

TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE HUYẾT CỦA DỊCH CHIẾT LÁ ĐẮNG *VERNONIA AMYGDALINA DEL* TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Nguyễn Thị Hồng Hạnh*, Đoàn Thanh Hiếu, Trần Thị Hồng
Trường Đại học Y Dược – ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Flavonoid là nhóm chất có trong lá cây lá đắng *Vernonia amygdalina Del.* và mang nhiều hoạt tính sinh học quý. Trong nghiên cứu này, dịch chiết giàu flavonoid từ lá cây lá đắng *Vernonia amygdalina del.* được thử nghiệm khả năng làm hạ nồng độ glucose huyết trên chuột nhắt trắng chủng Swiss đã gây tăng đường huyết bằng alloxan, với các mức liều 100mg/ kg và 200mg/kg. Nồng độ đường huyết được kiểm tra ở các thời điểm 0, 3, 7, 14 và 21 ngày. Các lô chuột uống dịch chiết lá đắng đều có nồng độ glucose giảm dần giảm về gần mức đường huyết ban đầu sau đợt điều trị. Mức liều 200mg/kg cho kết quả giảm đường huyết mạnh nhất (50,3%) và gần tương đương mức giảm của lô dùng insulin (52,7%).

Từ khóa: dịch chiết ethanol; lá đắng; chuột nhắt trắng Swiss, alloxan, insulin.

Ngày nhận bài: 24/12/2019; Ngày hoàn thiện: 16/01/2020; Ngày đăng: 20/01/2020

ANTIDIABETIC EFFECT OF ETHANOLIC LEAF EXTRACT OF *VERNONIA AMYGDALINA DEL.* IN MICE

Nguyen Thi Hong Hanh*, Doan Thanh Hieu, Tran Thi Hong
TNU - University of Medicine and Pharmacy

ABSTRACT

Vernonia amygdalina leaves are mostly consumed in Asia and Africa, due to its potential as a good source of antidiabetics. This study investigated the antidiabetic activity of the ethanolic leaf extract of *Vernonia amygdalina Del.* Extract with 100 mg/kg and 200 mg/kg doses were given to both normoglycemic and alloxan-induced diabetic Swiss mice. Blood was withdrawn and tested at 0, 3, 7, 14 and 21 days. Results showed that the extract caused reduction in glycemia in both two doses. The 200 mg/kg dose caused the most significant ($p<0.05$) reduction in blood sugar (-50.3%) compared to insulin (-52.7%).

Keywords: ethanol extract, *Vernonia amygdalina del*, Swiss mice, alloxan, insulin

Received: 24/12/2019; Revised: 16/01/2020; Published: 20/01/2020

* Corresponding author. Email: hanhnguyen1388@gmail.com

1. Giới thiệu

Cây lá đắng *Vernonia amygdalina Del.* (*Gymnanthemum amygdalinum*) thuộc họ Cúc (*Asteraceae*) là loài cây được sử dụng phổ biến ở các nước Châu Phi và Ấn Độ như là một loại rau ăn và vị thuốc trong y học cổ truyền với mục đích phòng và hỗ trợ điều trị nhiều loại bệnh tật như đái tháo đường, viêm dạ dày, viêm ruột, kiết lỵ, viêm gan, nhiễm giun sán, sốt rét, sốt phát ban, làm thuốc giảm ho, lợi tiểu, điều trị hiêm muện, rối loạn kinh nguyệt... Cây này được di thực vào các nước Đông Nam Á trong đó có Việt Nam, được dùng làm rau ăn để giải độc gan, giải độc rượu hoặc đun lấy nước uống nhằm hỗ trợ điều trị đái tháo đường, tăng huyết áp, tăng mỡ máu hoặc một số bệnh đường tiêu hóa. Trên thế giới đã có nhiều công trình nghiên cứu xác định thành phần, khẳng định hoạt tính sinh học và tính an toàn của dịch chiết từ lá cây lá đắng *Vernonia amygdalina Del.* Theo những nghiên cứu này, thành phần hóa học chính trong lá gồm có các tanin, saponin, glycosid, flavonoid, phenol và một số nhóm chất có hoạt tính sinh học khác như terpen, coumarin, xanthon, anthraquinon,... [1], [2]. Các nghiên cứu trên dịch chiết trong nước, trong ethanol hoặc methanol của lá cây này cũng chứng minh các tác dụng làm hạ đường huyết, hạ huyết áp, hạ lipid máu, chống ung thư, chống oxy hóa, chống viêm, chống ký sinh trùng, bảo vệ tim, gan và các tổ chức khác, tăng cường chức năng sinh dục,... của dược liệu [1] - [7]. Nhiều nghiên cứu về độc tính cũng chỉ ra tính an toàn của dược liệu này ở mức liều thường dùng [1], [2]. Một số công trình nghiên cứu cho thấy dịch chiết giàu flavonoid trong nước, trong ethanol hoặc methanol cũng có tác dụng chống oxy hóa, làm hạ đường huyết trên các mô hình thực nghiệm [1] - [6]. Trong số các nhóm hoạt chất chính, nhiều flavonoid đã được xác định cấu trúc, và khẳng định một số hoạt tính sinh học quý như làm hạ đường huyết, chống oxy hóa [2], [3], [7].

Với mong muốn làm sáng tỏ kinh nghiệm trong nhân dân sử dụng lá cây lá đắng để đun nước uống nhằm hỗ trợ điều trị đái tháo đường,

chúng tôi tiến hành thử tác dụng hạ glucose huyết của dịch chiết từ lá cây lá đắng *Vernonia amygdalina Del.* thu hái tại Thái Nguyên.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thực nghiệm trên chuột nhắt trắng gây đái tháo đường type 1 bằng alloxan, sử dụng insulin làm chất đối chứng dương tính.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Chuẩn bị vật liệu

Mẫu thực vật: Lá cây lá đắng sau khi được thu hái tại Thái Nguyên, phơi khô, sấy ở 60°C cho đến khi hàm ẩm đạt dưới 10%, nghiền nhỏ đến kích thước trung bình 1,05 cm. Đóng vào túi nilon hàn kín, bảo quản trong tủ lạnh (khoảng 4°C).

Mẫu động vật: Chuột nhắt trắng trưởng thành chủng Swiss, trọng lượng 18 – 22 g, được nuôi 3 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

Hóa chất: alloxan monohydrat (Sigma – Aldrich), ethanol, n-hexan, ethyl acetat, dung dịch NaCl 0,9%, dung dịch glucose 0,5%, máy thử đường huyết *Accuchek Active*.

Dịch chiết ethanol: Cân 30,00 gam dược liệu đã được xử lý cho vào bình cầu 500ml, thêm dung môi ethanol, chiết nóng với dung môi ethanol 60% bằng bộ dụng cụ chiết Soxhlet trên nồi đun cách thủy 8 giờ. Lọc, cô dịch lọc đến cạn. Cặn được hòa tan vừa đủ trong ethanol 80%. Chiết 3 lần với n-hexan, mỗi lần 20 ml. Thu lấy lớp nước, chiết tiếp với ethylacetat 3 lần, mỗi lần 20 ml. Thu lấy lớp ethyl acetat, cô đến cạn. Hòa tan cặn trong nước nóng, dịch này dùng để thử tác dụng hạ đường huyết trên chuột.

2.2. Nghiên cứu tác dụng hạ đường huyết của dịch chiết giàu flavonoid từ lá cây lá đắng

2.2.1. Khảo sát tính an toàn của dịch chiết lá cây lá đắng trên chuột nhắt trắng bình thường

Chuột được chia làm 2 lô, mỗi lô 5 con, chuột thường không được uống dịch chiết được sử dụng như lô đối chứng.

Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của dịch chiết với chuột được thực hiện ở nồng độ 2000 mg/kg thể trọng. Cho chuột uống 10 ml/kg, 2

lần/ ngày trong 7 ngày. Đường huyết và trọng lượng chuột được đo vào ngày thứ 7.

2.2.2. Tạo mô hình đái tháo đường trên chuột nhắt trắng bằng alloxan

Chuột nhắt trắng được tiêm màng bụng liều đơn Alloxan pha trong nước muối sinh lý với liều 150mg/kg (cân 2,8 mg Alloxan pha trong 0,2 ml nước muối sinh lý 0,9%) để gây đái tháo đường. Để giảm tỉ lệ chết, tiêm màng bụng ngay dung dịch NaCl 0,9% hoặc uống glucose 10% hoặc tiêm insulin chậm 2 UI/kg trong 7 ngày.

Glucose huyết được định lượng bằng máy Accucheck Active tại các thời điểm 0 giờ, 48 giờ và 72 giờ.

Các con chuột nào thể hiện mức glucose huyết >10 mmol/dl được coi là bị đái tháo đường. Các con chuột bị đái tháo đường được phân lô, mỗi lô 7 con và uống dịch chiết với liều 100, 200 mg/kg. Lô đối chứng âm cho uống nước muối sinh lý 1 ml/kg, đối chứng dương tiêm Insulin liều 0,1 UI/kg. Chia chuột ra thành các lô:

- Lô 1 (Lô thường): chuột thường không gây tăng glucose huyết.

- Lô 2 (Lô đối chứng dương): chuột tiêm Alloxan, uống nước muối sinh lý.

- Lô 3 (Lô đối chứng âm): chuột tiêm Alloxan, tiêm insulin với liều 0,1 UI/kg.

- Lô 4 (Lô uống dịch chiết 100 mg/kg): chuột tiêm Alloxan, uống dịch chiết lá đắng liều 100 mg/kg.

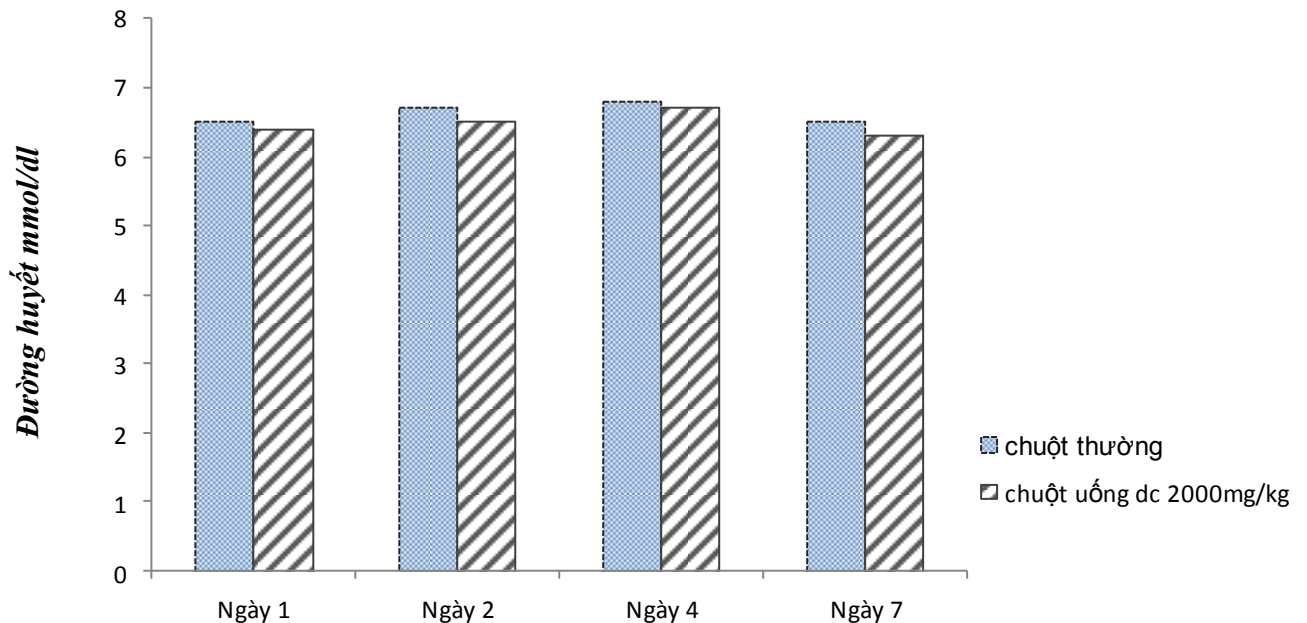
- Lô 5 (Lô uống dịch chiết 200 mg/kg): chuột tiêm Alloxan, uống dịch chiết lá đắng liều 200 mg/kg.

Đến ngày thứ 7, 14, 21 chuột được định lượng glucose huyết. Trước khi lấy mẫu cho chuột nhịn ăn 24 giờ. Kết quả được sử dụng để đánh giá khả năng hạ đường huyết của các dịch chiết.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Sự an toàn (không gây độc tính cấp) của dịch chiết lá đắng trên chuột

Đánh giá sự an toàn của dịch chiết lá đắng trên chuột nhắt trắng với liều 2000 mg/kg thể trọng, kết quả về sự ổn định đường huyết được trình bày trong hình 1.



Hình 1. Nồng độ đường huyết của chuột thường và chuột uống dịch chiết 2000mg/kg.

Kết quả cho thấy, sự thay đổi đường huyết của các nhóm chuột thí nghiệm sau 7 ngày uống dịch chiết không có sự khác biệt so với nhóm chuột thường. Mặt khác trọng lượng chuột sau thời gian 7 ngày của cả 2 nhóm cũng không khác biệt. Ngoài ra, chuột uống dịch chiết ở nồng độ 2000

mg/kg thể trọng có biểu hiện bình thường, không có biểu hiện như sốt thuốc, lông ướt, run chi, tử vong,... do uống dịch chiết. Các kết quả này chứng tỏ dịch chiết lá đắng không gây độc tính cấp trên chuột bình thường ở nồng độ 2000 mg/kg trong thời gian 7 ngày.

3.2. Kết quả tạo mô hình chuột đái tháo đường bằng alloxan

Kết quả tạo mô hình chuột đái tháo đường bằng alloxan được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Sự thay đổi nồng độ đường huyết trước và sau khi tiêm alloxan 72 giờ

Lô	Chỉ số đường huyết trước khi tiêm alloxan (mmol/dl)	Chỉ số đường huyết sau khi tiêm alloxan (mmol/dl)	Tỉ lệ thành công (%)
Lô 1 (150 mg/kg)	6,4 ± 0,3	14,5 ± 0,8	75%
Lô 2 (nước muối sinh lí)	6,6 ± 0,4	6,4 ± 0,3	0%

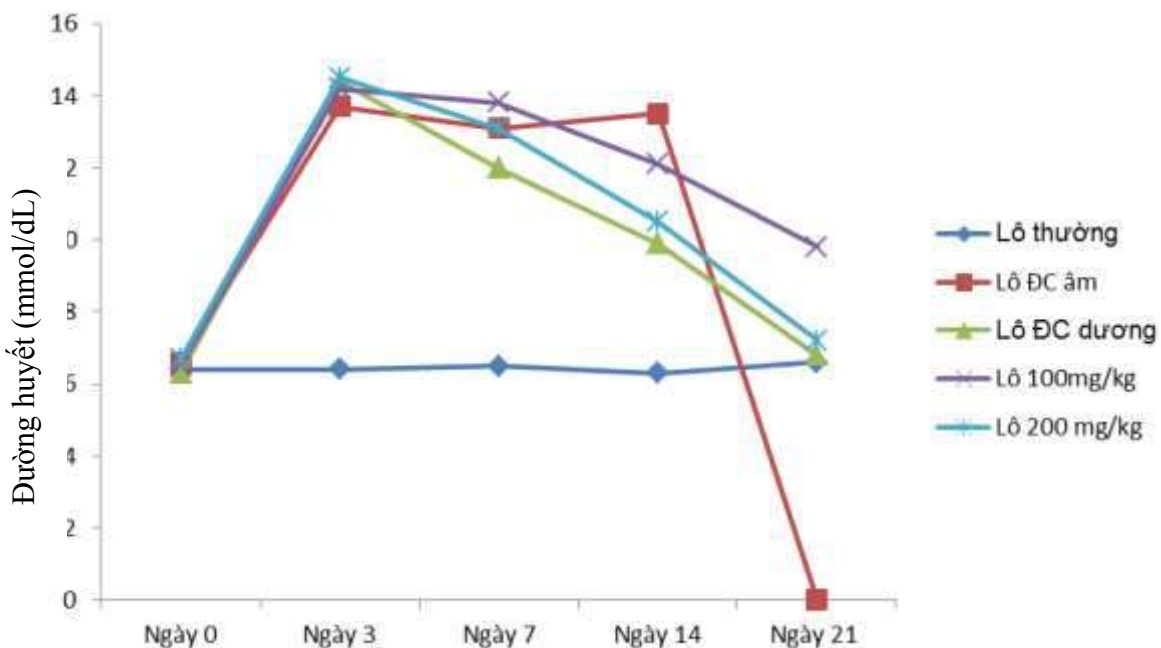
Chuột sau khi tiêm alloxan liều 150 mg/kg có sự tăng rõ rệt về chỉ số đường huyết sau 72 giờ thí nghiệm với tỉ lệ thành công là 75%, trong khi lô chứng âm không thấy có sự tăng lên về chỉ số đường huyết. Kết quả trên cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước trong xây dựng mô hình chuột tiểu đường bằng alloxan [6]. Như vậy có thể khẳng định chúng tôi đã xây dựng thành công mô hình chuột tiểu đường bằng alloxan và có thể sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Kết quả hạ đường huyết của dịch chiết lá đắng

Kết quả hạ đường huyết của dịch chiết lá đắng các nồng độ được trình bày ở Bảng 2 và minh họa trên Hình 2.

Bảng 2. Nồng độ glucose huyết của các lô chuột sau khi uống dịch chiết lá đắng trong 21 ngày

Lô chuột	Chỉ số đường huyết (mmol/dl)			
	Ngày 3	Ngày 7	Ngày 14	Ngày 21
Lô thường	6,4 ± 0,4	6,5 ± 0,3	6,3 ± 0,5	6,6 ± 0,4
Lô đối chứng âm	13,7 ± 0,6	13,1 ± 1,0	13,5 ± 0,6	Chuột chết
Lô đối chứng dương	14,4 ± 0,5	11,0 ± 0,6	9,9 ± 0,5	6,8 ± 0,4
Lô uống dịch chiết 100 mg/kg	14,2 ± 0,5	13,8 ± 0,4	12,1 ± 0,6	9,8 ± 0,5
Lô uống dịch chiết 200 mg/kg	14,5 ± 0,3	13,1 ± 0,5	10,5 ± 0,3	7,2 ± 0,4



Hình 2. Nồng độ glucose huyết của các lô chuột sau khi uống dịch chiết lá đắng trong 21 ngày

Sau khi tiêm dung dịch alloxan 3 ngày chuột có đường huyết trong khoảng từ $13,7 \pm 0,6$ đến $14,5 \pm 0,3$ mmol/dL, nhóm chuột bình thường có đường huyết $6,6 \pm 0,4$. Chuột bị đái tháo đường được chọn vào thử nghiệm có tình trạng bệnh đồng nhất, mức đường huyết giữa các nhóm sau khi tiêm alloxan không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Sau 7 ngày điều trị bằng tiêm insulin và uống cao dịch chiết nồng độ khác nhau, các lô chuột bắt đầu có nồng độ đường huyết giảm so với lô đối chứng âm.

Đối với lô chuột bình thường, đường huyết gần như ổn định trong suốt quá trình thí nghiệm. Ở lô chuột đối chứng âm, nồng độ đường huyết cao liên tục và xuất hiện chuột chết vào ngày thứ 14 và tất cả chuột chết vào ngày thứ 21 (Bảng 2). Cùng với đó là chuột có các biểu hiện: mù mắt, lông ướt, tinh hoàn teo nhỏ. Điều đó chứng tỏ chuột vẫn ở trạng thái bệnh lý đái tháo đường.

Ở các lô chuột đái tháo đường được điều trị bằng insulin hoặc cao dịch chiết, nồng độ đường huyết giảm có ý nghĩa thống kê ở các thời điểm khảo sát (Bảng 2). Đối với lô chuột được điều trị bằng insulin, sau 7 ngày tiêm thuốc nồng độ đường huyết giảm 33,6% (giảm từ $14,4 \pm 0,5$ mmol/dL xuống còn $11,0 \pm 0,6$ mmol/dL). Nồng độ đường huyết sau đó tiếp tục giảm, đến ngày 21 nồng độ đường huyết chỉ còn $6,8 \pm 0,4$ mmol/dL, tương đương mức giảm 52,7% và gần như về nồng độ đường huyết bình thường.

Về khả năng hạ đường huyết của dịch chiết lá đắng, ở cả 2 lô được uống với nồng độ 100, 200 mg/kg đều giảm có ý nghĩa thống kê trong quá trình điều trị và giảm rõ rệt bắt đầu từ ngày 14. Lô chuột được uống dịch chiết 100 mg/kg giảm từ $14,2 \pm 0,5$ xuống $12,1 \pm 0,6$ tương đương 16,0%, lô chuột được uống dịch chiết 200 mg/kg giảm từ $14,5 \pm 0,3$ xuống $10,5 \pm 0,3$ tương đương 37,6%. Sau 21 ngày thì nồng độ đường huyết của nhóm được điều trị bằng dịch chiết 200 mg/kg đã giảm còn $7,2 \pm 0,4$ (50,3%) và gần với nồng độ đường huyết ban đầu.

Mặt khác, các con chuột đái tháo đường ở lô được điều trị bằng insulin và dịch chiết lá đắng sau khi tiêm alloxan có biểu hiện lơ đờ, lông ướt, ăn ít, uống nhiều nước. Tuy nhiên sau 5 ngày chuột bắt đầu nhanh nhẹn hơn, ăn trở lại, không thấy xuất hiện các triệu chứng mù mắt, teo tinh hoàn như lô đối chứng âm. Dịch chiết lá đắng có tác dụng hạ đường huyết, với liều 200 mg/kg khả năng hạ đường huyết nhanh hơn liều 100 mg/kg và tác dụng gần tương tự như lô đối chứng dương. Kết quả nghiên cứu này cũng hoàn toàn phù hợp với các công bố của U. Adikwu Michael et al. (2010) [2] và Flora O. Ugoanyanwu et al. (2015) [5].

4. Kết luận

Dịch chiết ethanol từ lá cây lá đắng *Vernonia amygdalina Del.* có tác dụng hạ đường huyết ở liều 100 mg/kg và 200 mg/kg. Với liều 200 mg/kg tác dụng hạ đường huyết nhanh hơn so với liều 100 mg/kg và tác dụng gần tương đương với insulin. Cần tiếp tục các nghiên cứu về các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học trong cây lá đắng, đồng thời hoàn thiện các thử nghiệm về khả năng điều trị đái tháo đường của cây lá đắng làm cơ sở cho việc sản xuất thuốc dành cho người tiểu đường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. I. I. Ijeh and C. E. C. Ejike, "Current perspectives on the medicinal potentials of *Vernonia amygdalina Del.*," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5(7), pp. 1051-1061, 2011.
- [2]. U. A. Michael, B. U. David, C. O. Theophine, F. U. Philip, A. M. Ogochukwu and V. A. Benson, "Antidiabetic effect of combined aqueous leaf extract of *Vernonia amygdalina* and metformin in rats," *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, vol. 001, no. 003, pp. 197-202, 2010.
- [3]. E. I. Mary et al., "Antidiabetic evaluations of different part of *Vernonia amygdalina*," *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, vol. 12, pp. 2278-3008, 2017.
- [4]. O. R. Alara, N. H. Abdurahman and O. A. Olalere, "Ethanol extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design",

Journal of King Saud University – Science, vol. 32(1), pp. 7-16, 2017.

[5]. F. O. Ugoanyanwu et al., “The flavonoid-rich fraction of *Vernonia amygdalina* leaf extract reversed diabetes-induced hyperglycemia and pancreatic beta cell damage in albino wistar rats,” *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, vol. 4, pp. 1788-1802, 2015.

[6]. M. F. Ahmed and S. M. Kazim, “Antidiabetic activity of *Vinca rosea* extracts in alloxan-induced diabetic rats,” *International Journal of Endocrinology*, vol. 2010, pp. 841090, 2010.

[7]. O. Kadiri and B. Olawoye, “*Vernonia amygdalina*: An Underutilized Vegetable with Nutraceutical Potentials – A Review,” *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 4(9), pp. 763-768, 2016.

[8]. T. T. Nguyen, “Study of botanical characteristics and chemical composition of *Vernonia amygdalina* Del.,” M.S. thesis, Ha Noi University of Pharmacy, 2017.

[9]. T. H. T. Nguyen, “Isolation of ethylacetate extract of *Vernonia amygdalina* Del., Asteraceae”, M.S. thesis, Can Tho University, 2017.