

## HIỆU QUẢ HẠ GLUCOSE HUYẾT, ĐIỀU HÒA LIPID HUYẾT VÀ CHỐNG OXY HÓA CỦA LÁ BÌNH BÁT DÂY (*COCCINIA GRANDIS* (L.) VOIGT.) TRÊN CHUỘT GÂY TĂNG GLUCOSE HUYẾT

Đái Thị Xuân Trang<sup>✉</sup>, Võ Chí Linh, Nguyễn Thị Ái Lan

Đại học Cần Thơ

<sup>✉</sup>Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: dtxtrang@ctu.edu.vn

Ngày nhận bài: 07.7.2017

Ngày nhận đăng: 15.01.2018

### TÓM TẮT

Hiệu quả hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và chống oxy hóa của dịch chiết lá bình bát dây (*Coccinia grandis* (L.) Voigt.) bằng methanol được khảo sát *in vivo* trên chuột tăng glucose huyết do alloxan monohydrate. Chuột được gây tăng glucose huyết bằng cách tiêm alloxan monohydrate vào khoang bụng với liều 135 mg/kg trọng lượng/lần  $\times$  1 lần/ngày và tiêm trong 3 ngày. Ảnh hưởng của dịch chiết bình bát dây trên chuột bình thường được khảo sát bằng cách cho chuột bình thường uống 100 và 1000 mg/kg trọng lượng/lần  $\times$  2 lần/ngày. Chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây với liều 100 mg/kg trọng lượng/lần  $\times$  2 lần/ngày. Thuốc thương mại glucophage được sử dụng như đối chứng dương với liều 108 mg/kg trọng lượng/lần  $\times$  2 lần/ngày. Sau 21 ngày thí nghiệm, kết quả cho thấy bình bát dây không ảnh hưởng đến glucose huyết và trọng lượng chuột bình thường. Bình bát dây ở liều 100 mg/kg có hiệu quả giảm glucose huyết và các chỉ số lipid huyết gồm cholesterol (total cholesterol, TC), triglyceride (TG), và cholesterol xấu (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C), đồng thời tăng cholesterol tốt (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với chuột tăng glucose huyết không được điều trị. Chuột tăng glucose huyết điều trị bằng bình bát dây có hàm lượng marker của sự peroxyde hóa lipid là malondialdehyde (MDA) giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với chuột bệnh không được điều trị. Hiệu quả hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và chống oxy hóa của dịch chiết bình bát dây trong nghiên cứu này được so sánh với thuốc đối chứng dương glucophage liều sử dụng 108 mg/kg trọng lượng/lần  $\times$  2 lần/ngày. Trong lá bình bát dây xác định được hàm lượng polyphenol tổng tính tương đương acid gallic và hàm lượng flavonoid toàn phần tính tương đương quercetin lần lượt là  $607,41 \pm 14,44$  mg acid gallic/g dịch chiết và  $111,72 \pm 1,94$  mg quercetin/g dịch chiết. Từ các kết quả trên có thể kết luận bình bát dây có hiệu quả hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và chống oxy hóa nên có thể ứng dụng hỗ trợ điều trị bệnh rối loạn chuyển hóa glucose huyết, lipid huyết và các biến chứng từ sự stress oxy hóa do sự tăng glucose huyết mạn tính.

**Từ khoá:** Bệnh đái tháo đường, bình bát dây, *Coccinia grandis* (L.) Voigt, glucose huyết, chống oxy hóa, malondialdehyde (MDA), peroxyde hóa lipid.

### MỞ ĐẦU

Bệnh đái tháo đường là bệnh rối loạn chuyển hóa glucose huyết được đặc trưng bởi sự thiếu tế bào  $\beta$  để tạo insulin hoặc sự kháng insulin dẫn đến tăng glucose huyết. Sự tăng glucose huyết kéo dài là nguyên nhân của nhiều biến chứng về thận, thần kinh, tim mạch và mắt dẫn đến tử vong của bệnh nhân bệnh đái tháo đường (Forbes, 2013). Sự tăng glucose huyết mạn tính sẽ làm tăng tình trạng stress oxy hóa của tế bào, mô và cơ quan; stress oxy hóa

được chứng minh chính là nguyên nhân của các biến chứng ở bệnh đái tháo đường (Malough *et al.*, 2012).

Ở bệnh nhân bệnh đái tháo đường có sự tích tụ quá mức các gốc tự do dẫn đến stress oxy hóa là nguyên nhân dẫn đến sự tổn thương tế bào  $\beta$  và các đại phân tử sinh học (Jaiswal *et al.*, 2013). Sự tổn thương các đại phân tử sinh học, màng tế bào, lipid màng, sự viêm và sự phá hủy tế bào  $\beta$  và cuối cùng là sự chết tế bào được chứng minh liên quan trực tiếp đến các gốc tự do (Kowluru, Chan, 2007). Phản ứng của chuỗi các gốc tự do gây ra sự peroxyde hóa lipid,

dẫn đến sự hư hỏng trong lipid màng và ảnh hưởng đến tính chất sinh lý và tính thấm của tế bào; tình trạng peroxyde hóa lipid được chứng minh tăng cao ở bệnh nhân bệnh đái tháo đường (Sena, Chandel, 2012). Các chất chống oxy hóa có khả năng trung hòa hoặc loại bỏ các gốc tự do, ngăn chặn sự peroxyde hóa lipid, làm giảm sự ảnh hưởng không tốt của các gốc tự do (Nasri *et al.*, 2014).

Bình bát dây là thực vật làm rau phân bố phổ biến ở Việt Nam và cũng được sử dụng điều trị tăng glucose huyết cũng như rối loạn chuyển hóa lipid huyết theo kinh nghiệm dân gian (Võ Văn Chi, 2002). Trên thế giới, gần đây bình bát dây cũng được chứng minh có nhiều hoạt tính sinh học quý như có khả năng kháng viêm (Pramanik *et al.*, 2017), chống oxy hóa (Umamaheswar, Chatterjee, 2007), kháng khuẩn (Satheesh, Murugan, 2011). Cũng có nghiên cứu chứng minh khả năng hạ glucose huyết trên mô hình chuột tăng glucose huyết (Munasinghe *et al.*, 2011), hoặc điều hòa lipid huyết (Singh *et al.*, 2007). Tuy nhiên, sự phân bố của dược liệu ở các vùng khác nhau có thể ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học cũng như các thành phần có hoạt tính sinh học hiện diện trong dược liệu. Để khảo sát tiềm năng ứng dụng cây bình bát dây phân bố ở vùng đồng bằng sông Cửu Long, chúng tôi đã thực hiện nghiên cứu này để đánh giá hiệu quả của dịch chiết methanol lá bình bát dây về khả năng hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và khả năng chống sự peroxyde hóa lipid trên chuột tăng glucose huyết bởi alloxan monohydrate. Trong các nghiên cứu trước các hoạt tính này được khảo sát riêng rẽ, trong nghiên cứu này chúng tôi muốn xác định khả năng điều hòa lipid huyết, chống sự peroxyde hóa lipid trên đối tượng là chuột tăng glucose huyết do alloxan monohydrate.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Lá bình bát dây (*Coccinia grandis* (L.) Voigt) được thu hái ở quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ vào buổi sáng. Cây bình bát dây được định danh dựa vào hình thái, giải phẫu cơ quan dinh dưỡng và sinh sản của thực vật theo Phạm Hoàng Hộ (2003).

Chuột nhắt trắng *Mus musculus* var. Albino khỏe mạnh, 9 tuần tuổi có trọng lượng trung bình từ 25-30 g do Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

### Hiệu quả hạ glucose huyết của dịch chiết bình bát dây trên chuột tăng glucose huyết

Chuột được gây tăng glucose huyết bằng cách tiêm vào khoang bụng dung dịch alloxan

monohydrate (AM) pha trong nước muối sinh lý (0,9%) với liều 135 mg/kg trọng lượng chuột. Sau 5 ngày gây bệnh, chuột tăng glucose huyết được xác định bằng máy đo glucose huyết ACCU - CHEK® Active (Accu-Chek, Đức). Các chuột bệnh có glucose huyết  $\geq 200$  mg/dL được xem là tăng glucose huyết và chọn đưa vào nghiên cứu (Nguyễn Thị Hoàng Diễm *et al.*, 2008).

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 6 nhóm, mỗi nhóm 7 con chuột. Các nhóm được bố trí gồm chuột bình thường (BT); chuột BT uống dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 mg/kg hoặc 1000 mg/kg/lần  $\times 2$  lần/ngày; chuột tăng glucose huyết không điều trị; chuột tăng glucose huyết uống dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 mg/kg/lần  $\times 2$  lần/ngày và chuột tăng glucose huyết uống thuốc thương mại glucophage nồng độ 108 mg/kg/lần  $\times 2$  lần/ngày.

Trong thí nghiệm này chúng tôi cũng sử dụng thuốc thương mại glucophage 500 mg, với thành phần chính là meformine chlohydrate 500 mg/viên như thuốc đối chiếu. Glucophage được chỉ định trong điều trị bệnh đái tháo đường type 2, glucophage cũng được chứng minh có hiệu quả giảm cholesterol toàn phần, LDL-C và triglyceride. Liều sử dụng trong thí nghiệm này chúng tôi dựa trên liều điều trị trên người  $\times 12$  (Đoàn Thị Nhu *et al.*, 2006). Thường bệnh nhân bệnh đái tháo đường uống glucophage với liều 500 mg/ người (trung bình người cân nặng khoảng 55 kg) và 2 lần/ ngày, trên cơ sở này chúng tôi tính liều glucophage và điều trị chuột tăng glucose huyết 2 lần/ngày (500 mg/55 $\times 12$  tương đương khoảng 108-109 mg/kg).

Sau 21 ngày khảo sát, chuột được giải phẫu, máu ở tim chuột được thu để xét nghiệm chỉ tiêu hóa sinh về hàm lượng lipid huyết gồm TC, TG, LDL-C, HDL-C được xác định bằng phương pháp đo hóa sinh trên máy bán tự động Erba CHEM-7 (Erba, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tại Trung tâm Chẩn đoán y khoa 144 Nguyễn An Ninh, thành phố Cần Thơ. Gan và não chuột được tách lấy để xác định sự peroxyde hóa lipid.

### Khảo sát khả năng chống oxy hóa của dịch chiết bình bát dây *in vivo*

Sự peroxyde hóa lipid được thực hiện theo phương pháp của Lovric *et al.*, (2008) có hiệu chỉnh như sau: 250 mg gan (hoặc não) được nghiền trong 1 mL dung dịch KCl 0,9% lạnh. Sau đó, 0,5 mL đệm phosphat pH 3 được thêm vào và ủ ở 4°C trong 60 min. Phản ứng được kết thúc bằng 0,5 mL TCA 10%. Hỗn hợp sau phản ứng được ly tâm 13000 rpm

trong 10 min. Phần dịch nổi ở trên được lấy 1 mL cho vào ống nghiệm chứa 0,5 mL TBA 0,8%. Hỗn hợp phản ứng sau đó được đun cách thủy trong 30 min và để nguội. Phức tạo ra giữa MDA và thiobarbituric acid (TBA) được phát hiện bằng cách đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 532 nm. Hàm lượng MDA được biểu diễn như  $\mu\text{M/L}$ .

#### **Định tính thành phần hóa học của lá bình bát dây**

Thành phần hóa học của dịch chiết lá bình bát dây gồm: alkaloids, flavonoids, anthraquinones, terpenoids, quinones, glycoside, coumarins, phenol, tanins, triterpenoids, saponins được định tính sơ bộ bằng các phương pháp định tính các nhóm hợp chất tự nhiên (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

#### **Định lượng polyphenol tổng và flavonoid toàn phần trong dịch chiết bình bát dây**

##### **Định lượng polyphenol toàn phần bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu**

Hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp của Singleton *et al.*, (1999) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 250  $\mu\text{L}$  dịch chiết lá bình bát dây trong 250  $\mu\text{L}$  nước và 250  $\mu\text{L}$  thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được thêm vào 250  $\mu\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10% và ủ ở  $40^\circ\text{C}$  trong 30 phút. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Acid gallic được sử dụng như chất đối chứng dương để xây dựng phương trình đường chuẩn. Hàm lượng polyphenol trong dịch chiết lá bình bát dây được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic.

##### **Phương pháp định lượng flavonoid**

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp so màu  $\text{AlCl}_3$  của Bag *et al.*, (2015) có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL dịch chiết lá bình bát dây được lắc đều với 1 mL nước và 200  $\mu\text{L}$   $\text{NaNO}_2$  5%, để yên 5 phút. Sau đó, 200  $\mu\text{L}$   $\text{AlCl}_3$  10% được thêm vào phản ứng. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 6 phút được thêm vào 2 mL  $\text{NaOH}$  1M. Cuối cùng hỗn hợp phản ứng được thêm nước cho đủ 5 mL và đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 510 nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. Hàm lượng flavonoid toàn phần của bình bát dây được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn quercetin.

#### **Thống kê phân tích số liệu**

Số liệu được trình bày bằng  $\text{MEAN} \pm \text{SEM}$ . Kết quả được xử lý thống kê theo phương pháp ANOVA

bằng phần mềm Excel và Minitab 16.0.

## **KẾT QUẢ**

### **Hiệu quả hạ glucose huyết của bình bát dây trên chuột tăng glucose huyết**

Ảnh hưởng của bình bát dây đến trọng lượng và glucose huyết của chuột bình thường được khảo sát bằng cách cho chuột uống dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 và 1000 mg/kg trọng lượng chuột trong 21 ngày. Kết quả về sự thay đổi trọng lượng và glucose huyết của chuột sau 21 ngày thí nghiệm được trình bày trong hình 1 và hình 2.

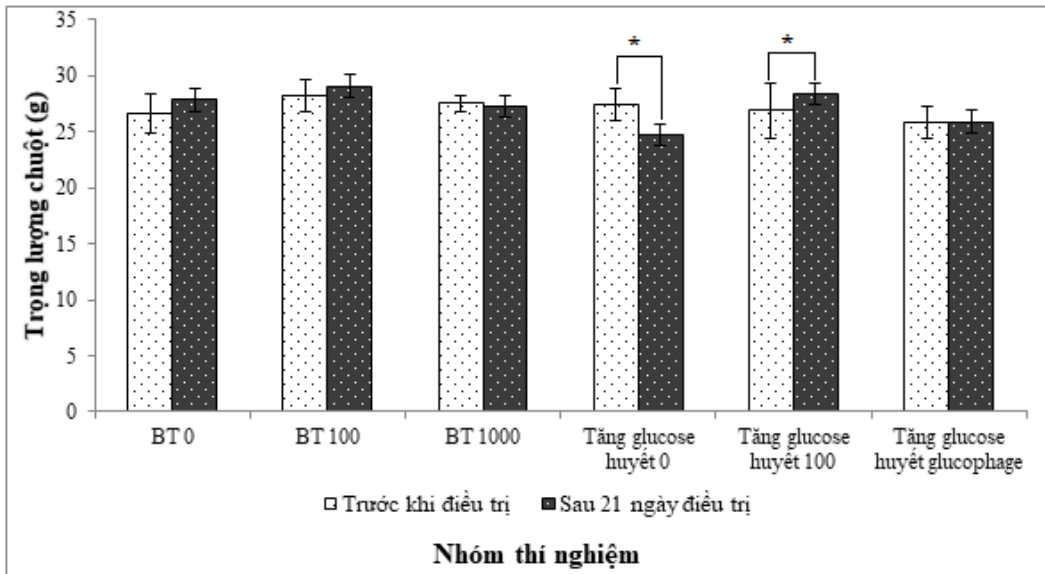
Từ kết quả thực nghiệm cho thấy, nhóm chuột bình thường uống dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 và 1000 mg/kg trọng lượng, glucose huyết trước và sau khi uống dịch chiết bình bát dây thay đổi khác biệt không có ý nghĩa thống kê và vẫn nằm trong giới hạn glucose huyết của chuột bình thường, chuột vẫn tăng trọng trong thời gian thử nghiệm. Nhìn tổng thể, chuột tăng trọng bình thường trạng thái nhanh nhẹn, lông mượt, mắt sáng, di chuyển nhanh nhẹn. Như vậy, bình bát dây không ảnh hưởng đến trọng lượng và glucose huyết của chuột bình thường.

Hiệu quả hạ glucose huyết của bình bát dây trên chuột tăng glucose huyết được thực hiện bằng cách cho chuột uống dịch chiết bình bát dây trong 21 ngày. Khả năng hạ glucose huyết của dịch chiết bình bát dây được khảo sát dựa vào chỉ tiêu trọng lượng và glucose huyết. Kết quả khảo sát trọng lượng chuột cho thấy, nhóm chuột gây tăng glucose huyết không được điều trị sau 21 ngày trọng lượng giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với trước khi điều trị (giảm 9,98%). Nhóm chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng thuốc glucophage trọng lượng trước và sau khi điều trị khác biệt không có ý nghĩa thống kê, hay nói cách khác glucophage không cải thiện trọng lượng chuột bệnh tăng glucose huyết sau 21 ngày điều trị. Ngược lại, nhóm chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây, sau 21 ngày điều trị có trọng lượng tăng khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với trước khi điều trị (tăng 5,5%) (Hình 1). Như vậy, dịch chiết bình bát dây có thể cải thiện trọng lượng chuột bệnh tăng glucose huyết sau 21 ngày điều trị.

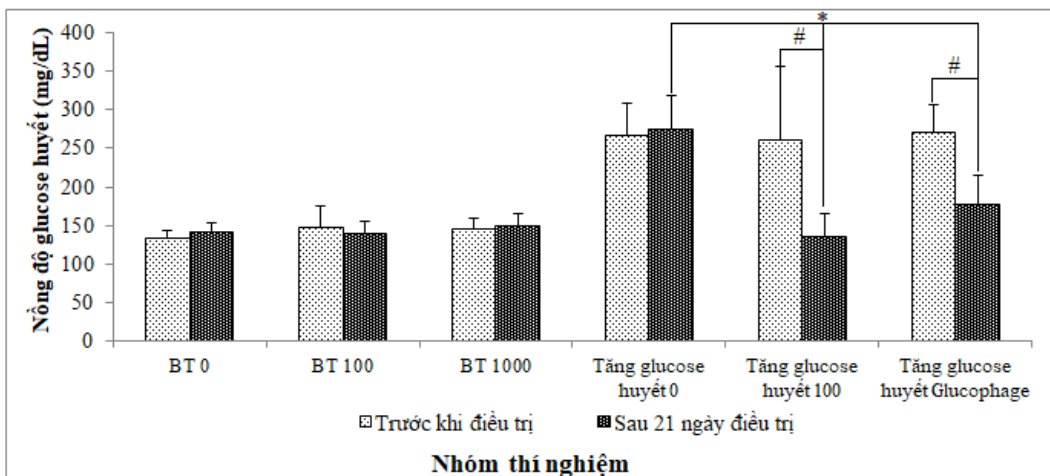
Sau 21 ngày chuột tăng glucose huyết không điều trị có nồng độ glucose huyết duy trì ở mức cao, dao động trong khoảng từ  $267,14 \pm 41,16$  mg/dL đến  $275,14 \pm 44,03$  mg/dL. Nhóm chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây

nồng độ glucose huyết giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức  $p < 0,05$ . Trước khi điều trị, nồng độ glucose huyết là  $261,71 \pm 95,11$  mg/dL; sau 21 ngày chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây, glucose huyết giảm còn  $135,71 \pm 28,69$  mg/dL, tỷ lệ giảm là 48,15%. Nhóm chuột tăng glucose huyết uống glucophage, glucose

huyết giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê từ  $272,71 \pm 34,68$  mg/dL còn  $177,71 \pm 38,2$  mg/dL sau 21 ngày điều trị (giảm 34,84%). Kết quả cho thấy, dịch chiết lá bình bát dây và glucophage có khả năng hạ glucose huyết của chuột tăng glucose huyết về tương đương glucose huyết của chuột bình thường (Hình 2).



**Hình 1.** Trọng lượng chuột bình thường và chuột tăng glucose huyết sau 21 ngày khảo sát. BT0, BT100, BT1000: chuột bình thường uống dịch chiết bình bát dây nồng độ lần lượt 0, 100 và 1000 mg/kg; tăng glucose huyết 0, tăng glucose huyết 100: chuột tăng glucose huyết không được điều trị và được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 mg/kg; tăng glucose huyết glucophage: chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng thuốc glucophage liều 108 mg/kg. (\*): khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa chuột tăng glucose huyết trước và sau khi điều trị.



**Hình 2.** Nồng độ glucose huyết của chuột BT và chuột tăng glucose huyết sau 21 ngày khảo sát. BT0, BT100, BT1000: chuột bình thường uống dịch chiết bình bát dây nồng độ lần lượt 0, 100 và 1000 mg/kg; tăng glucose huyết 0, tăng glucose huyết 100: chuột tăng glucose huyết không được điều trị và được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 mg/kg; tăng glucose huyết Glucophage: chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng thuốc glucophage liều 108 mg/kg. (#): khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa trước và sau điều trị; (\*): khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa chuột tăng glucose huyết được điều trị và không được điều trị.

Từ các kết quả đạt được cho thấy dịch chiết bình bát dây có hiệu quả hạ glucose huyết trên mô hình chuột được gây tăng glucose huyết bằng cách tiêm alloxan monohydrate. Đồng thời kết quả nghiên cứu cũng chứng minh dịch chiết bình bát dây có hiệu quả cải thiện trọng lượng của chuột tăng glucose huyết sau 21 ngày điều trị.

### Hiệu quả điều hòa lipid huyết của dịch chiết lá bình bát dây trên chuột tăng glucose huyết

Kết quả các chỉ tiêu lipid huyết của các nhóm thí nghiệm được trình bày trong bảng 1. Sau 21 ngày chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết lá bình bát dây có các chỉ số lipid huyết gồm TC (174,3 ± 26,7 mg/dL), TG (147,9 ± 61,7 mg/dL) và LDL-C (99,83 ± 15,8 mg/dL) giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với chuột tăng glucose huyết không được điều trị (lần lượt là 354,1 ± 45,6, 313,5 ± 36,4 và 204,1 ± 6,1 mg/dL); các chỉ số lipid huyết của nhóm chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhóm chuột bình thường và

bình thường uống bình bát dây. Điều này cho thấy dịch chiết bình bát dây có khả năng điều hòa làm giảm các chỉ số lipid huyết ở chuột tăng glucose huyết. Hiệu quả giảm lipid huyết của bình bát dây cao hơn có ý nghĩa thống kê khi so với thuốc thương mại glucophage về các chỉ số gồm TC (262,0 ± 62,2 mg/dL), TG (318,6 ± 247,6 mg/dL) và LDL-C (99,83 ± 15,8 mg/dL).

HDL-C được biết là cholesterol có lợi cho cơ thể, nên chỉ số này cần được giữ ở mức ổn định. Nhóm chuột tăng glucose huyết không điều trị chỉ số HDL-C giảm đáng kể (27,0 ± 5,0 mg/dL) so với nhóm chuột bình thường (37,5 ± 9,4 mg/dL). Khi chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây chỉ số HDL-C (43,6 ± 0,4 mg/dL) cải thiện cao tương đương với nhóm chuột bình thường. Riêng nhóm chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng glucophage chỉ số HDL (29,2 ± 5,8 mg/dL) giảm tương đương với chuột tăng glucose huyết không điều trị. Như vậy dịch chiết bình bát dây có tác dụng cải thiện cholesterol tốt HDL-C ở mức bình thường (Bảng 1).

**Bảng 1.** Hàm lượng các chỉ số lipid huyết của các nhóm chuột thí nghiệm (mg/dL).

Nhóm thí nghiệm	Cholesterol	Triglyceride	LDL-C	HDL-C
BT 0	152,8 ± 32,52 <sup>c</sup>	175,7 ± 32,5 <sup>b</sup>	88,8 ± 19,1 <sup>c</sup>	37,5 ± 9,4 <sup>a</sup>
BT 100	163,3 ± 19,4 <sup>c</sup>	173,2 ± 71,9 <sup>b</sup>	84,4 ± 11,7 <sup>c</sup>	38,6 ± 5,56 <sup>a</sup>
Tăng glucose huyết 0	354,1 ± 45,6 <sup>a</sup>	313,5 ± 36,4 <sup>a</sup>	204,1 ± 6,1 <sup>a</sup>	27,0 ± 5,0 <sup>b</sup>
Tăng glucose huyết 100	174,3 ± 26,7 <sup>c</sup>	147,9 ± 61,7 <sup>b</sup>	99,83 ± 15,8 <sup>c</sup>	43,6 ± 0,4 <sup>a</sup>
Tăng glucose huyết Glucophage	262,0 ± 62,2 <sup>b</sup>	318,6 ± 247,6 <sup>a</sup>	142,86 ± 32,0 <sup>b</sup>	29,2 ± 5,8 <sup>b</sup>

Ghi chú: Các số liệu có mẫu tự theo sau khác nhau trong cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức  $p < 0,05$ . BT 0: chuột bình thường; BT 100: chuột bình thường uống dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 mg/kg; tăng glucose huyết 0, tăng glucose huyết 100: chuột tăng glucose huyết không được điều trị và được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 mg/kg; tăng glucose huyết glucophage: chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng thuốc glucophage liều 108 mg/kg.

### Khảo sát khả năng chống sự peroxyde hóa lipid *in vitro* trên chuột nhắt trắng

Khả năng chống sự peroxyde hóa lipid dựa trên hàm lượng marker malondialdehyde (MDA) được tạo ra khảo sát ở gan và não chuột và được trình bày ở bảng 2. Kết quả cho thấy, khi chuột tăng glucose huyết không được điều trị hàm lượng MDA tăng khoảng 3,5 lần ở gan (5,44 ± 1,06 μM/L) và 5 lần ở não (4,48 ± 0,59 μM/L) so với nhóm chuột bình thường lần lượt là (1,53 ± 0,28 và 0,93 ± 0,29 μM/L). Khi chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây thì hàm lượng MDA ở gan (2,44 ± 0,37 μM/L) và não (2,41 ± 0,49 μM/L) đều giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chuột tăng glucose huyết không được điều trị. Hàm lượng MDA ở gan và não của nhóm chuột tăng

glucose huyết được điều trị giảm lần lượt 44,9% và 53,8% so với nhóm chuột tăng glucose huyết không được điều trị.

### Kết quả định tính thành phần hóa học và định lượng polyphenol tổng và flavonoid toàn phần của dịch chiết lá bình bát dây

Thành phần hóa học có trong dịch chiết lá bình bát dây gồm tannin, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, glycoside, coumarin và quinone. Các hợp chất saponin, terpenoid và anthra quinone không phát hiện trong dịch chiết lá bình bát dây.

Hàm lượng polyphenol tổng (TPC) và flavonoid toàn phần (TFC) được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic ( $y = 0,0831x + 0,1118$ ;  $R^2 = 0,98$ ) và quercetin ( $y = 0,0052x - 0,0087$ ;  $R^2 =$

0,99). Hàm lượng polyphenol tổng là  $607,41 \pm 14,44$  mg GAE/g dịch chiết bình bát dây và hàm lượng flavonoid là  $111,72 \pm 1,94$  mg QE/g dịch chiết bình bát dây.

**Bảng 2.** Hàm lượng MDA ở gan và não của các nhóm chuột thí nghiệm.

Nhóm thí nghiệm	Hàm lượng MDA ( $\mu\text{M/L}$ )	
	Gan	Não
BT 0	$1,53 \pm 0,28^d$	$0,93 \pm 0,29^d$
BT 100	$1,52 \pm 0,28^d$	$1,05 \pm 0,53^d$
Tăng glucose huyết 0	$5,44 \pm 1,06^a$	$4,48 \pm 0,59^a$
Tăng glucose huyết 100	$2,44 \pm 0,37^c$	$2,41 \pm 0,49^c$
Tăng glucose huyết Glucophage	$3,76 \pm 0,16^b$	$3,48 \pm 0,14^b$

Ghi chú: Các số liệu có mẫu tự theo sau khác nhau trong cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức  $p < 0.05$ . BT 0: chuột bình thường; BT 100: chuột bình thường uống dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 mg/kg; tăng glucose huyết 0, tăng glucose huyết 100: chuột tăng glucose huyết không được điều trị và được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây nồng độ 100 mg/kg; tăng glucose huyết glucophage: chuột tăng glucose huyết được điều trị bằng thuốc glucophage liều 108 mg/kg.

## THẢO LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết bình bát dây đến glucose và lipid huyết của chuột tăng glucose huyết. Sử dụng alloxan monohydrate liều 135 mg/kg trọng lượng, chúng tôi có thể tạo ra được chuột tăng glucose huyết. Alloxan là nguyên nhân làm tăng glucose huyết bằng cách phá hủy tế bào  $\beta$  của đảo Langerhans. Điều này cũng đã được chứng minh trong các nghiên cứu trước (Kazemi *et al.*, 2010). Sự tăng glucose huyết là nguyên nhân dẫn đến stress oxy hóa dẫn đến sự chết của tế bào  $\beta$  và làm suy giảm sự tiết insulin. Sự tăng glucose huyết bởi alloxan trực tiếp làm tăng TC, TG, LDL-C và giảm HDL-C (Pushparaj *et al.*, 2007).

Trong nghiên cứu này, dịch chiết lá bình bát dây có khả năng làm giảm glucose huyết khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng chuột tăng glucose huyết không điều trị. Kết quả định tính và định lượng thành phần hóa học cho thấy bình bát dây chứa flavonoid ( $111,72$  mg QE/g) khá cao. Flavonoid được chứng minh có nhiều dược tính như kháng tăng glucose huyết, chống dị ứng, bảo vệ gan, kháng viêm (Jorge *et al.*, 2004). Một số flavonoid có khả năng ức chế enzyme aldose reductase là enzyme tham gia vào quá trình dẫn đến các biến chứng ở tăng glucose huyết (Tavafí, 2012). Mặt khác, gân dây quercetin cũng được chứng minh có khả năng kích thích sự sản sinh insulin của tế bào  $\beta$  (Kittl *et al.*, 2016). Khi có đủ insulin thì sự điều hòa glucose huyết được cải thiện là dẫn đến giảm glucose huyết ở chuột tăng glucose huyết.

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy chuột tăng

glucose huyết được điều trị bằng dịch chiết bình bát dây làm giảm TC, TG, LDL-C và tăng HDL-C có ý nghĩa thống kê. Như đã thảo luận ở trên, sự tăng TC, TG, LDL-C là do sự tăng glucose huyết nên sự giảm các chỉ tiêu này là do tác dụng giảm glucose huyết của bình bát dây. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có sự hiện diện của flavonoid và polyphenol trong bình bát dây; hai nhóm chất này cũng được chứng minh có khả năng giảm TC và LDL-C đồng thời làm tăng HDL-C ở chuột tăng lipid huyết (Papp *et al.*, 2015).

Sự tăng glucose huyết cảm ứng nhiều quá trình dẫn đến sự tăng các gốc tự do và sự kháng insulin (Yu *et al.*, 2006). MDA là một chất có độc tính rất cao được tạo ra từ sự oxy hóa lipid. Hàm lượng MDA cao trong chuột tăng glucose huyết không điều trị phản ánh tình trạng stress oxy hóa dẫn đến sự peroxyde hóa lipid trong các mô và cơ quan; MDA cao tương quan thuận với sự tăng glucose huyết (Pieme *et al.*, 2017). Trong nghiên cứu của chúng tôi, dịch chiết bình bát dây có hiệu quả giảm glucose huyết đồng thời hàm lượng MDA cũng giảm ở nhóm này so với chuột tăng glucose huyết không điều trị. Điều này cho thấy có sự tương quan giữa stress oxy hóa và tăng glucose huyết, tình trạng stress oxy hóa cũng phản ánh nguy cơ các biến chứng của tăng glucose huyết mạn tính dẫn đến bệnh đái tháo đường.

## KẾT LUẬN

Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi chứng minh dịch chiết lá bình bát dây có hiệu quả hạ glucose huyết, cũng như điều hòa lipid huyết của

chuột tăng glucose huyết được cảm ứng bởi alloxan monohydrate. Dịch chiết bình bát dây còn có khả năng giảm tình trạng stress oxy hóa là nguyên nhân dẫn đến các biến chứng của bệnh đái tháo đường.

**Lời cảm ơn:** Các tác giả xin chân thành cảm ơn Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ phương tiện, thiết bị để thực hiện nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bag GC, Devi PG, Bhaigyabati T (2015) Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic Rhizome extract of three *Hedychium* species of Manipur Valley. *Int J Pharm Sci Rev Res* 28: 154-159.

Đoàn Thị Nhu, Đỗ Trung Đàm, Phạm Duy Mai, Nguyễn Thượng Dong, Nguyễn Thị Thu Hương (2006) *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược*. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật. Trang 356.

Forbes JM, Cooper ME (2013) Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 93: 137-188.

Jaiswal D, Rai PK, Mehta S, Chatterji S, Shukla S, Rai DK, Sharma G, Sharma B, Watal G (2013) Role of *Moringa oleifera* in regulation of diabetes-induced oxidative stress. *Asian Pac J Trop Med* 6: 426-432.

Jorge AP, Horst H, de Sousa E, Pizzolatti MG, Silva FR (2004) Insulinomimetic effects of kaempferitrin on glycaemia and on <sup>14</sup>C-glucose uptake in rat soleus muscle. *Chem Biol Interact* 149: 89-96.

Kazemi S, Asgary S, Moshtaghian J, Raifcien M, Adelnia A, Shamsi F (2010) Liver-protective effects of hydroalcoholic extract of *Allium hirtifolium* Boiss in rats with alloxan-induced diabetes mellitus. *Arya Atherosclerosis* 6: 11-15.

Kittl M, Beyreis M, Tumurkhuu M, Fürst J, Helm K, Pitschmann A, Gaisberger M, Glasl S, Ritter M, Jakab M (2016) Quercetin stimulates insulin secretion and reduces the viability of rat INS-1 beta-cells. *Cell Physiol Biochem* 39(1): 278-293.

Kowluru RA, Chan PS (2007) Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res* 43603.

Lovric J, Mesic M, Macan M, Koprivanac M, Kelava M, Bradamante V (2008) Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. *Periodicum Biologorum* 110(1): 63-67.

Malough FA, Budin SB., Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J (2012) The role of oxidative stress and antioxidant in diabetic complications. *Sult. Qaboos Univ Med J* 12: 5-18.

Munasinghe MAAbeysena C, Yaddehige IS, Vidanapathirana T, Piyumal KP (2011) Blood sugar lowering effect of *Coccinia grandis* (L.) J. Voigt: path for a new drug for diabetes mellitus. *Exp Diabetes Res*, 978762. doi: 10.1155/2011/978762. Epub 2011 Jul 21.

Nasri H, Baradaran A, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M (2014) New concepts in nutraceuticals as alternative for pharmaceuticals. *Int J Prev Med* 5: 1487-1499.

Nguyễn Kim Phi Phụng (2007) Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Nguyễn Thị Hoàng Diễm, Võ Phùng Nguyên, Mai Phương Mai (2008) Sàng lọc các bài thuốc dân gian có tác dụng hạ glucose huyết trên mô hình chuột nhắt đái tháo đường gây bằng alloxan. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh* 12: 88.

Papp N, Blázovics A, Fébel H, Salido S, Altarejos J, Fehér E, Kocsis I, Szentmihályi K, Abrankó L, Hegedüs A, Stefanovits-Bányai É (2015) Antihyperlipidemic effects of sour cherries characterized by different *in vitro* antioxidant power and polyphenolic composition. *Plant Foods Hum Nutr* 70(4): 408-413.

Phạm Hoàng Hộ (2003) *Cây cỏ Việt Nam*. Nhà xuất bản Trẻ.

Pieme CA, Tatangmo JA, Simo G, Biapa Nya PC, Ama Moor VJ, Moukette Moukette B, Tankeu Nzifo F, Njinkio Nono BL, Sobngwi E (2017) Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes. *BMC Res Notes* 10(1): 141.

Pramanik A, Paik D, Naskar K, Chakraborti T. (2017) Leaf extract exhibits antileishmanial effect through pro-inflammatory response: An *in vitro* study. *Curr Microbiol* 74(1): 59-67.

Pushparaj PN, Low HK, Manikandan J, Tan BK, Tan CH (2007) Anti-diabetic effects of *Cichorium intybus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 111: 430-434.

Satheesh LS, Murugan K (2011) Antimicrobial activity of protease inhibitor from leaves of *Coccinia grandis* (L.) Voigt. *Indian J Exp Biol* 49(5): 366-374.

Sena LA, Chandel NS. (2012) Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell* 48: 158-167.

Singh G, Gupta P, Rawat P, Puri A, Bhatia G, Maurya R (2007) Antidyslipidemic activity of polyphenol from *Coccinia grandis* in high-fat diet-fed hamster model. *Phytomedicine* 14(12): 792-798.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999) Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol* 299: 152-178.

Tavafi M (2012) Inhibition of gentamicin-induced renal tubular cell necrosis. *J Nephropathol* 2: 83-86.

Umamaheswari M, Chatterjee TK (2007) In vitro antioxidant activities of the fractions of *Coccinia grandis* L. leaf extract. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 5(1): 61-73.

Võ Văn Chi (2002) Từ điển thực vật thông dụng, Tập 1. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.

Yu T, Robotham J, Yoon Y (2006) Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(8): 2653-2658.

## **ANTIHYPERGLYCEMIC, ANTIOXIDANT, AND ANTIHYPERLIPIDEMIC ACTIVITIES OF EXTRACT FROM *COCCINIA GRANDIS* (L.) VOIGT. LEAVES BY METHANOL ON ALLOXAN INDUCED HYPERGLYCEMIC MICE**

**Dai Thi Xuan Trang, Vo Chi Linh, Nguyen Thi Ai Lan**

*Can Tho University*

### **SUMMARY**

The aim of this study was to investigate antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of the extract of *Coccinia grandis* leaves (CGL) by methanol in alloxan induced diabetic mice. Hyperglycemic was induced in mice by administration of alloxan monohydrate (135 mg/kg, ip.). CGL was orally given to the normal mice (100 and 1000 mg/kg body weight) to determine the toxicity of CGL. Hyperglycemic mice were treated with the extract of CGL (100 mg/kg body weight/ twice a day). Glucophage, diabetic commercially available drug, was used as a positive control with dose of 108 mg/kg body weight/twice a day. Mice were administered with both glucophage and CGL extract orally during 21 days. On the 21<sup>st</sup> day of the experiment, mice blood, liver and brain samples were collected to test biochemical parameters and antioxidant levels. CGL did not show toxicity and death up to dose 1000 mg/kg in mice. Administration of CGL 100 mg/kg significantly ( $p < 0.05$ ) reduced blood glucose levels in alloxan induced hyperglycemic mice. Besides, several serum lipid values including total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) reduced while high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) increased. Malondialdehyde (MDA) in a group of untreated hyperglycemic mice was statistically higher than that of normal mice. The MDA levels of livers and brains in the CGL treated hyperglycemic mice were lower than that of hyperglycemic control. The effects of hypoglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant of CGL were higher than that of glucophage. The total polyphenols and flavonoids contents of the leaf extract were 607,41 + 14,44 mg gallic acid or quercetin equivalents/g and 111,72 + 1,94 mg equivalents/g, respectively. In conclusion, the antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of the CGL suggest a potential therapeutic treatment for hyperglycemic conditions.

**Keywords:** *Antioxidant, antihyperglycemic, antihyperlipidemic, blood glucose level, Coccinia grandis (L.) Voigt., lipid peroxidation, malondialdehyde (MDA)*