

HÀM LƯỢNG VITEXIN, ISOVITEXIN VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ α -GLUCOSIDASE CỦA CAO CHIẾT VỎ ĐẬU XANH

Nguyễn Thị Nga¹, Nguyễn Ngọc Linh², Vũ Thị Thoa²

Lê Văn Long², Nguyễn Thị Nguyệt³, Đỗ Thị Trang¹

Nguyễn Thị Quyên¹ và Đào Thị Ngoãn^{3,✉}

¹Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội

²Trường Đại học Thành Đô

³Trường Đại học Y Hà Nội

Vỏ đậu xanh là phụ phẩm phát sinh với khối lượng lớn trong chế biến đậu xanh nhưng chưa được khai thác hiệu quả. Nghiên cứu này nhằm định lượng vitexin và isovitexin trong cao chiết vỏ đậu xanh bằng HPLC-DAD, xác định hàm lượng polyphenol toàn phần, hàm lượng flavonoid toàn phần, đánh giá hoạt tính ức chế α -glucosidase in vitro và sử dụng docking phân tử để hỗ trợ gợi ý tương tác của các hợp chất chính với đích liên quan α -glucosidase. Vỏ đậu xanh được thu từ cơ sở chế biến tại Hưng Yên, đã được sấy khô theo quy trình chế biến tại cơ sở sản xuất trước khi bàn giao, sau đó mẫu được bảo quản kín ở ngăn mát tủ lạnh, nghiền nhỏ và chiết siêu âm bằng methanol hoặc ethanol 50%; Cao chiết ethanol 50% được ký hiệu VRE50. Kết quả cho thấy VRE50 có hiệu suất chiết 5,45%, chứa vitexin 12,38% và isovitexin 10,77% trong cao chiết, cao hơn về mặt định lượng so với cao methanol. VRE50 có hàm lượng polyphenol toàn phần $48,56 \pm 1,46$ mg GAE/g cao chiết và hàm lượng flavonoid toàn phần $145,66 \pm 4,37$ mg QE/g cao chiết. VRE50 ức chế α -glucosidase với $IC_{50} = 148,36 \pm 5,49$ μ g/mL, so với acarbose là $120,99 \pm 8,31$ μ g/mL trong cùng điều kiện thử nghiệm. Docking trên protein 3TOP cho thấy vitexin và isovitexin có khả năng tương tác với vùng gắn kết của đích liên quan α -glucosidase; tuy nhiên, kết quả docking chỉ được sử dụng như bằng chứng hỗ trợ, không thay thế thử nghiệm enzym in vitro. Nghiên cứu cung cấp cơ sở ban đầu cho hướng khai thác phụ phẩm vỏ đậu xanh giàu vitexin và isovitexin có tiềm năng ức chế α -glucosidase trong điều kiện in vitro.

Từ khóa: Vỏ đậu xanh, vitexin, isovitexin, α -glucosidase, docking phân tử.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường týp 2 là rối loạn chuyển hóa mạn tính có xu hướng gia tăng trên toàn cầu. Tăng glucose máu sau ăn là một đặc điểm quan trọng của bệnh và có liên quan đến tiến triển biến chứng mạch máu, stress oxy hóa và rối loạn chuyển hóa kéo dài.^{1,2} Một hướng tiếp cận nhằm kiểm soát tăng glucose máu sau ăn là ức chế enzym α -glucosidase, qua đó làm

chậm quá trình thủy phân oligosaccharid và disaccharid thành glucose hấp thu.³

Đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) là cây họ Đậu được sử dụng phổ biến ở châu Á. Trong quá trình chế biến công nghiệp, lớp vỏ hạt thường bị loại bỏ như phụ phẩm. Các nghiên cứu trước đây cho thấy vỏ đậu xanh chứa nhiều hợp chất phenolic và flavonoid, trong đó vitexin và isovitexin là hai flavonoid C-glycosid đặc trưng có liên quan đến các tác dụng sinh học như chống oxy hóa và điều hòa chuyển hóa glucose.⁴⁻⁸ Tuy nhiên, dữ liệu về phụ phẩm vỏ đậu xanh tại Việt Nam, đặc biệt là dữ liệu kết hợp định lượng marker, hoạt tính

Tác giả liên hệ: Đào Thị Ngoãn

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: daothingoan@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 21/05/2026

Ngày được chấp nhận: 22/06/2026

ức chế α -glucosidase và mô phỏng tương tác phân tử trên cùng một mẫu nghiên cứu, vẫn còn hạn chế.

Tại Công ty TNHH Xuất nhập khẩu Nam Bình, thôn Liêu Hạ, xã Yên Mỹ, tỉnh Hưng Yên, lượng vỏ đậu xanh phụ phẩm phát sinh khoảng 2 - 5 tấn mỗi tháng. Phần phụ phẩm này chủ yếu bị loại bỏ hoặc sử dụng làm phân bón, chưa được khai thác hiệu quả như nguồn nguyên liệu giàu hoạt chất. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định hàm lượng vitexin và isovitexin trong cao chiết vỏ đậu xanh bằng HPLC-DAD, xác định hàm lượng polyphenol toàn phần và flavonoid toàn phần, đánh giá hoạt tính ức chế α -glucosidase *in vitro* của dịch chiết vỏ đậu xanh thông qua giá trị IC_{50} , đồng thời sử dụng docking phân tử trên protein 3TOP như công cụ hỗ trợ gợi ý tương tác của các hợp chất chính với đích liên quan α -glucosidase.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là vỏ đậu xanh, phụ phẩm thu từ Công ty TNHH Xuất nhập khẩu Nam Bình, thôn Liêu Hạ, xã Yên Mỹ, tỉnh Hưng Yên vào tháng 10/2025. Mẫu là phụ phẩm đã được cơ sở sản xuất sấy khô theo quy trình sản xuất trước khi bàn giao cho nhóm nghiên cứu. Sau khi thu nhận, mẫu được loại bỏ tạp chất cơ học bằng quan sát cảm quan, đóng trong túi kín và bảo quản ở ngăn mát tủ lạnh, tránh ánh sáng nhằm hạn chế hút ẩm, mối mọt và biến đổi thành phần trong thời gian chờ xử lý. Độ ẩm của vỏ đậu xanh trước khi chiết, xác định theo phương pháp mất khối lượng do làm khô ở 105°C đến khối lượng không đổi, đạt $5,19 \pm 0,05\%$ ($n = 3$). Kết quả này cho thấy nguyên liệu ở trạng thái khô, phù hợp cho quá trình bảo quản ngắn hạn và chiết xuất. Trước khi chiết, mẫu được nghiền nhỏ và rây để thu bột

có kích thước tiểu phân khoảng 0,5 - 1,0 mm. Mẫu nguyên liệu được lưu tạm thời tại phòng thí nghiệm Hóa, Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội, mã mẫu VR-HY102025.

2. Phương pháp

Phương pháp chiết và so sánh dung môi

Cân chính xác 100,0 g bột vỏ đậu xanh cho mỗi dung môi khảo sát. Mẫu được chiết bằng phương pháp siêu âm hỗ trợ trên thiết bị Multitool Ultrasonic Cleaner TH-100A, dung tích 30 L, tần số siêu âm 40 kHz, công suất siêu âm 600 W và công suất gia nhiệt 500 W. Mỗi mẫu được chiết với 300 mL dung môi ở 50°C trong 2 giờ/lần. Quá trình chiết được lặp lại 3 lần với cùng loại dung môi, mỗi lần sử dụng 300 mL dung môi mới. Như vậy, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:3 (g/mL) cho mỗi lần chiết và tổng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi sau 3 lần chiết là 1:9 (g/mL). Hai dung môi khảo sát là methanol và ethanol 50%. Dịch chiết được gộp, lọc và cô cạn dưới áp suất giảm để thu cao chiết tương ứng. Hiệu suất chiết được tính theo khối lượng cao khô thu được so với khối lượng bột nguyên liệu ban đầu. Cao chiết ethanol 50% được ký hiệu VRE50 và được sử dụng cho các thử nghiệm tiếp theo.

Định lượng vitexin và isovitexin bằng HPLC-DAD

Hai hợp chất vitexin và isovitexin được định lượng đồng thời bằng HPLC-DAD Agilent 1260 Infinity II trên cột pha đảo Hydrosphere C18 (150×4,6 mm; 5 μ m). Pha động gồm acetonitril và nước, chạy gradient: 0-5 phút, 5% acetonitril; 5 - 30 phút, tăng tuyến tính từ 5% lên 50% acetonitril. Tốc độ dòng 1,0 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 20 μ L, bước sóng định lượng 340 nm và thời gian phân tích 30 phút. Dung dịch chuẩn vitexin và isovitexin được pha ở các nồng độ 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250 và 500 μ g/mL. Các chất chuẩn có độ tinh khiết > 98%. Trong điều kiện sắc ký đã lựa chọn, vitexin và

isovitexin có thời gian lưu lần lượt khoảng 17,3 và 17,7 phút. Hàm lượng hai hợp chất trong mẫu được xác định theo phương pháp chuẩn ngoại dựa trên phương trình đường chuẩn tương ứng. Phương pháp định lượng được kiểm tra bước đầu về tính phù hợp sắc ký và độ tuyến tính trong khoảng nồng độ khảo sát.

Xác định hàm lượng polyphenol toàn phần và flavonoid toàn phần

Hàm lượng polyphenol toàn phần được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu, sử dụng acid gallic làm chuẩn và biểu thị theo mg GAE/g cao.⁹ Mẫu hoặc chuẩn được phản ứng với thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và Na_2CO_3 6%, ủ ở 40°C trong 15 phút, sau đó đo hấp thụ tại 765 nm. Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định theo phương pháp tạo màu NaNO_2 - AlCl_3 - NaOH , sử dụng quercetin làm chuẩn và biểu thị theo mg QE/g cao.¹⁰ Độ hấp thụ được đo tại 510 nm. Các phép thử được thực hiện lặp lại 3 lần.

Đánh giá hoạt tính ức chế α -glucosidase

Hoạt tính ức chế α -glucosidase của VRE50 được đánh giá bằng phương pháp đo quang sử dụng cơ chất p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG). VRE50 được khảo sát ở các nồng độ 50, 100, 150, 200, 250 và 300 $\mu\text{g/mL}$. Dung dịch enzyme α -glucosidase được chuẩn bị trong đệm phosphate potassium 0,2 M, pH 6,8. Hỗn hợp phản ứng gồm dung dịch đệm, enzyme và mẫu thử được ủ ở 37°C trong 20 phút, sau đó thêm pNPG 5 mM để khởi động phản ứng và tiếp tục ủ ở 37°C trong 30 phút. Phản ứng được dừng bằng Na_2CO_3 0,1 M và độ hấp thụ được đo ở 405 nm. Acarbose được sử dụng làm đối chứng dương, mẫu chứng không chứa chất thử và mẫu trắng được dùng để hiệu chỉnh nền hấp thụ.

Tỷ lệ ức chế enzyme được tính theo công thức: $\%I = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{control}}] \times 100$. Mỗi thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần độc lập ($n = 3$). Giá trị IC_{50} được xác định từ

đường cong đáp ứng nồng độ tỷ lệ ức chế bằng hồi quy tuyến tính trên khoảng nồng độ có tỷ lệ ức chế bao quanh 50%. Dữ liệu được xử lý bằng Microsoft Excel.

Mô phỏng docking phân tử

Docking phân tử được thực hiện bằng phần mềm MOE trên cấu trúc C-terminal của enzyme maltase-glucoamylase người đồng kết tinh với acarbose (PDB ID: 3TOP).¹¹ Cấu trúc này được lựa chọn vì maltase-glucoamylase là enzyme α -glucosidase ở ruột người, tham gia quá trình thủy phân carbohydrate thành glucose; đồng thời 3TOP có ligand đồng kết tinh là acarbose, cũng là chất đối chứng dương được sử dụng trong thử nghiệm ức chế α -glucosidase *in vitro* của nghiên cứu này. Quy trình docking được kiểm chứng bằng redocking ligand đồng kết tinh acarbose vào hốc gắn ban đầu của protein 3TOP.

Tập hợp chất đầu vào gồm 20 hợp chất phenolic và flavonoid đã được báo cáo trong vỏ đậu xanh, vỏ hạt đậu xanh hoặc phân đoạn polyphenol liên kết từ chất xơ vỏ đậu xanh. Trong đó, vitexin và isovitexin được ưu tiên phân tích sâu do là hai marker chính được định lượng trực tiếp trong cao chiết VRE50. Protein được chuẩn bị bằng cách loại bỏ phân tử nước và thành phần không cần thiết; ligand được chuẩn hóa cấu trúc trước khi docking. Kết quả được đánh giá dựa trên điểm docking E_{score2} và tương tác không cộng hóa trị trong khoang gắn. Docking được sử dụng như phương pháp hỗ trợ gợi ý tương tác phân tử, không thay thế kết quả thử nghiệm enzyme *in vitro*.

Xử lý số liệu

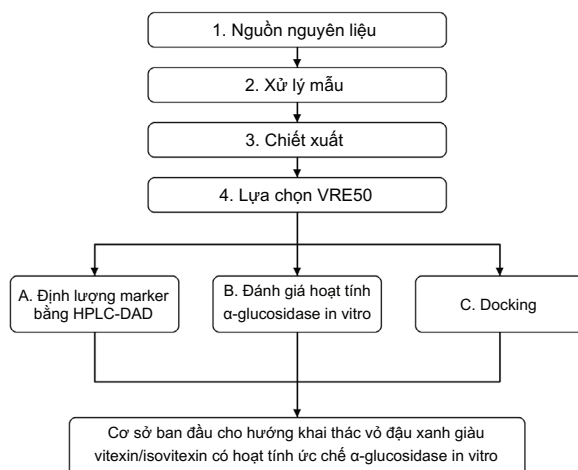
Số liệu được nhập và xử lý bằng Microsoft Excel. Các kết quả được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Độ ẩm nguyên liệu, hiệu suất chiết, hàm lượng vitexin/isovitexin, hàm lượng polyphenol toàn phần, flavonoid toàn phần và giá trị IC_{50} được tính toán từ các phép thử lặp lại hoặc từ đường chuẩn tương ứng.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu không thực hiện trên người, mẫu bệnh phẩm người hoặc động vật thí nghiệm; do đó không thuộc phạm vi yêu

cầu phê duyệt của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học. Các thí nghiệm được tiến hành theo quy định an toàn phòng thí nghiệm.

Quy trình nghiên cứu vỏ đậu xanh



Sơ đồ 1. Quy trình nghiên cứu vỏ đậu xanh.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm nguyên liệu và kết quả định lượng vitexin, isovitexin

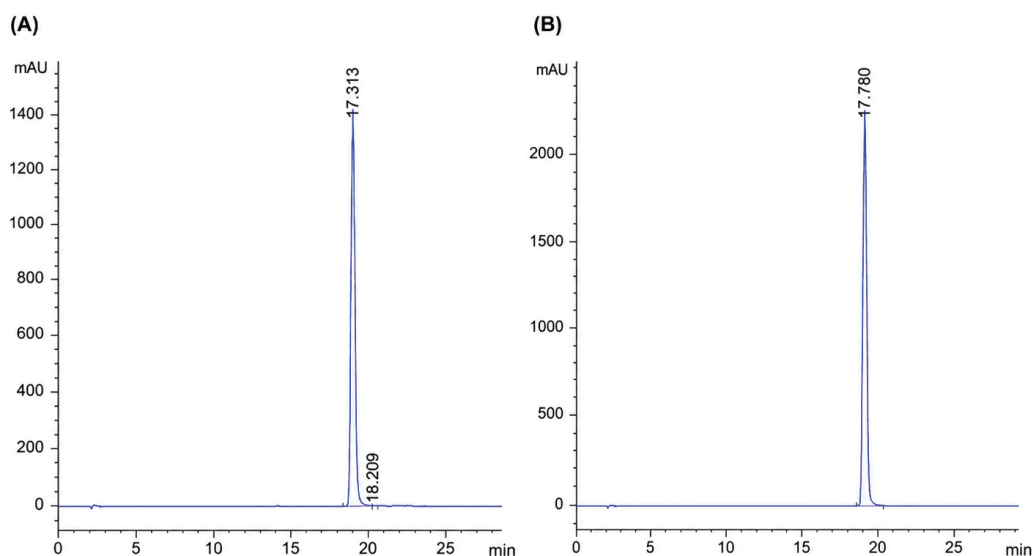
Bột vỏ đậu xanh trước khi chiết có độ ẩm $5,19 \pm 0,05\%$ ($n = 3$), cho thấy nguyên liệu ở trạng thái khô, phù hợp cho bảo quản ngắn hạn và chiết xuất. Việc nghiền và rây mẫu đến kích thước tiểu phân khoảng 0,5-1,0 mm giúp tăng diện tích tiếp xúc với dung môi, đồng thời hạn chế hiện tượng vón bột hoặc kéo theo quá

hiều tạp mịn trong quá trình lọc dịch chiết.

Trong điều kiện sắc ký đã lựa chọn, vitexin và isovitexin cho pic đơn, cân đối, thời gian lưu ổn định và được tách rõ trên nền mẫu. Hai hợp chất có thời gian lưu xấp xỉ 17,3 và 17,7 phút. Đường chuẩn của vitexin và isovitexin tuyến tính trong khoảng 15,625 - 500 $\mu\text{g/mL}$, với phương trình lần lượt là $Y = 30,562X + 24,320$ và $Y = 42,674X + 40,790$; hệ số R^2 đều đạt 0,9999.

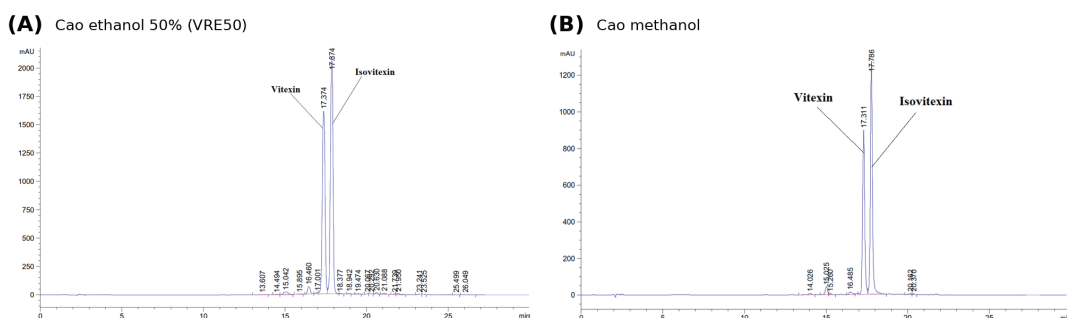
Bảng 1. Một số thông số kiểm tra bước đầu của phương pháp HPLC-DAD

Chỉ tiêu	Vitexin	Isovitexin
Thời gian lưu (phút)	17,3	17,7
Độ tinh khiết chất chuẩn (%)	> 98,0	> 98,0
Khoảng tuyến tính ($\mu\text{g/mL}$)	15,625 - 500	15,625 - 500
Phương trình đường chuẩn	$Y = 30,562X + 24,320$	$Y = 42,674X + 40,790$
R^2	0,9999	0,9999



(A) Sắc ký đồ chuẩn vitexin ở bước sóng 340 nm.

(B) Sắc ký đồ chuẩn isovitexin ở bước sóng 340 nm.

Biểu đồ 1. Sắc ký đồ chuẩn vitexin (A) và isovitexin (B) ở bước sóng 340 nm**Biểu đồ 2. Sắc ký đồ các mẫu cao chiết vỏ đậu xanh ở bước sóng 340 nm**

(A) cao chiết ethanol 50% (VRE50) và (B) cao chiết methanol

Bảng 2. Hiệu suất chiết và hàm lượng vitexin, isovitexin trong các cao chiết vỏ đậu xanh

Cao chiết	Hiệu suất chiết (%)	Vitexin trong cao (%)	Isovitexin trong cao (%)	Tổng marker trong cao (%)	Vitexin trong nguyên liệu (%)	Isovitexin trong nguyên liệu (%)	Tổng marker trong nguyên liệu (%)
Methanol	5,36	5,27	5,22	10,49	0,2825	0,2798	0,5623
Ethanol 50% (VRE50)	5,45	12,38	10,77	23,15	0,6747	0,5870	1,2617

Kết quả định lượng cho thấy hiệu suất chiết của methanol và ethanol 50% tương đối gần nhau, lần lượt là 5,36% và 5,45%. Tuy nhiên, tổng hàm lượng vitexin và isovitexin trong cao chiết ethanol 50% đạt 23,15%, cao hơn về mặt giá trị định lượng so với cao methanol (10,49%). Tính theo nguyên liệu ban đầu, tổng hai marker trong mẫu chiết ethanol 50% đạt 1,2617%, cao hơn khoảng 2,2 lần so với mẫu chiết methanol theo kết quả tính toán. Do đó, VRE50 được lựa chọn cho các đánh giá tiếp theo.

2. Hàm lượng polyphenol, flavonoid toàn phần và hoạt tính ức chế α -glucosidase

Đường chuẩn acid gallic tại 765 nm tuyến tính trong khoảng 50-300 mg/L với phương trình $y = 0,00455897x + 0,0295162$ và $R^2 = 0,99987$. Đường chuẩn quercetin tại 510 nm tuyến tính trong khoảng 20-150 mg/L với phương trình $y = 0,0007373x + 0,0046033$ và $R^2 = 0,9993$. Mẫu VRE50 ở nồng độ 2,5 mg/mL cho độ hấp thụ 0,583 tại 765 nm, tương ứng 121,41 mg/L

acid gallic, từ đó hàm lượng polyphenol toàn phần được tính là $48,56 \pm 1,46$ mg GAE/g cao chiết. Đối với phép thử flavonoid toàn phần, mẫu VRE50 ở nồng độ 1,0 mg/mL cho độ hấp thụ 0,112 tại 510 nm, tương ứng 145,66 mg/L quercetin, từ đó hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định là $145,66 \pm 4,37$ mg QE/g cao chiết. Kết quả cho thấy cao chiết VRE50 chứa hàm lượng đáng kể các hợp chất phenolic và flavonoid, phù hợp với kết quả HPLC ghi nhận sự hiện diện của hai flavonoid C-glycosid chính là vitexin và isovitexin.

VRE50 thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase với $IC_{50} = 148,36 \pm 5,49$ μ g/mL, tương đương $0,148 \pm 0,005$ mg/mL. Trong cùng điều kiện thử nghiệm, acarbose có IC_{50} là $120,99 \pm 8,31$ μ g/mL, tương đương $0,121 \pm 0,008$ mg/mL. Mặc dù hoạt tính của VRE50 thấp hơn nhẹ so với acarbose, giá trị IC_{50} của cao chiết vẫn cho thấy khả năng ức chế enzym rõ rệt trong điều kiện *in vitro*.

Bảng 3. Hàm lượng polyphenol, flavonoid toàn phần và hoạt tính ức chế α -glucosidase của VRE50

Chỉ tiêu	Kết quả
Hàm lượng polyphenol toàn phần	$48,56 \pm 1,46$ mg GAE/g cao
Hàm lượng flavonoid toàn phần	$145,66 \pm 4,37$ mg QE/g cao
IC_{50} ức chế α -glucosidase của VRE50	$148,36 \pm 5,49$ μ g/mL
IC_{50} ức chế α -glucosidase của acarbose	$120,99 \pm 8,31$ μ g/mL

Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n = 3$)

3. Kết quả docking phân tử trên protein 3TOP

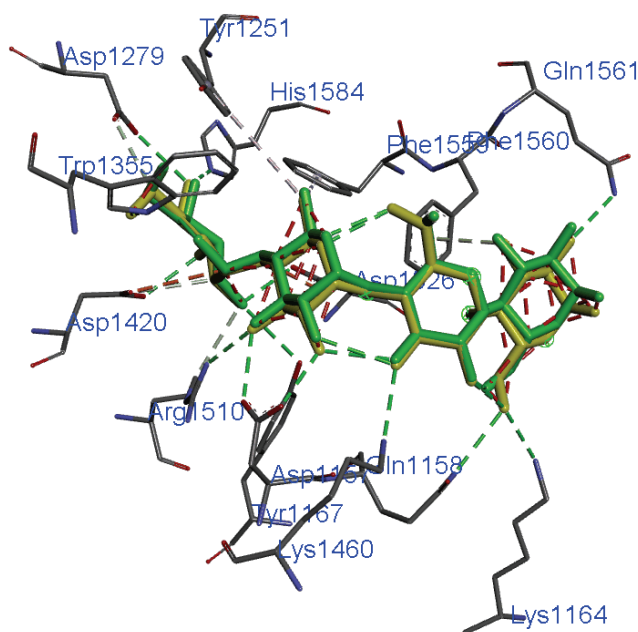
Dựa trên tổng hợp các tài liệu đã công bố về thành phần hóa học của vỏ đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek), 20 hợp chất phenolic và flavonoid đã được lựa chọn làm tập hợp chất đầu vào cho nghiên cứu mô phỏng *in silico*. Các hợp chất này bao gồm hai flavonoid C-glycosid chính là vitexin và isovitexin, cùng với các

acid phenolic, flavonol, flavonoid glycosid, isoflavonoid và anthocyanin đã được ghi nhận trong vỏ đậu xanh, vỏ hạt hoặc phân đoạn polyphenol liên kết từ chất xơ vỏ đậu xanh. Việc lựa chọn tập hợp chất này nhằm xây dựng cơ sở hóa học hợp lý cho mô phỏng docking phân tử với đích protein 3TOP, qua đó hỗ trợ giải thích tiềm năng ức chế enzym liên quan đến chuyển hóa glucid của cao chiết vỏ đậu xanh. Trong số

các hợp chất được lựa chọn, vitexin và isovitexin có ý nghĩa đặc biệt vì đây là hai chất chỉ thị đã được định lượng trực tiếp bằng HPLC trong cao chiết ethanol 50% của nghiên cứu này.

Quy trình docking được kiểm chứng bằng redocking ligand đồng kết tinh acarbose vào hốc gắn ban đầu của protein 3TOP. Kết quả redocking cho thấy acarbose được tái định vị tốt trong hốc gắn, với giá trị RMSD thấp nhất đạt 0,6162 Å so

với tư thế đồng kết tinh, nhỏ hơn ngưỡng chấp nhận 2,0 Å. Tư thế redocking tốt nhất cũng bảo tồn được các tương tác chính với các acid amin trong hốc gắn, như Asp1279, Trp1355, Asp1420, Arg1510, Tyr1251, Lys1460, Phe1560, Gln1561 và His1584. Kết quả này cho thấy giao thức docking có khả năng tái tạo hợp lý tư thế gắn của ligand tham chiếu và có thể được sử dụng để khảo sát các hợp chất trong vỏ đậu xanh.



Hình 1. Kiểm chứng quy trình docking bằng redocking acarbose trên protein 3TOP

Ligand acarbose đồng kết tinh được biểu diễn màu xanh, ligand acarbose sau redocking được biểu diễn màu vàng.

Bảng 4. Danh mục hợp chất trong vỏ đậu xanh và năng lượng gắn kết dự đoán

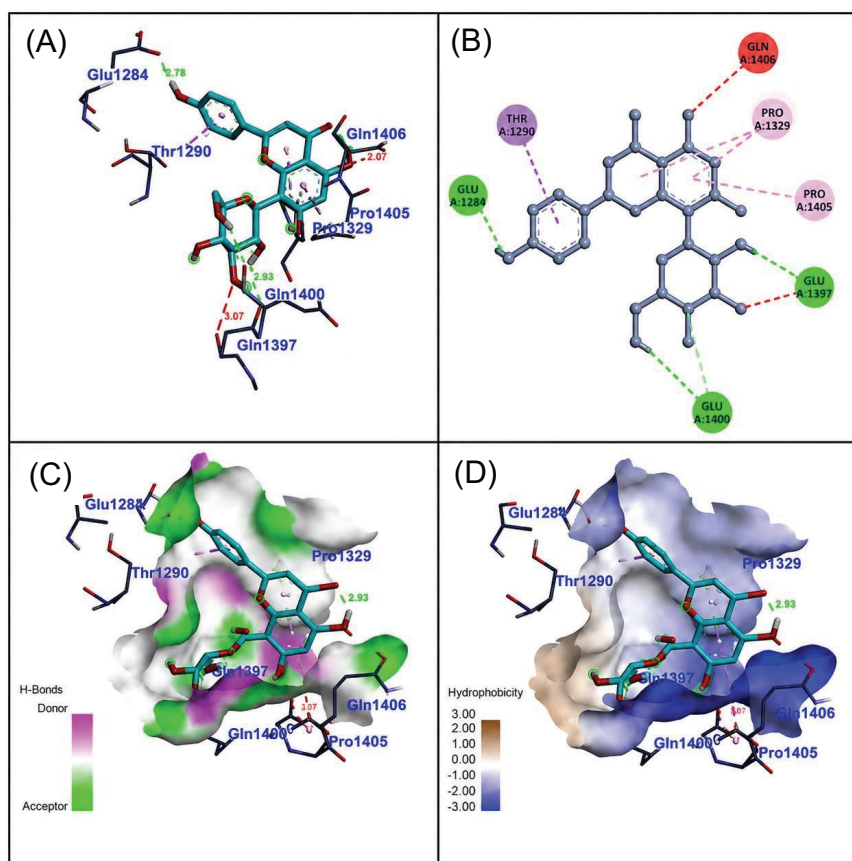
Mã	Hợp chất	Nhóm hóa học	E_score2 (kcal/mol)
MB18	Hesperidin ^{6,15}	Flavonoid glycosid, flavanone glycosid	-8,77
MB14	Rutin ^{8,18}	Flavonoid glycosid, quercetin glycosid	-8,34
MB17	Eriocitrin ^{6,15}	Flavonoid glycosid, flavanone glycosid	-8,33
MB02	Isovitexin ^{6,12}	Flavonoid glycosid, flavone C-glycosid	-7,27
MB19	Cyanidin 3-O-glucoside ^{7,16}	Anthocyanin, cyanidin glycosid	-7,13

Mã	Hợp chất	Nhóm hóa học	E_score2 (kcal/mol)
MB16	Glycitin ¹⁶	Isoflavonoid, isoflavone glycosid	-6,95
MB20	Pelargonidin 3-O-glucoside ^{7,16}	Anthocyanin, pelargonidin glycosid	-6,63
MB10	Neochlorogenic acid ¹⁶	Ester acid phenolic, đồng phân caffeoylquinic acid	-6,60
MB01	Vitexin ^{6,12,17}	Flavonoid glycosid, flavone C-glycosid	-6,55
MB15	Myricetin ¹⁶	Flavonoid, flavonol	-6,12
MB13	Quercetin ^{6,15}	Flavonoid, flavonol	-5,94
MB07	Ferulic acid ^{6,17}	Acid phenolic, dẫn xuất hydroxycinnamic acid	-5,54
MB11	Syringic acid ^{16,17}	Acid phenolic, dẫn xuất methoxybenzoic acid	-5,53
MB09	Chlorogenic acid ¹⁸	Ester acid phenolic, caffeoylquinic acid	-5,35
MB03	Protocatechuic acid ^{6,15}	Acid phenolic, dẫn xuất hydroxybenzoic acid	-4,95
MB05	Gallic acid ^{6,15}	Acid phenolic, trihydroxybenzoic acid	-4,85
MB06	Caffeic acid ^{6,17}	Acid phenolic, dẫn xuất hydroxycinnamic acid	-4,70
MB04	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid ⁶	Acid phenolic, dẫn xuất hydroxybenzoic acid	-4,66
MB08	<i>p</i> -Coumaric acid ^{6,17}	Acid phenolic, dẫn xuất hydroxycinnamic acid	-4,64
MB12	Catechin ^{6,8}	Flavonoid, flavan-3-ol	Chưa có dữ liệu docking hợp lệ

E_score2 của các hợp chất dao động từ -8,77 đến -4,64 kcal/mol. Các ligand có điểm docking thuận lợi nhất gồm hesperidin (-8,77 kcal/mol), rutin (-8,34 kcal/mol), eriocitrin (-8,33 kcal/mol), isovitexin (-7,27 kcal/mol) và cyanidin 3-O-glucoside (-7,13 kcal/mol). Hai hợp chất vitexin và isovitexin là hai flavonoid C-glycosid chính đã được định lượng trực tiếp trong VRE50; trong đó isovitexin cho điểm gắn kết thuận lợi hơn vitexin (-7,27 so với -6,55 kcal/mol)

Kết quả docking cho thấy vitexin có khả

năng tương tác với protein 3TOP với E_score2 = -6,55 kcal/mol. Phân tích tư thế gắn kết cho thấy vitexin tương tác với một số acid amin trong vùng gắn kết như Glu1284, Thr1290, Pro1329, Glu1397, Glu1400, Pro1405 và Gln1406, thông qua liên kết hydro, tương tác π và tương tác kỵ nước. Do vitexin là một trong hai marker chính của VRE50, dữ liệu này gợi ý hợp chất có thể đóng góp vào hoạt tính ức chế α -glucosidase của cao chiết, nhưng chỉ được xem là bằng chứng hỗ trợ cơ chế (Hình 2).



Hình 2. Tư thế gắn kết và các tương tác docking chính của vitexin với protein 3TOP: (A) tư thế gắn kết 3D; (B) sơ đồ tương tác 2D; (C) bề mặt cho/nhận liên kết hydro; (D) bề mặt kỵ nước của hốc gắn kết

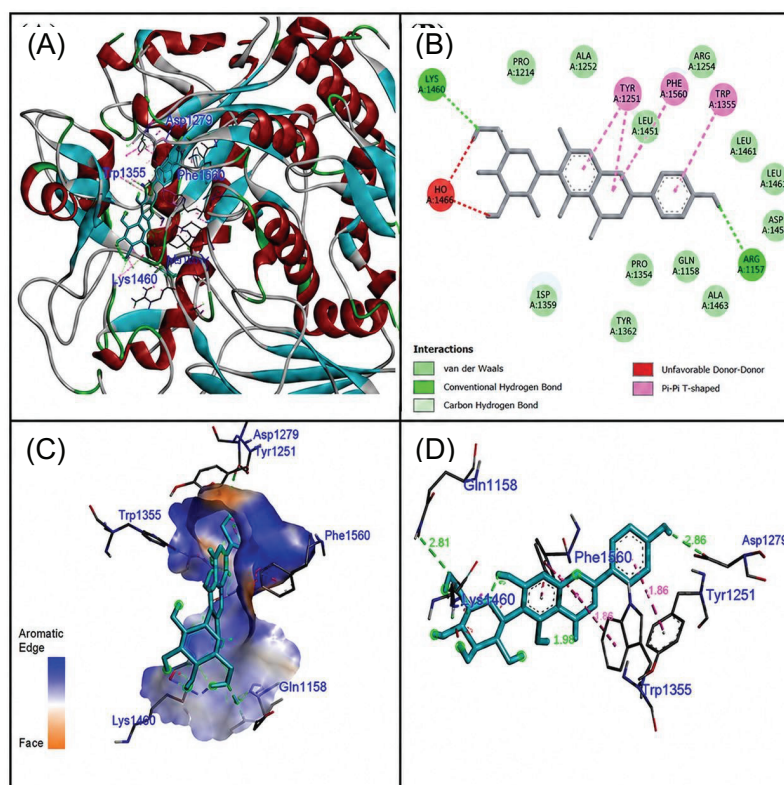
Isovitexin thể hiện khả năng gắn kết thuận lợi với protein 3TOP, với $E_score2 = -7,27$ kcal/mol, âm hơn so với vitexin. Phân tích tư thế docking cho thấy isovitexin tương tác với các acid amin lân cận gồm Gln1158, Asp1279, Tyr1251, Trp1355, Phe1560 và Lys1460. Các liên kết hydro với Lys1460, Gln1158 và Asp1279 có thể góp phần cố định phân tử trong hốc gắn kết, trong khi tương tác π với Tyr1251, Phe1560 và Trp1355 hỗ trợ ổn định phần khung flavonoid. Sự khác biệt vị trí gắn đường giữa isovitexin và vitexin có thể ảnh hưởng đến hướng định vị trong hốc gắn kết, góp phần giải thích điểm docking thuận lợi hơn của isovitexin (Hình 3).

Nhìn chung, các flavonoid glycosid như hesperidin, rutin, eriocitrin, isovitexin và vitexin

có xu hướng cho điểm docking thuận lợi hơn so với nhiều acid phenolic đơn giản. Điều này có thể liên quan đến cấu trúc giàu nhóm hydroxyl và hệ vòng thơm, giúp hình thành đồng thời liên kết hydro, tương tác π - π và tương tác kỵ nước trong vùng gắn kết của protein. Docking chỉ là phương pháp dự đoán tương tác phân tử, do đó các kết quả này không được xem là bằng chứng trực tiếp về tác dụng hiệp đồng mà là bằng chứng hỗ trợ cơ chế cho kết quả *in vitro*.

IV. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy vỏ đậu xanh thu từ phụ phẩm chế biến tại Hưng Yên là nguồn nguyên liệu giàu flavonoid C-glycosid, đặc biệt là vitexin và isovitexin. Trong cao chiết



Hình 3. Tư thế gắn kết và các tương tác phân tử chính của isovitexin trong hốc gắn kết của protein 3TOP: (A) vị trí gắn kết tổng thể trong protein; (B) sơ đồ tương tác 2D; (C) bề mặt aromatic edge/face; (D) tư thế gắn kết 3D và các tương tác chính với acid amin lân cận

VRE50, hàm lượng vitexin và isovitexin lần lượt đạt 12,38% và 10,77%, tương đương khoảng 123,8 mg/g và 107,7 mg/g cao chiết. Tổng hai marker đạt 23,15% trong cao chiết và 1,2617% tính theo nguyên liệu khô. So với methanol, ethanol 50% cho hiệu suất chiết gần tương đương nhưng hàm lượng hai marker cao hơn khoảng 2,2 lần tính theo nguyên liệu, đồng thời là dung môi an toàn hơn cho định hướng ứng dụng thực phẩm hoặc sản phẩm hỗ trợ sức khỏe. Kết quả này phù hợp với các công bố trước đây cho rằng vitexin và isovitexin là hai flavonoid đặc trưng, tập trung chủ yếu ở phần vỏ hạt đậu xanh.⁴⁻⁸

Khi so sánh với nghiên cứu của Supasatyankul và cộng sự, dịch chiết vỏ đậu xanh bằng phương pháp chiết lỏng áp suất cao chứa vitexin $130,53 \pm 17,89$ mg/g và isovitexin

$21,21 \pm 3,22$ mg/g cao chiết.⁶ Hàm lượng vitexin trong VRE50 của nghiên cứu này tương đối gần với kết quả trên, trong khi hàm lượng isovitexin cao hơn. Ruan và cộng sự ghi nhận cao chiết flavonoid C-glycosid từ vỏ đậu xanh có hàm lượng isovitexin và vitexin cao hơn do là phân đoạn làm giàu, nhưng hiệu suất thu hồi thấp hơn cao thô.⁵ Sự khác biệt giữa các nghiên cứu có thể do giống đậu xanh, nguồn nguyên liệu, thời điểm thu mẫu, điều kiện xử lý sau thu gom và bản chất quy trình chiết. Trong nghiên cứu này, nguyên liệu là phụ phẩm công nghiệp đã được cơ sở sản xuất sấy khô theo quy trình sản xuất trước khi thu nhận. Sau khi lấy về phòng thí nghiệm, mẫu được bảo quản kín ở ngăn mát tủ lạnh nhằm hạn chế hút ẩm và mối mọt. Độ ẩm thấp của bột nguyên liệu trước khi chiết cho thấy mẫu ở trạng thái khô, thuận lợi cho

bảo quản ngắn hạn và chiết xuất. Tuy nhiên, do công đoạn sấy ban đầu được thực hiện tại cơ sở sản xuất nên nhóm nghiên cứu không trực tiếp kiểm soát đầy đủ nhiệt độ và thời gian sấy. Đây là một yếu tố có thể ảnh hưởng đến tính biến thiên của thành phần phenolic và flavonoid trong nguyên liệu phụ phẩm.

Hàm lượng polyphenol toàn phần của VRE50 đạt $48,56 \pm 1,46$ mg GAE/g cao chiết, trong khi hàm lượng flavonoid toàn phần đạt $145,66 \pm 4,37$ mg QE/g cao chiết. Giá trị flavonoid toàn phần cao hơn polyphenol toàn phần không nên được hiểu là tỷ lệ khối lượng tuyệt đối, vì hai chỉ tiêu được xác định bằng các phản ứng màu và chất chuẩn quy đổi khác nhau. Phương pháp Folin-Ciocalteu tuy được sử dụng phổ biến để ước lượng polyphenol toàn phần nhưng có thể bị ảnh hưởng bởi các chất khử khác trong cao chiết; do đó kết quả TPC cần được hiểu là hàm lượng quy đổi theo acid gallic, không phải định lượng tuyệt đối từng hợp chất phenolic riêng lẻ. Tương tự, TFC là chỉ tiêu quy đổi theo quercetin và phụ thuộc vào khả năng tạo phức màu của các flavonoid trong điều kiện phản ứng.¹¹

VRE50 thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase với $IC_{50} = 148,36 \pm 5,49$ μ g/mL, thấp hơn hoạt tính của acarbose trong cùng điều kiện thử nghiệm ($IC_{50} = 120,99 \pm 8,31$ μ g/mL) nhưng vẫn cho thấy khả năng ức chế rõ rệt. Kết quả này mạnh hơn so với báo cáo của Ruan và cộng sự về cao chiết flavonoid C-glycosid từ vỏ đậu xanh với IC_{50} ức chế α -glucosidase là 0,226 mg/mL.⁵ So với một số nghiên cứu trong nước, hoạt tính của VRE50 nằm ở mức trung bình khá: cao chiết thân cây lá đắng được báo cáo có $IC_{50} = 23,02 \pm 0,21$ μ g/mL, trong khi cao chiết một số lá cây thuốc dân gian có IC_{50} α -glucosidase dao động từ 18,18 đến 97,47 μ g/mL.^{12,13} Sự khác biệt này có thể do nguồn enzym, cơ chất, dung môi chiết, thành phần hoạt chất và mức độ làm giàu cao chiết. Điểm mạnh của VRE50 không chỉ ở hoạt tính enzym mà còn ở nguồn nguyên liệu phụ phẩm

dồi dào, chi phí thấp và khả năng chuẩn hóa theo vitexin/isovitexin.

Kết quả docking với protein 3TOP bổ sung bằng chứng hỗ trợ cho khả năng tương tác của các flavonoid C-glycosid với đích liên quan α -glucosidase. Isovitexin có $E_score2 = -7,27$ kcal/mol, thuận lợi hơn vitexin với $E_score2 = -6,55$ kcal/mol; cả hai hợp chất đều tạo được mạng lưới liên kết hydro, tương tác π và tương tác kỵ nước với các acid amin trong vùng gần kết. Tuy nhiên, cần nhấn mạnh rằng docking phân tử là phương pháp dự đoán dựa trên mô hình cấu trúc, không thay thế cho thử nghiệm enzym *in vitro*. Đặc biệt, protein 3TOP là cấu trúc liên quan maltase-glucoamylase/ α -glucosidase ở người, trong khi thử nghiệm enzym *in vitro* có thể khác về nguồn enzym và điều kiện phản ứng. Vì vậy, kết quả docking chỉ được diễn giải như dữ liệu hỗ trợ gợi ý tương tác phân tử, không phải bằng chứng khẳng định cơ chế tác dụng hoặc tác dụng hiệp đồng.

Nghiên cứu còn một số hạn chế. Thứ nhất, mẫu nguyên liệu mới được khảo sát từ một nguồn phụ phẩm và một thời điểm thu mẫu, do đó cần mở rộng số lô, vùng thu gom và mùa vụ để đánh giá độ ổn định thành phần. Thứ hai, nghiên cứu chưa thực hiện LC-MS/MS để xác nhận bổ sung danh tính pic vitexin và isovitexin; kết quả định lượng hiện dựa trên thời gian lưu, phổ UV-DAD và chuẩn đối chiếu. Thứ ba, phương pháp HPLC-DAD mới được kiểm tra bước đầu về tính phù hợp sắc ký và độ tuyến tính, chưa thẩm định đầy đủ các chỉ tiêu như LOD, LOQ, độ đúng, độ lặp lại, độ chính xác trung gian và độ ổn định. Thứ tư, nghiên cứu mới dừng ở mức HPLC-DAD, thử nghiệm α -glucosidase *in vitro* và docking phân tử; chưa đánh giá độc tính, sinh khả dụng, động học ức chế enzym hoặc hiệu quả trên mô hình tế bào và *in vivo*. Dù vậy, kết quả hiện tại cung cấp cơ sở ban đầu cho hướng khai thác phụ phẩm vỏ đậu xanh giàu vitexin và isovitexin trong các nghiên cứu tiếp theo.

V. KẾT LUẬN

Cao chiết ethanol 50% từ vỏ đậu xanh, ký hiệu VRE50, chứa hàm lượng vitexin và isovitexin cao, lần lượt đạt 12,38% và 10,77% trong cao chiết. VRE50 có hàm lượng polyphenol toàn phần $48,56 \pm 1,46$ mg GAE/g cao, hàm lượng flavonoid toàn phần $145,66 \pm 4,37$ mg QE/g cao, đồng thời thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase với $IC_{50} = 148,36 \pm 5,49$ μ g/mL. Kết quả docking trên protein 3TOP gợi ý vitexin và isovitexin có khả năng tương tác thuận lợi với vùng gắn kết của đích liên quan α -glucosidase nhưng chỉ được xem là bằng chứng hỗ trợ tương tác phân tử. Nghiên cứu cung cấp cơ sở ban đầu cho hướng khai thác phụ phẩm vỏ đậu xanh giàu vitexin và isovitexin, đồng thời cần được tiếp tục kiểm chứng bằng các nghiên cứu sâu hơn.

Các nghiên cứu tiếp theo, nhóm nghiên cứu dự kiến sẽ mở rộng số lô nguyên liệu, vùng thu mẫu và thời điểm thu mẫu; chuẩn hóa quy trình thu gom, sấy, nghiền, bảo quản và kiểm soát độ ẩm; thẩm định đầy đủ phương pháp HPLC-DAD hoặc bổ sung LC-MS/MS để xác nhận danh tính marker; đánh giá độ ổn định của nguyên liệu và cao chiết; khảo sát động học ức chế enzym; thử riêng vitexin, isovitexin và phối hợp hai chất để làm rõ đóng góp của từng marker; đồng thời đánh giá thêm độc tính, sinh khả dụng và hiệu quả trên mô hình tế bào hoặc *in vivo*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 10th ed. International Diabetes Federation; 2021.
2. World Health Organization. Global report on diabetes. World Health Organization; 2016.
3. Kumar S, Narwal S, Kumar V, Prakash O. α -Glucosidase inhibitors from plants: a natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*. 2011;5(9):19-29. doi:10.4103/0973-7847.79096
4. Tang D, Dong Y, Ren H, Li L, He C. A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts. *Chemical Central Journal*. 2014;8:4. doi:10.1186/1752-153X-8-4
5. Ruan JC, Peng RY, Chen YT, Xu HX, Zhang QF. In vitro and in vivo inhibitory activity of C-glycoside flavonoid extracts from mung bean coat on pancreatic lipase and α -glucosidase. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2023;78(2):439-44. doi:10.1007/s11130-023-01075-5
6. Supasatyankul B, Saisriyoot M, Klinkesorn U, Rattanaporn K, Sae-Tan S. Extraction of phenolic and flavonoid compounds from mung bean (*Vigna radiata* L.) seed coat by pressurized liquid extraction. *Molecules*. 2022;27(7):2085. doi:10.3390/molecules27072085
7. Yutharaksanakul P, Tangpromphan P, Tunsagool P, et al. Effects of purified vitexin and iso-vitexin from mung bean seed coat on antihyperglycemic activity and gut microbiota modulation. *Nutrients*. 2024;16(17):3017. doi:10.3390/nu16173017
8. Lv R, Liu JY, Li S, et al. Discovery of vitexin, isovitexin and catechin as hypoglycemic factors in mung bean via metabolomics combined with in vitro experiments. *Food Production, Processing and Nutrition*. 2025;7:41. doi:10.1186/s43014-025-00318-z
9. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 1999;299:152-78. doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1
10. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 1999;64(4):555-9. doi:10.1016/S0308-8146(98)00102-2
11. Cao D, Li H, Yi J, et al. Antioxidant properties of the mung bean flavonoids on alleviating heat stress. *PLOS ONE*.

2011;6(6):e21071. doi:10.1371/journal.pone.0021071

12. Trần Thị Phương Thảo, Nguyễn Thị Ngọc Giàu, Nguyễn Thị Thảo Nhi, et al. Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase ở ruột non chuột của cao chiết cây lá đắng. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2024;60(Số chuyên đề Y Dược):70-7.

13. Lê Quốc Duy, Nguyễn Thị Kim Thảo, Nguyễn Hữu Hùng. Khảo sát khả năng ức chế enzyme amylase và glucosidase của một số cây thuốc dân gian điều trị đái tháo đường. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 2017;7(80):92-7.

14. Sun N, Xie J, Xie JH, Chen Y, Hu X, Yu Q. Purification, composition and activity of bound polyphenols from mung bean coat dietary fiber. *Food Research International*. 2022;162:111997. doi:10.1016/j.foodres.2022.111997.

15. Jeon S, Kim BC, Ha J. Tissue-specific metabolic profiling of mungbean (*Vigna radiata* L.) genotypes with different seed coat colors.

Journal of Food Quality. 2023;2023:7555915. doi:10.1155/2023/7555915.

16. Wang F, Huang L, Yuan X, Zhang X, Guo L, Xue C, Chen X. Nutritional, phytochemical and antioxidant properties of 24 mung bean (*Vigna radiata* L.) genotypes. *Food Production, Processing and Nutrition*. 2021;3:28. doi:10.1186/s43014-021-00073-x.

17. Hao R, Li M, Li F, Sun-Waterhouse D, Li D. Protective effects of the phenolic compounds from mung bean hull against H₂O₂-induced skin aging through alleviating oxidative injury and autophagy in HaCaT cells and HSF cells. *Science of the Total Environment*. 2022;841:156669. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.156669.

18. Wang F, Huang L, Yuan X, Zhang X, Guo L, Xue C, Chen X. Nutritional, phytochemical and antioxidant properties of 24 mung bean (*Vigna radiata* L.) genotypes. *Food Production, Processing and Nutrition*. 2021;3:28. doi:10.1186/s43014-021-00073-x.

Summary

VITEXIN, ISOVITEXIN CONTENTS AND α -GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY OF MUNG BEAN SEED COAT EXTRACT

Mung bean seed coat is an underutilized agro-industrial by-product with potential biological value. This study quantified vitexin and isovitexin in mung bean seed coat extract by HPLC-DAD, determined total phenolic and flavonoid contents, evaluated in vitro α -glucosidase inhibition, and used molecular docking to support the interpretation of interactions between major compounds and an α -glucosidase-related target. The material was collected in October 2025 from Nam Binh Import-Export Co., Ltd., Hung Yen province, where approximately 2 - 5 tons of seed coat by-product are generated monthly. VRE50 showed an extraction yield of 5.45% and contained 12.38% vitexin and 10.77% isovitexin in the extract. Total phenolic and flavonoid contents were 48.56 ± 1.46 mg GAE/g extract and 145.66 ± 4.37 mg QE/g extract, respectively. VRE50 inhibited α -glucosidase with an IC_{50} value of 148.36 ± 5.49 μ g/mL. Molecular docking against 3TOP suggested potential interactions of vitexin and isovitexin with an α -glucosidase-related binding region. These findings provide preliminary evidence supporting further studies on mung bean seed coat as a vitexin- and isovitexin-rich by-product with in vitro α -glucosidase inhibitory potential.

Keywords: Mung bean seed coat, vitexin, isovitexin, α -glucosidase, molecular docking.