

NGHIÊN CỨU SÀNG LỌC MỘT SỐ THỰC VẬT CÓ KHẢ NĂNG HẠ ĐƯỜNG HUYẾT TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYPE 2 THỰC NGHIỆM GÂY RA BỞI STREPTOZOCIN

Nguyễn Thị Xuân Thu^{1,✉}, Đặng Đức Long², Thành Thị Thu Thủy³

¹Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng

²Viện Nghiên cứu và Đào tạo Việt - Anh, Đại học Đà Nẵng

³Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: nguyenthixuanthu85@gmail.com

Ngày nhận bài: 27.3.2019

Ngày nhận đăng: 16.7.2019

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, việc sử dụng những thảo dược truyền thống trong điều trị bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) hay còn gọi là tiểu đường ngày càng được quan tâm. Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác dụng hạ đường huyết của dịch chiết còn 70° lá cây đu đủ, hạt đu đủ, quả cây sung, quả cây ké đầu ngựa, thân và lá cây nở ngày đất trên chuột ĐTĐ type 2 gây ra bởi streptozocin. Kết quả chứng minh rằng cao còn hạt đu đủ, lá đu đủ và quả sung có khả năng hạ đường huyết đáng kể ở liều 500 mg/kg so với nhóm chuột đối chứng. Trong đó, hoạt tính hạ đường huyết của cao chiết lá đu đủ (52,38%) và hạt đu đủ (53,16%) là tốt hơn so với cao chiết quả sung (27,90%). Hơn nữa, cao chiết ethanol của hạt đu đủ, lá đu đủ và quả sung đều có khả năng ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase và enzyme α -amylase, cao chiết hạt đu đủ có khả năng ức chế α -glucosidase cao nhất với IC_{50} là $24,36 \pm 0,29$ μ g/ml, trong khi đó cao chiết lá đu đủ có khả năng ức chế enzyme α -amylase cao nhất với IC_{50} là $34,28 \pm 0,06$ μ g/ml. Các nghiên cứu mô bệnh học trên tuyến tụy cho thấy cao chiết hạt đu đủ có tác dụng cải thiện tổn thương các tiểu đảo tụy do streptozocin gây ra. Các kết quả thu được từ nghiên cứu này có thể là một khởi đầu triển vọng cho việc khám phá thuốc để hỗ trợ điều trị bệnh ĐTĐ trong tương lai.

Từ khoá: Đái tháo đường, Hạ đường huyết, α -Glucosidase và α -Amylase, Mô bệnh học của tụy

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ), hay còn gọi là bệnh tiểu đường, là bệnh rối loạn chuyển hóa hydratcarbon do thiếu insulin biểu hiện bằng sự tăng nồng độ glucose trong máu và xuất hiện đường này trong nước tiểu. ĐTĐ chủ yếu được phân loại thành: ĐTĐ type 1 và type 2 (American Diabetes Association, 2018). Ở ĐTĐ type 1 tuyến tụy hầu như hoặc không có khả năng sản sinh ra insulin, nguyên nhân là do hệ miễn dịch tự hủy hoại các tế bào β trong tuyến tụy có nhiệm vụ sản sinh ra insulin. Đặc điểm lớn nhất trong sinh lý bệnh của ĐTĐ type 2 đó là hiện tượng kháng insulin liên quan đến bất thường về chuyển hóa glucose và chất béo. Trong đó, ĐTĐ type 2 là bệnh rối loạn nội tiết phổ biến nhất trên toàn thế giới, chiếm 90-95% của tất cả các trường hợp bệnh ĐTĐ (Bencheikh *et al.*, 2016). Theo thời gian, bệnh ĐTĐ có thể dẫn đến bệnh võng mạc, suy thận, và phá hủy thần kinh. Bệnh tiểu đường đặt ra thách thức lớn đối với hệ thống chăm sóc sức khoẻ

trên thế giới. Số lượng bệnh nhân mắc bệnh ĐTĐ toàn thế giới được ước tính là 366 triệu người trong năm 2011. Trong số này, có 183 triệu người được cho là không biết về tình trạng bệnh của họ. Nếu không có biện pháp ngăn chặn, con số đó dự kiến sẽ tiếp tục gia tăng lên 552 triệu người vào năm 2030, chiếm khoảng 10% tổng dân số trưởng thành trên thế giới (Matheka, Alkizim, 2012).

Hiện nay, các thuốc điều trị ĐTĐ có nguồn gốc tổng hợp hoá học thường kèm theo rất nhiều tác dụng không mong muốn, chi phí điều trị bệnh cao và bệnh nhân có xu hướng phải tăng liều sau một thời gian dài dùng thuốc (Tạ Văn Bình, 2007). Để đáp ứng được nhu cầu sử dụng thuốc ngày càng gia tăng và hạn chế được những biến chứng gây ra bởi bệnh ĐTĐ type 2, việc kế thừa nền y học cổ truyền để từ đó nghiên cứu, sản xuất ra các loại thuốc có nguồn gốc từ thảo dược hiệu quả và an toàn cao, có khả năng bổ sung và thay thế thuốc điều trị ĐTĐ đang là hướng quan tâm nghiên cứu của nhiều nhà khoa học.

Ké đầu ngựa (*Xanthium strumarium* L.) là một loại cây thân thảo hàng năm phân bố trên toàn thế giới. Cây cao khoảng 2,5 m, thân cây có màu tím. Các bộ phận của loài cây này vẫn được dùng làm thuốc trong y học truyền thống của Việt Nam. Một số tính chất sinh học của ké đầu ngựa đã được báo cáo, chẳng hạn như trừ giun sán, chống kí sinh trùng, kháng nấm, hoạt tính hạ đường huyết và chống lại một số khối u ở người. Thành phần hoá học của cây ké đầu ngựa được biết đến với các xanthanoid là các secquiterpen đã được nghiên cứu có hiệu quả tốt trong chống viêm và trị ung thư. Bên cạnh đó, các acid quinic có trong ké đầu ngựa là các chất chống oxy hoá được quan tâm nhiều trong công nghiệp thực phẩm và các thiazindion là các dẫn xuất thiên nhiên duy nhất của các chất dị vòng thiazin có hoạt tính chống ung thư (Scherer *et al.*, 2009).

Nở ngày đất (*Gomphrena celosiodes* Mart.) là một loại cây cỏ dại mọc phổ biến vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Nhiều nghiên cứu cũng đã chỉ ra khả năng chống oxy hóa, ức chế mạnh đối với sự peroxy hóa lipid của acid linoleic (Adeoti *et al.*, 2017). Tại một số vùng người dân đã sử dụng cây nở ngày đất để điều trị bệnh Gout. Một số nghiên cứu đã tìm thấy các hợp chất phenolic, flavonoid, saponin, sterol, terpen, tannin và coumarins trong thành phần hóa học của cây nở ngày đất (Adeoti *et al.*, 2017).

Cây sung (*Ficus racemosa* Linn.) là một loại cây gỗ lớn, có kích thước trung bình. Cây phân bố rộng ở Úc, Đông Nam Á và Ấn Độ. Các phần khác nhau của cây sung (lá, vỏ cây và quả) được sử dụng trong y học dân gian để điều trị bệnh tiêu chảy, đau răng, đau họng và bệnh ĐTĐ (Bhogaonkar *et al.*, 2014). Quả sung điều trị ho khan, mất giọng nói và các bệnh về thận, lá lách. Ngoài ra, quả sung cũng được dùng để giảm viêm vết thương ở da và dùng trong bong gân và xơ hóa. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng lá và vỏ của cây sung có tác dụng tốt trong hạ đường huyết, chống oxy hoá, chống khối u và kháng khuẩn (Sultana *et al.*, 2015). Các nhóm chất trong cây sung được chỉ ra với tác dụng trong điều trị ĐTĐ là alkaloid, β -sitosterol, flavonoid, lupeol, saponin, tannin và glycoside (Amin *et al.*, 2016).

Cây đu đủ (*Carica papaya* L.) là một loài cây ăn quả được trồng rộng rãi trên khắp thế giới. Quả non và rễ của cây đu đủ hoạt động chống lại các tác nhân gây bệnh đường ruột ở người và kháng khuẩn. Các chiết xuất từ hạt và quả đu đủ có hoạt tính cho việc chữa lành vết thương. Các nghiên cứu cho thấy lá đu đủ được sử dụng để làm giảm các triệu chứng hen suyễn, nguy cơ tim mạch và ly amip, điều trị các vấn

đề về dạ dày, sốt xuất huyết, chống viêm và ung thư (Iyappan *et al.*, 2014). Bên cạnh đó, dịch chiết lá đu đủ lên men làm giảm đáng kể nồng độ đường huyết ở những bệnh nhân mắc bệnh ĐTĐ type 2 (Danese *et al.*, 2006). Thành phần hoá học của dịch chiết lá đu đủ gồm các alkaloid, glycosid, flavanoid, saponin, tannin, phenol và steroid (Sudhakar, Vidhya, 2014).

Mục tiêu của nghiên cứu này hướng tới việc sàng lọc một số dịch chiết từ thực vật có khả năng hạ đường huyết tốt nhất trên mô hình chuột ĐTĐ type 2 và đánh giá hiệu quả của các dịch chiết đối với hoạt động ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase (là một cơ chế quan trọng để khống chế ĐTĐ type 2) cũng như cải thiện các biến chứng khác của ĐTĐ. Kiến thức thu được từ nghiên cứu này có thể được sử dụng làm cơ sở điều chế thuốc mới từ nguồn thảo dược tự nhiên trong điều trị bệnh ĐTĐ.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu

Mẫu thực vật cụ thể như lá đu đủ, hạt đu đủ, quả sung được thu mua trực tiếp tại vườn thuộc thị xã Hương Trà, tỉnh Thừa thiên Huế, riêng với mẫu thân, lá, hoa của cây nở ngày đất và quả của cây ké đầu ngựa được thu mua tại một cơ sở thuốc bắc ở tỉnh Thừa Thiên-Huế vào khoảng tháng 8 - 9. Mẫu được sấy khô ở 50°C, xay thành bột làm nguyên liệu.

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm gồm: Ethanol, STZ (streptozocin) của hãng Sigma (S0130-50MG); hóa chất dùng pha đệm đạt độ tinh khiết: Đệm citrate 0,01 M, pH 4; thuốc điều trị ĐTĐ Pioglit (Ấn độ); enzyme α -glucosidase (Sigma), α -amylase (Sigma); thuốc Acarbose 100mg (Đức); DNSA (3,5-dinitrosalicylic acid) (Sigma); p-nitrophenyl- α -D- glucopyranoside (pNPG) (Sigma); tinh bột; Dimethyl sulfoside (DMSO) và một số hóa chất khác.

Đối tượng nghiên cứu: chuột nhắt trắng đực dòng Swiss, trọng lượng từ 18-22 g, được cung cấp bởi cơ sở chăn nuôi Suối Dầu - Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế Nha Trang.

Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất các mẫu thực vật

Bột khô nguyên liệu khoảng 500 g từ năm mẫu thực vật được chiết với cồn 70°. Tiến hành cô quay các dịch chiết thu được cao cồn tổng. Các cao chiết này được thử nghiệm cho hoạt động hạ đường huyết

trên mô hình chuột đái đường cũng như khảo sát khả năng ức chế enzyme α -glucosidase và α -amylase.

Nghiên cứu tác dụng của dịch chiết trên chuột đái tháo đường type 2

Chuột được cho ăn thức ăn tự làm tại phòng thí nghiệm có giàu chất béo trong vòng 8 tuần với 35% chất béo, 20% protein, 34% carbohydrat và 11% các thành phần khác được tính theo bảng thành phần dinh dưỡng thực phẩm Việt Nam của Viện Dinh dưỡng (Viện Dinh dưỡng, 2009). Sau 8 tuần chuột được tiêm dung dịch STZ ở nồng độ 120 mg/kg trọng lượng chuột để gây bệnh ĐTĐ type 2 (Sawant *et al.*, 2006). Sau khi chuột ĐTĐ type 2 ổn định 10 ngày, khả năng hạ đường huyết của các cao chiết thực vật được xác định bằng cách cho chuột ĐTĐ type 2 uống thuốc điều trị ĐTĐ Pioglitazone với liều 20 mg/kg trọng lượng chuột hoặc các cao chiết với liều 500 mg/kg trọng lượng chuột (sau khi đã thử nghiệm sơ bộ ở các liều cao chiết khác nhau, ở liều 500 mg/kg cho tác dụng hạ đường huyết khá cao) hoặc không được uống thuốc hay các cao chiết thực vật. Chuột ĐTĐ type 2 uống cao chiết trong 21 ngày điều trị. Đường huyết được xác định vào 7-8 giờ sáng trước khi chuột được cho ăn. Sau khi đo các chỉ tiêu chuột được cho ăn và uống nước bình thường.

Nghiên cứu khả năng ức chế enzyme α -glucosidase

Khả năng ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase bởi các cao chiết thực vật được thực hiện theo phương pháp của Salehi *et al.* (2013), có hiệu chỉnh như sau: Hỗn hợp phản ứng bao gồm 200 μ L α -glucosidase (0,4 U/mL), 1.100 μ L đệm phosphate 0,1 M (pH 6,9) và 100 μ L mẫu hoặc acarbose ở các nồng độ khác nhau. Dung dịch hỗn hợp được ủ ở 37°C trong 15 phút. Sau khi ủ sơ bộ, phản ứng enzym được bắt đầu bằng cách thêm 200 μ L dung dịch 5-M-p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside vào đệm phosphate 0,1 M (pH 6,9). Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ủ trong 15 phút nữa ở 37°C. Phản ứng được kết thúc bằng cách thêm 800 μ L dung dịch natri cacbonat 0,2 M. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đo mật độ quang ở bước sóng 405 nm. Mỗi thử nghiệm được thực hiện theo ba lần. Nồng độ của dịch chiết cần thiết để ức chế 50% hoạt tính α -glucosidase trong điều kiện khảo nghiệm được xác định là giá trị IC₅₀.

Nghiên cứu khả năng ức chế enzyme α -amylase

Phản ứng ức chế sự thủy phân tinh bột của enzyme α -amylase bởi các cao chiết được thực hiện theo phương pháp của Manaharan và cs (Manaharan

et al., 2013) có hiệu chỉnh như sau: 500 μ L hỗn hợp phản ứng trong 0,02 M dung dịch đệm natri phosphate pH 6,9, bao gồm 1 mg/mL tinh bột, cao chiết ở các nồng độ khác nhau và enzyme α -amylase nồng độ 2 U/mL. Hỗn hợp phản ứng được ủ 10 phút ở 37°C. Cuối cùng thêm 500 μ L thuốc thử DNSA và dung dịch được ủ trong bể nước 95°C trong 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được đo bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 540 nm. Tất cả các phép đo đều được thực hiện trong ba lần. Mẫu đối chứng dương được thực hiện bằng thuốc Acarbose.

Kỹ thuật xét nghiệm mô bệnh học

Bệnh phẩm tươi có bề dày 3 mm bảo quản trong formol 10% sau đó được cố định bằng dung dịch Bouin, chuyển đúc trong parafin, tiếp tục được cắt thành những tiêu bản có bề dày 3 μ m và nhuộm theo phương pháp hematoxylin-eosin (HE) thường quy. Nhân tế bào bắt màu xanh đen, bào tương bắt màu hồng. Các tiêu bản được đọc dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 40 lần để đánh giá tổn thương với phương pháp mù đơn (Lima *et al.*, 2012).

Thống kê phân tích số liệu

Kết quả được biểu diễn dưới dạng XTB \pm SE (XTB: giá trị trung bình của từng lô, SE: sai số chuẩn). Kết quả được xử lý thống kê theo phương pháp ANOVA bằng phần mềm SPSS 22.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Khả năng hạ đường huyết của các cao chiết trên mô hình chuột ĐTĐ type 2

Trước và sau điều trị tiến hành lấy máu tĩnh mạch đuôi để định lượng đường huyết, kết quả thể hiện ở bảng 1.

Từ bảng số liệu có thể thấy, chuột bị bệnh ĐTĐ type 2 ở lô đối chứng chỉ cho uống nước cất thì sau 21 ngày nồng độ đường huyết không giảm, thậm chí còn tăng khi so với thời điểm trước khi điều trị. Nhóm chuột ĐTĐ type 2 được điều trị bằng thuốc Pioglitazone (20 mg/kg), nồng độ đường huyết giảm có ý nghĩa thống kê khi so với nhóm đối chứng ở cùng thời điểm (trị số p < 0,01), kết quả cho thấy sau 21 ngày uống thuốc nồng độ đường huyết giảm 62,42%. Trong khi đó, trong số 5 mẫu cao chiết thực vật khác nhau được thử nghiệm khả năng hạ đường huyết chỉ có mẫu cao lá đu đủ, hạt đu đủ và cao quả sung thể hiện hoạt tính hạ đường huyết, trong đó cao lá đu đủ và hạt đu đủ thể hiện hoạt tính rất tốt khi so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm (trị số p < 0,01): chuột uống cao lá đu đủ đường huyết tại thời điểm ngày

thứ 21 giảm 52,38%, chuột uống cao hạt đu đủ giảm 53,16%. Cụ thể nồng độ đường huyết của nhóm chuột ĐTĐ type 2 cho uống cao chiết lá đu đủ tại thời điểm ngày thứ 21 là $10,40 \pm 1,06$ mmol/L, nhóm uống cao chiết hạt đu đủ là $9,84 \pm 1,68$ mmol/L. Đường huyết đã giảm tuy chưa thể về mức bình thường (khoảng 5-6 mmol/L). Chuột ĐTĐ uống cao chiết lá, hạt đu đủ và quả sung ở liều 500 mg/kg vẫn sinh hoạt bình thường, lông mượt và không ghi nhận trường hợp nào tử vong trong quá trình thử nghiệm. Đối với nhóm cho uống cao chiết nở ngày đất thì chuột bị chết dần ở thời điểm 8 ngày, do chuột chán ăn và đi kèm các biến chứng nặng nề khác. Nhóm cho uống cao ké đầu ngựa có 01 chuột trong nhóm thử bị chết tại thời điểm 8 ngày trở đi. Điều này chứng tỏ cao chiết nở ngày đất và cao ké đầu ngựa có tiềm năng gây độc cho chuột ở liều uống 500 mg/kg, còn cao lá đu đủ, hạt đu đủ và cao quả sung được chứng tỏ an toàn ở liều uống này. Điều này cũng được khẳng định thêm trong các nghiên cứu đã được thực hiện trên chuột; như lá đu đủ được thử nghiệm an toàn tới liều uống tới 2000 mg/kg (Ismail *et al.*, 2014); cao hạt đu đủ đã được

thử nghiệm an toàn với liều uống 500 mg/kg (Naggayi *et al.*, 2015); cao quả sung đã được thử nghiệm an toàn với liều uống 500 mg/kg (Heroroo *et al.*, 2013). Từ quan sát về mức độ an toàn và khả năng hạ đường huyết của các loại cao chiết ở bảng 1, trong các thí nghiệm tiếp theo, chúng tôi chỉ tập trung vào mẫu cao lá đu đủ, hạt đu đủ và cao quả sung.

Nhiều cao chiết thực vật đã gây được chú ý về khả năng hạ đường huyết trên chuột bệnh ĐTĐ. Trong đó khả năng hạ đường huyết của cao mướp đắng (*Momordica charantia*), cỏ ca ri (*Trigonella foenum graecum*) (Tripathi, Chandra, 2009) có khả năng hạ đường huyết sau khi uống lần lượt là 51,2% và 55,2%, gần tương ứng với cao ethanol của lá và hạt cây đu đủ trong nghiên cứu này. Tuy nhiên khả năng hạ đường huyết của cao chiết các bộ phận cây đu đủ thấp hơn so với cao lá ôi (*Psidium guajava*) (giảm 63%) (Mazumdar *et al.*, 2015) và cao dây thìa canh (*Gymnema sylvestre*) (giảm 69%) (Dholi *et al.*, 2015) ở liều 500 mg/kg.

Bảng 1. Nồng độ đường huyết của chuột ĐTĐ type 2 sau khi uống các cao chiết.

Mẫu thử	Thời gian	0 giờ (mmol/L)	21 ngày (mmol/L)	Tỷ lệ tăng (+), giảm (-) %
Nước cất (10 mL/kg)		21,27 ± 1,11	28,40 ± 0,95	+ 33,51
Pioglitic (20 mg/kg)		20,94 ± 1,52	7,87 ± 0,84**	- 62,42
Cao lá đu đủ (500 mg/kg)		21,84 ± 1,78	10,40 ± 1,06**	- 52,38
Cao hạt đu đủ (500 mg/kg)		21,01 ± 1,82	9,84 ± 1,68**	- 53,16
Cao ké đầu ngựa (500 mg/kg)		21,40 ± 1,27	27,23 ± 1,22	+ 27,24
Cao nở ngày đất (500 mg/kg)		20,94 ± 1,76	0,00	0,00
Cao quả sung (500 mg/kg)		21,96 ± 2,08	17,09 ± 2,33*	- 22,19

Ghi chú: số chuột trong mỗi nghiệm thức 7; *p < 0,05, **p < 0,01 so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm khảo sát.

Khả năng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase của các cao chiết

Sự ức chế enzyme α -glucosidase

Khả năng ức chế enzyme α -glucosidase của các cao chiết lá đu đủ, hạt đu đủ và quả sung được trình bày ở bảng 2.

Cao chiết hạt đu đủ và lá đu đủ cho thấy tác dụng ức chế mạnh trên enzyme α -glucosidase so với cao

chiết quả sung. Cao chiết hạt đu đủ cho thấy khả năng ức chế $74,55 \pm 0,32\%$ hoạt tính của enzyme ở nồng độ 100 μ g/mL. Tiếp đến là cao chiết lá đu đủ, ở nồng độ 100 μ g/mL có khả năng ức chế hoạt động của enzyme là $71,95 \pm 0,23\%$. Cao chiết quả sung ức chế enzyme α -glucosidase thấp nhất là $51,61 \pm 0,16\%$ ở nồng độ 100 μ g/mL. Như vậy, khả năng ức chế sự hoạt động của enzyme α -glucosidase theo thứ tự lần lượt là cao hạt đu đủ, cao lá đu đủ và cao quả sung.

Sự ức chế enzyme α -amylase

Sự ức chế enzyme α -amylase của các cao chiết được trình bày trong bảng 3.

Cao lá đu đủ thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α -amylase là cao nhất $70,10 \pm 0,10\%$ ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$. Cao quả sung có hoạt tính ức chế enzyme α -amylase thấp nhất, ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ ức chế $57,45 \pm 0,20\%$.

Khả năng ức chế của các cao chiết lá đu đủ, hạt đu đủ, quả sung với enzyme α -amylase và α -glucosidase được xác định bằng nồng độ ức chế 50% (IC_{50}) được trình bày trong bảng 4. Kết quả về giá trị IC_{50} đối với enzyme α -amylase cho thấy cao lá đu đủ có giá trị IC_{50} nhỏ nhất ($\text{IC}_{50} = 34,28 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$), tiếp đến là cao hạt đu đủ với giá trị $\text{IC}_{50} = 58,63 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$. Cao quả sung có giá trị $\text{IC}_{50} = 79,24 \pm 0,83 \mu\text{g/mL}$, cho thấy khả năng ức chế hoạt động của enzyme α -amylase của cao quả sung là yếu nhất. Tương tự kết quả về khả năng ức chế enzyme α -glucosidase theo thứ tự lần lượt là cao hạt đu đủ

($\text{IC}_{50} = 24,36 \pm 0,29 \mu\text{g/mL}$), cao lá đu đủ ($\text{IC}_{50} = 27,60 \pm 0,43 \mu\text{g/mL}$) và cao quả sung ($\text{IC}_{50} = 106,44 \pm 1,54 \mu\text{g/mL}$).

Như vậy, các kết quả trình bày trong thí nghiệm cho thấy cao chiết lá đu đủ và hạt đu đủ có khả năng ức chế khá tốt đối với enzyme glucosidase và enzyme α -amylase. Trong khi đó, hoạt động ức chế của cao chiết quả sung đối với enzyme glucosidase và enzyme α -amylase yếu hơn so với hai cao chiết trên. Nhiều cao chiết thực vật cũng cho thấy có khả năng điều trị tiểu đường theo cơ chế ức chế enzyme α -amylase và enzyme α -glucosidase (Yin *et al.*, 2014).

Từ tất cả các kết quả trình bày trên cho thấy cao chiết từ lá đu đủ, hạt đu đủ và quả sung có khả năng điều trị ĐTĐ theo cơ chế ức chế hoạt động của enzyme thủy phân tinh bột là α -amylase và α -glucosidase. Kết quả về khả năng điều trị tiểu đường của các cao chiết lá đu đủ, hạt đu đủ, quả sung góp phần vào hướng nghiên cứu tận dụng những nguồn nguyên liệu sẵn có để tạo ra các sản phẩm thuốc có nguồn gốc từ thảo dược trong điều trị bệnh.

Bảng 2. Sự ức chế enzyme α -glucosidase của các cao chiết ở các nồng độ khảo sát.

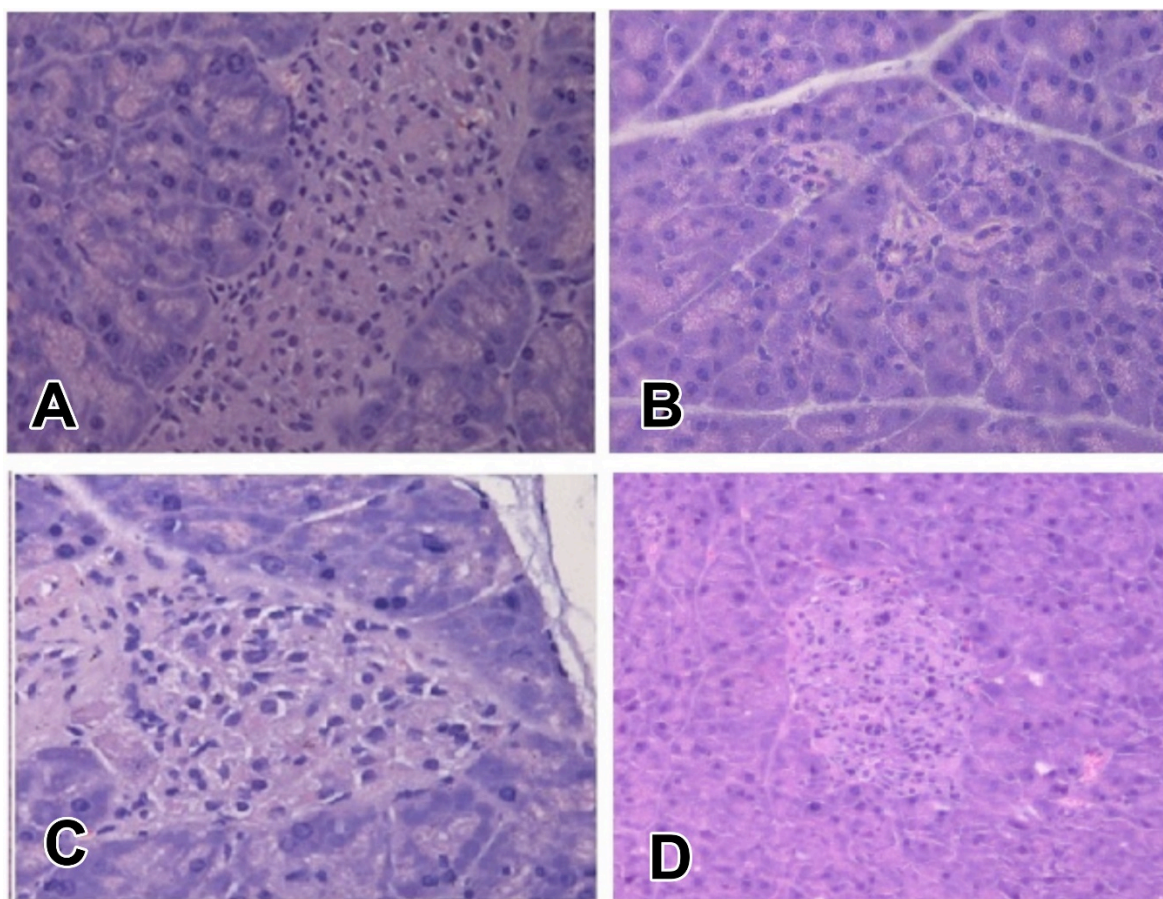
Phần trăm ức chế enzyme α -glucosidase (%)					
Mẫu cao	Nồng độ				
	5 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$
Cao hạt đu đủ	20,31 \pm 0,33	33,06 \pm 0,32	50,09 \pm 0,32	66,11 \pm 0,03	74,55 \pm 0,32
Cao lá đu đủ	19,62 \pm 0,27	31,99 \pm 0,16	47,58 \pm 0,41	62,19 \pm 0,32	71,95 \pm 0,23
Cao quả sung	17,38 \pm 0,18	25,36 \pm 0,23	34,32 \pm 0,18	38,80 \pm 0,24	51,61 \pm 0,16

Bảng 3. Sự ức chế enzyme α -amylase của các cao chiết ở các nồng độ khảo sát.

Phần trăm ức chế enzyme α -amylase (%)					
Mẫu cao	Nồng độ				
	5 $\mu\text{g/mL}$	10 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$
Cao hạt đu đủ	10,69 \pm 0,10	12,65 \pm 0,17	26,59 \pm 0,28	47,88 \pm 0,23	77,84 \pm 0,10
Cao lá đu đủ	11,65 \pm 0,09	20,19 \pm 0,10	45,98 \pm 0,10	60,10 \pm 0,10	70,10 \pm 0,10
Cao quả sung	5,49 \pm 0,1	11,86 \pm 0,10	26,37 \pm 0,09	40,68 \pm 0,19	57,45 \pm 0,20

Bảng 4. Giá trị IC₅₀ của các cao chiết đối với enzyme α -amylase và α -glucosidase.

Chất ức chế ($\mu\text{g/mL}$)	Nồng độ ức chế 50% (IC ₅₀)	
	α -amylase	α -glucosidase
Acarbose	196 \pm 0,86	187,41 \pm 0,80
Cao chiết hạt đu đủ	58,63 \pm 0,06	24,36 \pm 0,29
Cao chiết lá đu đủ	34,28 \pm 0,06	27,60 \pm 0,43
Cao chiết quả sung	79,24 \pm 0,83	106,44 \pm 1,54



Hình 1. Hình ảnh quan sát tiêu bản đúc cắt tụy chuột (HE x 40 lần). (A) Tụy chuột bình thường; (B) Tụy chuột ĐTĐ cho uống nước cất; (C) Tụy chuột ĐTĐ type 2 cho uống cao ethanol hạt đu đủ; (D) Tụy chuột ĐTĐ cho uống thuốc Pioglitazone.

Ảnh hưởng của cao chiết hạt đu đủ lên kết quả mô bệnh học của tụy

Trong nghiên cứu này, dịch chiết hạt đu đủ cho

thấy tiềm năng cao trong điều trị ĐTĐ. Vì vậy, chúng tôi tiếp tục kiểm tra ảnh hưởng của cao chiết hạt đu đủ đến tình trạng cấu trúc mô tụy của chuột bằng cách tiến hành đánh giá đại thể làm tiêu bản mô

bệnh học của chuột ĐTĐ type 2, kết quả được trình bày ở hình 1.

Nhìn vào tiêu bản tụy hình 1 có thể thấy, ở chuột bình thường, mật độ và hình thái tiểu đảo tụy bình thường. Các tế bào tiểu đảo tụy phân bố đồng đều không thấy dấu hiệu tổn thương. Ở lô chuột ĐTĐ type 2 không uống cao chiết hạt đu đủ, tụy bị tổn thương, mật độ tiểu đảo tụy giảm. Tiểu đảo tụy biến dạng và giảm về kích thước. Ở lô chuột ĐTĐ type 2 uống cao chiết điều trị, mật độ và kích thước tiểu đảo tụy giảm hơn so với bình thường nhưng tiểu đảo tụy không bị biến dạng teo lại. Ở lô chuột uống thuốc Pioglitazone, mật độ tiểu đảo tụy ít hơn so với bình thường. Đảo tụy giảm về kích thước, không có dấu hiệu tổn thương. Như vậy có thể thấy rằng dịch chiết hạt đu đủ có thể giúp chuột ĐTĐ type 2 cải thiện những tổn thương ở tiểu đảo tụy do STZ gây ra. Bên cạnh đó, dịch chiết lá đu đủ cũng đã được nghiên cứu và chứng minh rằng có tác dụng tái tạo và phục hồi lại kích thước đảo tụy ở chuột ĐTĐ (Juárez-Rojop *et al.*, 2012).

KẾT LUẬN

Trên cơ sở nghiên cứu khả năng hạ đường huyết của các cao chiết thực vật lên chuột ĐTĐ type 2, với kết quả đạt được chúng tôi đưa ra một số kết luận như sau:

Cao chiết hạt đu đủ, lá đu đủ và quả sung có tác dụng hạ đường huyết ở chuột ĐTĐ type 2 sau 21 ngày uống với liều 500 mg/kg. Trong đó cao chiết hạt và lá đu đủ có hoạt tính hạ đường huyết khá cao lần lượt là 52,38% và 53,16%.

Cao chiết hạt đu đủ có khả năng ức chế α -glucosidase cao nhất với IC_{50} là $24,36 \pm 0,29$ μ g/mL, trong khi đó cao chiết lá đu đủ có khả năng ức chế enzyme α -amylase cao nhất với IC_{50} là $34,28 \pm 0,06$ μ g/mL.

Dịch chiết hạt đu đủ giúp chuột ĐTĐ type 2 cải thiện những tổn thương ở tiểu đảo tụy do STZ gây ra.

Như vậy, các kết quả thu được từ nghiên cứu này sẽ góp phần khẳng định tác dụng chống ĐTĐ của một số loại thảo dược ở Việt Nam, đặc biệt là cây đu đủ và quả sung. Việc sử dụng cao chiết của các loại thảo dược này để thử hoạt tính ức chế α -glucosidase và α -amylase cho phép tìm hiểu thêm về cơ chế hạ đường huyết của các thảo dược này, từ đó góp phần tạo ra các thuốc đặc hiệu hơn để chống bệnh ĐTĐ từ nguồn dược liệu Việt Nam.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ từ Bộ môn Mô phân tử thuộc trường Đại học Y Dược Huế và Bộ môn Công nghệ Sinh học thuộc trường Đại học Bách khoa Đà Nẵng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Adeoti MF, Gogahy K, Bidie PA, Camara-Cesse M, Monteomo FG, Kolia IK, Djaman JA, Dosso M (2017) Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Ethanol Extract of *Gomphrena Celosioides* (Amaranthaceae) in Wistar Rats. *J Pharm Chem Biol Sci* 4(4): 503-511.

American Diabetes Association (2018) Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 41(Supplement 1): S13-S27.

Amin Md M, Bhakta S, Abdullah-Al-Mahmud Md, Awaland Md A, Das SK (2016) Herbal extract (*Ficus racemosa*) restores the damages of diabetic pancreas both at gross and cellular levels: an in vivo study in mice. *J Biosci Agric Res* 8(01): 695-702.

Bencheikh D, Khennouf S, Bouaziz A, Baghiani A, Dahamna S, Amira S, Arrar L (2016) Antioxidant and Antidiabetic Activities of the Methanolic Extract of *Olea europaea* L. Leaves in Streptozotocin Induced Diabetes in Rats. *Int J Pharmacol phytochem Res* 8 (8): 1347-1357.

Bhogaonkar PY, Chavhan VN, Kanerkar UR (2014) Nutritional potential of *Ficus racemosa* L. Fruits. *Bio Disc* 5(2): 150-153.

Danese C, Esposito D, D'Alfonso V, Cirene M, Ambrosino M, Colotto M (2006) Plasma glucose level decreases as collateral effect of fermented papaya preparation use. *Clin Ter* 157(3): 195-198.

Dholi SK, Raparla R, Kannappan (2015) Effect of *Gymnema sylvestre* on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of 0.5 mg & 0.6 mg Glibenclamide in diabetic rats. *Int J Pharmacol Res* 5(8): 172-178.

Heroor S, Beknal AK, Mahurkar N (2013) Immunomodulatory activity of methanolic extracts of fruits and bark of *Ficus glomerata* Roxb. in mice and on human neutrophils. *Indian J Pharmacol* 45(2):130-135.

Ismail Z, Halim SZ, Abdullah NR, Afzan A, Rashid BAA, Jantan I (2014) Safety evaluation of oral toxicity of *Carica papaya* Linn. leaves: asubchronic toxicity study in Sprague Dawley Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2014, Article ID 741470, 10 pages.

Iyappan G, Daniel D, Poovanalingam T (2014) Ascertain the phytochemicals in the crude ethanolic extracts of *Carica papaya* seeds by GC-MS. *World J Pharm Pharm Sci* 3(9): 942-949.

- Juárez-Rojop IE, Díaz-Zagoya JC, Ble-Castillo JorgeL, Miranda-Osorio PH, Castell-Rodríguez AE, Tovilla-Zárate CA, Rodríguez-Hernández A, Aguilar-Mariscal H, Ramón-Frias T, Bermúdez-Ocaña DY (2012) Hypoglycemic effect of *Carica papaya* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complement Altern Med* 12(1): 1-11.
- Lima CR, Vasconcelos CFB, Costa-Silva JH, Maranhão CA, Costa J, Batistae TM, Carneiro EM, Soares LAL, Ferreira F, Wanderley AG (2012) Anti-diabetic activity of extract from *Persea americana* Mill. leaf via the activation of protein kinase B (PKB/Akt) in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 141: 517-525.
- Manaharan T, Appleton D, Cheng HM, Palanisamy UD (2012) Flavonoids isolated from *Syzygium aqueum* leaf extract as potential antihyperglycaemic agents. *Food Chemistry* 132: 1802-1807.
- Matheka DM, Alkizim FO (2012) Complementary and alternative medicine for type 2 diabetes mellitus: Role of medicinal herbs. *J Diabetes Endocrinol* 3(4): 44-56.
- Mazumbara S, Aktera R, Talukderb D (2015) Antidiabetic and antidiarrhoeal effects on ethanolic extract of *Psidium guajava* (L.) Bat. leaves in Wistar rats. *Asian Pac J Trop Biomed* 5(1): 10-14.
- Naggayi M, Mukiibi N, Iliya E (2015) The protective effects of aqueous extract of *Carica papaya* seeds in paracetamol induced nephrotoxicity in male wistar rats. *African Health Sciences* 15(2): 598-605.
- Salehi P, Asghar B, Esmaili MA, Dehghan H, Ghazi I (2013) α -Glucosidase and α -amylase inhibitory effect and antioxidant activity of ten plant extracts traditionally used in Iran for diabetes. *J Med Plants Res* 7(6): 257-266.
- Sawant SP, Dnyanmote AV, Mitra MS, Chilakapati J, Warbritton A, Latendresse JR, Mehendale HM (2006) Protective effect of type 2 diabetes on acetaminophen-induced hepatotoxicity in male swiss Webster mice. *J Pharmacol Exp Ther* 316(2): 507-519.
- Scherer R, Duarte MCT, Catharino RR, Nachtigall FM, Eberlin MN, Teixeira Filho J, Godoy HT (2009) *Xanthium strumarium* L. antimicrobial activity and carboxyatractyloside analysis through electrospray ionization mass spectrometry. *Rev Bra Pl Med* 11(2): 159-163.
- Sudhakar N, Vidhya TR (2014) Potential medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Int J Pharm Pharm Sci* 6(2).
- Sultana C, Khatune NA, Azad AK, Rahmanand BM, Wahed MII (2015) Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of ethanolic extracts of *Ficus racemosa* (L.) in alloxan induced diabetes mice. *Int J Pharm* 5(3): 924-929.
- Tạ Văn Bình (2007) *Bệnh đái tháo đường - Tăng glucose máu*. NXB Y học, Hà Nội.
- Tripathi UN, Chandra D (2009) The plant extracts of *Momordica charantia* and *Trigonella foenum graecum* have antioxidant and anti - hyperglycemic properties for cardiac tissue during diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev* 2(5): 290-296.
- Yin Z, Zhang W, Feng F, Zhang Y, Kang W (2014) α -glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness* 3(3-4): 136-174.
- Viện Dinh dưỡng (2009) *Bảng thành phần dinh dưỡng thực phẩm Việt Nam*. Bộ Y tế.

SCREENING OF ANTIHYPERGLYCAEMIC ACTIVITY OF MEDICINAL PLANT EXTRACTS INSTREPTOZOCIN-INDUCED TYPE 2 DIABETIC MICE

Nguyen Thi Xuan Thu¹, Dang Duc Long², Thanh Thi Thu Thuy³

¹University of Science and Technology, The University of Danang

²VN-UK Institute for Research & Executive Education, the University of Danang

³Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

Traditional plant used for treatment of diabetes has shown a surging interest in the last few decades. The purpose of this study is to evaluate the effect of 70% (v/v) ethanolic extracts of several untested herbal sources, such as papaya leaves, papaya seeds, fig fruits, fruits of *Xanthium strumarium*, and leaves of *Gomphrena celosoides* on blood glucose levels of streptozocin (STZ)-induced type 2 diabetic mice. The results proved that diabetic mice treated with the extracts of papaya seeds, papaya leaves and fig fruits showed significant reduction of the blood glucose levels at a dose of 500 mg/kg body weight when compared to control. Antihyperglycemic activity of the papaya leaves (52.38%) and papaya seeds extracts (53.16%) were significantly higher than the extract of fig fruits (27.90%). Furthermore, the α -amylase inhibition assay showed that the extracts of papaya seeds ($58,63 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$), papaya leaves ($34,28 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$) and fig fruits

($79,24 \pm 0,83$ $\mu\text{g/mL}$) exhibited 50% α -amylase inhibition activity at the mentioned concentrations. The α -glucosidase IC_{50} of the extracts of the papaya seeds, papaya leaves and fig fruits were found to be $24,36 \pm 0,29$, $27,60 \pm 0,43$ and $106,44 \pm 1,54$ respectively. The results of the study indicate the potential of these extracts to manage hyperglycemia. The histopathological study of the papaya seeds extract has shown to ameliorate the streptozocin-induced histological damage of islets of Langerhans in the pancreas.

Keywords: Diabetes, Antihyperglycemic activity, α -Glucosidase inhibitor, α -Amylase inhibitor, Histopathological of Pancreas.