

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH VÀ TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE HUYẾT CỦA CAO CHIẾT LÁ CÂY LỘC VỪNG (*Barringtonia acutangula*) TRÊN CHUỘT ĐÁI THÁO ĐƯỜNG BẰNG STREPTOZOTOCIN

NGUYỄN THỊ ÁI LAN ⁽¹⁾, NGUYỄN PHẠM TUẤN ⁽²⁾

1. GIỚI THIỆU

Bệnh đái tháo đường (BĐTĐ) là một nhóm bệnh rối loạn chuyển hóa, đặc trưng bởi glucose huyết tăng cao do sự thiếu hụt insulin, kháng insulin ở tế bào đích hoặc cả hai. Nồng độ glucose huyết tăng cao là nguyên nhân dẫn đến biến chứng của BDTĐ, đây chính là nguyên nhân làm tăng tỷ lệ bệnh tật và tử vong cao của BDTĐ. Theo thống kê của tổ chức y tế thế giới WHO (World Health Organization), tỷ lệ người BDTĐ tăng từ 108 triệu (1980) lên 422 triệu trường hợp (2014). Theo WHO dự đoán, năm 2035, BDTĐ sẽ là nguyên nhân gây tử vong cao thứ bảy trên thế giới và ước đạt 592 triệu người [1]. Xu hướng nghiên cứu hiện nay trên Thế giới và Việt Nam là tìm hiểu các cây dược liệu có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh, đặc biệt là các bệnh liên quan đến đái tháo đường. Do khi sử dụng các thuốc điều trị BDTĐ thường có tác dụng phụ như buồn nôn, ói mửa, vàng da, ứ mật, mắt bạch cầu hạt, thiếu máu... [2]. Trong khi đó, các cây dược liệu đã được nghiên cứu và chứng minh được lý là có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh ĐTĐ như lá dứa, bình bát dây, lá dâu tằm, cây quế, lá non và lá già của cây mật gấu, trái bơ.... Đồng thời, các cây dược liệu trong tự nhiên dễ tìm, ít tác dụng phụ và hiệu quả gần tương đương với thuốc hóa học. Cây lộc vừng (*Barringtonia acutangula*) vừa là cây cảnh phục vụ nhu cầu cảnh quan và được sử dụng để hỗ trợ và điều trị một số bệnh như đau khớp, bệnh về mắt, rối loạn dạ dày, tẩy giun sán, tiêu chảy, ho, đái tháo đường... [3]. Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá độc tính và hiệu quả hạ glucose huyết của cao chiết ethanol lá cây lộc vừng trên mô hình chuột tăng glucose huyết bằng streptozotocin. Đồng thời, nghiên cứu cũng phân tích các hoạt chất có hoạt tính sinh học trong cao chiết ethanol lá cây Lộc vừng *in vitro*.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Lá cây lộc vừng được thu thập từ cây lộc vừng 2-3 năm tuổi của nhà vườn ở xã Hòa Bình Thạnh, huyện Châu Thành, tỉnh An Giang và vận chuyển về phòng thí nghiệm để tiến hành.

Hóa chất và thiết bị: Máy đông khô chân không (Christ, Mỹ), streptozotocin, glibenclamid (Merck, Mỹ)... hóa chất và thiết bị cần thiết khác.

Cây lộc vừng được phân loại hình thái dựa theo Đỗ Huy Bích [4].

Chuột nhắt trắng đực và cái, chủng *Swiss albino*, 6-7 tuần tuổi, khoảng 25-30 g, chuột được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế, Nha Trang. Sử dụng chuột khỏe mạnh, không có biểu hiện bất thường, được nuôi ổn định trong lồng, cung cấp thức ăn và nước uống đầy đủ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tạo cao chiết lá cây lộc vừng

Lá cây lộc vừng sau khi thu thập được tiến hành rửa sạch và loại bỏ những lá bị sâu bệnh, lá sạch bệnh được cắt nhỏ và sấy khô ở 50°C trong 96 giờ, nghiền thành bột mịn. Bột lá cây lộc vừng (300 g) được chiết xuất bằng phương pháp ngâm dầm với ethanol 70%, với tỷ lệ nguyên liệu và dung môi là 1:10 (w/v), ở nhiệt độ phòng, trong điều kiện tối để tránh quá trình bị oxy hóa trong 72 giờ. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm 5000 vòng/phút trong 20 phút, thu phần dịch và bỏ phần cặn. Phần dịch được lọc qua giấy lọc Whatman 0,45 μ m, thu dịch lọc và cô quay chân không để đuổi dung môi, đông khô chân không để thu cao chiết lá cây lộc vừng và bảo quản ở -20°C để thực hiện nghiên cứu.

Độ ẩm của cao chiết đạt 12,59% và hiệu suất đạt 11,03%.

2.2.2. Định tính các hợp chất sinh học có trong cao chiết lá cây lộc vừng

Xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học trong cao chiết lá cây lộc vừng theo Yadav [5] (bảng 1).

Bảng 1. Định tính hợp chất trong cao chiết ethanol của lá cây lộc vừng

Hợp chất	Thực nghiệm	Hiện tượng
Alkaloid (Mayer)	1mL dịch trích + vài giọt TT Mayer	Kết tủa màu nâu
Flavonoid	1mL dịch trích + 2mL Pb(OAc) ₄ 10%	Xuất hiện màu vàng
Saponin (Foam)	3mL dịch trích + 6mL H ₂ O → đun nóng	Xuất hiện bọt
Steroid (Salkowski)	1mL dịch trích + 2mL CHCl ₃ + 2mL H ₂ SO ₄ đậm đặc	Xuất hiện vòng đỏ nâu giữa 2 lớp
Tannin và phenol (Braymer)	0,5mL dịch trích + 10mL H ₂ O + 2-3 giọt FeCl ₃ 0,1%	Kết tủa xanh dương đen
Terpenoid	2mL dịch trích + 2mL (CH ₃ CO) ₂ O + 2-3 giọt H ₂ SO ₄ đậm đặc	Xuất hiện màu đỏ đậm

2.2.3. Phương pháp đánh giá độc tính cấp

Nguyên tắc: cho chuột thử nghiệm dùng cùng liều mẫu thử trong điều kiện ổn định như nhau, quan sát các phản ứng xảy ra trong vòng 72 giờ [6].

Tiến hành: Cho 10 chuột (5 đực, 5 cái) nhịn đói ít nhất 12 giờ trước khi cho uống mẫu thử liều duy nhất tối đa có thể qua đường uống, thể tích 40 mL/kg. Theo dõi và ghi nhận cử động tổng quát, biểu hiện về hành vi, trạng thái lông, ăn uống, tiêu tiểu và số lượng chết của chuột trong vòng 72 giờ. Nếu sau 72 giờ, 22 chuột không có dấu hiệu bất thường hoặc chết, tiếp tục theo dõi trong vòng 14 ngày. Có 3 trường hợp có thể xảy ra:

- Trường hợp 1: Sau khi cho chuột uống mẫu thử, số chuột trong lô thử nghiệm vẫn bảo toàn, xác định liều cao nhất có thể bơm qua kim mà không làm chết chuột. Liều này được ký hiệu $D_{\max}$ và liều tương đối an toàn D_s dùng trong thực nghiệm được lý có thể bằng $1/5 D_{\max}$ hoặc lớn hơn $1/5 D_{\max}$.

- Trường hợp 2: Sau khi cho chuột uống mẫu thử, tỉ lệ tử vong là 100% thì đây là liều chết tuyệt đối - LD_{100} . Tính toán và gây lô thử nghiệm để tiếp tục xác định được liều không làm chết con vật nào - LD_0 . Từ đó, suy ra liều LD_{50} được tính theo công thức Karber - Behrens.

- Trường hợp 3: Sau khi cho uống mẫu thử, phân suất tử vong thấp hơn 100%, không xác định được liều gây chết tuyệt đối. Đối với trường hợp này, không thể suy ra liều LD_{50} , nhưng có thể xác định được liều tối đa không gây chết chuột, gọi là liều dưới liều chết - LD_0 . Liều tương đối an toàn D_s dùng cho thực nghiệm được lý có giá trị bằng $1/5$ hoặc $1/10 LD_0$.

2.2.4. Khảo sát tác dụng hạ đường huyết trên chuột nhắt gây đái tháo đường bằng streptozotocin

Chuột nhắt được cho nhịn đói 12 giờ và gây tăng đường huyết bằng cách tiêm tĩnh mạch streptozotocin (pha trong NaCl 0,9%) liều 150 mg/kg. Một tuần sau khi tiêm, tiến hành định lượng glucose máu (chuột nhịn đói ít nhất 12 giờ) [7]. Nghiệm pháp dung nạp glucose là một trong các tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh đái tháo đường tin cậy trên lâm sàng, trong đó theo mô hình của WHO, sử dụng liều uống 75 g glucose và đo đường huyết sau 2 giờ với giá trị chẩn đoán 200 mg/dL (đái tháo đường) và trong khoảng 140-199 mg/dL (rối loạn dung nạp glucose) (Theo: American Diabetes Association: Standards of medical care in diabetes, 2016). Chuột thí nghiệm được phân vào 6 lô, 10 chuột/lô:

Nghiệm thứ 1 (sinh lý): được tiêm tĩnh mạch NaCl 0,9%.

Nghiệm thứ 2 (chứng bệnh): cho chuột uống nước cất, thể tích 0,1 mL/10g.

Nghiệm thứ 3 (đối chứng): cho chuột uống thuốc đối chứng glibenclamid liều 5 mg/kg.

Nghiệm thứ 4: cho chuột uống cao chiết lá cây lộc vừng với liều 125 mg/kg.

Nghiệm thứ 5: cho chuột uống cao chiết lá cây lộc vừng với liều 250 mg/kg.

Nghiệm thứ 6: cho chuột uống cao chiết lá cây lộc vừng với liều 500 mg/kg.

Các liều thử nghiệm tương ứng với $1/40 D_{\max}$ ($D_{\max}$ là liều tối đa có thể cho uống mà không gây chết chuột trong thử nghiệm khảo sát độc tính cấp đường uống).

Cho chuột uống nước hoặc glibenclamid hoặc cao thử 1 lần/ngày vào buổi sáng (8-9 giờ), thể tích cho uống 0,1 mL/10 g chuột trong 28 ngày. Hàm lượng glucose huyết và khối lượng chuột được khảo sát trước và sau khi điều trị. Sau 28 ngày khảo sát, chuột được giải phẫu, máu ở tim chuột được thu nhận để xác định hàm lượng lipid huyết như cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol và LDL-cholesterol tại phòng xét nghiệm, Thành phố Long Xuyên, tỉnh An Giang.

2.3. Phương pháp thống kê

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel 2010 và thống kê bằng phần mềm Statgraphics plus 16.0. Phân tích sự khác biệt giữa các giá trị trung bình theo phép thử LSD hoặc Duncan. Phân tích Anova một nhân tố có ý nghĩa khi $p < 0,05$. Số liệu được trình bày dưới dạng $\pm$ sai số chuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tạo cao chiết lá cây lộc vừng

Độ ẩm và hiệu suất chiết của lá cây lộc vừng lần lượt là 73,11% và 11,02%. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hiệu suất trích của cao chiết lá cây lộc vừng cao hơn hiệu suất của phương pháp soxhlet từ lá lộc vừng trong dung môi acetone (4,48%), petroleum (2,11%) và từ hạt trong dung môi methanol (5,7%), nhưng thấp hơn dung môi ethanol (12,75%), methanol (13,81%) được thực hiện bởi Rashmi [8] và Mohamad [9]. Nguyên nhân là do khác nhau về nơi thu hái, thời gian hái, nhiệt độ sấy và tỷ lệ giữa nguyên liệu và dung môi trong quá trình ly trích làm ảnh hưởng đến hàm lượng chất tan có trong mẫu. Theo Ngô Văn Thu và Trần Hùng [10], chất lượng một cây dược liệu tốt hay xấu chủ yếu là do hàm lượng hoạt chất chứa trong dược liệu nhiều hay ít. Hoạt chất của dược liệu thay đổi bởi nhiều yếu tố: di truyền, điều kiện địa lý, khí hậu, trồng trọt, thu hái, phơi sấy và bảo quản.

3.2. Định tính các hợp chất sinh học có trong cao chiết lá cây lộc vừng

Các hoạt chất sinh học có trong thực vật có vai trò quan trọng trong hoạt động kháng oxy hóa, kháng vi sinh vật gây bệnh, kháng viêm, ngăn ngừa ung thư,... Vì vậy, việc nhận biết sự tồn tại của các hợp chất này góp phần đánh giá khả năng của cao chiết cũng như dược liệu. Kết quả định tính cho thấy, cao chiết cây lộc vừng có sự hiện diện của các hợp chất như flavonoid, terpenoid, tannin, alkaloid, saponin (Bảng 2). Qua kết quả định tính cho thấy, sự hiện diện các hoạt chất sinh học như flavonoid, terpenoid, tannin, alkaloid, saponin có trong cao chiết cây lộc vừng cũng tương tự với thành phần hoạt chất có trong kết quả định tính công bố bởi Rashmi [8], Kathiavel và Sujatha [11].

Bảng 2. Kết quả định tính hoạt chất sinh học của cao chiết lá cây lộc vừng

Định tính	Cao chiết ethanol cây lộc vừng
Saponin	+
Flavonoid	+
Terpenoids	+
Alkaloid	+
Tanin và phenol	+
Steroid	+

Ghi chú: '+' : dương tính và '-' : âm tính.

3.3. Độc tính cấp của cao chiết lá cây lộc vừng

Nghiên cứu độc tính cấp là cần thiết để xác định khoảng liều an toàn trong quản lý lâm sàng dấu hiệu và triệu chứng của thuốc [12]. Theo phân loại độc tính của GHS (Globally Harmonised System for Classification of Chemicals), những chất có giá trị $LD_{50} > 5000$ mg/kg khối lượng cơ thể, được coi là chất gần như không độc. Tùy theo loại cao chiết từ thực vật khác nhau mà chuột có thể dung nạp được liều lượng tối đa có thể lên đến 60-80 g/kg thể trọng đối với cao chiết hoa thốt nốt, 50 g/kg thể trọng đối với cao chiết vỏ lựu. Ảnh hưởng của cao chiết lá cây lộc vừng trên chuột bình thường trên các cơ quan của cơ thể thông qua các dấu hiệu và triệu chứng lâm sàng. Cao lá cây lộc vừng không có thể hiện độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng, toàn bộ chuột vẫn ăn uống và sinh hoạt bình thường trong 72 giờ quan sát. Chuột được tiếp tục theo dõi sau 14 ngày uống và không ghi nhận các triệu chứng bất thường (bảng 3). Từ liều tối đa có thể cho uống cao lá cây lộc vừng trên chuột nhắt trắng là 20 g cao/kg thể trọng chuột có phân suất tử vong là 0% và không thể xác định được LD_{50} , do đó xác định được liều $D_{max} = 20$ g cao/kg thể trọng chuột. Kennedy [13] cho rằng, các cao chiết có giá trị LD_{50} cao hơn 5 g/kg đường uống có thể được xem là không độc hại, nên cao chiết lá cây lộc vừng không độc hại. Thử nghiệm giới hạn chủ yếu được sử dụng trong trường hợp điều tra viên có thông tin chỉ ra rằng vật liệu thử nghiệm có thể không độc hại hoặc có độc tính thấp [14]. Kết quả nghiên cứu tương tự nghiên cứu của Marslin [15], cao chiết nước và cùi của lá cây lộc vừng hoàn toàn an toàn sau 14 ngày thử nghiệm với liều uống là 5 g/kg thể trọng chuột.

Bảng 3. Kết quả các hành vi của chuột trong 14 ngày khảo sát sau khi uống cao lá cây lộc vừng

Hệ thống cơ quan	Quan sát và thử nghiệm	Dấu hiệu chung
Hệ thần kinh trung ương và hệ thần kinh vận động	Hành vi, vận động	Chuột vận động và sinh hoạt ăn uống bình thường trong lồng nuôi. Không ghi nhận các trạng thái bị kích động hay mất phản xạ thăng bằng, ngủ, hôn mê
Hệ thần kinh thực vật	Phản ứng não và tủy sống	Không biểu hiện bất thường
	Trương lực cơ	Bình thường
	Mắt-mũi	Bình thường
Hệ hô hấp	Đặc tính và tốc độ	Nhịp thở bình thường, không ghi nhận triệu chứng khó thở hay co giật khí quản

Hệ thống cơ quan	Quan sát và thử nghiệm	Dấu hiệu chung
Hệ tim mạch	Dấu hiệu của tim mạch	Không ghi nhận triệu chứng bất thường ở nhịp tim
Dạ dày, ruột	Các triệu chứng	Không ghi nhận triệu chứng tiêu chảy, táo bón.
	Hình dáng bụng	Không ghi nhận triệu chứng đau xoắn bụng
	Độ chắc và màu sắc của phân	Phân chuột bình thường.
Cơ quan sinh dục	Dương vật	Hồng hào và trạng thái căng phồng
Da và lông	Màu, tình trạng	Lông trắng mượt. Không ghi nhận triệu chứng ửng đỏ trên da hay xù lông
Tình trạng chung	Sự tăng trọng	Trong ngưỡng sinh lý bình thường

3.4. Hiệu quả hạ đường huyết trên chuột nhắt gây đái tháo đường bằng streptozotocin của cao chiết lá cây lộc vừng

Nhiều nghiên cứu về bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) trên mô hình động vật cho thấy sụt cân và tăng hàm lượng glucose huyết là dấu hiệu điển hình của bệnh ĐTĐ [16]. Sụt cân nhanh là một trong những triệu chứng dễ nhận biết nhất của bệnh nhân mắc bệnh ĐTĐ. Khối lượng chuột và tỷ lệ tăng, giảm khối lượng của chuột bệnh ĐTĐ trước điều trị và sau khi điều trị bằng glibenclamid và cao chiết lá cây lộc vừng (125, 250 và 500 mg/kg) được thể hiện trong bảng 4. Chuột mắc bệnh ĐTĐ không được điều trị có trọng lượng giảm so với nhóm chuột được điều trị bằng glibenclamid và cao chiết lá cây lộc vừng (125, 250 và 500 mg/kg) và có sự khác biệt ý nghĩa $p < 0,01$. Cụ thể, chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng glibenclamid có khối lượng đạt $32,46 \pm 5,94$ g sau 28 ngày điều trị, tăng 17,35% so với lúc bị ĐTĐ vào ngày thứ 7. Chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng cao chiết lá cây lộc vừng, khối lượng tăng 14,23% (liều 125 mg/kg); tăng 15,19% (liều 250 mg/kg) và tăng 16,31% (liều 500 mg/kg). Trong khi đó, chuột ĐTĐ không điều trị, khối lượng giảm -10,22 g (-37,04%).

Hàm lượng glucose huyết của các nghiệm thức được ghi nhận ở từng thời điểm khác nhau của thí nghiệm và được trình bày trong bảng 5. Chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng glibenclamid và cao chiết lá cây lộc vừng (125, 250 và 500 mg/kg) làm giảm hàm lượng glucose huyết so với nhóm chuột bệnh ĐTĐ không

điều trị. Trong khi, chuột bệnh ĐTĐ không điều trị có hàm lượng glucose huyết không những không giảm mà có dấu hiệu tăng dần theo thời gian khảo sát (tăng 12,44%, hàm lượng glucose huyết đạt $399,78 \pm 7,06$ mg/dL). Chuột bệnh ĐTĐ điều trị bằng cao chiết lá cây lộc vùng (125, 250 và 500 mg/kg) cho hàm lượng glucose huyết gần tương đương với thuốc điều trị Glibenclamid và có sự khác biệt ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ so với chứng bệnh (bảng 5). Chuột bệnh ĐTĐ điều trị bằng cao chiết lá cây Lộc vùng 125 mg/kg cho hàm lượng glucose huyết ($182,56 \pm 8,16$ mg/dL) nhưng vẫn còn cao hơn so với chuột bình thường 1,46 lần. Cao chiết lá cây lộc vùng 500 mg/kg, làm giảm hàm lượng glucose huyết trên chuột bệnh ĐTĐ ($157,89 \pm 8,46$ mg/dL) và cao hơn so với chuột bình thường 1,26 lần. Kết quả cho thấy, cao chiết lá cây lộc vùng điều hòa hàm lượng glucose huyết theo cách phụ thuộc vào liều dùng. Trong khi đó, đối chứng Glibenclamid với liều sử dụng 5 mg/kg có khả năng làm giảm hàm lượng glucose huyết trên chuột bệnh ĐTĐ ($131,11 \pm 6,89$ mg/dL). Từ các kết quả phân tích khối lượng và hàm glucose huyết của chuột cho thấy, cao chiết lá cây lộc vùng có hiệu quả điều hòa glucose huyết và khối lượng ở chuột mắc bệnh ĐTĐ.

Bảng 4. Trọng lượng và độ tăng giảm của trọng lượng chuột theo thời gian khảo sát

Nghiệm thức	Số mẫu (n)	Trọng lượng chuột thí nghiệm (g) (Trung bình $\pm$ SE)		Tăng hoặc giảm	
		Trước thí nghiệm	Sau thí nghiệm	Trọng lượng (g)	Tỷ lệ (%)
Sinh lý	10	$28,02 \pm 4,56$	$34,01 \pm 8,428^{**}$	5,99	21,38
Chứng bệnh	10	$27,59 \pm 3,49$	$17,37 \pm 10,01$	-10,22	-37,04
Glibenclamid	10	$27,66 \pm 6,91$	$32,46 \pm 5,94^{**}$	4,8	17,35
Cao chiết 125 mg/kg	10	$28,11 \pm 8,44$	$32,11 \pm 6,23^{**}$	4,3	14,23
Cao chiết 250 mg/kg	10	$27,79 \pm 9,02$	$32,01 \pm 7,09^{**}$	4,82	15,19
Cao chiết 500 mg/kg	10	$27,95 \pm 7,16$	$32,51 \pm 9,13^{**}$	5,06	16,31

Ghi chú: * $p < 0,05$ và ** $p < 0,01$: so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm khảo sát.

Bảng 5. Hiệu quả làm giảm hàm lượng glucose huyết (mg/dL) theo thời gian khảo sát

Nghiệm thức	Ngày 0	Ngày 7	Ngày 14	Ngày 21	Ngày 28
Sinh lý	123,56±4,16	125,01±8,09	126,11±7,55	125,45±9,16	125,07±7,33
Chứng bệnh	122,91±9,02	321,16±6,45	347,89±4,66	371,19±6,66	399,78±7,06
Glibenclamid	123,06±8,11	324,59±7,46	285,46±9,18	231,47±7,13	131,11±6,89 ^{##}
Cao chiết 125 mg/kg	124,11±7,48	320,45±9,16	293,45±6,87	254,01±4,99	182,56±8,16 ^{###}
Cao chiết 250 mg/kg	123,18±5,87	323,49±5,69	294,01±8,71	249,01±5,79	171,01±5,99 ^{###}
Cao chiết 500 mg/kg	124,06±6,41	325,01±8,44	295,11±5,91	234,09±8,14	157,89±8,46 ^{###}

Ghi chú: * $p < 0,05$ và ** $p < 0,01$: so với lô sinh lý ở cùng thời điểm khảo sát.

[#] $p < 0,05$ và ^{##} $p < 0,01$: so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm khảo sát.

Rối loạn chuyển hóa lipid được đặc trưng bởi sự gia tăng hàm lượng cholesterol, triglycerid, LDL-cholesterol và giảm hàm lượng HDL-cholesterol là yếu tố quyết định quan trọng của quá trình và tình trạng của bệnh ĐTĐ và các biến chứng của bệnh. Rối loạn chuyển hóa lipid cũng làm tăng nguy cơ bệnh tim mạch vành [17]. Nghiên cứu thực hiện đánh giá hiệu quả điều hòa lipid huyết của cao chiết lá cây Lộc vùng trên chuột bệnh ĐTĐ và được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6. Kết quả phân tích các chỉ tiêu lipid huyết của chuột sau 21 ngày khảo sát

Nghiệm thức	Cholesterol	Triglycerid	HDL-Cholesterol	LDL-Cholesterol
Sinh lý	101,26±5,13	96,55±4,16	71,39±7,46	30,11±8,46
Chứng bệnh	147,78±7,46	142,53±9,03	37,56±5,99	99,23±9,11
Glibenclamid	115,79±8,06 ^{##}	104,56±8,45 ^{##}	67,56±4,68 ^{##}	37,45±4,68 ^{##}
Cao chiết 100 mg/kg	139,11±4,99 ^{##}	132,01±7,60 ^{##}	51,28±6,03 ^{##}	52,29±6,78 ^{##}
Cao chiết 250 mg/kg	127,56±6,63 ^{##}	124,57±5,66 ^{##}	58,02±8,14 ^{##}	47,19±7,98 ^{##}
Cao chiết 500 mg/kg	120,45±7,12 ^{##}	119,43±9,18 ^{##}	63,09±9,13 ^{##}	40,28±5,79 ^{##}

Ghi chú: * $p < 0,05$ và ** $p < 0,01$: so với lô sinh lý ở cùng thời điểm khảo sát.

[#] $p < 0,05$ và ^{##} $p < 0,01$: so với lô chứng bệnh ở cùng thời điểm khảo sát.

Hàm lượng cholesterol (147,78±7,46 mg/dL), triglyceride (96,55±4,16 mg/dL) và LDL-cholesterol (99,23±9,11 mg/dL) tăng đáng kể ở chuột bệnh ĐTĐ và hàm lượng HDL-cholesterol (37,56±5,99 mg/dL) giảm đáng kể ở chuột bệnh ĐTĐ so với chuột bình thường. Trong khi đó, chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng Glibenclamid

và cao chiết lá cây lộc vùng (125, 250 và 500 mg/kg) nồng độ lipid huyết phục hồi đáng kể và khác biệt ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ so với chứng bệnh, điều này cho thấy cao chiết lá cây lộc vùng có tiềm năng trong việc cải thiện chuyển hóa lipid ở chuột bệnh ĐTĐ (bảng 6).

Hàm lượng cholesterol ở chuột được điều trị cao chiết lá cây lộc vùng ở các mức liều 125 mg/kg; 250 mg/kg và 500 mg/kg có giá trị lần lượt là $139,11 \pm 4,99$ mg/dL; $127,56 \pm 6,63$ mg/dL và $120,45 \pm 7,12$ mg/dL.

Tương tự, hàm lượng triglyceride và LDL-cholesterol cũng giảm theo liều lượng sử dụng, cao chiết lá cây lộc vùng 125 mg/kg có hàm lượng triglyceride và LDL-cholesterol là $132,01 \pm 7,60$ mg/dL và $52,29 \pm 6,78$ mg/dL giảm còn $119,43 \pm 9,18$ mg/dL và $40,28 \pm 5,79$ mg/dL ở cao chiết lá cây lộc vùng liều 500 mg/kg.

Cao chiết lá cây lộc vùng có khả năng làm tăng hàm lượng cholesterol có lợi là HDL-cholesterol so với chuột bệnh ĐTĐ. Cao chiết lá cây lộc vùng liều 125 mg/kg, hàm lượng HDL-cholesterol đạt $51,28 \pm 6,03$ mg/dL và tăng lên $63,09 \pm 9,13$ mg/dL khi sử dụng cao chiết lá cây lộc vùng liều 500 mg/kg. HDL-cholesterol có thể hoạt động như một chất kháng oxy hóa và thúc đẩy cholesterol, triglyceride từ các mô ngoại biên đến gan để dị hóa trong quá trình lưu thông rất hữu ích cho sức khỏe con người. Ngược lại, LDL-cholesterol dư thừa có thể lắng đọng trong thành mạch máu, dẫn đến sự hình thành các tổn thương mảng xơ vữa động mạch. Do đó, hàm lượng HDL-cholesterol thấp và LDL-cholesterol thấp rất nguy hiểm cho chuột. Do sự gia tăng hàm lượng cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol và giảm hàm lượng HDL-cholesterol góp phần tăng nguy cơ phát triển các bệnh tim mạch ở bệnh nhân ĐTĐ [18].

4. KẾT LUẬN

Cao chiết lá cây lộc vùng là an toàn khi nghiên cứu về độc tính cấp, đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều tối đa có thể dung nạp được là 20 g/kg. Cao chiết lá cây lộc vùng với liều 125 mg/kg; 250 mg/kg và 500 mg/kg thể trọng chuột có tác dụng làm giảm đáng kể hàm lượng glucose huyết (lần lượt giảm 43,03%; 47,14% và 51,42% vào ngày thứ 28, so với ngày đầu điều trị).

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang và Trường Đại học Trà Vinh đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abraham B. F., Olarewaju S. A. & Oladipo A. E., *Antidiabetic and antidyslipidemic activities of the aqueous extract of Cochlospermum planchonii leaves in streptozotocin-induced diabetic rats*, The International Journal of Mechanical Sciences, 2017, **42**(6):553-560.
2. Ramu R., Shirahatti P. S., Nayakavadi S., Zameer, V. R. F. Dhananjayaf, B. L. & Nagendra P. M. N., *The effect of a plant extract enriched in stigmasterol and β -sitosterol on glycaemic status and glucose metabolism in alloxan-induced diabetic rats*, Food & Function, 2016, **7**:3999-4011.

3. Padmavathi D., Susheela L., Bharathi R. V., *Pharmacognostical evaluation of Barringtonia acutangula leaf*, Int. J. Ayurveda Res., 2011, **2**(1):37-41.
4. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương và Nguyễn Thương Dong, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ Thuật, Hà Nội, 2006, tập **1**.
5. Yadav M., Chatterji S., Gupta S. K. & Watal G., *Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine*, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2014, **6**(5):539-542.
6. Đỗ Trung Đàm, *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, NXB Y học, Hà Nội, 2014, **15**(157):199-215
7. Ngô Thị Nga, Mai Thị Cúc và Đỗ Thị Hồng Tươi, *Khảo sát tác dụng hạ lipid huyết và hạ đường huyết của cao cồn 50% từ trà thảo mộc Panas Karantina trên chuột nhắt*, Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh, 2018, **21**(2):7-15.
8. Rashmi Ka, K. Bhasker Shenoyb and Karunakar H., *Hepatoprotective and in vitro antioxidant studies of Barringtonia acutangula (L.) Gaertn*, Journal of Pharmacy Research, 2011, **5**(7):3622-3625.
9. Mohamad Z. I., Shamima S., and Saleha A., *Antinociceptive, antidiarrheal, and neuropharmacological activities of Barringtonia acutangula*, Pharmaceutical Biology, 2012, **50**(9):1078-1084.
10. Ngô Văn Thu và Trần Hùng, *Dược liệu học*, Nhà xuất Bản Y học, 2011, tập **1**.
11. Kathirvel A. and Sujatha V., *Phytochemical analysis and antioxidant activity of Barringtonia acutangula (L.) Gaertn. Leaves*, International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2012, **4**(2):277-281.
12. Saleem U., Amin S., Ahmad B., Azeem H., Anwar F. & Mary S., *Acute oral toxicity evaluation of aqueous ethanolic extract of Saccharum munja Roxb. Roots in Albino Mice as Per OECD 425 TG*, Toxicol Report, 2017, **31**(4):580-585.
13. Kennedy G. L., Ferenz R. L., Burgess B. A., *Estimation of acute oral toxicity in rats by determination of the approximate lethal dose rather than the LD50*, Journal of Applied Toxicology, 1986, **6**:145-148.
14. OECD, *OECD Guidelines for the Testing of chemicals section 4: Health effects test No. 423: Acute oral toxicity acute toxic class method*, Paris, France: Organization for Economic Cooperation and Development, 2002.
15. Marslin G., Vinoth Kumar Megraj Khandelwal, Revina Ann Mary, V. K. Kalaichelvan, V. Palanivel., *Barringtonia acutangula improves the biochemical parameters in diabetic rats*, Chinese Journal of Natural Medicines, 2014, **12**(2):126-130.
16. Zhang C., Wang J., Zhang J., Song X., & Jia L., *Antihyperglycaemic and organic protective effects on pancreas, liver and kidney by polysaccharides from Hericium erinaceus SG-02 in streptozotocin-induced diabetic mice*, Sci. Rep., 2017, **7**(1):10847.

17. Youssef M. K. E., Youssef H. M. K. E. & Mousa R. M. A., *Evaluation of antihyperglycaemic activity of citrus peels powders Fortified biscuits in Albino induced diabetic rats*, Food Public Health, 2013, **3**, 161-167.
18. Najafzadeh H., N. Aghel, A. A. Hemmati & S. Oulapour, *Evaluation antihyperglycemic activity of citrus peels powders Fortified biscuits in Albino induced diabetic rats*, Pharm. Sci., 2010, **16**:239-248.

SUMMARY

TOXICITY AND HYPOGLYCEMIC EFFECT OF *Barringtonia acutangula* LEAVES EXTRACT ON STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC MICE

Studies on toxicity and hypoglycemic effect of *Barringtonia acutangula* extract on diabetic mice by streptozotocin. The plant samples were extracted with solution ethanol 70% v/v. The acute toxicity was assessed in male and female Swiss albino mice by monitoring mortality and toxicity within 72 hours. The hypoglycemic effect was assessed in mouse model of hyperglycemia by streptozotocin at the dose of 150 mg/kg. The antidiabetic effect of extract of *Barringtonia acutangula* was compared with standard antidiabetic drug glibenclamid. The results of acute toxicity study showed that *Barringtonia acutangula* extract with the maximum dose on white mice was 50 g/kg body of mice with a mortality ratio of 0% after 72 hours. The extract of *Barringtonia acutangula* at dose of 125 mg/kg; 250 mg/kg and 500 mg/kg body of mice has the effect of reducing cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride levels. The extract of *Barringtonia acutangula* at dose of 125 mg/kg, 250 mg/kg and 500 mg/kg body of mice also has hyperglycemic effect on streptozotocin induced diabetic mice.

Keywords: *Barringtonia acutangula*, streptozotocin, glibenclamid, toxicity, hypoglycemic, cây lộc vừng, độc tính, glucose huyết.

Nhận bài ngày 29 tháng 7 năm 2022

Phản biện xong ngày 19 tháng 10 năm 2022

Hoàn thiện ngày 18 tháng 11 năm 2022

⁽¹⁾ Trường Đại học Trà Vinh

⁽²⁾ Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang

Liên hệ: **ThS. Nguyễn Phạm Tuấn**

Trung tâm Công nghệ sinh học tỉnh An Giang

Tỉnh lộ 941, ấp Vĩnh Phước, Thị trấn Vĩnh Bình, huyện Châu Thành, tỉnh An Giang

Điện thoại: 0988.202055; Email: ngphamtuan1983@gmail.com