RSC Adv, Vol. 12, 2022, No. 39, pp. 25697-25710.
- [10] Ministry of Health (Vietnam). Guidelines for Preclinical and Clinical Testing of Traditional Medicine and Herbal Medicinal Products. Issued under Decision No. 141/BYT-QĐ, Hanoi: Ministry of Health, 2015 (in Vietnamese).
- [11] Ministry of Health (Vietnam), Skin Irritation Test Method (Applicable to Products Used in Healthcare and Cosmetics), Issued under Decision No. 3113/1999/QĐ-BYT dated October 11, 1999. Hanoi: Ministry of Health, 1999 (in Vietnamese).
- [12] X. Sun, W. Wang, H. Yang, Y. Liu, H. Ding, X. Zhang, X. Li, S. Tan, X. Liu, Y. Yang, A Comparative Study on the Sensitivity of Establishing Melasma-Like Models in Different Strains of Mice. Journal of Cosmetic Dermatology Vol. 24, No. 4, 2025, pp. e70155.
- [13] K. Chakraborty, N. K. Praveen, K. K. Vijayan, G. S. Rao, Evaluation of Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Brown Seaweeds Belonging to *Turbinaria* spp.(Phaeophyta, Sargassaceae) Collected from Gulf of Mannar, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, Vol. 3, No. 1, 2013, pp. 8-16.
- [14] W. Widowati, R. Tjokropranoto, R. Wahyudianingsih, F. Tih, P. S. Martioso, D. Dani, V. Vera, F. S. Nindya, R. A. Saraswati, N. I. Andretti, N. O. Putri, F. C. Saputra, Antioxidant and Inhibitory Activities of α -amylase, α -glucosidase, and G6Pase from *Smalanthus*

- Sonchifolius Tuber Extract as a Potential Antidiabetic Agent, *J Herbmед Pharmacol*, Vol. 14, No. 1, 2025, pp. 53-62.
- [15] C. Popovici, T. Capcanari; O. Zagarschih, O. Deseatnicova, R. Sturza, Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Polyphenol Compounds, *Food and Environment Safety Journal*, Vol. 9, No. 3, 2017, pp. 105-109.
- [16] U. Bhuyan, J. G. Handique, Chapter 6 - Plant Polyphenols as Potent Antioxidants: Highlighting the Mechanism of Antioxidant Activity and Synthesis/Development of some Polyphenol Conjugates, In *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta ur, R., Ed. Elsevier, Vol. 75, 2022, pp. 243-266.
- [17] M. N. Lund, Reactions of Plant Polyphenols in Foods: Impact of Molecular Structure, *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 112, 2021, pp. 241-251.
- [18] L. D. Rossi, G. Rocchetti, L. Lucini, A. Rebecchi, Antimicrobial Potential of Polyphenols: Mechanisms of Action and Microbial Responses-A Narrative Review, In *Antioxidants*, Vol. 14, 2025, pp. 200.
- [19] C. J. L. Tenório, T. D. S. Dantas, L. S. Abreu, M. R. A. Ferreira, L. A. L. Soares, Influence of Major Polyphenols on the Anti-Candida Activity of *Eugenia uniflora* Leaves: Isolation, LC-ESI-HRMS/MS Characterization and In Vitro Evaluation, *Molecules*, Vol. 29, No. 12, 2024, pp. 2761.
- [20] P. Fyhrquist, E. Y. Salih, S. Helenius; I. Laakso, R. J. Tiitto, HPLC-DAD and UHPLC/QTOF-MS Analysis of Polyphenols in Extracts of the African Species *Combretum Padoides*, C. Zeyheri and C. Psidioides Related to Their Antimycobacterial Activity, *Antibiotics*, Vol. 9, No. 8, 2020, pp. 459.
- [21] J. P. J. Merlin, S. Mathavarajah, G. Dellaire, K. P. J. Murphy, H. P. V. Rupasinghe, A Dietary Antioxidant Formulation Ameliorates DNA Damage Caused by γ -Irradiation in Normal Human Bronchial Epithelial Cells In Vitro, *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, Vol. 11, No. 7, 2022, pp. 1407.
- [22] Y. Jiang, W. Han, T. Shen, M. H. Wang, Antioxidant Activity and Protection from DNA Damage by Water Extract from Pine (*Pinus densiflora*) Bark. *Preventive Nutrition and Food Science*, Vol. 17, 2012, pp. 116-21.
- [23] R. Alharbe, A. Almansour, D. H. Kwon, Antibacterial Activity of Exogenous Glutathione and Its Synergism on Antibiotics Sensitize Carbapenem-associated Multidrug Resistant Clinical Isolates of *Acinetobacter Baumannii*, *Int J Med Microbiol*, Vol. 307, No. 7, 2017, pp. 409-414.
- [24] C. Senra, M. A. Garcia, D. H. Kwon, Antibacterial Activity of Exogenous Glutathione and Its Synergism on Antibiotics in Methicillin-Associated Multidrug Resistant Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. *Advances in Microbiology*, Vol. 12, No. 12, 2022, pp. 635-648.
- [25] M. A. Keen, I. Hassan, Vitamin E in Dermatology. *Indian Dermatol Online J*, Vol. 7, No. 4, 2016, pp. 311-315.
- [26] N. Chylińska, M. Maciejczyk, Hyaluronic Acid and Skin: Its Role in Aging and Wound-Healing Processes, *Gels*, Vol. 11, No. 4, 2025, pp. 281.
- [27] W. Gehring, Nicotinic acid/Niacinamide and the Skin, *Journal of cosmetic Dermatology*, Vol. 3, No. 2, 2004, pp. 88-93.