

ANTIOXIDANT, ANTIHYPERGLYCAEMIC AND ANTIHYPERLIPIDEMIC ACTIVITIES OF DRIED EXTRACT FROM OF GRAPEFRUIT (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) PEEL IN ALLOXAN-INDUCED DIABETIC MICE

Trinh Thi Hong Ngoc¹, Tran Chi Linh², Luu Thai Quan³, Ngo Anh Duc³

Phan Minh Tu³, Do Thi Hong Xuyen³, Nguyen Ngoc Quynh^{3*}

¹Bac Lieu City Medical Center, ²Can Tho University, ³Can Tho University of Medicine and Pharmacy

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 21/6/2022	The present study was aimed to evaluate the <i>in vitro</i> antidiabetic (α -glucosidase inhibition assay) and antioxidant (DPPH scavenging and ferric reducing-antioxidant power) activities of dried extract from pomelo peel. The <i>in vivo</i> antihyperglycaemic and antihyperlipidemic activities of dried extract from pomelo peel were performed in alloxan monohydrate-induced diabetic mice. The dried extract from pomelo peel has the ability to inhibit the enzyme α -glucosidase, and possess the antioxidant activity. Administrations of dried extract from pomelo peel at 100, 200 and 400 mg/kg doses to AM-induced diabetic mice resulted in significant decrease ($p < 0.05$) in blood glucose, triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol and VLDL-cholesterol levels in the serum of the extract administered groups as compared to diabetic control group. The levels of HDL-cholesterol in the serum along with body mass were found to be ameliorated in diabetic mice treated dried extract from pomelo peel. These results demonstrated the beneficial effect of dried extract from pomelo peel in controlling hyperglycaemia and ameliorating oxidative stress associated complications associated with diabetes.
Revised: 14/7/2022	
Published: 14/7/2022	
KEYWORDS	
Antidiabetic	
Antioxidant	
Antihyperlipidemic	
Blood glucose	
α -Glucosidase	

CÁC HOẠT ĐỘNG CHỐNG OXY HÓA, HẠ GLUCOSE HUYẾT VÀ HẠ LIPID HUYẾT CỦA CAO KHÔ VỎ BƯỞI (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) Ở CHUỘT ĐÁI THÁO ĐƯỜNG BỞI ALLOXAN MONOHYDRATE

Trịnh Thị Hồng Ngọc¹, Trần Chí Linh², Lưu Thái Quân³, Ngô Anh Đức³

Phan Minh Tú³, Đỗ Thị Hồng Xuyên³, Nguyễn Ngọc Quỳnh^{3*}

¹Trung tâm y tế thành phố Bạc Liêu, ²Trường Đại học Cần Thơ, ³Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 21/6/2022	Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá hoạt động chống đái tháo đường (ức chế α -glucosidase) và chống oxy hóa (trung hòa gốc tự do DPPH; tiềm năng khử sắt) <i>in vitro</i> của cao khô vỏ bưởi Năm Roi. Các hoạt động chống tăng glucose huyết và hạ lipid máu <i>in vivo</i> của cao khô vỏ bưởi Năm Roi ở chuột đái tháo đường do alloxan monohydrate gây ra đã được thực hiện. Cao khô vỏ bưởi Năm Roi có khả năng ức chế enzym α -glucosidase và chống oxy hóa. cao khô vỏ bưởi Năm Roi được sử dụng ở liều lượng thích hợp 100, 200 và 400 mg/kg cho chuột đái tháo đường do alloxan monohydrate làm giảm đáng kể ($p < 0,05$) hàm lượng glucose huyết, triglycerid, cholesterol toàn phần, LDL-cholesterol và VLDL-cholesterol trong huyết thanh của nhóm chuột sử dụng cao khô vỏ bưởi Năm Roi so với nhóm kiểm soát bệnh đái tháo đường. Nồng độ HDL-cholesterol trong huyết thanh cùng với khối lượng cơ thể đã được cải thiện ở những con chuột đái tháo đường được điều trị bằng alloxan monohydrate. Những kết quả này đã chứng minh tác dụng có lợi của cao khô vỏ bưởi Năm Roi trong việc kiểm soát tăng glucose huyết và cải thiện các biến chứng liên quan đến bệnh đái tháo đường.
Ngày hoàn thiện: 14/7/2022	
Ngày đăng: 14/7/2022	
TỪ KHÓA	
Chống đái tháo đường	
Chống oxy hóa	
Hạ lipid huyết	
Glucose huyết	
α -Glucosidase	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6202>

* Corresponding author. Email: nnquynh@ctump.edu.vn

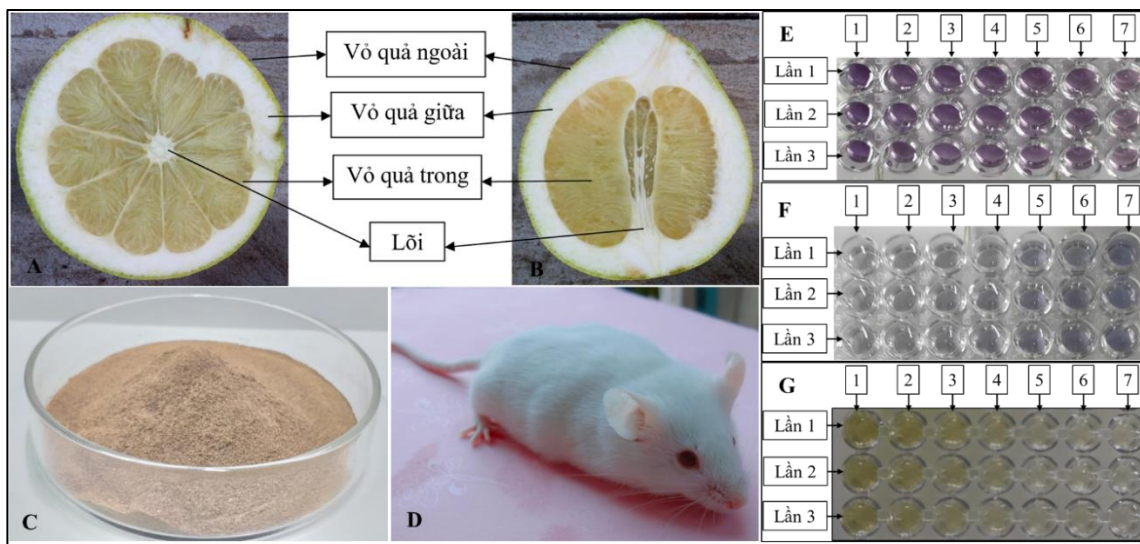
1. Giới thiệu

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) là một bệnh mạn tính do sự tăng glucose huyết, rối loạn chuyển hóa lipid, carbohydrate và protein do không thể đáp ứng insulin [1]. Ở bệnh nhân ĐTĐ, sự hiện diện mạn tính của glucose trong máu cao sẽ dẫn đến tăng cường sản xuất các loại oxy phản ứng (Reactive Oxygen Species, ROS) từ quá trình glycation protein và quá trình tự oxy hóa glucose gây nên hiện tượng stress oxy hóa [2]. Ngoài ra, rối loạn lipid huyết thường có mối quan hệ mật thiết với ĐTĐ. Rối loạn lipid huyết là một trong những nguyên nhân chính gây bệnh tim mạch và tử vong ở bệnh nhân mắc ĐTĐ [3]. Các nghiên cứu dịch tễ học và các thử nghiệm lâm sàng đã chứng minh việc kiểm soát tốt hàm lượng glucose huyết và lipid huyết ở bệnh nhân ĐTĐ góp phần làm giảm các biến chứng và tỷ lệ tử vong liên quan [4]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy các hoạt chất trong thực vật có khả năng hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết ở bệnh nhân ĐTĐ và có đặc tính kháng oxy hóa mạnh [5], [6]. Do đó, nghiên cứu các loài thực vật chứa chất kháng oxy hóa có thể cung cấp một liệu pháp an toàn để kiểm soát hiệu quả hàm lượng glucose huyết và lipid huyết.

Cây bưởi được trồng rộng rãi ở nhiều quốc gia vì có hàm lượng dinh dưỡng cao và có hoạt tính sinh học. Trong y học cổ truyền, các bộ phận khác nhau của cây bưởi bao gồm lá, cùi và vỏ được sử dụng phổ biến bởi có tiềm năng chữa bệnh và an toàn cho con người [7]. Nhiều nghiên cứu cho thấy, cây bưởi có các đặc tính kháng khuẩn, chống oxy hóa [8], chống viêm [9], chống ung thư [10], chống động kinh, bổ dạ dày, kích thích tim, thải độc tế bào, bảo vệ gan [11], bảo vệ thận [12] và các hoạt động hỗ trợ điều trị bệnh ĐTĐ, điều hòa lipid huyết [13]. Cây bưởi sở hữu nhiều hoạt tính sinh học quý do sự hiện diện của các hợp chất như flavonoid, polyphenol, coumarin, limonoid, acridone alkaloid, tinh dầu và vitamin [7]. Nghiên cứu được thực hiện nhằm góp phần tái sử dụng vỏ bưởi Năm Roi và ứng dụng cao khô vỏ bưởi Năm Roi (CKVBNR) trong y tế, nâng cao khả năng phòng và điều trị bệnh.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu



Hình 1. Một số hình ảnh trong nghiên cứu

Ghi chú: A là mặt cắt ngang quả bưởi; B là mặt cắt dọc quả bưởi; C là cao khô vỏ bưởi Năm Roi; D là chuột nhắt trắng (*Mus musculus* var. *Albino*); E là thử nghiệm DPPH với các giếng từ 1 đến 7 tương ứng với nồng độ CKVBNR từ 0 đến 100 µg/mL; F là thử nghiệm FRAP với các giếng từ 1 đến 7 tương ứng với nồng độ CKVBNR từ 0 đến 500 µg/mL; G là thử nghiệm DPPH với các giếng từ 1 đến 7 tương ứng với nồng độ CKVBNR từ 0 đến 600 µg/mL.

Cao khô vỏ bưởi Năm Roi (CKVBNR) được cung cấp bởi Liên bộ môn Dược liệu - Dược cổ truyền - Thực vật dược, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ. Bưởi Năm Roi (Hình 1A và 1B) ở huyện Phong Điền, thành phố Cần Thơ sau khi thu về được rửa sạch, loại bỏ phần vỏ xanh và thu lấy phần vỏ trắng bên trong. Sau đó, vỏ bưởi (10 kg) được thái lát mỏng đem phơi gió ở nhiệt độ phòng trong 14 ngày và xay nhuyễn thu được 3 kg bột. Bột vỏ bưởi Năm Roi (100 g) được ngâm đậm không khuấy từ trong ethanol 70% (v/v) ở 70°C trong 120 phút với tỷ lệ nguyên liệu/ dung môi là 1/14 (w/v). Mẫu được ngâm 3 lần, dịch chiết từ các lần ngâm được gom lại, cô đuổi dung môi thu được 31,04 g cao đặc vỏ bưởi Năm Roi có độ ẩm là 14,60%. Sau đó, cao đặc vỏ bưởi Năm Roi được trộn với tá dược hút lactose với tỷ lệ là 1/4 (1 cao/ 4 tá dược) thu được 155,20 g CKVBNR dùng cho nghiên cứu. CKVBNR (Hình 1C) ở trạng thái bột khô tơi, màu nâu, có mùi thơm đặc trưng của dược liệu, vị đắng và mất khối lượng do làm khô là 1,23%. CKVBNR sau khi được kiểm tra độ nhiễm khuẩn tại trung tâm kỹ thuật tiêu chuẩn đo lường chất lượng Cần Thơ cho thấy âm tính với các chỉ tiêu về tổng số vi sinh vật hiếu khí, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. CKVBNR có sự hiện diện của polyphenol và flavonoid.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính trung hòa gốc tự do DPPH của CKVBNR được thực hiện theo mô tả của Sharma & Bhat (2009) có điều chỉnh cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm [14]. Khả năng trung hòa gốc tự do DPPH của CKVBNR được thực hiện bằng cách cho 40 μ L DPPH (1000 μ g/mL) phản ứng với 960 μ L CKVBNR. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối 30°C trong thời gian 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ của DPPH ở bước sóng 517 nm.

Tiềm năng khử của CKVBNR được xác định theo mô tả của Benzie & Strain (1996) có hiệu chỉnh [15]. Nguyên tắc của phương pháp này dựa trên việc giảm phức hợp ferric-tripyridyltriazine. CKVBNR ở các nồng độ khác nhau (10 μ L) được cho phản ứng với dung dịch FRAP (990 μ L) trong 30 phút trong điều kiện tối. Độ hấp thụ quang phổ được xác định ở bước sóng 593 nm.

Trolox được sử dụng làm chất đối chứng dương ở cả 2 phương pháp chống oxy hóa. Hiệu xuất chống oxy hóa, độ hấp thụ quang phổ và nồng độ trung hòa 50% gốc tự do (the half maximal effective concentration, EC₅₀) ở 2 phương pháp chống oxy hóa được xác định theo mô tả của Khorasani và cộng sự (2015) [16].

2.2.2. Khảo sát khả năng ức chế enzyme α -glucosidase

Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của CKVBNR được xác định theo mô tả của Chipiti và cộng sự (2015) [17] có điều chỉnh. CKVBNR (250 μ L) ở các nồng độ khác nhau được ủ với 500 μ L enzyme α -glucosidase 1 U/mL (pha trong đệm phosphate 100 mM; pH=6,8) ở 37°C trong 15 phút. Sau đó, 250 μ L dung dịch 4-nitrophenyl-D-glucopyranoside 5 mM (pha trong đệm phosphate 100 mM; pH=6,8) được thêm vào và hỗn hợp này được ủ tiếp ở 37°C trong 20 phút. Độ hấp thụ quang phổ của p-nitrophenol giải phóng sau phản ứng được đo ở bước sóng 405 nm.

Khả năng ức chế hoạt tính enzyme α -glucosidase được đánh giá dựa vào hiệu suất ức chế (%) và nồng độ (μ g/mL) ức chế 50% hoạt tính của enzyme (EC₅₀) theo mô tả của Mohamed và cộng sự (2012) [18]. Bên cạnh đó, hoạt tính ức chế α -glucosidase của CKVBNR còn được so sánh với tinh chất acarbose.

2.2.3. Đánh giá tác động hạ glucose huyết và điều hòa lipid huyết

Chuột nhắt trắng (*Mus musculus* var. Albino, Hình 1D) giống đực có khối lượng trung bình từ 30-35 g được lưu giữ và chăm sóc trong chuồng kính có kích thước 25 $\times$ 20 $\times$ 15 cm ở nhiệt độ phòng và điều kiện chiếu sáng 12/12 giờ. Chuột thí nghiệm được cho uống nước cất và ăn đầy đủ dinh dưỡng bằng thức ăn của viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh cung cấp. Chuột thí nghiệm nhịn đói trong thời gian 12 giờ (được cho uống nước bình thường). Sau đó, chuột được tiến hành

lấy máu ở tĩnh mạch đuôi để xác định hàm lượng glucose huyết. Hợp chất alloxan monohydrate (AM) liều 135 mg/kg khối lượng chuột được pha riêng trong dung dịch nước muối sinh lý 0,9% lạnh cho từng đối tượng thí nghiệm với thể tích tối đa là 0,2 mL. Nếu glucose huyết chuột đạt giá trị glucose huyết bình thường (<250 mg/dL) thì tiến hành tiêm AM vào phúc mạc mỗi ngày một lần trong 3 ngày để gây tăng glucose huyết. Sau 48 giờ ủ bệnh, chuột được kiểm tra glucose huyết lúc đói. Chuột có hàm lượng glucose huyết từ >250 mg/dL được xem là bệnh ĐTĐ và chọn đưa vào trong nghiên cứu [19]. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 6 lô thí nghiệm, mỗi lô thức gồm 6 con chuột, cụ thể như sau: Chuột bình thường uống nước cất (đối chứng sinh lý); Chuột ĐTĐ không được điều trị (đối chứng bệnh lý); Chuột ĐTĐ được điều trị bằng Glucophage liều 108 mg/kg/lần $\times$ 2 lần/ngày (đối chứng dương); Chuột ĐTĐ được điều trị bằng CKVBNR lần lượt ở các liều 100, 200 và 400 mg/kg/lần $\times$ 2 lần/ngày.

Nghiên cứu sử dụng thuốc thương mại Glucophage 500 mg với thành phần chính là meformine chlohydrate 500 mg/viên là thuốc đối chiếu. Glucophage được chỉ định trong điều trị bệnh đái tháo đường type 2 và được chứng minh có hiệu quả trong việc giảm cholesterol toàn phần, LDL cholesterol và triglyceride. Liều sử dụng trong thí nghiệm dựa trên liều điều trị trên người $\times 12$ [20]. Theo nghiên cứu trước đó, bệnh nhân đái tháo đường uống Glucophage với liều 500 mg/ người (trung bình người cân nặng khoảng 55 kg) và 2 lần/ngày. Do đó, nghiên cứu đã tính liều Glucophage và điều trị chuột bệnh đái tháo đường 2 lần/ngày (500 mg/55 $\times$ 12 tương đương khoảng 108-109 mg/kg) [21].

Hàm lượng glucose huyết và khối lượng chuột được khảo sát ở các ngày 0, 7, 14 và 21 của thí nghiệm. Sau 21 ngày điều trị, chuột được giải phẫu, máu ở tim chuột được thu để xét nghiệm chỉ tiêu hoá sinh về hàm lượng lipid huyết gồm cholesterol, triglycerid, HDL cholesterol và LDL cholesterol bằng phương pháp đo hóa sinh bằng máy bán tự động Erba CHEM-7 (Erba, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tại phòng xét nghiệm Quang Minh (Khóm 5, phường Thành Phước, thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long). Hàm lượng VLDL cholesterol được tính dựa trên công thức của Friedewald's là VLDL cholesterol = TG/5 [22].

2.2.4. Xử lý và phân tích số liệu

Các số liệu được trình bày dưới dạng Mean $\pm$ Stdev và phân tích thống kê bằng phần mềm Minitab 16, kiểm định Tukey's (ANOVA). Các biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Hoạt tính chống oxy hóa và ức chế enzyme α -glucosidase

Hiệu suất trung hòa gốc tự do DPPH của CKVBNR dao động từ $16,03\pm 1,12\%$ ở nồng độ 10 μ g/mL đến $67,30\pm 0,74\%$ ở nồng độ 100 μ g/mL được minh họa trong Hình 1E và Bảng 1. Nồng độ trung hòa 50% lượng gốc tự do DPPH của CKVBNR là $68,49\pm 1,19$ μ g/mL. CKVBNR có hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH yếu hơn trolox ($EC_{50}=0,97\pm 0,03$ μ g/mL) 70,61 lần. Tiềm năng khử của CKVBNR được khảo sát ở nồng độ 10 đến 500 μ g/mL cho giá trị độ hấp thụ quang phổ tăng từ $0,10\pm 0,01$ đến $0,79\pm 0,01$ được mô tả trong Hình 1F và Bảng 1. Độ hấp thụ quang phổ 0,5 ($Abs_{0,5}$) của CKVBNR được xác định ở nồng độ $293,73\pm 3,93$ μ g/mL. Trolox ($Abs_{0,5}=4,38\pm 0,01$ μ g/mL) có tiềm năng khử sắt mạnh hơn CKVBNR là 67,06 lần. CKVBNR có khả năng ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase từ $13,43\pm 0,91\%$ ở nồng độ 100 μ g/mL đến $63,47\pm 1,26\%$ ở nồng độ 600 μ g/mL được trình bày trong Bảng 1 và Hình 1G. CKVBNR ức chế được 50% sự hoạt động của enzyme α -glucosidase ở nồng độ $460,20\pm 0,24$ μ g/mL, yếu hơn acarbose ($EC_{50}=9,24\pm 0,14$ μ g/mL) 49,81 lần. CKVBNR có khả năng ức chế được hoạt động của enzyme α -glucosidase, do đó có tiềm năng trong việc hỗ trợ điều trị ĐTĐ. Ngày càng có nhiều hướng tiếp cận điều trị ĐTĐ bằng cách ức chế hoạt động của α -glucosidase trong quá trình tiêu hóa thức ăn, giảm tốc độ tiêu thụ carbohydrate của cơ thể [23]. Bên cạnh đó, hoạt tính chống oxy hóa và ức chế enzyme α -glucosidase có mối quan hệ mật thiết với nhau bởi vì một số nghiên cứu cho thấy các chất có khả năng chống oxy hóa thường sở hữu khả năng ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase [24]. Trong nghiên cứu của Jittarawadee và cộng sự (2020) cho thấy trong

vỏ quả bưởi có chứa polyphenol và flavonoid với hàm lượng lần lượt là 6,89 mg GAE/g chất chiết thô và 84 mg CE/g chất chiết thô [25]. Polyphenol và flavonoid được biết đến là những hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học quan trọng đối với sức khỏe con người, đặc biệt là khả năng chống oxy hóa và các ức chế enzyme điều chuyển hóa carbohydrate [26], [27]. Do đó, CKVBNR có khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme α -glucosidase là do hoạt động của các hợp chất chuyển hóa thứ cấp thuộc nhóm polyphenol và flavonoid.

Bảng 1. Hoạt tính chống oxy hóa và ức chế enzyme α -glucosidase của CKVBNR

DPPH		FRAP		Enzyme α -glucosidase	
Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Hiệu suất (%)	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Độ hấp thu quang phổ	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Hiệu suất ức chế (%)
10	16,03 ^f ±1,12	10	0,10 ^f ±0,01	100	13,43 ^f ±0,91
20	21,24 ^e ±0,69	100	0,23 ^e ±0,01	200	19,76 ^e ±0,39
40	35,00 ^d ±1,01	200	0,38 ^d ±0,00	300	34,83 ^d ±1,11
60	46,39 ^c ±0,97	300	0,54 ^c ±0,01	400	46,59 ^c ±0,57
80	56,90 ^b ±0,74	400	0,67 ^b ±0,00	500	53,31 ^b ±1,03
100	67,30 ^a ±0,74	500	0,79 ^a ±0,01	600	63,47 ^a ±1,26
Mẫu thử		Giá trị EC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Giá trị Abs _{0,5} ($\mu\text{g/mL}$)	Giá trị EC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	
		DPPH	FRAP	Enzyme α -glucosidase	
CKVBNR		68,49 ^a ±1,19	293,73 ^a ±3,93	460,20 ^a ±0,24	
Trolox		0,97 ^b ±0,03	4,38 ^b ±0,01	9,24 ^b ±0,14	

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái thường (a, b, c, d, e, f) theo sau trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$).

3.2. Hiệu quả hạ glucose huyết và điều hòa lipid huyết

Aloxan monohydrate được sử dụng trong nghiên cứu này để gây ĐTD là do sự chuyển đổi sinh học thành dialuric acid với sự tạo ra các gốc tự do kèm theo [28] và sau đó phá hủy một phần tế bào β của tiểu đảo Langerhans [29]. Điều này làm giảm hàm lượng insulin dẫn đến ĐTD type 2 [30]. Ngoài ra, sự thiếu hụt insulin dẫn đến kích thích phân giải lipid trong các mô mỡ và làm tăng lipid huyết [31]. Chuột bình thường được chọn trong nghiên cứu có khối lượng ban đầu trung bình từ 31,67±1,00 đến 33,97±0,75 g (Bảng 2). Hàm lượng glucose huyết của chuột bình thường dùng trong nghiên cứu ban đầu nằm trong khoảng từ 109,20±5,88 đến 115,80±3,35 mg/dL (Bảng 3). Sau khi tiêm AM, chuột có sự giảm khối lượng còn khoảng từ 26,33±0,61 đến 28,80±1,08 g và hàm lượng glucose huyết tăng lên khoảng từ 219,90±10,52 đến 263,40±10,72 mg/dL. Nhiều nghiên cứu về bệnh ĐTD trên mô hình động vật cho thấy sụt cân và tăng hàm lượng glucose huyết là dấu hiệu điển hình của bệnh ĐTD [30]. Các hình ảnh đại diện về hình thái của các nhóm chuột được trình bày trong Hình 2. Khối lượng của chuột bệnh ĐTD trước và sau điều trị bằng Glucophage hoặc CKVBNR được trình bày trong Bảng 2. Những con chuột mắc bệnh ĐTD không được điều trị có cơ thể hốc hác so với nhóm chuột được điều trị bằng Glucophage liều 108 mg/kg và CKVBNR (liều 100, 200 và 400 mg/kg). Cụ thể, nhóm chuột được điều trị bằng Glucophage có khối lượng đạt 31,22±1,02 g sau 21 ngày điều trị, tăng 4,89 g so với lúc bị bệnh ĐTD chưa được uống Glucophage và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Chuột bệnh ĐTD được điều trị bằng CKVBNR ở liều 100 mg/kg sau 21 ngày điều trị có khối lượng giảm 3,27 g, ở liều 200 mg/kg tăng 1,04 g và ở liều 400 mg/kg tăng 1,99 g so với các nhóm chuột tương ứng sau khi gây bệnh.

Bảng 2. Khối lượng chuột trong quá trình điều trị

Thí nghiệm	Trước khi gây bệnh	Khối lượng của chuột sau khi gây bệnh và điều trị (mg/dL)			
		Sau khi gây bệnh	Điều trị 7 ngày	Điều trị 14 ngày	Điều trị 21 ngày
Bình thường	32,10 ^b ±1,04	32,85 ^a ±1,06	33,90 ^a ±1,09	35,15 ^a ±1,31	36,15 ^a ±1,18
ĐTD	31,67 ^b ±1,00	26,93 ^c ±1,09	24,98 ^c ±0,85	23,47 ^e ±0,73	20,57 ^e ±0,91
ĐTD, Glu	32,38 ^{ab} ±1,51	26,33 ^c ±0,61	27,67 ^b ±0,59	28,97 ^{bc} ±0,72	31,22 ^b ±1,02
ĐTD, CKVB 100	33,97 ^a ±0,75	28,80 ^b ±1,08	27,58 ^b ±1,24	26,38 ^d ±0,92	25,53 ^d ±0,99
ĐTD, CKVB 200	32,82 ^{ab} ±0,64	27,78 ^{bc} ±0,87	26,77 ^b ±0,93	27,83 ^{cd} ±0,51	28,82 ^c ±0,66
ĐTD, CKVB 400	32,35 ^{ab} ±0,44	27,22 ^{bc} ±0,74	27,87 ^b ±0,78	29,88 ^b ±1,21	31,87 ^b ±1,59

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái thường (a, b, c, d, e, f) theo sau trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$).

Tăng glucose huyết sau ăn là biểu hiện phổ biến ở bệnh ĐTĐ do tình trạng kháng insulin và phá hủy tế bào β ở tuyến tụy [32]. Do đó, hàm lượng glucose huyết của các nghiệm thức được ghi nhận cụ thể ở từng thời điểm khác nhau trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng glucose huyết của các nghiệm thức trong quá trình điều trị

Nghiệm thức	Trước khi gây bệnh	Hàm lượng glucose huyết của chuột sau khi gây bệnh và điều trị (mg/dL)			
		Sau khi gây bệnh	Điều trị 7 ngày	Điều trị 14 ngày	Điều trị 21 ngày
BT	109,20 ^a ±5,88	109,80 ^d ±6,24	108,90 ^d ±7,62	108,90 ^e ±6,00	109,20 ^e ±7,61
ĐTĐ	111,30 ^a ±5,85	219,90 ^c ±10,52	258,90 ^{bc} ±21,16	318,60 ^a ±17,60	393,60 ^a ±18,83
ĐTĐ+Glu	111,32 ^a ±6,54	221,70 ^c ±16,79	238,80 ^c ±13,41	200,40 ^{cd} ±10,84	160,80 ^{cd} ±9,84
ĐTĐ+CKVB 100	109,80 ^a ±6,64	263,40 ^a ±10,72	297,00 ^a ±18,00	316,20 ^b ±11,87	332,10 ^b ±12,14
ĐTĐ+CKVB 200	114,00 ^a ±6,10	249,00 ^{ab} ±8,10	272,70 ^{ab} ±10,23	252,30 ^c ±10,94	185,10 ^c ±17,28
ĐTĐ+CKVB 400	115,80 ^a ±3,35	242,70 ^b ±11,18	255,60 ^{bc} ±13,99	196,20 ^{de} ±21,24	136,20 ^{de} ±21,83

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái thường (a, b, c, d, e, f) theo sau trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$).

Chuột bệnh ĐTĐ được điều trị bằng CKVBNR ở liều 100, 200 và 400 mg/kg làm giảm đáng kể ($p < 0,05$) hàm lượng glucose huyết so với nhóm chuột bệnh ĐTĐ không được điều trị. Chuột mắc bệnh ĐTĐ không được điều trị có hàm lượng glucose huyết tăng dần theo thời gian (tăng đến 173,7 mg/dL, hàm lượng glucose huyết đạt 393,60±18,83 mg/dL ở ngày thứ 21). Ngược lại, chuột được điều trị bằng CKVBNR làm giảm hàm lượng glucose huyết về mức bình thường ở liều 200 mg/kg (185,10±17,28 mg/dL) và 400 mg/kg khối lượng chuột (136,20±21,83 mg/dL). Trong khi đó, CKVBNR liều 400 mg/kg đã làm cho hàm lượng glucose huyết giảm về mức tương đương với nhóm chuột bình thường, khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$). Do đó có thể nhận định rằng khả năng kiểm soát hàm lượng glucose huyết của CKVBNR phụ thuộc vào liều dùng. Glucophage liều 108 mg/kg có hiệu quả hạ glucose huyết tương đương với CKVBNR ở liều 200 mg/kg, nhưng kém hơn CKVBNR liều 400 mg/kg. Từ những phân tích trên có thể thấy, CKVBNR có hiệu quả kiểm soát glucose huyết và khối lượng ở chuột mắc bệnh ĐTĐ trở về tương đương chuột bình thường.

Rối loạn lipid huyết được đặc trưng bởi sự gia tăng hàm lượng triglycerid, cholesterol, LDL cholesterol và VLDL cholesterol và giảm hàm lượng HDL cholesterol. Rối loạn chuyển hóa lipid huyết là yếu tố quyết định quan trọng tình trạng của bệnh ĐTĐ và các biến chứng của bệnh. Rối loạn lipid huyết cũng làm tăng nguy cơ mắc bệnh tim mạch vành [33]. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả điều hòa lipid huyết của CKVBNR ở chuột mắc bệnh ĐTĐ và trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng lipid huyết của các nhóm chuột trong nghiên cứu

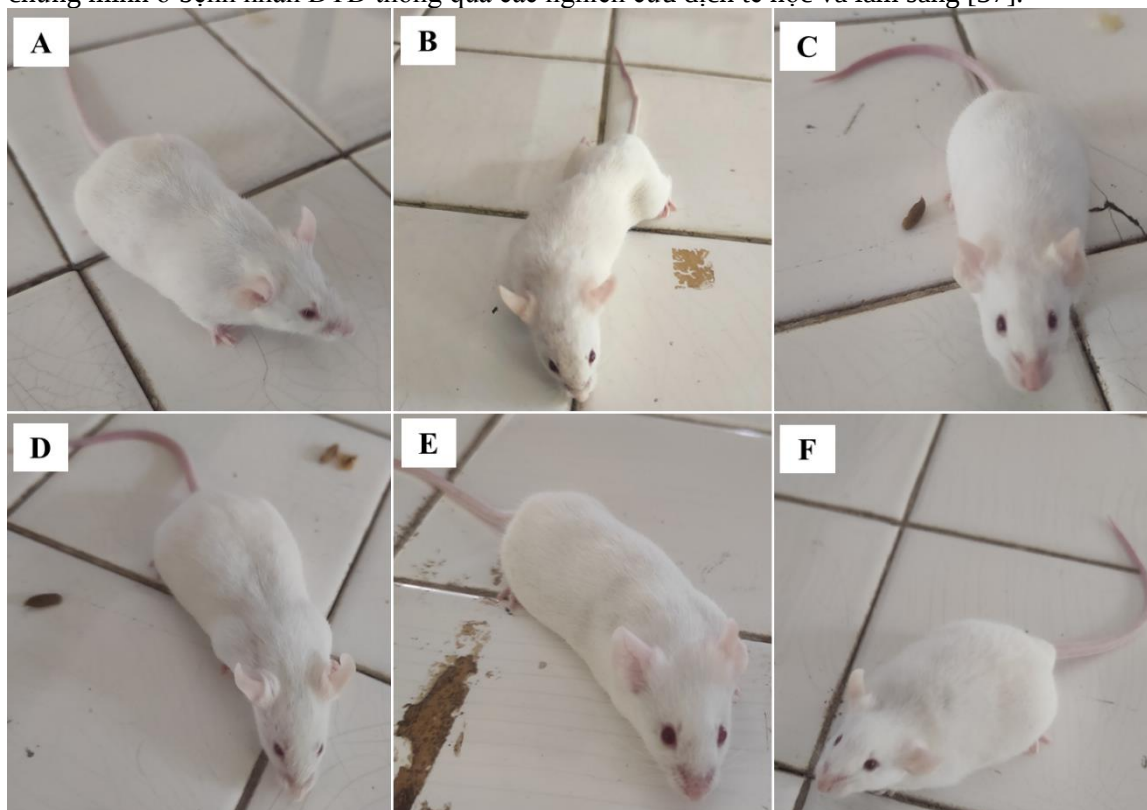
Nghiệm thức	Hàm lượng (mmol/L)				
	Cholesterol	Triglycerid	HDL cholesterol	LDL cholesterol	VLDL cholesterol
BT	1,95 ^b ±0,38	1,58 ^{bc} ±0,18	0,73 ^a ±0,18	2,85 ^b ±0,48	0,32 ^b ±0,04
ĐTĐ	6,92 ^a ±0,33	7,52 ^a ±0,27	0,27 ^b ±0,03	5,35 ^a ±0,78	1,50 ^b ±0,05
ĐTĐ+Glu	2,21 ^b ±0,26	0,92 ^{bc} ±0,51	0,78 ^a ±0,22	0,57 ^c ±0,51	0,18 ^b ±0,10
ĐTĐ+CKVB 100	2,42 ^b ±0,46	1,67 ^b ±0,48	0,74 ^a ±0,26	0,49 ^c ±0,13	0,33 ^b ±0,09
ĐTĐ+CKVB 200	2,34 ^b ±0,70	1,10 ^{bc} ±0,66	0,54 ^{ab} ±0,38	0,69 ^c ±0,29	0,22 ^b ±0,13
ĐTĐ+CKVB 400	1,94 ^b ±0,31	0,84 ^c ±0,49	0,55 ^{ab} ±0,26	0,56 ^c ±0,49	0,17 ^b ±0,09

Ghi chú: Các giá trị có các chữ cái thường (a, b, c, d, e, f) theo sau trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($p < 0,05$).

Kết quả trình bày trong Bảng 4 cho thấy hàm lượng cholesterol (6,92±0,33 mmol/L), triglyceride (7,52±0,27 mmol/L), LDL cholesterol (5,35±0,78 mmol/L) và VLDL cholesterol (1,50±0,05 mmol/L) ở chuột mắc bệnh ĐTĐ tăng đáng kể ($p < 0,05$), trong khi mức HDL cholesterol (0,27±0,03 mmol/L) giảm đáng kể so với chuột bình thường ($p < 0,05$). Sau khi dùng Glucophage và CKVBNR (liều 100, 200 và 400 mg/kg), hàm lượng lipid và lipoprotein ở chuột mắc bệnh ĐTĐ đã phục hồi đáng kể ($p < 0,05$). CKVBNR có tiềm năng trong việc cải thiện rối

loạn chuyển hóa lipid ở chuột ĐTD. Trong nghiên cứu này, hàm lượng cholesterol giảm từ $2,42 \pm 0,46$ mmol/L ở liều dùng 100 mg/kg xuống $1,94 \pm 0,31$ mmol/L ở liều 400 mg/kg. Nhóm chuột bệnh ĐTD được điều trị bằng CKVBNR có hàm lượng triglyceride giảm đáng kể theo liều cao chiết từ $1,67 \pm 0,48$ mmol/L (liều 100 mg/kg khối lượng chuột) xuống $0,84 \pm 0,49$ mmol/L (liều 400 mg/kg khối lượng chuột). CKVBNR đã làm giảm hàm lượng LDL cholesterol và VLDL cholesterol về mức bình thường. Không những thế, CKVBNR còn có khả năng làm gia tăng hàm lượng cholesterol có lợi là HDL cholesterol nhiều hơn và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với nhóm chuột ĐTD không được điều trị.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng HDL cholesterol, có thể hoạt động như một chất kháng oxy hóa thúc đẩy cholesterol và triglycerid từ các mô ngoại biên đến gan để phân giải. Ngược lại, LDL cholesterol và VLDL cholesterol dư thừa có thể lắng đọng trong thành mạch máu, dẫn đến sự hình thành các tổn thương mảng xơ vữa động mạch [34], [35]. Do đó, hàm lượng HDL cholesterol thấp, LDL cholesterol và VLDL cholesterol cao rất nguy hiểm cho chuột. Sự gia tăng hàm lượng cholesterol, triglycerid, LDL cholesterol, VLDL cholesterol và giảm hàm lượng HDL cholesterol góp phần làm tăng nguy cơ phát triển các bệnh tim mạch ở bệnh nhân ĐTD [36]. Mối liên quan giữa hàm lượng HDL cholesterol thấp và tăng nguy cơ mắc bệnh tim mạch đã được chứng minh ở bệnh nhân ĐTD thông qua các nghiên cứu dịch tễ học và lâm sàng [37].



Hình 2. Chuột ở các nghiệm thức sau 21 ngày điều trị

Ghi chú: A là chuột bình thường; B là chuột ĐTD; C là chuột ĐTD được điều trị bằng Glucophage liều 108 mg/kg; D là chuột ĐTD được điều trị bằng CKVBNR liều 100 mg/kg; E là chuột ĐTD được điều trị bằng CKVBNR liều 200 mg/kg; F là chuột ĐTD được điều trị bằng CKVBNR liều 400 mg/kg.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, CKVBNR có khả năng chống oxy hóa và ức chế enzyme α -glucosidase *in vitro*. Đồng thời, CKVBNR còn có khả năng giảm hàm lượng glucose huyết, cholesterol, triglycerid, LDL cholesterol và VLDL cholesterol cũng như tăng hàm lượng HDL

cholesterol ở chuột ĐTĐ. CKVBNR là một sản phẩm tiềm năng trong việc hỗ trợ điều trị ĐTĐ và các biến chứng của ĐTĐ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] D. Islam, A. Huque, L. Mohanta, E. Lipy, M. Rahman, A. S. Sultana, and U. Prodhan, "Studies on the hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Nelumbo nucifera* leaf in Long-Evans rats," *Journal of Diabetes Mellitus*, vol. 7, pp. 55-70, 2017.
- [2] M. J. Kim and H. K. Kim, "Anti-diabetic effects of electrolyzed reduced water in streptozotocin-induced and genetic diabetic mice," *Life Sciences*, vol. 79, no. 24, pp. 2288-2292, 2006.
- [3] A. N. Kesari, S. Kesari, S. K. Singh, R. K. Gupta, and G. Watal, "Studies on the glycemic and lipidemic effect of *Murraya koenigii* in experimental animals," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 112, pp. 305-311, 2007.
- [4] F. Ismail-Beigi, T. Craven, M. A. Banerji *et al.*, "Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial," *The Lancet*, vol. 376, pp. 419-430, 2010.
- [5] M. Kanehara, B. L. Zhang, X. M. Gao, D. Q. Zhang, and T. Ishida, "Effect of Tangzhiqing on glucose and lipid metabolism in genetically type 2 diabetes KK-Ay mice," *Journal of Health Science*, vol. 54, pp. 203-206, 2008.
- [6] M. S. Fageyinbo, A. J. Akindele, S. O. Adenekan, and E. O. Agbaje, "Evaluation of *in-vitro* and *in-vivo* antidiabetic, antilipidemic and antioxidant potentials of aqueous root extract of *Strophanthus hispidus* DC (Apocynaceae)," *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, vol. 16, no. 3, pp. 1-20, 2019.
- [7] R. J. Anmol, S. Mariam, F. T. Hiew, W. C. Han, L. K. Kwan, A. Wong, F. Khan, M. Sarker, S. Y. Chan, N. Kifli, and L. C. Ming, "Phytochemical and therapeutic potential of *Citrus grandis* (L.) Osbeck: A review," *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, vol. 26, pp. 1-20, 2021.
- [8] D. Kumar, M. S. Ladaniya, and M. Gurjar, "Underutilized *Citrus* sp. pomelo (*Citrus grandis*) and Kachai lemon (*Citrus jambhiri*) exhal in phytochemicals and antioxidant potential," *J Food Sci Technol*, vol. 56, no. 1, pp. 217-223, 2019.
- [9] N. N. Shah, R. A. Rahman, R. Shamsuddin, and N. M. Adzahan, "Effects of pectinase clarification treatment on phenolic compounds of pummelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) fruit juice," *J Food Sci Technol*, vol. 52, no. 8, pp. 5057-5065, 2015.
- [10] S. M. Poulouse, E. D. Harris, and B. S. Patil, "*Citrus limonoids* induce apoptosis in human neuroblastoma cells and have radical scavenging activity," *Journal of Nutrition*, vol. 135, no. 4, pp. 870-877, 2005.
- [11] G. Oboh, F. O. Bello, and A. O. Ademosun, "Hypocholesterolemic properties of grapefruit (*Citrus paradisi*) and shaddock (*Citrus maxima*) juices and inhibition of angiotensin-1-converting enzyme activity," *Journal of Food and Drug Analysis*, vol. 22, no. 4, pp. 477-484, 2014.
- [12] M. Y. Ali, N. N. Rumpa, S. Paul *et al.*, "Antioxidant potential, subacute toxicity, and beneficiary effects of methanolic extract of pomelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) in long evan rats," *Journal of Toxicology*, vol. 1, pp. 1-12, 2019.
- [13] K. Makynen, S. Jitsaardkul, P. Tachasamran *et al.*, "Cultivar variations in antioxidant and antihyperlipidemic properties of pomelo pulp (*Citrus grandis* [L.] Osbeck) in Thailand," *Food Chemistry*, vol. 139, no. 1-4, pp. 735-743, 2013.
- [14] O. P. Sharma and T. K. Bhat, "DPPH antioxidant assay revisited," *Food Chemistry*, vol. 113, pp. 1202-1205, 2009.
- [15] I. F. F. Benzie and J. J. Strain, "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power', the FRAP assay," *Analytical Biochemistry*, vol. 239, no. 1, pp. 70-76, 1996.
- [16] A. E. Khorasani, R. Mat Taha, S. Mohajer, and B. Banisalam, "Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from *in vivo* and *in vitro* grown *Trifolium pratense* L. (Red Clover)," *BioMed Research International*, vol. 15, no. 2, pp. 1-11, 2015.
- [17] T. Chipiti, M. A. Ibrahim, M. Singh, and M. S. Islam, "*In vitro* α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects and cytotoxic activity of *Albizia antunesiana* extracts," *Pharmacognosy Magazine*, vol. 11, no. 2, pp. 231-236, 2015.
- [18] E. A. H. Mohamed, M. J. A. Siddiqui, L. F. Ang, A. Sadikun, S. H. Chan, S. C. Tan, and M. F. Yam, "Potent α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of standardized 50% ethanolic extracts and sinensetin from *Orthosiphon stamineus* Benth as anti-diabetic mechanism," *BMC Complementary and*

- Alternative Medicine*, vol. 12, no. 1, pp. 176-189, 2012.
- [19] T. J. Chen, P. Gao, Y. Xiang, J. Chen, P. Ji, H. Xie, W. Wu, Y. Xiao, S. Wei, L. Wang, H. Lan, and T. Ji, "Protective effect of platyodin D on liver injury in alloxan-induced diabetic mice via regulation of Treg/Th 17 balance," *International Immunopharmacology*, vol. 26, no. 2, pp. 338-348, 2015.
- [20] T.N. Doan, T.D. Do, D.M. Pham, T.D. Nguyen and T.T.H. Nguyen, *Methods for studying the pharmacological effects of herbal drugs*. Science and Technology Publishing House, 2006.
- [21] T.X.T. Dai., C.L. Vo, and T.A.L. Nguyen, "The hypoglycaemic, lipid-regulating and antioxidant effects of the leaves of *Coccinia grandis* (L.) Voigt.) on hyperglycemia-induced rats," *Journal of Biotechnology*, vol. 16, no. 2, pp. 311-318, 2018.
- [22] W. T. Friedewald, R. I. Levy, and D. S. Fredrickson, "Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge," *Clinical Chemistry*, vol. 18, no. 6, pp. 499-502, 1972.
- [23] American Diabetes Association, "Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus," *Diabetes Care*, vol. 38, pp. 8-16, 2015.
- [24] A. A. Oduje, O. S. A. Rapheal, and A. C. John, "Assessment of the antioxidative properties of hyphaene thebaica fruit and its comparative inhibitory activities with butylhydroxyanisole on α -amylase and α -glucosidase enzymes," *Int J Complement Alt Med*, vol. 4, no. 4, p. 125, 2016.
- [25] T. Jittarawadee, I. Khwunjit, P. Piyanuch, I. Nisada, and S. Nuttarut, "Evaluation of antioxidant properties and bioactive compound from pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peel in antimicrobial for cosmetic products," *Phranakhon Rajabhat Research Journal*, vol. 15, no. 1, pp. 69-85, 2020.
- [26] H. P. S. Makkar, T. Norvsambuu, S. Lkhavatsere, and K. Becker, "Plant secondary metabolites in some medicinal plants of Mongolia used for enhancing animal health and production," *Tropicultura*, vol. 27, no. 3, pp. 159-67, 2009.
- [27] M. J. Muhammad, A. -H. Azizah, M. G. Hasanah, S. P. D. Mohd, S. R. Nurul, H. J. Ahmad, K. Jeeven, and S. M. Abdulkarim, "Antioxidant and antidiabetic phytochemicals of yellow-skinned watermelon (*Citrullus lanatus*) extract," *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 7, no. 1, pp. 82-95, 2019.
- [28] C. E. Mathews and E. H. Leiter, "Constitutive differences in antioxidant defense status distinguish alloxan-resistant and alloxan-susceptible mice," *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 27, pp. 449-455, 1999.
- [29] J. A. Abdel-Barry, I. A. Abdel-Hassan, and M. H. Al-Hakiem, "Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan-induced diabetic rats," *The Journal of Ethnopharmacology*, vol. 58, pp. 149-155, 1997.
- [30] O. M. Ighodaro, A. M. Adeosun, and O. A. Akinloye, "Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies," *Medicina (B Aires)*, vol. 53, no. 6, pp. 365-374, 2017.
- [31] W. Ahmad, I. Khan, M. A. Khan, M. Ahmad, F. Subhan, and N. Karim, "Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *Artemisia indica* linn (aerial parts) in Streptozotocin induced diabetic rats," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 151, pp. 618-623, 2014.
- [32] S. K. Das, D. Samantaray, J. K. Patra, L. Samanta, and H. Thatoi, "Antidiabetic potential of mangrove plants: A review," *Frontiers in Life Science*, vol. 9, no. 1, pp. 75-88, 2016.
- [33] M. Liu, X. Song, J. Zhang *et al.*, "Protective effects on liver, kidney and pancreas of enzymatic-and acidic-hydrolysis of polysaccharides by spent mushroom compost (*Hypsizigus marmoreus*)," *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, pp. 1-12, 2017.
- [34] L. Wang, N. Xu, J. Zhang, H. Zhao, L. Lin, S. Jia, and L. Jia, "Antihyperlipidemic and hepatoprotective activities of residue polysaccharide from *Cordyceps militaris* SU-12," *Carbohydrate Polymers*, vol. 131, pp. 355-362, 2015.
- [35] C. Jiang, Q. Wang, Y. Wei, N. Yao, Z. Wu, Y. Ma, Z. Lin, M. Zhao, C. Che, X. Yao, J. Zhang, and Z. Yin, "Cholesterol-lowering effects and potential mechanisms of different polar extracts from *Cyclocarya paliurus* leave in hyperlipidemic mice," *Journal of Ethnopharmacol*, vol. 176, pp. 17-26, 2015.
- [36] P. J. Meikle, G. Wong, C. K. Barlow, and B. A. Kingwell, "Lipidomics: Potential role in risk prediction and therapeutic monitoring for diabetes and cardiovascular disease," *Pharmacology & Therapeutics*, vol. 143, no. 1, pp. 12-23, 2014.
- [37] K. Tan, "Re-examining the high-density lipoprotein hypothesis," *Journal of Diabetes Investigation*, vol. 7, no. 4, pp. 445-447, 2016.