

# Tác dụng bảo vệ thần kinh của chiết xuất lá thanh trà *Bouea macrophylla* chống lại độc tính do peptide amyloid-beta gây ra ở tế bào SH-SY5Y

Nguyễn Hoàng Nam Anh<sup>1</sup>, Hà Kim Ngọc<sup>1</sup>, Dương Thúc Huy<sup>2</sup>, Nguyễn Ngọc Hồng<sup>1</sup>, Võ Văn Giàu<sup>3,4,5</sup>



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

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Bệnh Alzheimer (AD) là bệnh mất trí nhớ phổ biến nhất do sự tích tụ bất thường của các protein bao gồm amyloid-beta ( $A\beta$ ) trong và xung quanh các tế bào não. Trong nỗ lực khám phá các liệu pháp mới trong điều trị AD, các sản phẩm tự nhiên đã khơi dậy sự quan tâm trong cộng đồng nghiên cứu và trong ngành dược phẩm liên quan đến hoạt tính bảo vệ thần kinh của chúng, nhằm vào các cơ chế bệnh AD. Nhiều loại sản phẩm tự nhiên có nguồn gốc khác nhau đã được chứng minh có vai trò bảo vệ thần kinh trong việc ngăn ngừa và làm chậm sự tiến triển của AD trên các mô hình lâm sàng và cận lâm sàng liên quan. Nghiên cứu bước đầu của chúng tôi trước đây đã chứng minh các thành phần hóa học từ lá cây thanh trà *Bouea macrophylla* Griff. (*B. macrophylla*) có thể là nguồn cung cấp các hợp chất có hoạt tính sinh học với các đặc tính kháng khuẩn, chống oxy hóa và chống ung thư tiềm năng. Tuy nhiên, tác dụng bảo vệ thần kinh của chúng đối với độc tính tế bào do  $A\beta$  gây ra vẫn chưa được mô tả. **Phương pháp:** Tiếp tục sàng lọc các hoạt tính sinh học tiềm năng từ lá cây *B. macrophylla*, các thử nghiệm đánh giá độc tính trên dòng tế bào u nguyên bào thần kinh (SH-SY5Y), khả năng kháng độc tính protein  $A\beta_{1-42}$  và tiềm năng bảo vệ tế bào thần kinh từ chiết xuất ethanol đã được thực hiện. **Kết quả:** Thử nghiệm Thioflavin T cho thấy tiềm năng ức chế của chiết xuất ethanol là 60.65% tại nồng độ 50  $\mu\text{g/mL}$  so với đối chứng có giá trị về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ), trong khi tác dụng bảo vệ thần kinh chống lại độc tính  $A\beta$  ở tế bào SH-SY5Y được ghi nhận tại nồng độ 25  $\mu\text{g/mL}$ . Để xác nhận tác dụng bảo vệ thần kinh này, chiết xuất ethanol tại nồng độ 25  $\mu\text{g/mL}$  cũng cho thấy làm giảm đáng kể mức ROS nội bào ở tế bào SH-SY5Y được xử lý bằng  $\text{H}_2\text{O}_2$  và đồng thời ngăn ngừa rối loạn chức năng ty thể ở tế bào SH-SY5Y do  $A\beta$  gây ra. **Kết luận:** Các kết quả bước đầu đã cung cấp những hiểu biết khoa học của lá thanh trà *B. macrophylla* như một nguồn chứa các chất chuyển hóa thứ cấp có thể liên quan đến hoạt tính chống  $A\beta$  và bảo vệ thần kinh tiềm năng.

**Từ khóa:** *Bouea macrophylla*, amyloid-beta, SH-SY5Y, bảo vệ thần kinh, thanh trà

<sup>1</sup>Viện Khoa Học Ứng dụng, Đại học Kỹ thuật Công nghệ TP. HCM

<sup>2</sup>Khoa hóa, Trường Đại học Sư phạm TP. HCM

<sup>3</sup>Bộ môn Kỹ thuật Y sinh, Khoa Y, Đại học Quốc gia TP. HCM

<sup>4</sup>Trung tâm Nghiên cứu Di truyền và Sức khỏe Sinh sản (CGRH), Khoa Y, Đại học Quốc gia TP. HCM

<sup>5</sup>Đại học Quốc gia TP. HCM

## Lịch sử

- Ngày nhận: 22-01-2022
- Ngày chấp nhận: 11-5-2022
- Ngày đăng: 31-5-2022

DOI: 10.32508/stdjhs.v3i1.506



## Bản quyền

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



## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Alzheimer (AD) là rối loạn thoái hóa thần kinh phổ biến nhất ở người già, được đặc trưng bởi mất trí nhớ, sa sút trí tuệ và suy giảm nhận thức. Ước tính có khoảng 47 triệu người trên toàn thế giới đang mắc AD và con số này có thể tăng lên 131 triệu vào năm 2050<sup>1</sup>. Cho đến nay, cơ chế bệnh sinh của AD liên quan đến một mạng lưới phức tạp bao gồm yếu tố di truyền và sinh hóa vẫn chưa được làm sáng tỏ đầy đủ. Sự lắng đọng bất thường protein amyloid beta ( $A\beta$ ), kết tụ protein tau, nồng độ thấp của acetylcholine, căng thẳng oxy hóa và viêm thần kinh là một số đặc điểm bệnh lý liên quan đến AD<sup>2,3</sup>. Hiện vẫn chưa có cách chữa khỏi AD, các nghiên cứu chiến lược điều trị bệnh an toàn ngay ở giai đoạn khởi phát sớm đang được quan tâm. Việc tìm kiếm các giải pháp trị liệu dựa vào các sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên đang trở thành xu thế dẫn đầu nhằm tìm kiếm các loại thuốc

chống AD tiềm năng. Một số nghiên cứu tập trung vào các sản phẩm tự nhiên làm tác nhân điều trị AD đã được chứng minh thông qua việc hỗ trợ bảo vệ tế bào thần kinh chống lại sự kết tụ và độc tính của protein  $A\beta$ <sup>4,5</sup>. Do đó, thực vật như một nguồn tiềm năng sở hữu các hợp chất có liên quan đến được lý chống lại AD được quan tâm gần đây.

Cây thanh trà có tên khoa học là *Bouea macrophylla* (hay *Bouea gandaria* Blume, *Bouea burmanica* Griff.) thuộc họ đào lộn hột Anacardiaceae<sup>6,7</sup> có nguồn gốc từ khu vực Đông Nam Á<sup>8</sup>, được trồng rộng rãi ở các nước Thái Lan, Philippines, Malaysia, Indonesia và Việt Nam. Tại Việt Nam, cây thanh trà được trồng tập trung tại vùng đồng bằng sông Cửu Long, đặc biệt ở các tỉnh Vĩnh Long, Cần Thơ, An Giang. Cây thanh trà được biết đến là một loại cây ăn trái rất tốt cho sức khỏe, cung cấp một lượng lớn vitamin C, tiền vitamin A, ngoài ra còn có vitamin B1, B2, B3... các

**Trích dẫn bài báo này:** Anh N H N, Ngọc H K, Huy D T, Hồng N N, Giàu V V. Tác dụng bảo vệ thần kinh của chiết xuất lá thanh trà *Bouea macrophylla* chống lại độc tính do peptide amyloid-beta gây ra ở tế bào SH-SY5Y. *Sci. Tech. Dev. J. - Health Sci.*; 3(1):369-377.

chất khoáng với hàm lượng lớn kali, đồng thời với hàm lượng sắc tố carotenoid cao được biết đến với công dụng chống oxy hóa<sup>9</sup>. Ngoài ra, quả thanh trà còn có các tác dụng khác như giảm cholesterol trong máu, giúp tiêu hóa, hỗ trợ giảm cân<sup>10-12</sup>. Các nghiên cứu bước đầu về tác dụng sinh học và thành phần hóa học của cây thanh trà (chủ yếu từ quả và hạt) đã được báo cáo gần đây. Andina và Musfirah (2017) nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa và xác định polyphenol tổng từ lá và vỏ cây thanh trà có nguồn gốc từ Indonesia<sup>11</sup>. Dechsupa và Silprasit (2019) nghiên cứu về sự khác biệt về gen (giống thanh trà chua và ngọt) và hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết cồn lá thanh trà *B. macrophylla* có nguồn gốc từ Thái Lan<sup>13</sup>. Sukalingam (2018) định tính sơ bộ thành phần hóa học và hoạt tính quét gốc tự do DPPH của lá thanh trà có nguồn gốc từ Malaysia<sup>14</sup>. Cheong Y và cộng sự (2017) đánh giá tác dụng chống quang hóa và giữ ẩm của cao chiết từ quả *B. macrophylla* ở chuột không lông được chiếu xạ UVB<sup>15</sup>. Zainah Adam và cộng sự (2015) đã khảo sát được các hoạt tính quét gốc DPPH và hoạt tính ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase từ dịch chiết nước của hạt thanh trà *Bouea macrophylla*<sup>16</sup>. Là một phần dự án của chúng tôi trong việc sàng lọc các cây có tiềm năng ứng dụng về mặt y học trong nước, vai trò chống oxy hóa cao, kháng khuẩn và ức chế sự tăng sinh của tế bào ung thư từ lá cây thanh trà bước đầu cũng đã được chứng minh gần đây<sup>9</sup>. Tuy nhiên, các nghiên cứu hiện tại về thành phần hóa học, phân lập các hợp chất cũng như kiểm tra các hoạt tính sinh học khác từ lá cây thanh trà còn rất hạn chế.

Trong quá trình tiếp tục tìm kiếm các nguồn thực vật có hoạt tính sinh học cao, chúng tôi bước đầu báo cáo tác dụng bảo vệ thần kinh của chiết xuất lá thanh trà chống lại độc tính do peptide amyloid-beta ( $A\beta$ ) gây ra ở u nguyên bào thần kinh SH-SY5Y.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Đối tượng nghiên cứu

Lá cây thanh trà *B. macrophylla* tươi được thu hái tại quận Ô Môn, TP. Cần Thơ, (tháng 10 đến tháng 11 năm 2020). Nhận dạng thực vật đã được khẳng định bởi PGS.TS. Trần Hợp, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Thành phố Hồ Chí Minh, được tham khảo và đối chiếu theo công bố trước đây của chúng tôi<sup>17</sup>.

### Chuẩn bị dịch chiết ethanol

Lá được rửa ba lần bằng nước máy, làm khô bằng không khí nóng ở 60°C, sau đó được nghiền nhỏ bằng máy xay FY 130 (kích thước 1,0 mm). Sau đó, vật liệu khô (200 g) được ngâm trong ethanol 70% (3 × 2 L) trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng bằng máy lắc Ika KS

4000i (Đức) với tốc độ 150 vòng / phút. Dung dịch đã lọc được làm bay hơi đến khô dưới áp suất giảm ở 40°C với tốc độ quay xấp xỉ 200 vòng / phút bằng thiết bị cô quay (Heidolph, Đức) để thu được cao chiết thô (26,8 g). Sau đó, chiết xuất thô này được tiếp tục sử dụng để phân tích hoạt tính sinh học.

### Thử nghiệm huỳnh quang Thioflavin T (ThT)

Khả năng ức chế sự tụ tập của  $A\beta_{1-42}$  được đánh giá dựa trên các mô tả trước đây<sup>2,18</sup>. Tóm lược, protein  $A\beta_{1-42}$  (10  $\mu$ M) hòa tan trong dung dịch 1 mL PBS (pH 7,4) và ủ ở 37°C trong 24 giờ trong sự hiện diện và không có chất chiết xuất ethanol từ lá cây thanh trà với các nồng độ khác nhau. Sau đó, 20  $\mu$ L dung dịch ThT pha trong dung dịch đệm glycine- NaOH (pH 9) có nồng độ 50  $\mu$ M được bổ sung vào. Tín hiệu huỳnh quang được đo tại bước sóng kích thích (450 nm) và bước sóng phát xạ (510 nm) bằng máy PerkinElmer Victor-3. Phần trăm ức chế sự tập hợp  $A\beta_{1-42}$  được xác định theo công thức:

$$\% \text{ Ức chế} = [(1 - I_{Fi} / I_{Fc}) \times 100\%]$$

Trong đó,  $I_{Fi}$  và  $I_{Fc}$  lần lượt là cường độ hấp thụ huỳnh quang trong sự có và không có hiện diện chiết xuất, sau khi trừ đi huỳnh quang nền của dung dịch ThT<sup>2</sup>. Chỉ thị phenol red được sử dụng làm đối chứng dương.

### Nuôi cấy tế bào

Dòng tế bào u nguyên bào thần kinh SH-SY5Y ở người được mua từ ATCC (Cat. No. CRL-2266<sup>TM</sup>) và nuôi cấy trong môi trường DMEM có bổ sung 10% FBS, 1% kanamycin và 1% penicilin và ủ ở 37 °C với 5% CO<sub>2</sub>. Các tế bào đạt hợp lưu (confluence) 80-90% sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm.

### Đánh giá độc tính tế bào

Các phép đo khả năng sống của tế bào được thực hiện bằng xét nghiệm phát quang ATP như đã mô tả trước đây<sup>9</sup>. Tóm lược, tế bào SH-SY5Y tại mật độ  $2 \times 10^4$  tế bào/giếng được cấy trong đĩa 96 giếng và ủ trong 24 giờ. Sau khi ủ, các tế bào được xử lý bằng bằng dịch chiết với nồng độ từ 0 – 50 mg/mL trong 48 giờ ở 37 °C. Môi trường cũ được loại bỏ, tế bào được rửa bằng PBS, thay thế bằng 100  $\mu$ L môi trường mới và ủ thêm 30 phút. Sau đó, thuốc thử phát quang CellTiter-Glo<sup>®</sup> được thêm vào và sự phát quang được đọc trên đầu đọc nhiều tấm. Dữ liệu đã được phân tích và % khả năng sống sót của tế bào được thể hiện so với đối chứng.

## Đánh giá hoạt tính bảo vệ tế bào thần kinh

Hoạt tính bảo vệ thần kinh trên tế bào SH-SY5Y do A $\beta$  hoặc H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gây ra được thực hiện như mô tả trước đây<sup>19,20</sup> và được đánh giá bằng xét nghiệm phát quang ATP nêu trên. Tóm lược, tế bào SH-SY5Y được gieo vào đĩa 96 giếng tại mật độ  $2 \times 10^4$  tế bào/giếng và ủ trong 24 giờ. Các tế bào được xử lý bằng dịch chiết trong 6 giờ trước khi ủ với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (100  $\mu$ g/mL).

## Xác định ROS nội sinh

Việc xác định ROS (reactive oxygen species) nội sinh được thực hiện bằng phương pháp nhuộm 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA) như đã mô tả trước đây<sup>20,21</sup>. Thuốc nhuộm huỳnh quang DCFH-DA có tính thấm qua màng tế bào và được chuyển đổi thành hợp chất không huỳnh quang DCFH không thấm qua màng tế bào do enzyme esterase nội bào. Quá trình oxy hóa DCFH bởi ROS sẽ hình thành DCF có tính phát quang cao. Cường độ huỳnh quang của DCF bên trong tế bào tỷ lệ thuận với lượng peroxide được tạo ra. Tóm lược, các tế bào SH-SY5Y được xử lý bằng dịch chiết với nồng độ 12.5 và 25  $\mu$ g/mL trong 2 giờ trước khi đồng xử lý với 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sau khi nuôi ủ thêm 4 giờ, các tế bào được xử lý với 10  $\mu$ M DCFH-DA và ủ thêm 30 phút trong bóng tối ở 37 °C. Sau đó, tế bào được thu nhận, rửa, hòa trong PBS, và phân tích sự phát huỳnh quang 2', 7'-dichlorofluorescein (DCF) bằng phương pháp đo dòng chảy tế bào (Beckman Coulter, Epics XL).

## Xác định điện thế màng ti thể ( $\Delta\Psi_m$ )

Phép đo  $\Delta\Psi_m$  được thực hiện bằng phương pháp nhuộm tetramethylrhodamine, methyl este TMRE, Molecular Probes) như đã mô tả trước đây<sup>22</sup>.  $2 \times 10^4$  tế bào SH-SY5Y/giếng được nuôi cấy thích nghi sau 24 giờ, các tế bào được xử lý trước bằng dịch chiết trong 2 giờ và sau đó kết hợp với 1  $\mu$ g A $\beta_{1-42}$  trong 24 giờ. Sau khi xử lý, dung dịch nhuộm TMRE 1  $\mu$ M được thêm vào và ủ ở 37 °C trong 30 phút.  $\Delta\Psi_m$  của nhóm thử nghiệm được tính theo tỷ lệ phần trăm so với các nhóm đối chứng chưa được xử lý (100%) trong các phép đo ba lần dựa trên cường độ huỳnh quang (Ex 549 nm, Em 575 nm) ghi nhận.

## Phân tích thống kê

Các thí nghiệm được thực hiện trong ba lần. Dữ liệu được biểu thị dưới dạng trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn. Sự khác biệt đáng kể giữa các nhóm được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm t-Student. Giá trị  $p < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê.

## KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

### Thử nghiệm Thioflavin T

Sự lắng đọng bất thường các peptide A $\beta$  là một trong những đặc điểm bệnh lý của AD. Điều này có thể dẫn đến sự hình thành các oligomer, protofibrils và các mảng không hòa tan trong tế bào thần kinh, gây ra rối loạn chức năng trong ty thể, dẫn đến gia tăng căng thẳng oxy hóa và viêm thần kinh<sup>2,3</sup>. Cho đến nay chỉ có năm loại thuốc trên thị trường bao gồm donezipil, tacrine, rivastigmine, galantamine và memantine được phê duyệt sử dụng trong hỗ trợ điều trị nhằm mục đích kéo giảm các triệu chứng liên quan đến AD<sup>23,24</sup>. Việc kiểm soát sự lắng đọng protein A $\beta$  là một cách tiếp cận quan trọng và phổ biến nhất để hỗ trợ trong điều trị AD trong sự liên quan đến các thương tổn chức năng tế bào thần kinh và ty thể, dẫn đến căng thẳng oxy hóa và viêm thần kinh<sup>5,24,25</sup>.

Là một phần của chương trình đang thực hiện nghiên cứu của chúng tôi về can thiệp, điều trị các bệnh lý thần kinh nói chung<sup>26,27</sup> và AD nói riêng<sup>3,24</sup> chúng tôi bước đầu kiểm tra tiềm năng ức chế sự lắng đọng protein A $\beta_{1-42}$  của chiết xuất ethanol bằng cách sử dụng xét nghiệm huỳnh quang thioflavin-T (ThT) với chỉ thị phenol red làm đối chứng dương. Kết quả cho thấy phần trăm ức chế mạnh nhất được ghi nhận là  $61,62 \pm 3,02$  % ở nồng độ cao chiết 50  $\mu$ g/mL (Bảng 1). Các kết quả này cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với chứng dương phenol red<sup>28,29</sup> với sự ức chế 60.65% ( $\pm 1.02$ ) ở 50  $\mu$ M. Nồng độ 25 và 12.5  $\mu$ g/mL cho thấy có sự ức chế vừa phải với  $38,32 \pm 1,18$  và  $13,23 \pm 1,82$ % tương ứng. Tiềm năng phá vỡ sự tụ tập A $\beta$  của chiết xuất thúc đẩy việc nghiên cứu tác dụng bảo vệ thần kinh của chúng ở các tế bào SH-SY5Y do stress oxy hóa gây ra từ A $\beta_{1-42}$  và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, và các cơ chế cơ bản của chúng được đánh giá tập trung vào việc hình thành ROS và thay đổi điện thế màng ty thể.

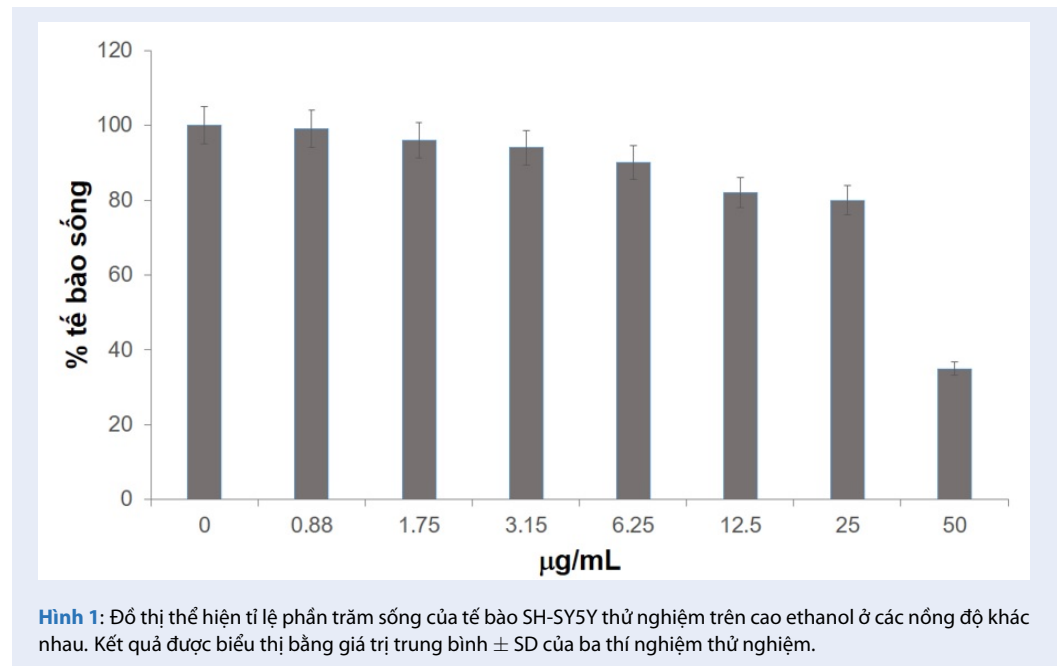
### Khảo sát độc tính chiết xuất trên tế bào SH-SY5Y

Adenosine triphosphate (ATP) là nguồn năng lượng hóa học quan trọng nhất cho tất cả các quá trình sinh học trong tế bào. Do đó, việc đo lường ATP trong tế bào là mô hình tốt nhất để khảo sát các giai đoạn tổn thương tế bào và xác định khả năng tồn tại của chúng. Tế bào có xu hướng giảm khả năng sản xuất ATP khi chúng bị căng thẳng, bị hạn chế về chất dinh dưỡng hoặc bị ức chế bởi các tác nhân hóa học. Thử nghiệm ATP dựa trên nguyên tắc của sự chuyển đổi luciferin thành oxyluciferin được xúc tác bởi enzyme luciferase với sự hiện diện của các ion Mg<sup>2+</sup> và ATP. Do đó, các

**Bảng 1:** Khả năng ức chế sự kết tụ A $\beta$ 1-42 của cao cồn thông qua thử nghiệm Thiofavin T

Nồng độ	% ức chế
Dịch chiết ethanol 50 mg/mL	60.65% $\pm$ 1.02*
Dịch chiết ethanol 25 mg/mL	38.32 $\pm$ 1.18
Dịch chiết ethanol 12.5 mg/mL	13.23 $\pm$ 1.82
Phenol red <sup>b</sup> (18 mg/mL)	67.31 $\pm$ 3.04

\*so sánh thống kê với đối chứng dương (p < 0,05); <sup>b</sup>nhóm chứng dương



tín hiệu phát quang sẽ tương quan tuyến tính với nồng độ ATP hoặc số lượng tế bào<sup>30,31</sup>.

Khả năng sống sót của các u nguyên bào thần kinh SH-SY5Y đã được kiểm tra khi có sự hiện diện của chiết xuất ethanol thông qua xét nghiệm ATP. Như được mô tả trong Hình 1, chiết xuất ethanol ở các nồng độ khác nhau đều ức chế sự phát triển nhất định đến tế bào SH-SY5Y. Chiết xuất ở các nồng độ thấp 0,39–25  $\mu$ g/mL hầu như không có tác dụng gây độc đáng kể đến tế bào thử nghiệm, với hơn 80% tế bào vẫn tồn tại khi so sánh với đối chứng âm (0  $\mu$ g/mL). Tuy nhiên, khả năng ức chế tế bào đáng kể của cao chiết bắt đầu được ghi nhận với giá trị IC<sub>50</sub> tại nồng độ 36.7  $\mu$ g/mL. Từ khi tế bào u nguyên bào thần kinh SH-SY5Y được sử dụng rộng rãi trong các mô hình nghiên cứu thần kinh bao gồm bệnh Parkinson, AD và chấn thương sọ não<sup>32</sup>, kết quả của xác định độc tính tế bào bước đầu tìm ra nồng độ thích hợp có hoạt tính được lý trong các thử nghiệm đánh giá tiềm năng bảo vệ thần kinh tiếp theo.

### Hoạt tính bảo vệ thần kinh của chiết xuất

Được xác định như là chất cảm ứng gây độc ban đầu<sup>33</sup>, việc sử dụng A $\beta$  tạo mô hình gây tổn thương tế bào thần kinh đã được ứng dụng và sử dụng rộng rãi trong nhiều nghiên cứu nhằm hướng đến đánh giá tiềm năng bảo vệ của các chất chiết xuất từ thực vật và các sản phẩm tự nhiên<sup>5,34–36</sup>. Trong nghiên cứu này chiết xuất đã được thử nghiệm về khả năng bảo vệ thần kinh thông qua việc chống lại các tổn thương tế bào SH-SY5Y do A $\beta$  gây ra và được đánh giá bằng xét nghiệm phát quang ATP. Như được chỉ ra ở Hình 2, có đến 54,61% tế bào có khả năng sống sót khi được xử lý A $\beta$  ở nồng độ 1  $\mu$ g/mL. Các tác dụng bảo vệ thần kinh được đánh giá bằng cách tiền xử lý tế bào với chiết xuất tại 3 nồng độ 25, 12.5 và 6.25  $\mu$ g/mL trong 6 giờ trước khi thêm 1  $\mu$ g/mL A $\beta$ <sub>1–42</sub> và ủ 24 giờ. Trong các nhóm không được đồng xử lý với A $\beta$ , với các nồng độ cao chiết khác nhau đều không ức chế sự tăng sinh đáng kể nào đối với dòng tế bào SH-SY5Y. Ngược lại, trong các nhóm được đồng xử lý với A $\beta$ ,



dịch chiết thể hiện khả năng phục hồi sự sống sót của tế bào là 65,41% ( $\pm 2,01$ ) ở 10  $\mu\text{g/mL}$  và 75,12% ( $\pm 2,09$ ) ở 25  $\mu\text{g/mL}$ , trong khi tiền xử lý với 6.25  $\mu\text{g/mL}$  không thể hiện vai trò bảo vệ thần kinh đáng kể khi so sánh với các tế bào chỉ được xử lý với  $A\beta_{1-42}$  độc lập ( $p < 0,05$ ). Cùng với kết quả xét nghiệm ThT, phát hiện này cùng chứng minh tiềm năng ức chế sự tụ tập  $A\beta$  của dịch chiết này. Một số chiến lược chính để chống lại sự hình thành và tiến triển của AD đang được quan tâm, bao gồm ức chế sự lắng đọng  $A\beta$ , giảm stress oxy hóa và ức chế sự tập hợp protein tau. Tiềm năng chống AD của các chiết xuất và sản phẩm tự nhiên từ thực vật đã được chứng minh<sup>37,38</sup> và việc tập trung phát triển các sản phẩm có tiềm năng ức chế sự lắng đọng  $A\beta$  được quan tâm nhiều hơn gần đây<sup>4,5</sup>.

### Ảnh hưởng của chiết xuất đối với sự hình thành ROS nội sinh và thay đổi điện thế màng ty thể

Sự gia tăng protein bị gấp cuộn sai góp phần vào rối loạn chức năng ty thể và hình thành các ROS nội sinh trong các tế bào thần kinh<sup>39</sup>. Sự kích hoạt tế bào thần kinh microglia trong não có thể làm tăng các gốc chứa oxy hoạt tính (ROS) và nitơ hoạt tính (RNS – reactive nitrogen species) có nguồn gốc từ nội sinh (ti thể), dẫn đến tổng số tế bào ROS/RNS cũng tăng lên, tạo ra stress oxy hóa và dẫn đến tổn thương DNA, apoptosis và thậm chí là chết tế bào<sup>36,40,41</sup>. Tế bào SH-SY5Y đã được xử lý trước bằng dịch chiết tại nồng độ an toàn trong 2 giờ trước khi được đồng ủ với 100  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  trong 4 giờ tiếp theo nhằm chủ động gây ra tổn thương oxy hóa. Mức độ ROS hình thành được đánh giá bằng cách nhuộm H2DCFDA. Như được mô tả trong Hình 3, các tế bào SH-SY5Y chỉ được xử lý với  $\text{H}_2\text{O}_2$  cho thấy lượng ROS nội bào tăng cao (372,06%) so với nhóm đối chứng âm. Trong khi đó, dịch chiết đã cắt giảm đáng kể ROS nội sinh ở nồng độ 12.5 và 25  $\mu\text{g/mL}$  với 315.3% and 228.3% tương ứng so với nhóm chỉ được xử lý với  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $p < 0,05$ ). Mức ROS nội bào của riêng dịch chiết cũng được đo sau 6 giờ ủ (không có sự kích hoạt chuỗi oxy hóa).

Bên cạnh đó, điện thế màng ty thể ( $\Delta\Psi\text{m}$ ) cũng được đánh giá được ở hai nồng độ cao chiết gồm 12.5 và 25  $\mu\text{g/mL}$ , vì các nồng độ này có thể có tác dụng bảo vệ chống lại  $A\beta$  như được chỉ ra trong Hình 2. Sau khi được xử lý trước với dịch chiết trong 2 giờ, các tế bào được đồng ủ với 1  $\mu\text{g/mL}$   $A\beta_{1-42}$  trong 24 giờ tiếp theo.  $\Delta\Psi\text{m}$  được đo bằng cách nhuộm TMRE. Như trình bày tại Hình 4, các tế bào SY-SY5Y chỉ được xử lý với  $A\beta_{1-42}$  cho thấy có sự giảm đáng kể  $\Delta\Psi\text{m}$  so với các nhóm chứng ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, sự phục hồi đáng kể  $\Delta\Psi\text{m}$  được ghi nhận tại nồng độ dịch chiết

25  $\mu\text{g/mL}$  là 75.14% ( $\pm 1.05$ ) so với nhóm tế bào SH-SY5Y chỉ được xử lý  $A\beta$ , 49,79% ( $\pm 2,56$ ). Những kết quả này cho thấy tiềm năng cắt giảm sự rối loạn chức năng ty thể bởi cao chiết thông qua sự ngăn chặn quá trình hình thành ROS nội sinh.

### KẾT LUẬN

Đây là báo cáo đầu tiên chứng minh các hoạt động được lý liên quan đến khả năng chống lại sự lắng đọng  $A\beta$  từ dịch chiết ethanol của lá cây thanh trà *B. macrophylla* thông qua các mô hình *in vitro*. Bên cạnh tiềm năng chống oxy hóa, kháng khuẩn và ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư như báo cáo trước đây, các kết quả hiện tại đã chứng minh thêm về vai trò tiềm năng của lá cây thanh trà *B. macrophylla* có thể là một nguồn cung cấp các hợp chất thứ cấp có hoạt tính bảo vệ thần kinh chống lại bệnh Alzheimer.

### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ Đề tài mã số C2022-44-04.

### XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

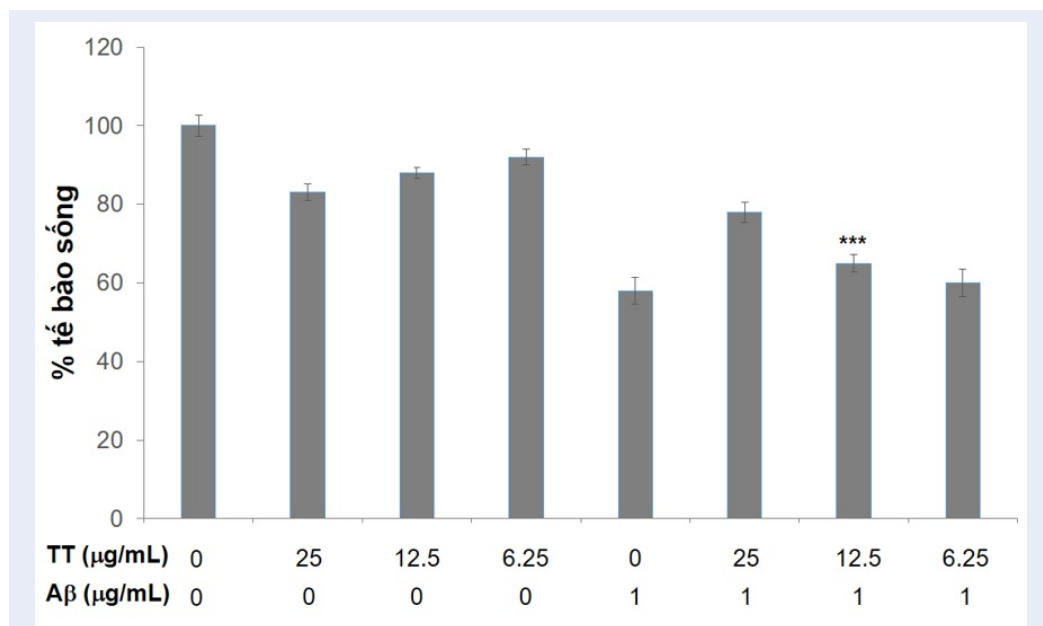
Nhóm tác giả cam kết rằng không có xung đột lợi ích trong công bố này.

### ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

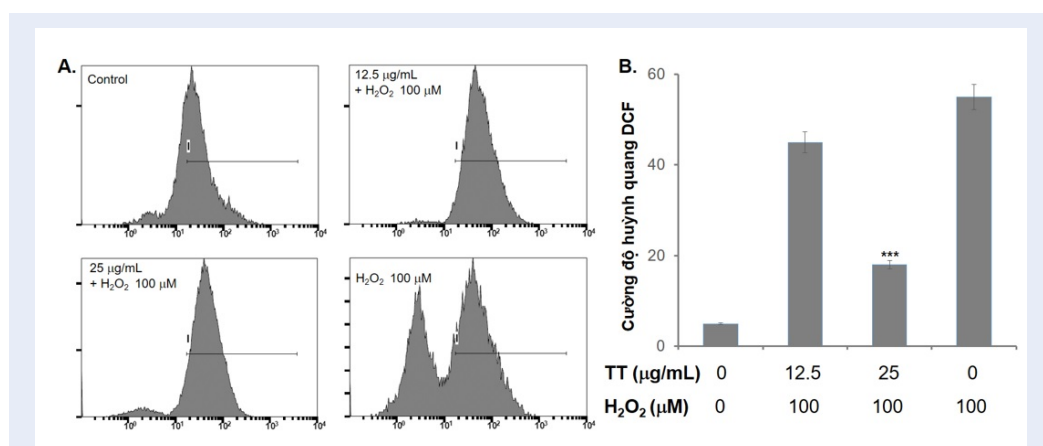
Các tác giả cùng đóng góp ý tưởng trong nghiên cứu này. Nguyễn Hoàng Nam Anh và Hà Kim Ngọc thu thập mẫu, thực hiện thí nghiệm bước đầu và tham gia viết bản thảo sơ bộ. Nguyễn Ngọc Hồng, Dương Thúc Huy và Võ Văn Giàu thiết kế nghiên cứu, hướng dẫn thu thập mẫu, viết, sửa chữa và hoàn thiện bản thảo của bài báo.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Emmerzaal TL, Kilian AJ, Gustafson DR: 2003-2013: a decade of body mass index, Alzheimer's disease, and dementia. Journal of Alzheimer's disease : JAD 2015, 43(3):739-755; Available from: <https://doi.org/10.3233/JAD-141086>.
- Xia C-L, Tang G-H, Guo Y-Q, Xu Y-K, Huang Z-S, Yin S: Mulberry Diels-Alder-type adducts from Morus alba as multi-targeted agents for Alzheimer's disease. Phytochemistry 2019, 157:82-91; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.10.028>.
- Nguyen TT, Ta QTH, Nguyen TKO, Nguyen TTD, Vo VG: Role of Body-Fluid Biomarkers in Alzheimer's Disease Diagnosis. Diagnostics (Basel, Switzerland) 2020, 10(5); Available from: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10050326>.
- Espargaró A, Ginex T, Vadell MD, Busquets MA, Estelrich J, Muñoz-Torrero D, Luque FJ, Sabate R: Combined in Vitro Cell-Based/in Silico Screening of Naturally Occurring Flavonoids and Phenolic Compounds as Potential Anti-Alzheimer Drugs. Journal of natural products 2017, 80(2):278-289; PMID: 28128562. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00643>.

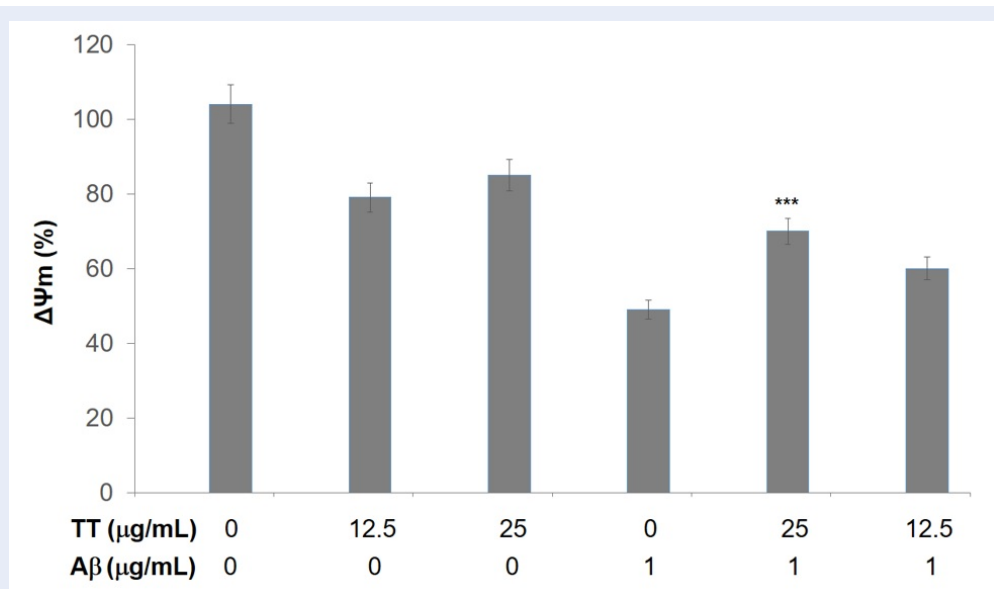


**Hình 2:** Đồ thị thể hiện tiềm năng ức chế Aβ tại các nồng độ khác nhau của cao chiết. Dấu (\*\*\*) cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa so với nhóm chứng ở  $p < 0,05$ .



**Hình 3:** Đánh giá ROS nội sinh thông qua kỹ thuật định lượng tế bào dòng chảy. **A.** Tế bào SH-SY5Y được xử lý bằng chiết xuất thanh trà (TT) ở nồng độ 12.5 và 25 μg/mL khi có hoặc không có 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> trong 24 giờ. **B.** Cường độ huỳnh quang tương ứng. Dấu (\*\*\*) cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa so với nhóm chứng ở  $p < 0,05$ .

- An SSA, Shim KH, Kang S, Kim YK, Subedi L, Cho H, Hong SM, Tan MA, Jeon R, Chang KA et al: The potential anti-amyloidogenic candidate, SPA1413, for Alzheimer's disease. British journal of pharmacology 2021;PMID: 34610141. Available from: <https://doi.org/10.1111/bph.15691>.
- Kochummen K, Go R: Tree Flora of Sabah and Sarawak. Ampang Press Sdn Bhd: Kuala Lumpur 2000, 3:181; Available from: <https://doi.org/10.26525/TFSS3003>.
- Kochummen KM: Tree flora of Pasoh forest: Forest Research Institute Malaysia; 1997;.
- Poolperm N: Maprang Cultivation. JareanrutPubl Bangkok 1993: 117;.
- Van Vo G, Guest PC, Nguyen NH: Evaluation of Antimicrobial and Anticancer Activities of Bouea macrophylla Ethanol Extract. Methods in molecular biology (Clifton, NJ) 2022, 2343:215-228;PMID: 34473325. Available from: [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1558-4\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1558-4_14).
- Minh NP: Various factors affecting to the production of marian plum (Thanh Tra) jam. International Journal of Multidisciplinary Research and Development 2014, 1(5):127-131;.
- Lisa Andina, Musfirah Y: Genetic differentiation and antioxidant activities of Bouea macrophylla Griffith in Nakhon Nayok Province. Journal of Applied Biological Chemistry March 2017, 60(1):41-47; Available from: <https://doi.org/10.3839/jabc.2017.008>.
- Siripanuwat K, P.Suna, N. Satasit, C. Boonyarat, Y. Chulikhit and S. Daodee: The analysis of trace element and carotenoid con-



**Hình 4:** Ảnh hưởng của chiết xuất thanh trà lên điện thế màng ty thể ( $\Delta\Psi_m$ ). Các tế bào SH-SY5Y được xử lý trước bằng dịch chiết trong 2 giờ và ủ với 1  $\mu\text{g/mL}$   $A\beta_{1-42}$  ( $A\beta$ ) trong 24 giờ.  $\Delta\Psi_m$  được xác định bằng cách sử dụng chất nhuộm tetramethylrhodamine, methyl este (TMRE). Kết quả là giá trị trung bình  $\pm$  SD của ba lần thí nghiệm và được biểu thị bằng% đối chứng. Dấu (\*\*\*) cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa so với nhóm được điều trị  $A\beta$  đơn thuần ở  $p < 0,05$ .

- tent in Bouae burmanica. Faculty of Pharmaceutical Sciences 2012;
- Dechsupa N, Kantapan J, Tungjai M, Intorasoot S: Maprang "Bouea macrophylla Griffith" seeds: proximate composition, HPLC fingerprint, and antioxidation, anticancer and antimicrobial properties of ethanolic seed extracts. *Heliyon* 2019, 5(7):e02052; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02052>.
  - Sukalingam K: Preliminary phytochemical analysis and in vitro antioxidant properties of Malaysian Kundan†(Bouea macrophylla Griffith). In: 2018;
  - Cheong Y, Kim C, Kim MB, Hwang JK: The anti-photoaging and moisturizing effects of Bouea macrophylla extract in UVB-irradiated hairless mice. *Food Sci Biotechnol* 2018, 27(1):147-157; PMID: 30263735. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0276-y>.
  - Zainah A, Hazlina AH, Rosniza R: Phytochemicals Content, Antioxidant and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibition Activity of Bouea Macrophylla Griff Seed Extract. 2015;
  - Nguyen NH, Ta QTH, Pham QT, Luong TNH, Phung VT, Duong T-H, Vo VG: Anticancer Activity of Novel Plant Extracts and Compounds from Adenosma bracteosum (Bonati) in Human Lung and Liver Cancer Cells. *Molecules (Basel, Switzerland)* 2020, 25(12):2912; PMID: 32599892. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules25122912>.
  - Tan MA, Lagamayo MWD, Alejandro GJD, An SSA: Anti-Amyloidogenic and Cyclooxygenase Inhibitory Activity of Guettarda speciosa. *Molecules (Basel, Switzerland)* 2019, 24(22); PMID: 31739473. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules24224112>.
  - Yu HY, Chen ZY, Sun B, Liu J, Meng FY, Liu Y, Tian T, Jin A, Ruan HL: Lignans from the fruit of Schisandra glaucescens with antioxidant and neuroprotective properties. *Journal of natural products* 2014, 77(6):1311-1320; PMID: 24927000. Available from: <https://doi.org/10.1021/np4010536>.
  - González-Sarrías A, Núñez-Sánchez M, Tomás-Barberán FA, Espín JC: Neuroprotective Effects of Bioavailable Polyphenol-Derived Metabolites against Oxidative Stress-Induced Cytotoxicity in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells. *Journal of agricultural and food chemistry* 2017, 65(4):752-758; PMID: 28142243. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04538>.
  - Peñalver P, Zodio S, Lucas R, de-Paz MV, Morales JC: Neuroprotective and Anti-inflammatory Effects of Pterostilbene Metabolites in Human Neuroblastoma SH-SY5Y and RAW 264.7 Macrophage Cells. *Journal of agricultural and food chemistry* 2020, 68(6):1609-1620; PMID: 31957426. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07147>.
  - Alvarino R, Alonso E, Lacret R, Oves-Costales D, Geniloud O, Reyes F, Alfonso A, Botana LM: Caniferolide A, a Macrolide from Streptomyces caniferus, Attenuates Neuroinflammation, Oxidative Stress, Amyloid-Beta, and Tau Pathology in Vitro. *Molecular pharmaceutics* 2019, 16(4):1456-1466; PMID: 30821469. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b01090>.
  - Alghazwi M, Smid S, Musgrave I, Zhang W: In vitro studies of the neuroprotective activities of astaxanthin and fucoxanthin against amyloid beta ( $A\beta_{1-42}$ ) toxicity and aggregation. *Neurochemistry international* 2019, 124:215-224; PMID: 30639263. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.01.010>.
  - Nguyen TT, Nguyen TTD, Nguyen TKO, Vo TK, Vo VG: Advances in developing therapeutic strategies for Alzheimer's disease. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedicine & pharmacotherapie* 2021, 139:111623; PMID: 33915504. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111623>.
  - Pinheiro L, Faustino C: Therapeutic Strategies Targeting Amyloid- $\beta$  in Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer research* 2019, 16(5):418-452; PMID: 30907320. Available from: <https://doi.org/10.2174/1567205016666190321163438>.
  - Nguyen TT, Nguyen TTD, Tran NM, Van Vo G: Lipid-Based Nanocarriers via Nose-to-Brain Pathway for Central Nervous System Disorders. *Neurochemical research* 2021; PMID:

34800247. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03488-7>.
27. Nguyen TT, Dung Nguyen TT, Vo TK, Tran NM, Nguyen MK, Van Vo T, Van Vo G: Nanotechnology-based drug delivery for central nervous system disorders. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedicine & pharmacotherapie* 2021, 143:112117;PMID: 34479020. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112117>.
  28. Wu C, Lei H, Wang Z, Zhang W, Duan Y: Phenol red interacts with the protofibril-like oligomers of an amyloidogenic hexapeptide NFGAIL through both hydrophobic and aromatic contacts. *Biophysical journal* 2006, 91(10):3664-3672;PMID: 16935948. Available from: <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.081877>.
  29. Necula M, Kaye R, Milton S, Glabe CG: Small molecule inhibitors of aggregation indicate that amyloid beta oligomerization and fibrillization pathways are independent and distinct. *The Journal of biological chemistry* 2007, 282(14):10311-10324;PMID: 17284452. Available from: <https://doi.org/10.1074/jbc.M608207200>.
  30. Garcia O, Massieu L: Glutamate uptake inhibitor L-trans-pyrrolidine 2,4-dicarboxylate becomes neurotoxic in the presence of subthreshold concentrations of mitochondrial toxin 3-nitropropionate: involvement of mitochondrial reducing activity and ATP production. *Journal of neuroscience research* 2003, 74(6):956-966;PMID: 14648602. Available from: <https://doi.org/10.1002/jnr.10825>.
  31. Mueller H, Kassack MU, Wiese M: Comparison of the usefulness of the MTT, ATP, and calcein assays to predict the potency of cytotoxic agents in various human cancer cell lines. *Journal of biomolecular screening* 2004, 9(6):506-515;PMID: 15452337. Available from: <https://doi.org/10.1177/1087057104265386>.
  32. Wu GJ, Chen WF, Hung HC, Jean YH, Sung CS, Chakraborty C, Lee HP, Chen NF, Wen ZH: Effects of propofol on proliferation and anti-apoptosis of neuroblastoma SH-SY5Y cell line: new insights into neuroprotection. *Brain research* 2011, 1384:42-50;PMID: 21315692. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.02.004>.
  33. Meng L, Xin G, Li B, Li D, Sun X, Yan T, Li L, Shi L, Cao S, Meng X: Anthocyanins Extracted from *Aronia melanocarpa* Protect SH-SY5Y Cells against Amyloid-beta (1-42)-Induced Apoptosis by Regulating Ca(2+) Homeostasis and Inhibiting Mitochondrial Dysfunction. *Journal of agricultural and food chemistry* 2018, 66(49):12967-12977;PMID: 30415542. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05404>.
  34. An JP, Ha TKQ, Kim HW, Ryu B, Kim J, Park J, Lee CH, Oh WK: Eudesmane Glycosides from *Ambrosia artemisiifolia* (Common Ragweed) as Potential Neuroprotective Agents. *Journal of natural products* 2019, 82(5):1128-1138;PMID: 31009220. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00841>.
  35. Park SY, Kim DS: Discovery of natural products from *Curcuma longa* that protect cells from beta-amyloid insult: a drug discovery effort against Alzheimer's disease. *Journal of natural products* 2002, 65(9):1227-1231;PMID: 12350137. Available from: <https://doi.org/10.1021/np010039x>.
  36. Yu H, Yao L, Zhou H, Qu S, Zeng X, Zhou D, Zhou Y, Li X, Liu Z: Neuroprotection against A $\beta$ 25-35-induced apoptosis by *Salvia miltiorrhiza* extract in SH-SY5Y cells. *Neurochemistry international* 2014, 75:89-95;PMID: 24932696. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.06.001>.
  37. Silva MVF, Loures CdMG, Alves LCV, de Souza LC, Borges KBG, Carvalho MdG: Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science* 2019, 26(1):33;PMID: 31072403. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>.
  38. Silva T, Reis J, Teixeira J, Borges F: Alzheimer's disease, enzyme targets and drug discovery struggles: from natural products to drug prototypes. *Ageing research reviews* 2014, 15:116-145;PMID: 24726823. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.03.008>.
  39. Kumar D, Ganeshpurkar A, Kumar D, Modi G, Gupta SK, Singh SK: Secretase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Long road ahead. *European journal of medicinal chemistry* 2018, 148:436-452;PMID: 29477076. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.02.035>.
  40. Ali SK, Hamed AR, Soltan MM, Hegazy UM, Elgorashi EE, El-Garf IA, Hussein AA: In-vitro evaluation of selected Egyptian traditional herbal medicines for treatment of Alzheimer disease. *BMC complementary and alternative medicine* 2013, 13:121;PMID: 23721591. Available from: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-121>.
  41. Chen TF, Tang MC, Chou CH, Chiu MJ, Huang RF: Dose-dependent folic acid and memantine treatments promote synergistic or additive protection against A $\beta$ (25-35) peptide-induced apoptosis in SH-SY5Y cells mediated by mitochondria stress-associated death signals. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2013, 62:538-547;PMID: 24055771. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.09.015>.



# Neuroprotective effects of *Bouea macrophylla* leaf extract against amyloid-beta peptide-induced toxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells

Nguyen Hoang Nam Anh<sup>1</sup>, Ha Kim Ngoc<sup>1</sup>, Duong Thuc Huy<sup>2</sup>, Nguyen Ngoc Hong<sup>1</sup>, Vo Van Giau<sup>3,4,5,\*</sup>



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

<sup>1</sup>Institute of Applied Science, HUTECH University, 475A Dien Bien Phu Street, Binh Thanh District, Ho Chi Minh City 700000, Viet Nam

<sup>2</sup>Department of Chemistry, University of Education, 280 An Duong Vuong Street, District 5, Ho Chi Minh City 72711, Viet Nam

<sup>3</sup>Department of Biomedical Engineering, School of Medicine, Vietnam National University – Ho Chi Minh City (VNU-HCM), Ho Chi Minh City, Viet Nam

<sup>4</sup>Research Center for Genetics and Reproductive Health (CGRH), School of Medicine, Vietnam National University – Ho Chi Minh City (VNU-HCM), Ho Chi Minh City 700000, Vietnam.

<sup>5</sup>Vietnam National University – Ho Chi Minh City (VNU-HCM), Ho Chi Minh City 700000, Viet Nam

## Correspondence

**Vo Van Giau**, Department of Biomedical Engineering, School of Medicine, Vietnam National University – Ho Chi Minh City (VNU-HCM), Ho Chi Minh City, Viet Nam

Research Center for Genetics and Reproductive Health (CGRH), School of Medicine, Vietnam National University – Ho Chi Minh City (VNU-HCM), Ho Chi Minh City 700000, Vietnam.

Vietnam National University – Ho Chi Minh City (VNU-HCM), Ho Chi Minh City 700000, Viet Nam

Email: vvgiau@medvnu.edu.vn



## ABSTRACT

**Purpose:** Alzheimer's disease (AD) is the most common type of dementia, which is thought to be caused by the abnormal buildup of proteins including amyloid-beta (A $\beta$ ) in and around brain cells. In efforts to discover new strategies for AD therapy, natural products have aroused interest in the research community and in the pharmaceutical industry for their neuroprotective activity, targeting different pathological mechanisms associated with AD. A wide variety of natural products from different origins have been evaluated preclinically and clinically for their neuroprotective mechanisms in preventing and attenuating the multifactorial pathologies of AD. Our initial previous study demonstrated the chemical constituents from the leaves of the *Bouea macrophylla* Griff (*B. macrophylla*) could serve as source of bioactive compounds with potential antimicrobial, antioxidant and anticancer properties. However, their neuroprotective effects on A $\beta$ -induced cytotoxicity has not been described yet. **Methods:** In our continuing search for bioactive from the leaves of *B. macrophylla*, we herein describe its cytotoxicity against a neuroblastoma cell line (SH-SY5Y) anti-A $\beta$  aggregation potential, and neuroprotective potential. **Results:** Thioflavin T assay revealed that the inhibition potential of ethanolic extract was 60.65% at 50  $\mu$ g/mL compared to the positive control group ( $p < 0.05$ ), while neuroprotective effects were elaborated against A $\beta$ -induced SH-SY5Y cells at 25  $\mu$ g/mL. In order to validate these neuroprotective effects, the ethanol extract revealed reductions in the intracellular ROS (reactive oxygen species) level in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated SH-SY5Y cells and mitochondrial dysfunctions in A $\beta$ -induced SH-SY5Y cells at 25  $\mu$ g/mL. **Conclusions:** The overall results have provided scientific insights of utilizing *B. macrophylla* as a potential anti-A $\beta$  and neuroprotection agent containing secondary metabolites which may be pharmacologically relevant.

**Key words:** Bouea macrophylla, amyloid-beta, neuroprotection, SH-SY5Y, extract

**Cite this article :** Anh N H N, Ngoc H K, Huy D T, Hong N N, Giau V V. Neuroprotective effects of *Bouea macrophylla* leaf extract against amyloid-beta peptide-induced toxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Sci. Tech. Dev. J. - Health Sci.*; 3(1):369-377.