

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Đái tháo đường (ĐTĐ) là một bệnh rối loạn chuyển hóa mạn tính với sự tăng glucose huyết do thiếu hụt tương đối hoặc tuyệt đối insulin. Số người mắc bệnh ĐTĐ đang gia tăng với tốc độ ngày càng cao. Do đó, việc nghiên cứu các thuốc điều trị ĐTĐ là một trọng tâm được chú ý của các nhà khoa học. Các thuốc nguồn gốc thực vật từ lâu đã được sử dụng để chữa ĐTĐ vì những ưu điểm như độ an toàn cao, giá thành hợp lý, thích hợp cho việc điều trị kéo dài.

Bằng lăng nước (*Lagerstroemia speciosa* L. Pers.) (BLN) là một dược liệu được dùng phổ biến trong phòng và điều trị ĐTĐ theo kinh nghiệm dân gian ở nhiều nước trên thế giới. Nhiều nghiên cứu *in vivo* và *in vitro* đã không chỉ chứng minh tác dụng hạ glucose huyết mà còn phát hiện ra các tác động của BLN trong chuyển hóa như: kích thích GLUT4 tăng cường vận chuyển glucose vào tế bào, làm tăng sự nhạy cảm của mô đích với insulin thông qua tác động lên quá trình truyền tín hiệu ở receptor. Nhiều chế phẩm từ BLN đã được sản xuất và lưu hành tại Nhật Bản, Mỹ, Thái Lan để dùng cho bệnh nhân ĐTĐ. Trong khi đó, ở Việt Nam, BLN mặc dù được trồng phổ biến nhưng tác dụng chữa ĐTĐ của BLN hầu như chưa được biết đến. Liệu sự di thực, điều kiện khí hậu thổ nhưỡng ở Việt Nam có làm thay đổi thành phần hóa học và tác dụng sinh học của BLN hay không? Bên cạnh những tác động trên chuyển hóa đã được phát hiện qua các nghiên cứu trên thế giới, lá BLN còn có thể có những tác động nào khác trong quá trình chuyển hóa của phân tử glucose? Đó là những vấn đề nghiên cứu được đặt ra nhằm tạo tiền đề cho việc sử dụng lá cây BLN ở Việt Nam trong điều trị ĐTĐ.

2. Mục tiêu của luận án

1/ Đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết toàn phần lá Bằng lăng nước trên một số mô hình thực nghiệm

- 2/ Lựa chọn phân đoạn dịch chiết có tác dụng gây hạ glucose huyết
- 3/ Nghiên cứu ảnh hưởng trên chuyển hóa glucose của phân đoạn gây hạ glucose huyết
- 4/ Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học của phân đoạn gây hạ glucose huyết

3. Những đóng góp mới của luận án

- Những kết quả thu được tạo cơ sở khoa học cho việc sử dụng lá Bằng lăng nước Việt Nam trong điều trị bệnh đái tháo đường, góp phần bổ sung thêm một thuốc mới trong số các thuốc có nguồn gốc thiên nhiên của Việt Nam.

- Các kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng trên chuyển hóa của hai phân đoạn dịch chiết lá BLN, đặc biệt là sự phát hiện khả năng làm tăng cường tổng hợp glycogen gan, ức chế tân tạo đường thông qua 2 enzym chủ chốt là F1,6BPase và G6Pase, hoạt hóa quá trình đường phân thông qua enzym chủ chốt hexokinase đã giúp làm rõ thêm một số cơ chế tác dụng của BLN trong chuyển hóa để bổ sung cho những cơ chế tác dụng hạ glucose huyết đã biết của lá BLN.

- Lần đầu tiên phát hiện sự có mặt của 2 dẫn chất kaempferol trong lá BLN là: kaempferol 3-rutinoside và kaempferol 3-2"-glucosylrutinoside.

4. Cấu trúc của luận án

Luận án gồm 117 trang, 22 bảng, 32 hình, 182 tài liệu tham khảo, trong đó có 17 tài liệu tiếng Việt và 165 tài liệu tiếng Anh. Bố cục của luận án như sau: đặt vấn đề 3 trang; tổng quan 34 trang; đối tượng, vật liệu và phương pháp nghiên cứu 18 trang; kết quả nghiên cứu 29 trang; bàn luận 30 trang; kết luận và đề xuất 2 trang; danh mục các bài báo đã công bố liên quan đến luận án 1 trang; tài liệu tham khảo 14 trang; luận án còn có 7 phụ lục.

NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Tổng quan chia làm 4 phần chính: Tổng quan về chuyển hóa glucose và sự điều hòa glucose huyết, bệnh ĐTĐ, các dược liệu có tác dụng hạ glucose huyết và cây Bằng lăng nước.

Phần tổng quan về chuyển hóa glucose và sự điều hòa glucose huyết trình bày khái quát về nguồn gốc, các con đường chuyển hóa của glucose trong cơ thể, các yếu tố tham gia điều hòa chuyển hóa glucose và từ đó điều hòa nồng độ glucose trong máu.

Phần tổng quan về bệnh ĐTĐ trình bày về định nghĩa và phân loại bệnh ĐTĐ, đặc điểm dịch tễ bệnh và cơ chế bệnh sinh của hai thể bệnh ĐTĐ phổ biến nhất.

Phần tổng quan về dược liệu có tác dụng hạ glucose huyết hệ thống hóa các cơ chế tác dụng của dược liệu gây hạ glucose huyết và các nhóm hoạt chất chính đem lại tác dụng hạ glucose huyết.

Phần tổng quan về cây Bằng lăng nước trình bày về đặc điểm hình thái, phân bố, bộ phận dùng, thành phần hóa học, công dụng và hệ thống hóa các kết quả nghiên cứu về tác dụng hạ glucose huyết và ảnh hưởng trên chuyển hóa glucose của lá BLN trên thế giới.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu là lá Bằng lăng nước (*Lagerstroemia speciosa* (L.) *Lythraceae*) thu hái tại Hà Nội. Dược liệu được điều chế thành mẫu thử bao gồm dịch chiết toàn phần trong dung môi ethanol và các phân đoạn dịch chiết thu được sau khi lắc dịch chiết toàn phần với các dung môi n-hexan, cloroform, ethylacetat, n-butanol.

- Động vật thí nghiệm gồm chuột nhắt trắng thí nghiệm chủng Swiss (*Mus musculus*), cân nặng trung bình 25g và chuột cống trắng thí nghiệm (*Rattus norvegicus*) chưa trưởng thành, cân nặng trung bình 100g.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết xuất dược liệu

- **Dịch chiết toàn phần:** ngâm lạnh bột dược liệu thô với dung môi ethanol 70° trong 48 giờ, lặp lại 3 lần.

- **Phân đoạn dịch chiết:** Dịch chiết toàn phần cất quay dưới áp suất giảm thu được cặn dịch ethanol. Cặn được hòa vào nước và chiết phân bố lần lượt với n-hexan, cloroform, ethyl acetat và n-butanol theo tỷ lệ 1:1. Các dịch chiết n-hexan, cloroform, ethylacetat và n-butanol và lớp dịch nước cuối cùng được đem cất quay dưới áp suất giảm thu được năm cặn tương ứng với từng phân đoạn.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết trên chuột thực nghiệm

2.2.2.1. Đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết toàn phần

a) Tác dụng trên chuột nhắt bình thường: Chuột đã nhịn đói 12 giờ được cho uống mẫu thử tương ứng với từng lô. Định lượng glucose huyết tại thời điểm 0 giờ, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ sau khi uống mẫu thử.

b) Tác dụng trên chuột nhắt tăng glucose huyết do streptozocin: Chuột tăng glucose huyết do STZ được uống mẫu thử tương ứng với từng lô. Định lượng glucose huyết trước và sau khi uống mẫu thử 4 giờ, riêng với lô đối chứng tiêm insulin, định lượng glucose huyết sau khi tiêm insulin 1,5 giờ.

c) Tác dụng trên chuột nhắt tăng glucose huyết do adrenalin: Chuột đã nhịn đói 12 giờ được cho uống mẫu thử tương ứng với từng lô. Sau 3 giờ tiêm màng bụng dung dịch adrenalin liều 0,6 mg/kg. Định lượng glucose huyết tại thời điểm trước khi tiêm và sau khi tiêm 60 phút.

d) Tác dụng trên chuột cống ĐTĐ typ 2 thực nghiệm: Chuột ĐTĐ typ 2 do chế độ ăn béo kết hợp với STZ liều thấp được cho uống mẫu thử liên tục trong 20

ngày. Sau 20 ngày, cân chuột, lấy máu toàn phần từ đuôi chuột để định lượng glucose huyết, rồi lấy máu mắt và ly tâm lấy huyết thanh để định lượng insulin, triglycerid (TG) và cholesterol toàn phần (TC). Sau cùng, mổ chuột lấy tụy. Kiểm tra đại thể và vi thể tụy của tất cả các chuột trong mỗi lô.

2.2.2.2. Đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của các phân đoạn dịch chiết

a) Tác dụng trên chuột nhất bình thường: Chuột đã nhịn đói 12 giờ được cho uống mẫu thử tương ứng với từng lô. Định lượng glucose huyết vào lúc 0 giờ và 4 giờ sau khi uống mẫu thử.

b) Tác dụng trên chuột nhất tăng glucose huyết do streptozocin: Chuột tăng glucose huyết do STZ được cho uống mẫu thử tương ứng với từng lô trong vòng 10 ngày liên tục. Định lượng glucose huyết tại cùng thời điểm của ngày 0 và ngày 10.

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của phân đoạn dịch chiết trên chuyển hóa glucose

2.2.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của phân đoạn dịch chiết trên hàm lượng glycogen gan sau khi uống dung dịch glucose

Chuột tăng glucose huyết do STZ được cho uống mẫu thử tương ứng với từng lô trong vòng 10 ngày liên tục. Vào ngày thứ 10, 3 giờ sau khi uống mẫu thử, chuột được cho uống dung dịch glucose 25% liều 5 g/kg. Sau 1 giờ mổ chuột lấy gan để định lượng glycogen.

2.2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của phân đoạn dịch chiết trên hoạt độ các enzym gan

Chuột tăng glucose huyết do STZ được cho uống mẫu thử tương ứng với từng lô trong vòng 10 ngày liên tục. Vào ngày thứ 10, sau khi uống mẫu thử 4 giờ, mổ chuột lấy gan để xác định hoạt độ enzym gan.

2.2.4. Các kỹ thuật định lượng hóa sinh

2.2.4.1. Định lượng glucose huyết: theo phương pháp glucose oxidase

2.3.4.2. Định lượng insulin huyết thanh: theo phương pháp sandwich ELISA với bộ sinh phẩm đo insulin chuột của Mercodia

2.2.4.3. Định lượng glycogen gan: theo phương pháp của Carrol NV.

2.2.4.4. Định lượng protein toàn phần trong dịch nghiền gan: theo phương pháp Lowry

2.2.4.5. Xác định hoạt độ enzym fructose 1,6 biphosphatase (EC 3.1.3.11) gan: theo phương pháp của Latha M. và Pari L.

2.2.4.6. Xác định hoạt độ enzym glucose 6 phosphatase (EC 3.1.3.9) gan: theo phương pháp của Latha M. và Pari L.

2.2.4.7. Xác định hoạt độ enzym hexokinase (EC 2.7.1.1 và EC 2.7.1.2) gan: theo kỹ thuật cặp đôi enzym của Sheer WD.

2.2.4.8. Định lượng cholesterol toàn phần huyết thanh: theo phương pháp của Deeg R. và Zlegenhorn J.

2.2.4.9. Định lượng triglycerid huyết thanh: theo phương pháp của McGowan.

2.2.5. Kỹ thuật xét nghiệm mô bệnh học

Bệnh phẩm tụy được cố định bằng dung dịch Bouin, chuyển đúc trong parafin, sau đó được cắt thành những tiêu bản có bề dày 3 μm và nhuộm theo phương pháp Hematoxylin-Eosin (HE). Các tiêu bản được đọc dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 250 lần.

2.2.6. Phương pháp nghiên cứu thành phần hóa học

2.2.6.1. Định tính các nhóm chất hóa học: Sử dụng các phản ứng đặc trưng để định tính các nhóm chất hóa học

2.2.6.2. Phân lập chất: Tiến hành phân lập hoạt chất từ 2 phân đoạn có tác dụng hạ glucose huyết là phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan bằng kỹ thuật sắc ký cột mở pha thường và pha đảo. Kiểm tra độ tinh khiết của các chất phân lập được bằng sắc ký lớp mỏng.

2.2.6.3. Xác định cấu trúc của các chất phân lập được thông qua tính chất lý hóa, nhiệt độ nóng chảy và bằng phương pháp phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và phổ khối lượng phun mù electron (ESI-MS).

2.2.7. Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê với sự trợ giúp của phần mềm EXCEL 2003.

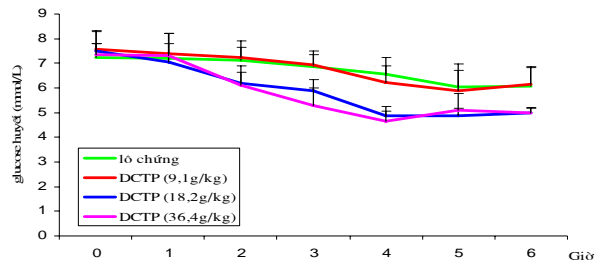
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết toàn phần lá BLN

3.1.1. Tác dụng của dịch chiết toàn phần lá BLN trên chuột nhất bình thường

Sự thay đổi glucose huyết theo thời gian ở lô chứng (uống nước cất) và các lô thử uống dịch chiết toàn phần lá BLN với liều khác nhau được trình bày ở hình

3.1



Hình 3.1. Đồ thị biểu diễn sự thay đổi glucose huyết theo thời gian sau khi uống dịch chiết toàn phần lá Bằng lăng nước

➤ DCTP lá BLN (với liều tương đương 18,2g dược liệu khô/kg) làm hạ glucose huyết của chuột nhất bình thường. Tác dụng hạ glucose huyết bắt đầu xuất hiện từ giờ thứ 2 và đạt mạnh nhất ($p < 0,01$) sau 4 giờ. Từ sau 5 giờ trở đi, glucose huyết không khác biệt so với glucose huyết ở thời điểm 4 giờ ($p > 0,05$).

➤ Sau 2 giờ kể từ khi uống DCTP với liều tương đương 18,2 g dược liệu khô/kg, glucose huyết giữa lô thử 2 và lô chứng đều có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê tại từng thời điểm, sự khác biệt thể hiện rõ rệt nhất sau 4 giờ ($p < 0,01$). Do đó, trong các thí nghiệm tiếp theo, glucose huyết được định lượng vào thời điểm 4 giờ sau khi uống mẫu thử.

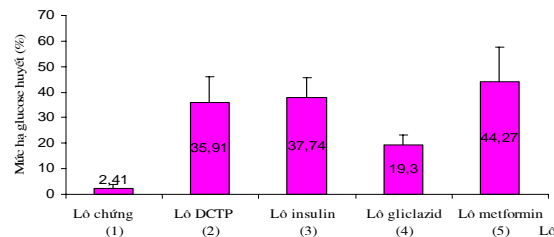
➤ Kể từ giờ thứ hai trở đi, khi so sánh với lô thử 1 (dùng liều dịch chiết tương đương 9,1 g dược liệu khô/kg), glucose huyết của lô thử 2 thấp

hơn và khác biệt có ý nghĩa ở từng thời điểm, khi so sánh với lô thử 3, glucose huyết của lô thử 2 không khác biệt so với lô thử 3 (liều 36,4 g /kg).

Từ kết quả nêu trên, liều dịch chiết lá BLN tương đương 18,2 g được liệu khô /kg được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo

3.1.2. Tác dụng của dịch chiết toàn phần lá Bằng lăng nước trên chuột nhất tăng glucose huyết do streptozocin

Trên mô hình tăng glucose huyết do STZ liều 150 mg/kg, đánh giá sự thay đổi glucose huyết ở lô chứng (uống nước cất), lô thử (uống dịch chiết toàn phần lá BLN) và các lô đối chứng (uống gliclazid, metformin, tiêm insulin) tại thời điểm thuốc có tác dụng mạnh nhất. Kết quả được trình bày ở hình 3.2.



Hình 3.2. Biểu đồ so sánh mức hạ glucose huyết giữa lô uống dịch chiết và các lô đối chứng trên mô hình tiêm STZ

Sau 4 giờ, các lô thử đều gây hạ glucose huyết. Mức hạ glucose huyết ở lô 2 (uống DCTP) là 35,91%, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô 1 (uống nước cất) và lô 4 (uống gliclazid) nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô 3 (tiêm insulin) và lô 5 (uống metformin).

3.1.3. Tác dụng của dịch chiết toàn phần lá Bằng lăng nước trên chuột nhất tăng glucose huyết do adrenalin

Sự thay đổi glucose huyết sau khi tiêm adrenalin 60 phút ở lô chứng và lô thử được trình bày ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Glucose huyết của chuột tiêm adrenalin và uống dịch chiết

Lô	Glucose huyết (mmol/L)			Mức tăng glucose huyết (%)
	0 giờ (trước khi uống mẫu thử)	3 giờ (Trước khi tiêm adrenalin)	4 giờ (Sau khi tiêm adrenalin 60 phút)	
Lô chứng	7,85 ± 1,02	7,67 ± 0,89	14,79 ± 2,65	96,76 ± 10,32
Lô thử (DCTP 18,2 g/kg)	7,73 ± 0,81	5,15 ± 0,40	6,90 ± 0,75	37,64 ± 4,03 P < 0,05

Sau khi tiêm adrenalin, glucose huyết tăng lên ở cả lô chứng và lô thử. Tuy nhiên, mức tăng glucose huyết ở lô thử thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,05$).

3.1.4. Tác dụng của dịch chiết toàn phần lá Bằng lăng nước trên chuột cống dài tháo đường typ 2

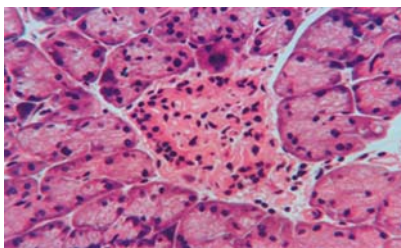
Bảng 3.5. Sự thay đổi cân nặng và các chỉ số hóa sinh của chuột ĐTĐ typ 2 sau khi uống dịch chiết toàn phần lá Bằng lăng nước (n=10)

Lô	Cân nặng (g)	Các chỉ số hóa sinh			
		TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	Glucose huyết (mmol/L)	Insulin (pmol/L)
Lô chứng bệnh	258,0 ± 25,1	18,53 ± 4,96	11,47 ± 3,71	24,40 ± 3,18	192,88 ± 16,35
Lô thử uống DCTP (10g/kg/ngày x 20 ngày)	218,0 ± 25,5	5,85 ± 2,19	4,48 ± 1,55	19,35 ± 1,25	169,91 ± 12,53
p	p > 0,05	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,05	P > 0,05

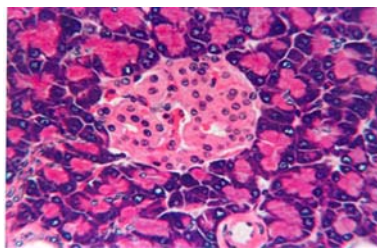
- Cân nặng của lô thử không khác biệt so với lô không được điều trị ($p > 0,05$)
- Nồng độ TG, TC huyết thanh của lô thử thấp hơn rõ rệt so với lô chứng bệnh ($p < 0,01$)

- Glucose huyết của lô thử và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô chứng bệnh
- Nồng độ insulin huyết thanh của lô thử giảm nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$).

Bên cạnh các chỉ số hóa sinh, các lô chuột được đánh giá về tình trạng mô tụy nội tiết. Hình ảnh mô tụy nội tiết của lô chứng bệnh và lô thử được thể hiện trong hình 3.10 và 3.11.



Hình 3.10. Hình ảnh vi thể tụy của chuột ở lô ĐTD typ 2



Hình 3.11. Hình ảnh vi thể tụy của chuột ở lô ĐTD typ 2 uống dịch chiết lá BLN

- Lô chứng bệnh có mật độ tiểu đảo tụy giảm. Đảo tụy biến dạng và giảm về kích thước, tế bào tiểu đảo tụy teo lại.
- Lô thử có mật độ tiểu đảo tụy ít hơn so với bình thường. Đảo tụy giảm về kích thước, không có dấu hiệu tổn thương.

3.2. Tác dụng hạ glucose huyết của phân đoạn dịch chiết lá Bằng lăng nước

Sau quá trình phân đoạn dịch chiết bằng các dung môi có độ phân cực khác nhau, thu được 5 phân đoạn tương ứng là phân đoạn n-hexan, chloroform, ethylacetat, n-butanol và nước. Các phân đoạn được thử tác dụng hạ glucose huyết trên chuột bình thường và chuột tăng glucose huyết thực nghiệm bởi STZ để lựa chọn phân đoạn gây hạ glucose huyết tốt nhất. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.6 và 3.7.

Bảng 3.6. Sự thay đổi glucose huyết của các lô chuột bình thường uống phân đoạn dịch chiết (n=10)

S T T	Lô	Glucose huyết (mmol/ L)		Mức hạ glucose huyết (%)	So sánh mức hạ GH với lô 1
		0 giờ	4 giờ		
1	Chứng (nước cất)	7,68 ± 0,34	6,69 ± 0,88	13,83 ± 1,06	
2	Dịch chiết toàn phần	7,93 ± 0,38	5,42 ± 0,79	32,73 ± 5,09	
3	Phân đoạn n-hexan	8,13 ± 0,62	5,69 ± 0,35	32,33 ± 2,16	p < 0,01
4	Phân đoạn cloroform	7,81 ± 0,54	6,67 ± 0,84	13,91 ± 0,98	p > 0,05
5	Phân đoạn ethylacetat	8,00 ± 0,62	7,27 ± 0,89	10,79 ± 0,91	p > 0,05
6	Phân đoạn n-butanol	8,11 ± 0,45	7,39 ± 0,93	10,68 ± 1,98	p > 0,05
7	Phân đoạn nước	7,85 ± 0,75	5,49 ± 0,42	29,37 ± 4,12	p < 0,01

Bảng 3.7. Sự thay đổi glucose huyết của các lô chuột uống phân đoạn dịch chiết trên mô hình tăng glucose huyết do STZ (n=10)

S T T	Lô	Glucose huyết (mmol/ L)		Mức hạ glucose huyết (%)	So sánh mức hạ GH với lô 1
		Ngày 0	Ngày 10		
1	Chứng (nước cất)	16,23 ± 0,57	13,26 ± 0,65	18,33 ± 2,04	
2	Dịch chiết toàn phần	18,82 ± 1,21	6,17 ± 1,32	67,19 ± 6,15	
3	Phân đoạn n-hexan	17,56 ± 1,35	7,56 ± 0,76	56,93 ± 3,18	p < 0,01
4	Phân đoạn cloroform	16,74 ± 1,87	14,37 ± 1,94	14,17 ± 4,10	p > 0,05
5	Phân đoạn ethylacetat	18,12 ± 0,79	13,84 ± 1,32	23,64 ± 3,12	p > 0,05
6	Phân đoạn n-butanol	17,14 ± 2,11	14,09 ± 0,85	17,81 ± 3,76	p > 0,05
7	Phân đoạn nước	16,87 ± 0,48	6,19 ± 1,88	63,30 ± 3,31	p < 0,001

Kết quả cho thấy trong các phân đoạn dịch chiết lá BLN, phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan gây hạ glucose huyết có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Ba phân đoạn dịch chiết còn lại không gây hạ glucose huyết có ý nghĩa. Từ kết quả trên, phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan trên một số yếu tố tham gia chuyển hóa glucose

Sau khi xác định được hai phân đoạn có tác dụng hạ glucose huyết là phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan, tiếp tục tìm hiểu ảnh hưởng của hai phân đoạn này lên một số yếu tố tham gia vào quá trình chuyển hóa của glucose. Các thí nghiệm được tiến hành trên mô hình rối loạn chuyển hóa do STZ (150 mg/kg) để đánh giá tác dụng điều hoà chuyển hóa của hai phân đoạn dịch chiết.

3.3.1. Ảnh hưởng của hai phân đoạn dịch chiết lên hàm lượng glycogen gan sau khi uống dung dịch glucose

Bảng 3.8. Hàm lượng glycogen gan của chuột tăng glucose huyết thực nghiệm uống phân đoạn dịch chiết (n=10)

STT	Lô chuột	Hàm lượng glycogen (g/100g gan)
1	Lô chứng thường	$0,77 \pm 0,11$ $P_{2,1} < 0,01$
2	Lô chứng bệnh (tiêm STZ 150 mg/kg)	$0,17 \pm 0,02$
3	Lô tiêm STZ + uống phân đoạn n-hexan (liều tương đương 18,2 g/kg)	$0,39 \pm 0,06$ $P_{2,3} < 0,05$
4	Lô tiêm STZ + uống phân đoạn nước (liều tương đương 18,2 g/kg)	$0,32 \pm 0,03$ $P_{2,4} < 0,05$

- Ở lô 2, hàm lượng glycogen gan giảm gần 78% so với bình thường ($p < 0,01$)
- So với lô 2, hàm lượng glycogen gan của lô 3 và lô 4 tăng cao hơn, sự khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,05$. Hàm lượng glycogen của hai lô uống phân đoạn dịch chiết đạt khoảng gần 50% so với lô chuột bình thường.

3.3.2. Ảnh hưởng của hai phân đoạn dịch chiết lên hoạt độ enzym glucose 6 phosphatase

Bảng 3.9. Hoạt độ G6Pase của gan chuột tăng glucose huyết thực nghiệm uống phân đoạn dịch chiết (n=10)

STT	Lô chuột	Hoạt độ riêng ($\mu\text{gPi/phút/mg}$ nrotein)	% Hoạt độ G6Pase
1	Lô chứng thường	$0,70 \pm 0,02$ $P_{2,1} < 0,05$	100
2	Lô chứng bệnh (tiêm STZ 150 mg/kg)	$0,98 \pm 0,05$	140
3	Lô tiêm STZ + uống phân đoạn n- hexan (liều tương đương 18,2 g/kg)	$0,79 \pm 0,01$ $P_{2,3} < 0,05$	113
4	Lô tiêm STZ + uống phân đoạn nước (liều tương đương 18,2 g/kg)	$0,71 \pm 0,01$ $P_{2,4} < 0,05$	101

- Ở lô 2, hoạt độ G6Pase tăng lên 40% so với bình thường ($p < 0,05$)

- Hai lô chuột uống phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan đều có hoạt độ G6Pase giảm một cách có ý nghĩa thống kê so với lô 2 không điều trị ($p < 0,05$). Hoạt độ G6Pase của hai lô uống phân đoạn dịch chiết phục hồi về mức tương đương với lô chuột bình thường.

3.3.3. Ảnh hưởng của hai phân đoạn dịch chiết lên hoạt độ enzym fructose 1,6 biphosphatase

Bảng 3.10. Hoạt độ F1,6BPase của gan chuột tăng glucose huyết thực nghiệm uống phân đoạn dịch chiết (n=10)

STT	Lô chuột	Hoạt độ riêng ($\mu\text{gPi/phút/m}$ g protein)	% Hoạt độ F1,6BPase
1	Lô chứng thường	$1,21 \pm 0,18$ $P_{2,1} < 0,05$	100
2	Lô chứng bệnh (tiêm STZ 150 mg/kg)	$1,74 \pm 0,13$	144
3	Lô tiêm STZ + uống phân đoạn n- hexan (liều tương đương 18,2 g/kg)	$1,13 \pm 0,17$ $P_{2,3} < 0,05$	93
4	Lô tiêm STZ + uống phân đoạn nước (liều tương đương 18,2 g/kg)	$1,23 \pm 0,11$ $P_{2,4} < 0,05$	102

- Ở lô 2, hoạt độ F1,6BPase tăng lên 44% so với bình thường ($p < 0,05$)

- Hai lô chuột uống phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan đều có hoạt độ F1,6BPase giảm một cách có ý nghĩa thống kê so với lô 2 không điều trị ($p <$

0,05). Hoạt độ F1,6BPase của hai lô uống phân đoạn dịch chiết tương đương với mức của lô chuột bình thường.

3.3.4. Ảnh hưởng của hai phân đoạn dịch chiết lên hoạt độ enzym hexokinase

Bảng 3.11. Hoạt độ HK của gan chuột tăng glucose huyết thực nghiệm uống phân đoạn dịch chiết (n=10)

S T T	Lô chuột	Hoạt độ riêng ($\mu\text{mol G phosphoryl}$ hóa/ phút/g gan)	% Hoạt độ HK
1	Lô chứng thường	11,25 \pm 0,81 P₂₋₁ < 0,001	100
2	Lô chứng bệnh (tiêm STZ 150 mg/kg)	5,23 \pm 0,44	47
3	Lô tiêm STZ + uống phân đoạn n- hexan (liều tương đương 18,2 g/kg)	7,93 \pm 0,71 P₂₋₃ < 0,01	71
4	Lô tiêm STZ + uống phân đoạn nước (liều tương đương 18,2 g/kg)	7,92 \pm 0,59 P₂₋₄ < 0,01	71

- Ở lô 2 (tiêm STZ với liều 150 mg/kg), hoạt độ HK giảm 53 % so với bình thường ($p < 0,001$)

- Hai lô chuột uống phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan đều có hoạt độ HK tăng đáng kể so với lô 2 (không điều trị) ($p < 0,01$). Hoạt độ HK của chuột ở hai lô uống phân đoạn dịch chiết phục hồi được khoảng 71% so với chuột bình thường.

3.4. Thành phần hóa học của hai phân đoạn dịch chiết lá Bằng lăng nước

Để tìm hiểu về sự liên quan giữa thành phần hóa học và tác dụng hạ glucose huyết của phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan, nhiệm vụ tiếp theo là tiến hành nghiên cứu về thành phần hóa học của hai phân đoạn này.

Bảng 3.13. Kết quả định tính các nhóm chất hóa học trong hai phân đoạn dịch chiết lá Bằng lăng nước

S T T	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Phân đoạn nước	Phân đoạn n- hexan
1	Saponin	- Hiện tượng tạo bọt - Hiện tượng phá huyết -Phản ứng Liebermann	+ + +	++ ++ ++
2	Flavonoid	- Phản ứng Cyanidin - Phản ứng với NaOH - Phản ứng với NH ₃	+ + +	- - -

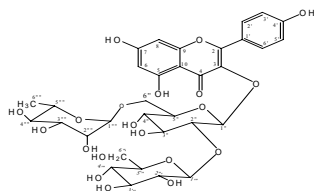
		- Phản ứng với FeCl ₃	+	-
3	Tanin	- Phản ứng với FeCl ₃ 5%	+++	-
		- Phản ứng với dung dịch gelatin 1%	+++	-
		- Phản ứng với đồng acetat	++	-
		- Phản ứng với chì acetate	++	-

- Phân đoạn n-hexan có thành phần chủ yếu là saponin

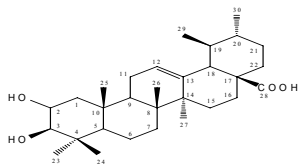
- Phân đoạn nước có cả 3 nhóm chất saponin, flavonoid và đặc biệt là tanin

Tiếp tục phân lập các chất từ hai phân đoạn nói trên. Từ phân đoạn nước đã phân lập được hai flavonoid là dẫn chất glucosid của kaempferol. Từ phân đoạn n-hexan đã phân lập được hai hợp chất triterpen (Hình 3.13).

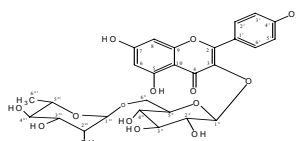
Hợp chất 1: Kaempferol 3-2''-glucosylrutinoside



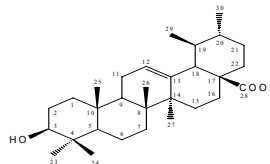
Hợp chất 3: acid corosolic



Hợp chất 2: Kaempferol 3-rutinoside



Hợp chất 4: acid ursolic



Hình 3.13. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1, 2, 3, 4

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

4.1. Về tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết toàn phần lá Bàng lãng nước

4.1.1. Về tác dụng hạ glucose huyết trên chuột nhắt bình thường

Kết quả trong hình 3.1 cho thấy dịch chiết toàn phần lá BLN với liều tương đương 18,2 g dược liệu khô/ kg đã gây hạ glucose huyết kể từ giờ thứ 2 sau khi uống, mức hạ glucose huyết lên đến 35% ở giờ thứ 4, sự khác biệt so

với lô chứng ở cùng thời điểm có ý nghĩa với $p < 0,01$. Kể từ giờ thứ 5 trở đi, glucose huyết của lô thử 2 hầu như không khác biệt so với giờ thứ 4 ($p > 0,05$). Như vậy, dịch chiết toàn phần lá BLN với liều tương đương 18,2 g dược liệu khô/ kg có tác dụng hạ glucose huyết trên chuột bình thường, tác dụng rõ nhất sau 4 giờ kể từ khi uống dịch chiết. Từ kết quả này, trong các thí nghiệm tiếp theo, glucose huyết được xác định vào thời điểm 4 giờ sau khi uống dịch chiết hoặc phân đoạn dịch chiết.

Khi so sánh giữa lô thử 2 (liều 18,2 g/kg) với lô thử 1 (liều 9,1 g/kg), mức glucose huyết ở cùng thời điểm giữa hai lô khác biệt có ý nghĩa thống kê kể từ giờ thứ hai trở đi. Trong khi đó, glucose huyết ở cùng thời điểm giữa lô thử 2 (liều 18,2 g/kg) không khác biệt với lô thử 3 (liều 36,4 g/kg). Do vậy, liều 18,2 g/kg (tính theo dược liệu khô) được lựa chọn là liều thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo.

4.1.2. Về tác dụng trên chuột nhất gây tăng glucose huyết do streptozocin

Sau khi uống dịch chiết 4 giờ, mức hạ glucose huyết ở lô thử là 35,91%, khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng (2,41%). Kết quả này tương đồng với một nghiên cứu được tiến hành trên chuột cống trắng. Trong thí nghiệm trên chuột tiêm STZ, tác dụng của dịch chiết lá BLN được so sánh với các thuốc đối chứng là những thuốc kinh điển vẫn đang được sử dụng rộng rãi trong điều trị ĐTĐ. Kết quả cho thấy mức hạ glucose huyết của lô uống dịch chiết không khác biệt so với lô tiêm insulin và lô uống metformin, trong khi đó lại cao hơn và khác biệt có ý nghĩa so với lô uống gliclazid ($p < 0,05$). Gliclazid là một thuốc thuộc nhóm sulfonylurea có cơ chế tác dụng thông qua kích thích tế bào beta giải phóng insulin. Trên chuột tiêm STZ (150 mg/kg), gliclazid chỉ gây ra mức hạ glucose huyết vừa phải (19,3%), điều này có thể do các tế bào beta của đảo tụy đã bị tổn thương bởi STZ, không còn khả năng đáp ứng với tác dụng của gliclazid. Trong khi đó, với những thuốc tác dụng theo cơ chế không phụ thuộc vào sự hiện diện của tế bào beta là insulin và metformin, mức hạ glucose huyết là tương đối cao (35,91 % và 44,27%). Dịch chiết lá BLN có mức hạ

glucose huyết tương đương với insulin và metformin trên mô hình tiêm STZ. Như vậy, rất có thể tác dụng của dịch chiết lá BLN cũng không phụ thuộc tế bào beta và theo cơ chế tương tự với insulin hoặc metformin.

4.1.3. Về tác dụng trên chuột nhất gây tăng glucose huyết do adrenalin

Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy mức tăng glucose huyết ở lô thử thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với lô chứng. Như vậy, với liều thử nghiệm (18,2 g/kg), dịch chiết lá BLN có tác dụng hạn chế sự tăng glucose huyết bởi tác nhân adrenalin. Kết quả này tương tự như một nghiên cứu trên chuột cống trắng đã công bố trước đây. Khả năng ức chế sự tăng glucose huyết bởi adrenalin của dịch chiết lá BLN có thể được giải thích theo nhiều cơ chế khác nhau. Từ nhận định đã nêu về tác dụng không phụ thuộc vào tế bào beta của dịch chiết lá BLN, có thể thấy tác dụng của dịch chiết lá BLN chủ yếu trên các mô đích của insulin. Rất có thể dịch chiết lá BLN có tác dụng đối lập với adrenalin trên chuyển hóa ở gan, cơ và mô mỡ. Đó là: tăng cường tổng hợp và ức chế thoái hóa glycogen thành glucose, ức chế tân tạo đường. Các tác động của dịch chiết lá BLN sẽ được làm rõ hơn qua các thí nghiệm về hàm lượng glycogen và hoạt độ một số enzym chuyển hóa ở gan.

4.1.4. Về tác dụng trên mô hình chuột cống đái tháo đường typ 2

Trên mô hình ĐTD typ 2 thực nghiệm, dịch chiết lá BLN tuy không làm giảm trọng lượng cơ thể nhưng đã làm giảm rõ rệt nồng độ TC và TG trong máu. Do sự rối loạn lipid máu quá trầm trọng ở lô chứng bệnh nên ở lô uống dịch chiết, mặc dù mức TG và TC khác biệt hoàn toàn so với lô chứng bệnh ($p < 0,01$) nhưng vẫn ở mức cao so với bình thường. Glucose huyết của lô thử vẫn ở mức cao (19,35 mmol/L) nhưng đã khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với lô chuột không được điều trị. Mặc dù dịch chiết lá BLN có tác dụng làm giảm glucose huyết và nồng độ TC, TG huyết thanh nhưng không có tác dụng rõ rệt trên insulin huyết thanh. Theo nghiên cứu của Kakuda (1996) trên chuột nhất ĐTD typ 2 di truyền KK-Ay, dịch chiết nước lá BLN sau 5 tuần điều trị trên chuột đã làm giảm đáng kể glucose huyết,

glucose niệu, nồng độ cholesterol toàn phần và insulin huyết thanh. Tác giả nhận định rằng sự giảm nồng độ insulin song song với giảm nồng độ glucose trong máu là do khả năng làm tăng nhạy cảm của mô đích với insulin, cải thiện tình trạng kháng insulin, do đó nhu cầu sản xuất insulin từ tụy giảm xuống, tránh được tình trạng quá tải của tế bào β . Trong nghiên cứu của tôi, nồng độ insulin của lô uống dịch chiết thấp hơn so với lô chứng bệnh (giảm 12%) nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Có thể thời gian uống thuốc (20 ngày) chưa đủ dài để tạo ra sự thay đổi trên một tình trạng kháng insulin quá nặng. Mặc dù vậy, kết quả mô bệnh học của lô uống dịch chiết (hình 3.10 và 3.11) cho thấy tình trạng tụy đã bắt đầu được cải thiện so với lô không dùng thuốc. Tuy số lượng và kích thước đảo tụy vẫn giảm so với bình thường nhưng tế bào đảo tụy không có dấu hiệu teo như lô chứng bệnh. Tác dụng này của dịch chiết lá BLN có lẽ không phải do tác động trực tiếp lên tụy mà gián tiếp thông qua sự cải thiện tình trạng kháng insulin, nhờ đó làm giảm gánh nặng cho tụy, giúp tụy phục hồi.

4.2. Về thành phần hóa học và tác dụng hạ glucose huyết của các phân đoạn dịch chiết lá Bằng lăng nước

Kết quả thử nghiệm trên các mô hình thực nghiệm nêu trên đã khẳng định tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết toàn phần lá BLN. Vấn đề đặt ra là hoạt chất hoặc nhóm hoạt chất nào trong lá BLN có tác dụng hạ glucose huyết trong dược liệu này? Trước hết phải chiết tách các nhóm hoạt chất trong lá BLN theo độ phân cực khác nhau được phân bố trong 5 phân đoạn chiết khác nhau. Năm phân đoạn này được thử tác dụng hạ glucose huyết trên chuột bình thường và chuột tăng glucose huyết thực nghiệm do STZ để lựa chọn phân đoạn có tác dụng hạ glucose huyết mạnh nhất. Kết quả cho thấy trên cả chuột bình thường và chuột tiêm STZ (150 mg/kg), phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan đều gây hạ glucose huyết, sự khác biệt so với lô chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Mức độ hạ glucose huyết của 2 phân đoạn này thấp hơn hoặc bằng so với dịch chiết toàn phần. Phân đoạn nước và phân đoạn n-

hexan là hai phân đoạn có độ phân cực tương đối xa nhau, do đó các hợp chất phân bố trong hai phân đoạn này khác nhau về mặt cấu trúc hóa học và tính chất lý hóa. Như vậy, rất có thể tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết toàn phần lá BLN là do 2 nhóm chất khác nhau phân bố trong hai phân đoạn nước và n-hexan tạo ra. Điều này giải thích mức độ hạ glucose huyết của dịch chiết toàn phần mạnh hơn hoặc bằng từng phân đoạn, khi dùng liều tương đương tính theo dược liệu khô.

Để làm rõ hơn nhận định trên, tiến hành định tính sơ bộ các nhóm chất hóa học trong 2 phân đoạn có tác dụng hạ glucose huyết bằng các phản ứng hóa học đặc trưng. Kết quả cho thấy phân đoạn nước có chứa saponin, flavonoid và tannin trong khi phân đoạn n-hexan chứa chủ yếu là saponin. Từ phân đoạn nước, đã tách được hai chất tinh khiết là kaempferol 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- $[\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranoside $\}$ = <kaempferol 3-(2"-glucosylrutinoside)> (1) và kaempferol 3-rutinoside (2). Bai và cộng sự đã công bố về sự có mặt của kaempferol trong lá BLN. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên có thông báo về 2 dẫn xuất glucosid của kaempferol trong lá BLN. Các dẫn xuất của kaempferol được tìm thấy ở một số dược liệu gây hạ glucose huyết.

Từ phân đoạn n-hexan, đã phân lập được hai hợp chất triterpenoid là acid corosolic (3) và acid ursolic (4). Trong số 2 triterpen phân lập được, acid corosolic là hoạt chất được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất trong lá BLN với nhiều tác dụng khác nhau trên chuyển hóa glucid theo hướng làm hạ glucose huyết. Acid ursolic là một triterpen có trong nhiều dược liệu như *Ocimum sanctum* L., *Solanum incanum* L., *Sambucus chinensis* Lindl.. Somova (2003) phát hiện tác dụng hạ TG, cholesterol toàn phần và LDL cholesterol của acid ursolic trên chuột thực nghiệm.

Trong phạm vi đề tài này, mặc dù chưa có điều kiện thử tác dụng *in vivo* và *in vitro* của các hoạt chất đã phân lập được từ lá BLN tuy nhiên, sự có mặt của acid corosolic và acid ursolic trong phân đoạn n-hexan góp phần làm

sáng tỏ các nhận định đã đưa ra về cơ chế tác dụng và hoạt chất gây hạ glucose huyết của phân đoạn n-hexan nói riêng và dịch chiết toàn phần nói chung.

4.3. Về ảnh hưởng trên chuyển hóa glucose của hai phân đoạn dịch chiết

Nồng độ glucose trong máu có liên quan chặt chẽ đến các chuyển hóa trong cơ thể, đặc biệt là chuyển hóa của phân tử glucose. Do đó, một mục tiêu của luận án là tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng trên các yếu tố chuyển hóa glucose của hai phân đoạn dịch chiết lá BLN đã được xác định là có tác dụng hạ glucose huyết để làm sáng tỏ một phần cơ chế tác dụng của lá BLN trong điều trị ĐTĐ.

4.3.1. Về ảnh hưởng trên hàm lượng glycogen gan sau khi uống dung dịch glucose

Theo kết quả bảng 3.8, hàm lượng glycogen gan của lô tiêm STZ liều 150 mg/kg giảm gần 80% so với bình thường. Trên mô hình rối loạn chuyển hóa bởi STZ, cả phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan sau khi dùng liên tục trong vòng 10 ngày đều làm tăng rõ rệt hàm lượng glycogen gan ($p < 0,05$). Trong thí nghiệm này, chuột được cho nhịn đói 12 giờ, tại thời điểm đó, hàm lượng glycogen gan khi định lượng hầu như không đáng kể do glycogen đã được thoái hóa để cung cấp glucose nhằm duy trì nồng độ glucose hằng định trong máu. Do đó, tiến hành so sánh lượng glycogen gan một giờ sau khi uống dung dịch glucose 25% (5g/kg). Như vậy, sự thay đổi hàm lượng glycogen gan giữa các lô chủ yếu là sự khác biệt về số lượng glycogen tổng hợp tại gan từ nguồn glucose ngoại sinh. Sự tăng hàm lượng glycogen ở 2 lô uống phân đoạn dịch chiết chứng tỏ có sự gia tăng tổng hợp glycogen ở gan dưới tác dụng của các phân đoạn dịch chiết lá BLN. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra tanin và triterpen là 2 nhóm hoạt chất của lá BLN có tác dụng hoạt hóa receptor của insulin và tăng cường tác dụng của insulin ở mô đích. Rất có thể tác dụng làm tăng dự trữ glycogen là do các hoạt chất của lá BLN làm tăng

cường tác dụng của insulin ở mô đích, qua đó gián tiếp hoạt hóa glycogen synthase ở gan.

4.3.2. Về ảnh hưởng trên hoạt độ các enzym tân tạo đường của gan

Cùng với quá trình thoái hóa glycogen, tân tạo đường là nguồn cung cấp glucose nội sinh quan trọng của cơ thể. F1,6BPase là enzym xúc tác phản ứng đường vòng số 2 trong con đường tân tạo đường. Theo kết quả trong bảng 3.6, sau khi tiêm STZ (150 mg/kg) hoạt độ F1,6BPase tăng 44% so với bình thường. Phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan sau 10 ngày cho chuột uống liên tục đã làm phục hồi hoạt độ F1,6BPase về mức tương đương với lô chuột bình thường. Cho đến nay, trên thế giới chưa có công bố nào về tác dụng của lá BLN lên hoạt tính F1,6BPase ở gan. Nghiên cứu của Yamada cho thấy acid corosolic của lá BLN làm tăng tổng hợp F2,6BP ở tế bào gan chuột. F2,6BP là chất điều hòa dị lập thể quan trọng nhất của F1,6BPase, có khả năng ức chế hoạt động của enzym này. Tác động làm tăng tổng hợp F2,6BP ở tế bào gan của acid corosolic sẽ dẫn đến sự giảm hoạt động của F1,6BPase. Kết quả về sự giảm hoạt độ F1,6BPase có thể do tác động trực tiếp lên enzym này hoặc gián tiếp thông qua tác động tăng tổng hợp F2,6BP theo như ghi nhận của Yamada.

Bên cạnh F1,6BPase, G6Pase cũng là một enzym chủ chốt quyết định tốc độ của con đường tân tạo đường. Đây là enzym xúc tác phản ứng đường vòng thứ 3 của quá trình tân tạo đường. Kết quả trong bảng 3.7 cho thấy, sau khi tiêm STZ, hoạt độ G6Pase tăng 40%. Sự tăng hoạt tính G6Pase cũng được ghi nhận trong các mô hình ĐTD thực nghiệm trên thế giới. Trong nghiên cứu này, 2 phân đoạn dịch chiết lá BLN đều làm giảm hoạt độ G6Pase có ý nghĩa thống kê so với lô không được dùng thuốc. Một nghiên cứu về tác dụng của dịch chiết lá BLN trên hoạt tính G6Pase ở thận của chuột ĐTD typ 2 di truyền chủng C57BL/KsJ cũng ghi nhận sự giảm hoạt tính G6Pase so với lô chứng. Nghiên cứu của Yamada về tác dụng *in vitro* của acid corosolic trên hoạt tính G6Pase ở tế bào gan chuột không phát hiện sự thay đổi hoạt tính G6Pase so

với lô chứng. Như vậy, tác dụng ức chế G6Pase *in vivo* của 2 phân đoạn dịch chiết lá BLN có thể do một hay nhiều hoạt chất khác ngoài acid corosolic

4.3.3. Về ảnh hưởng trên hoạt độ enzym đường phân của gan

Hexokinase (HK) là enzym xúc tác cho phản ứng khởi đầu quan trọng của các con đường thoái hóa glucose trong tế bào. Theo kết quả bảng 3.8, chuột tăng glucose huyết bởi STZ (150 mg/kg) có hoạt tính HK ở gan giảm rõ rệt so với chuột bình thường ($p < 0,001$). Như vậy, kết quả này phù hợp với lý thuyết về sự thiếu hụt insulin gây mất kiểm soát các yếu tố điều hòa chuyển hóa. 2 phân đoạn dịch chiết lá BLN đều có tác dụng làm tăng hoạt tính HK có ý nghĩa so với lô chuột không điều trị ($p < 0,01$). Hoạt độ HK ở cả 2 lô thử tăng lên 71% tức là gần phục hồi về mức bình thường. Sự tăng hoạt tính HK dẫn đến sự tăng tiêu thụ glucose trong tế bào gan, góp phần làm giảm nồng độ glucose trong máu.

4.4. Bàn luận chung

Mặc dù ở nhiều nước trên thế giới, Bằng lăng nước đã được nghiên cứu và sử dụng trong điều trị ĐTĐ nhưng đây là lần đầu tiên có một nghiên cứu tương đối có hệ thống về tác dụng hạ glucose huyết và thành phần hóa học của Bằng lăng nước di thực và trồng tại Việt Nam.

Các kết quả nghiên cứu của luận án đã cho thấy dịch chiết lá BLN có tác dụng làm giảm glucose huyết ở chuột bình thường và chuột tăng glucose huyết thực nghiệm. Đặc biệt dược liệu này có triển vọng là một thuốc điều trị ĐTĐ typ 2 hiệu quả do khả năng làm giảm nồng độ glucose huyết và các chỉ số lipid máu ở chuột cống mang các rối loạn chuyển hóa tương tự như ĐTĐ typ 2 ở người.

Từ phân đoạn n-hexan, một trong hai phân đoạn dịch chiết có khả năng gây hạ glucose huyết của lá BLN, đã phân lập được acid corosolic, hoạt chất đã được khẳng định trong nhiều nghiên cứu trên thế giới là thành phần quan trọng mang lại tác dụng hạ glucose huyết của lá BLN. Ngoài ra, phân đoạn này còn chứa acid ursolic, một hoạt chất có trong một số dược liệu dùng để

điều trị ĐTĐ typ 2 với khả năng làm giảm lipid máu và cải thiện đáp ứng của mô đích với insulin. Từ một phân đoạn gây hạ glucose huyết khác là phân đoạn nước, đã phân lập được hai chất mới phát hiện lần đầu tiên từ lá BLN, đó là hai dẫn chất glucosid của kaempferol. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của dịch chiết toàn phần và hai phân đoạn dịch chiết gây hạ glucose huyết đã góp phần làm sáng tỏ sự liên quan giữa thành phần hóa học và tác dụng hạ glucose huyết của BLN.

Các kết quả nghiên cứu trên chuyển hóa glucose cho thấy dịch chiết lá BLN có tác dụng tăng glycogen dự trữ ở gan, ức chế tân tạo đường và hoạt hóa quá trình đường phân. Đây là nghiên cứu đầu tiên đánh giá một cách tương đối toàn diện tác động lên các mặt chuyển hóa glucose của lá BLN. Các kết quả nghiên cứu của luận án bổ sung thêm cho những cơ chế tác dụng dẫn đến sự hạ glucose huyết của lá BLN đã được phát hiện trên thế giới.

Tóm lại, các kết quả nghiên cứu của luận án đã góp phần tạo cơ sở khoa học cho việc sử dụng lá BLN, một nguồn nguyên liệu rất sẵn có ở Việt Nam trong điều trị ĐTĐ, bổ sung thêm một thuốc điều trị ĐTĐ hiệu quả và giá thành hợp lý cho người dân Việt Nam.

KẾT LUẬN

1/ Dịch chiết lá BLN có tác dụng hạ glucose huyết trên chuột bình thường và chuột tăng glucose huyết thực nghiệm

- Dịch chiết lá BLN với liều tương đương 18,2 g dược liệu khô/kg đã làm giảm glucose huyết trên chuột nhất bình thường, chuột nhất tăng glucose huyết do STZ và hạn chế sự tăng glucose huyết ở chuột nhất tiêm adrenalin

- Dịch chiết lá BLN với liều tương đương 10 g dược liệu khô/kg đã làm giảm glucose huyết, TG, TC huyết thanh của chuột cống ĐTĐ typ 2, tuy nhiên không làm thay đổi rõ rệt trọng lượng cơ thể, nồng độ insulin huyết thanh và tình trạng mô tụy trên tiêu bản vi phẫu.

2/ Trong các phân đoạn dịch chiết lá BLN, phân đoạn n-hexan và phân đoạn nước gây hạ glucose huyết trên chuột nhất bình thường và trên chuột nhất tăng glucose huyết bởi STZ

3/ Ảnh hưởng trên chuyển hóa glucose của hai phân đoạn gây hạ glucose huyết

- Phân đoạn nước và phân đoạn n-hexan làm tăng hàm lượng glycogen ở gan chuột sau khi uống dung dịch glucose, làm giảm hoạt độ các enzym tân tạo glucose là G6Pase và F1,6BPase ở gan chuột tiêm STZ, làm tăng hoạt độ HK, enzym đường phân ở gan chuột tiêm STZ.

4/ Thành phần hóa học của hai phân đoạn gây hạ glucose huyết

- Phân đoạn n-hexan có thành phần chủ yếu là saponin, trong đó đã phân lập được hai chất là acid corosolic và acid ursolic

- Phân đoạn nước bao gồm saponin, flavonoid và tanin, trong đó đã phân lập được hai chất là kaempferol 3-rutinoside và kaempferol 3-2"-glucosylrutinoside. Đây là công bố đầu tiên về sự có mặt của 2 dẫn chất này trong lá BLN.

ĐỀ XUẤT

- Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của dịch chiết lá BLN

- Nghiên cứu dạng bào chế thích hợp với thành phần từ lá BLN để sử dụng cho bệnh nhân ĐTĐ

- Đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của các hoạt chất phân lập được.