

KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA VÀ HẠ ĐƯỜNG HUYẾT CỦA CÁC CAO CHIẾT PHÂN ĐOẠN VỎ THÂN CÂY CHIÊU LIÊU ĐEN (*Terminalia alata* Heyne ex Roth) THU THẬP TẠI VƯỜN QUỐC GIA YOKDON

Nguyễn Quang Vinh^{1*}, Hồ Thị Hảo²

***Tác giả liên hệ:**

Nguyễn Quang Vinh

Email: vinh12b@gmail.com

¹Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên

²Khoa Nông Lâm Nghiệp, Trường Đại học Tây Nguyên

Nhận bài: 01/03/2019

Chấp nhận bài: 10/04/2019

Từ khóa: Hạ đường huyết, *Terminalia alata*, DPPH, α -amylase và α -glucosidase

TÓM TẮT

Hoạt tính kháng oxy hoá và hạ đường huyết trên mô hình chuột gây đái tháo đường của các cao chiết phân đoạn từ vỏ thân cây chiêu liêu (*Terminalia alata* Heyne ex Roth) được nghiên cứu. Hoạt tính kháng oxy hoá được xác định thông qua khả năng dập tắt gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), khả năng ức chế hoạt tính α -amylase, α -glucosidase và khả năng gây hạ đường huyết trên mô hình chuột gây đái tháo đường bằng streptozocin của các cao chiết phân đoạn cũng được xác định. Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol trong cao chiết tăng theo chiều tăng của độ phân cực của dung môi và khả năng kháng oxy hóa cũng tăng theo chiều tăng của tổng hàm lượng polyphenol. Khả năng ức chế α -amylase thông qua giá trị IC_{50} của cao chiết phân đoạn ethyl acetate, butanol và nước lần lượt là $0,056 \pm 0,001$; $0,138 \pm 0,005$; $0,022 \pm 0,001$ mg/ml, thấp hơn so với acarbose ($0,154 \pm 0,02$ mg/ml). Tuy nhiên, khả năng ức chế α -glucosidase của các cao chiết phân đoạn đều thấp hơn acarbose (đối chứng dương). Các cao chiết có khả năng ức chế enzyme thủy phân tinh bột cao đều thể hiện hiệu quả gây hạ đường huyết trên chuột gây đái tháo đường bằng streptozocin ở liều dùng 200mg/kg thể trọng và không gây giảm cân ở chuột thí nghiệm như acarbose. Như vậy, các cao chiết phân đoạn ethyl acetate, butanol và nước từ vỏ thân chiêu liêu đen có tiềm năng ứng dụng trong chống lão hóa và đái tháo đường.

1. MỞ ĐẦU

Chiêu liêu đen (*Terminalia alata* Heyne ex Roth) là cây thuốc thuộc chi chiêu liêu (*Terminalia*), họ Bàng (Combretaceae), phân bố phổ biến ở khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới. Hiện nay, trên thế giới có khoảng 250 loài thuộc chi chiêu liêu và một số loài được sử dụng làm thuốc ở các nước thuộc châu Á. Ở Việt nam, chiêu liêu được sử dụng như cây thuốc chữa tiêu chảy, dạ dày, viêm họng. Có nhiều nghiên cứu cho thấy, cây thuốc thuộc chi chiêu liêu có nhiều hoạt tính sinh học có giá trị. Cao chiết cây chiêu liêu gân

đen (*T. nigrovenulosa*) thu thập tại khu bảo tồn Easo, Đắk Lắk thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa, ức chế một số loài vi sinh vật (Nguyễn và Eun, 2011; 2013) ; cao chiết methanol của chiêu liêu kha tử (*T. chebula*) thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa và kháng vi sinh vật (Lee và cs., 2007); kháng tiêu đường (Gao và cs., 2007) và kháng ung thư (Saleen và cs., 2002). Đặc biệt, nghiên cứu của Nguyễn và cs. (2016) cho thấy, cao chiết methanol của cây chiêu liêu đen (*Terminalia alata* Heyne ex Roth) thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa và gây hạ đường huyết trên mô hình chuột gây đái

tháo đường. Nghiên cứu này sẽ tiếp tục khảo sát khả năng ức chế enzyme α -amylase, α -glucosidase và khả năng gây hạ đường huyết trên chuột gây mô hình đái tháo đường bằng streptozocin từ các cao chiết phân đoạn của cây chiêu liêu đen nhằm xác định cao chiết phân đoạn tìm năng đề tinh sạch hợp chất có hoạt tính cao nhất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu và hóa chất

- Vỏ thân cây chiêu liêu đen được thu thập tại vườn Quốc gia Yokdon; vỏ được thu từ thân chính của cây, sau đó loại bỏ phần vỏ bần và rửa sạch trước khi sấy khô ở nhiệt độ 60°C đến khi đạt độ ẩm khoảng 6%. Mẫu được đựng trong túi đen và bảo quản ở nhiệt độ -30°C hoặc sử dụng ngay.

- p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, thuốc thử Folin-Ciocalteu được cung cấp bởi hãng Merk (Đức), DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate) và gallic acid của hãng Sigma Aldrid; Na₂CO₃, ethanol, acetate của hãng Xilong, Trung Quốc.

- Enzyme α -amylase từ tụy tạng chuột, enzyme α -glucosidase lấy từ dịch ruột của chuột được đặt mua của Sigma-Aldrich (St Louis, MO, Hoa Kỳ).

Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng (*Wistar albino*), chuột đực, khối lượng 25g \pm 2, được cung cấp bởi Viện vaccine Nha Trang, nuôi ở chế độ ăn uống đầy đủ, trong điều kiện nhiệt độ và ánh sáng ổn định.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Trích ly mẫu cây thuốc tiến hành theo Nguyen and Eun (2011) và trích ly phân đoạn mẫu cao chiết tiến hành theo Nguyen và cs. (2016). Cao chiết sử dụng ngay hoặc bảo quản ở nhiệt độ - 30°C.

Hàm lượng flavonoid được xác định theo Nguyen và Eun (2011).

Xác định hoạt tính kháng oxy hóa bằng khả năng dập tắt gốc tự do 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate (DPPH radical scavenging activity), theo Nguyen và Eun (2011).

Xác định khả năng ức chế α -glucosidase từ dịch ruột chuột và α -amylase từ dịch tụy được tiến hành theo Kwon và cs. (2006) và được cải tiến bởi Nguyen và cs. (2016). Acarbose được dùng làm đối chứng dương.

Mô hình gây đái tháo đường của chuột bằng streptozotocin (150 mg/kg khối lượng chuột) tiến hành theo Nguyen và cs. (2016). Sau 3 ngày, những con chuột có nồng độ glucose máu từ 10 – 20 mMol/l được sử dụng làm mô hình đái tháo đường. Tất cả chuột được nuôi thả ở chế độ tự do trong lồng nuôi cùng nước và khay đựng thức ăn. Thí nghiệm gây hạ đường huyết trên chuột tiến hành như sau:

Thí nghiệm kiểm tra sự thay đổi đường huyết trên chuột mô hình đái tháo đường sau 8h theo dõi (liều đơn). Chuột được chia thành 6 lô, mỗi lô 6 con (4 lô cho uống cao chiết với liều dùng 200mg/kg thể trọng chuột, 1 lô cho uống acarbose với liều dùng 120mg/kg thể trọng và 1 lô cho uống nước muối sinh lý). Sau đó, theo dõi sự thay đổi đường huyết trong vòng 8 giờ; mỗi 2 giờ đo 1 lần.

Thí nghiệm hiệu quả gây hạ đường huyết trên mô hình chuột gây đái tháo đường sau 12 ngày theo dõi (liều đa). Chuột được chia làm 6 lô, mỗi lô 6 con; chuột được cho uống mỗi ngày 1 lần (4 lô cho uống cao chiết với liều dùng 200 mg/kg thể trọng chuột, 1 lô cho uống acarbose với liều dùng 120mg/kg thể trọng và 1 lô cho uống nước muối sinh lý). Sau đó theo dõi đường huyết sau 12 ngày; 4 ngày đo đường huyết 1 lần.

Đường huyết (glucose máu) của chuột được định lượng bằng cách chích vào tĩnh mạch đuôi, cho máu nhỏ giọt trực tiếp lên que thử glucose máu. Que thử đọc sau 15 giây trên máy cầm tay Bionime GM-110. Kết quả nồng độ glucose máu (mmol/l) hiện trên màn hình của máy.

Thể trọng của chuột được cân bằng cân điện tử độ chính xác 0,01 gam. Đo đường huyết và cân thể trọng thực hiện trước khi cho ăn lúc chuột còn đói.

2.3. Xử lý số liệu

Kết quả thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp lại và xử lý thống kê trên phần mềm Stagraphic Centurion XV. Các

số liệu biểu diễn giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn với mức ý nghĩa $p < 5\%$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng polyphenol tổng số và hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết phân đoạn từ vỏ thân cây chiêu liêu đen

Hiện nay có nhiều nghiên cứu cho thấy, các hợp chất polyphenol và flavonoid có khả năng kháng oxy hóa (Lopez-Velez và cs., 2003), kháng oxy hoá và kháng tiểu đường (Catherine và cs., 2012). Hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng dập tắt gốc tự do DPPH được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng kháng oxy hoá của cao chiết phân đoạn từ cây chiêu liêu ỏ

Tên phân đoạn	Hàm lượng polyphenol tổng số mg GAE/g cao chiết	IC ₅₀ về khả năng trung hòa gốc tự do DPPH (mg/ml)
Hexane	-	-
Chloroform	246,329 ± 5,530 ^a	3,063 ± 0,023 ^a
Ethyl acetate	589,613 ± 1,937 ^b	0,290 ± 0,010 ^b
Butanol	704,694 ± 0,927 ^c	0,237 ± 0,006 ^c
Nước	773,349 ± 9,151 ^d	0,241 ± 0,003 ^c
Vitamin C (đối chứng dương)		0,24 ± 0,01 ^c

Trong đó: các chữ cái khác nhau a, b, c, d trên các giá trị trung bình trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy là 95%. (-) không có hoạt tính

Kết quả Bảng 1 cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng số của các hợp chất trong cao chiết phân đoạn tăng theo chiều tăng về độ phân cực của dung môi. Có nghĩa là các hợp chất polyphenol chủ yếu trong cao chiết từ cây chiêu liêu thuộc nhóm chất phân cực. Khả năng kháng oxy hóa (IC₅₀) của các cao chiết phân đoạn ethyl acetate, butanol và nước lần lượt là 0,290; 0,237 và 0,240 mg/ml so với đối chứng (vitamin C) là 0,240 mg/ml. Kết quả cũng cho thấy, hàm lượng polyphenol tổng số càng cao thì khả năng kháng oxy hóa càng cao. Như vậy, có sự tương quan thuận giữa hàm lượng polyphenol tổng số và khả năng kháng oxy hóa của các cao chiết phân

đoạn. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu được công bố bởi Nguyen and Eun (2011); Piljac-žegarac và cs. (2007), Chai and Wong (2012) và Catherine và cs. (2012), khả năng kháng oxy hóa tăng theo tổng hàm lượng polyphenol.

3.2. Khả năng ức chế α-amylase và α-glucosidase

Hiện tượng tăng đột ngột nồng độ đường glucose trong máu dẫn đến tăng đường huyết xảy ra ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 là do quá trình thủy phân tinh bột dưới tác dụng của enzyme α-amylase từ dịch tụy và quá trình chuyển hoá thành đường glucose bởi enzyme α-glucosidase

từ dịch ruột (Gray, 1995). Vì vậy, ức chế α -glucosidase ở dịch ruột và α -amylase từ dịch tụy là biện pháp hữu hiệu để kiểm soát bệnh tiểu đường type 2 (Krentz and

Bailey, 2005). Khả năng ức chế enzyme của các cao chiết phân đoạn và đối chứng được biểu diễn ở Bảng 2.

Bảng 2. Giá trị IC_{50} của các cao chiết phân đoạn từ vỏ thân cây chiều liêu đen đối với enzyme α -amylase và α -glucosidase

Tên phân đoạn/ đối chứng	IC_{50} về khả năng ức chế α -glucosidase (mg/ml)	IC_{50} về khả năng ức chế α -amylase (mg/ml)
Hexane	-	-
Chloroform	$3,787 \pm 0,087^a$	$> 20^a$
Ethyl acetate	$1,330 \pm 0,133^c$	$0,056 \pm 0,001^d$
Butanol	$1,251 \pm 0,059^c$	$0,138 \pm 0,005^c$
Nước	$1,729 \pm 0,025^b$	$0,022 \pm 0,001^e$
Acarbose (đối chứng dương)	$0,492 \pm 0,02^d$	$0,154 \pm 0,02^b$

Trong đó: các chữ cái khác nhau a, b, c, d trên các giá trị trung bình trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy là 95%. (-) không có hoạt tính

Kết quả Bảng 2 cho thấy, hoạt tính ức chế α -glucosidase và α -amylase của các cao chiết phân đoạn và acarbose là không giống nhau; trong đó, phân đoạn ethyl acetate và butanol thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase là cao nhất với giá trị IC_{50} lần lượt là 1,330 và 1,255mg/ml. Tuy nhiên, giá trị IC_{50} này cao hơn so với đối chứng dương (acarbose) là 0,492 mg/ml, nghĩa là khả năng ức chế α -glucosidase của các cao chiết là thấp hơn so với acarbose. Phân đoạn hexane không thể hiện hoạt tính ức chế đối với cả α -glucosidase và α -amylase ở nồng độ khảo sát. Trong khi đó, cao chiết có khả năng ức chế cao nhất đối với α -amylase thuộc cao chiết phân đoạn nước với giá trị IC_{50} là 0,022 mg/ml, giá trị này thấp hơn nhiều lần so với acarbose ($IC_{50} = 0,154$ mg/ml); tiếp theo là cao chiết phân đoạn ethyl acetate và phân đoạn butanol với giá trị IC_{50} lần lượt là 0,056mg/ml và 0,138mg/ml. Khả năng ức chế α -glucosidase và α -amylase của cao chiết từ các cây thuốc thuộc chi chiều liêu cũng đã được công bố bởi một số tác giả như Nguyen và cs. (2016); Wansi và cs. (2007), Ragavan và Krishnakumari (2005). Các cao chiết phân đoạn ethyl

acetate, butanol và nước trong nghiên cứu này đều có khả năng ức chế α -amylase và α -glucosidase cao hơn so với cao chiết thô (Nguyen và cs. 2016). Kết quả này cho thấy, khi tách phân đoạn cao chiết methanol (cao chiết thô) các cấu tử có độ phân cực khác nhau sẽ được phân bố trong các dung môi phù hợp. Trong nghiên cứu này, các chất có hoạt tính cao sẽ được làm giàu trong các phân đoạn ethyl acetate, butanol và nước, từ đó định hướng cô lập các chất có hoạt tính.

3.3. Khả năng gây hạ đường huyết trên chuột gây đái tháo đường

Sau khi xác định hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế enzyme tiêu hóa tính bột, tiếp tục tiến hành đánh giá khả năng hạ đường huyết của chuột gây đái tháo đường bằng streptozocin. Hiệu quả gây hạ đường huyết trên chuột được tiến hành ở nồng độ 200mg/kg thể trọng của chuột.

3.3.1. Sự biến động đường huyết trong vòng 8 giờ xử lý với cao chiết

Chuột sau khi gây đái tháo đường bằng streptozocin, những con chuột có đường huyết nằm trong khoảng 10 – 20 (mMol/l) tiến hành chia lô thí nghiệm,

chuột được điều trị bằng cao chiết phân đoạn với liều dùng 200 mg/kg thể trọng của chuột và sau đó theo dõi sự thay đổi đường huyết của chuột sau mỗi 2 giờ 1 lần.

Kết quả sự biến thiên nồng độ đường huyết trên mô hình chuột thí nghiệm được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Sự thay đổi đường huyết của chuột gây đái tháo đường trong 8 giờ xử lý

Phân đoạn/đối chứng	Nồng độ glucose máu (mMol/l)				
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
Chloroform	12,18 ± 0,98 ^b	12,56 ± 0,70 ^b	12,83 ± 1,25 ^a	14,76 ± 1,04 ^a	14,19 ± 0,98 ^a
Phân đoạn Ethyl acetate	11,53 ± 1,10 ^a	8,27 ± 1,75 ^b	6,80 ± 1,65 ^b	7,87 ± 2,39 ^b	7,63 ± 1,53 ^b
Phân đoạn butanol	12,07 ± 0,35 ^a	10,77 ± 0,74 ^a	11,73 ± 1,45 ^a	12,00 ± 0,72 ^a	9,13 ± 1,17 ^a
Phân đoạn nước	14,23 ± 1,50 ^a	10,90 ± 4,66 ^a	6,83 ± 0,25 ^b	7,00 ± 0,95 ^b	7,17 ± 2,06 ^b
Đối chứng dương (Acarbose)	14,10 ± 1,93 ^a	7,10 ± 0,95 ^b	8,17 ± 1,52 ^b	9,10 ± 0,62 ^b	12,23 ± 2,06 ^a
Đối chứng âm (nước muối sinh lý)	13,40 ± 2,0 ^a	12,30 ± 1,9 ^a	13,60 ± 2,1 ^a	15,40 ± 1,8 ^b	16,50 ± 1,0 ^b

Trong đó: các chữ cái khác nhau a, b trên các giá trị trung bình trong cùng một hàng biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy là 95%

Kết quả Bảng 3 cho thấy, khả năng gây hạ đường huyết trên chuột gây đái tháo đường của các cao chiết phân đoạn, acarbose và nước muối sinh lý là không giống nhau. Đối với lô chuột gây đái tháo đường sau đó cho uống nước muối sinh lý, đường huyết chuột ổn định sau 4 giờ và sau đó tăng liên tục các giờ tiếp theo. Trong khi đó, lô chuột đái tháo đường sau đó điều trị bằng acarbose với liều lượng 120mg/kg thể trọng sau 2 giờ cho uống đường huyết đã bắt đầu giảm từ 14,10 ± 1,93 mMol/l xuống còn 7,10 ± 0,95 mMol/l và có xu hướng tăng ở các giờ tiếp theo, sau 8 giờ đường huyết tăng lên 12,23 ± 2,06 mMol/l.

Lô chuột đái tháo đường và điều trị bằng cao chiết với liều dùng 200mg/ml thì cho kết quả khác nhau giữa các loại cao chiết nhưng đều có xu thế chung là giảm đều từ 2 giờ đầu tiên cho đến 8 giờ. Trong đó, cao chiết phân đoạn nước có khả năng hạ đường huyết trên chuột thí nghiệm là cao nhất nhất, đường huyết giảm từ 14,23 ± 1,50 mMol/l xuống còn 7,17 ± 2,06 mMol/l sau 8 giờ điều trị (giảm gần 50%). Sự giảm đường huyết trên lô chuột điều trị bằng cao chiết phân đoạn butanol giữa các giờ đo khác nhau không có nghĩa (p<0,05).

Đường huyết của chuột được điều trị bằng cao chiết phân đoạn chloroform giữ ổn định trong 4 giờ đầu nhưng sau đó tăng sau 6 giờ điều trị. Từ kết quả trên cho thấy, các cao chiết phân đoạn nước và ethyl acetate gây hạ đường huyết trên chuột mô hình gây đái tháo đường chậm hơn so với đối chứng dương acarbose nhưng duy trì sự ổn định đường huyết trong suốt thời gian nghiên cứu. Kết quả này cũng tương tự đối với cao chiết methanol từ vỏ cây chiêu liêu đen (Nguyen và cs., 2015). Kết quả bảng 2 và 3 cho thấy, cao chiết phân đoạn có khả năng ức chế α-amylase thì khả năng gây hạ đường huyết càng lớn.

3.3.2. Hiệu quả gây hạ đường huyết của các cao chiết phân đoạn

Từ những kết quả nghiên cứu ở bảng 3, tiến hành khảo sát khả năng hạ đường huyết của các cao chiết của các phân đoạn tiềm năng gồm ethyl acetate, butanol và nước ở thí nghiệm đa liều. Sự thay đổi đường huyết của chuột gây tiểu đường sau đó điều trị bằng cao chiết thí nghiệm, acarbose và nước muối sinh lý được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Khả năng hạ đường huyết của các cao chiết phân đoạn từ vỏ thân chiêu liêu và acarbose trên mô hình chuột gây đái tháo đường bằng streptozocin

Phân đoạn	Nồng độ glucose máu (mMol/l)			
	Ngày thứ 0	Ngày thứ 4	Ngày thứ 8	Ngày thứ 12
Phân đoạn Ethyl acetate	13,43 ± 2,14 ^a	11,53 ± 4,40 ^a	8,67 ± 0,75 ^b	8,00 ± 0,20 ^b
Phân đoạn butanol	13,03 ± 1,61 ^a	11,80 ± 1,25 ^a	8,80 ± 1,56 ^b	8,40 ± 1,15 ^b
Phân đoạn nước	13,70 ± 1,80 ^a	10,53 ± 0,61 ^a	9,80 ± 0,60 ^b	8,60 ± 0,70 ^b
Đối chứng dương (Acarbose)	13,20 ± 3,21 ^a	10,00 ± 5,90 ^b	6,90 ± 3,75 ^b	5,93 ± 2,27 ^b
Đối chứng âm (nước muối sinh lý)	10,70 ± 0,50 ^b	10,70 ± 1,22 ^b	13,37 ± 2,42 ^{ab}	16,23 ± 3,19 ^a
Chuột bình thường	7,43 ± 0,32 ^a	7,53 ± 0,46 ^a	7,10 ± 0,66 ^a	6,90 ± 0,79 ^a

Trong đó: các chữ cái khác nhau a, b trên các giá trị trung bình trong cùng một hàng biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy là 95%.

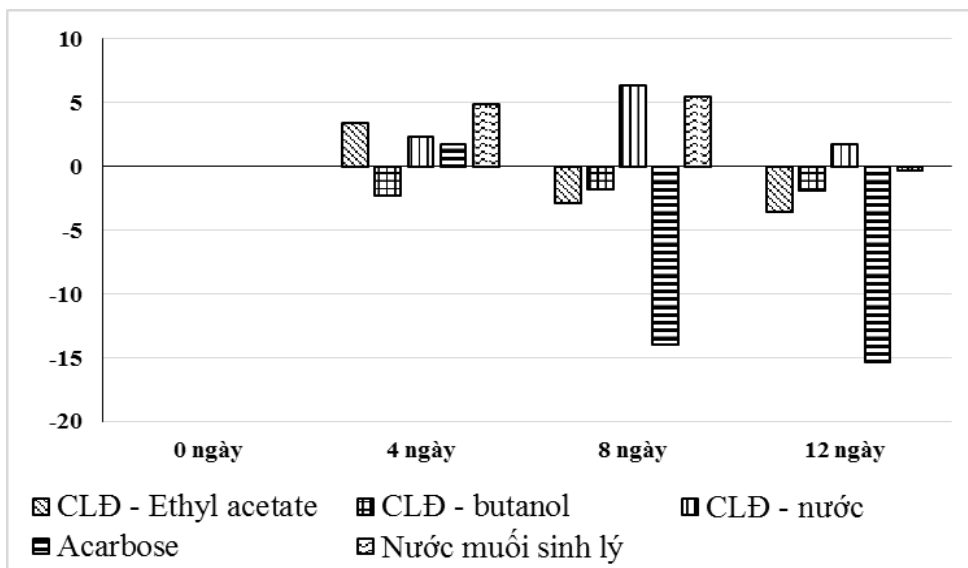
Khả năng gây hạ đường huyết của các cao chiết phân đoạn từ vỏ thân chiêu liêu và acarbose là không giống nhau giữa các lô chuột thí nghiệm (Bảng 4). Đối với chuột bình thường, đường huyết của chuột không có sự khác nhau có nghĩa giữa các lần khảo sát trong suốt quá trình nghiên cứu. Trong khi đó, chuột gây đái tháo đường và cho uống nước muối sinh lý thì sau 8 ngày, đường huyết của chuột tăng từ $10,70 \pm 0,50$ đến $13,37 \pm 2,42$ ở ngày thứ 8 (tăng 24,9%) và tăng lên $16,23 \pm 3,19$ ở ngày thứ 12 (tăng 51,7%); đồng thời, trạng thái của chuột khá mệt mỏi, lông xù, di chuyển chậm chạp.

Lô chuột gây đái tháo đường và điều trị bằng acarbose mỗi ngày 1 lần với liều dùng 120mg/kg thể trọng, đường huyết giảm từ $13,20 \pm 3,21$ mMol/l xuống $6,90 \pm 3,75$ mMol/l (giảm 53%) sau 8 ngày sử dụng và tiếp tục giảm đến $5,93 \pm 2,27$ (giảm 60,1%) sau 12 ngày điều trị. Chuột sau 12 ngày có biểu hiện mệt mỏi, sụt cân.

Đối với các lô chuột đái tháo đường và được điều trị bằng các cao chiết phân đoạn thì sự thay đổi đường huyết là không có sự khác biệt rõ ràng giữa các lô. Tuy nhiên, đường huyết của tất cả các lô được điều trị bằng cao chiết đều giảm ($P \leq 0,05$)

so với ban đầu; phân trăm giảm đường huyết so với ban đầu là từ 35 đến 40% sau 12 ngày điều trị. Đặc biệt, chuột đái tháo đường sau khi điều trị bằng cách cho uống cao chiết phân đoạn có trạng thái khỏe mạnh, lông mượt và ăn uống bình thường. Hiệu quả hạ đường huyết của một số cây thuốc thuộc chi chiêu cũng đã được công bố bởi các tác giả (Nguyen và cs., 2016; Osonwa và cs., 2016; Ragavan và Krishnakumari, 2005, 2006). Như vậy, kết quả của nghiên cứu này phù hợp với các công bố trước đây về hiệu quả hạ đường huyết trên chuột đái tháo đường.

Sự thay đổi khối lượng của chuột trong quá trình điều trị thể hiện trong hình 1. Kết quả cho thấy, khối lượng của chuột trên mô hình đái tháo đường cho uống nước muối sinh lý tăng nhẹ trong 8 ngày đầu tiên và sau đó có xu hướng giảm vào ngày thứ 12. Trong khi đó, khối lượng của lô chuột đái tháo đường được điều trị bằng acarbose thì khối lượng chuột giảm trong suốt quá trình nghiên cứu và sau 12 ngày, khối lượng của chuột giảm trên 15% (hình 1). Đối với lô chuột đái tháo đường và được điều trị bằng cao chiết phân đoạn từ vỏ thân cây chiêu liêu thì khối lượng của chuột dao động trong khoảng $\pm 5\%$.



Hình 1. Sự thay đổi khối lượng của các lô chuột gây đái tháo đường bằng streptozocin

4. KẾT LUẬN

Từ những kết quả cho thấy cao chiết phân đoạn nước, butanol và ethyl acetate từ vỏ thân cây chiêu liêu đen (*Terminalia alata* Heyne ex Roth) có tiềm năng ứng dụng trong điều trị bệnh đái tháo đường thông qua cơ chế ức chế enzyme thủy phân tinh bột gồm α -amylase và α -glucosidase. Nghiên cứu này cần được tiếp tục cô lập và xác định cấu trúc các hợp chất chính có hoạt tính để có thể ứng dụng làm thực phẩm cũng như dược phẩm trong điều trị bệnh đái tháo đường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chai, T. T., & Wong, F. C. (2012). Whole-plant profiling of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant capacity and nitric oxide scavenging capacity of *Turnera subulata*. *Journal of Med Plants Research*, 6(9), 1730.
- Catherine, N. K., Jasper, K. I., Michael, W. O., Hans, K. B., & Vellingiri, V. (2012). Total phenolic content, antioxidant and antidiabetic properties of methanolic extract of raw and traditionally processed Kenyan indigenous food ingredients. *LWT - Food Science and Technology*, 45(2), 269-276.
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determination in proteins. *Journal of Biology and Chemistry*, 27, 627-650.
- Gao, H., Huang, Y. N., Xu, P. Y., & Kawabata, J. (2007). Inhibitory effect on α -glucosidase by the fruits of *Terminalia chebula* Retz. *Food Chemistry*, 105, 628-634.
- Gray, D.M. (1995). Carbohydrate digestion and absorption—role of small intestine. *The New England Journal of medicine*, 29, 1225-1230.
- Krentz, A. J., & Bailey, C. J. (2005). Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 65, 385-411.
- Kwon, Y. I., Vatter, D. A., & Shetty, K. (2006). Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asian Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15, 107-118.
- Lee, H. S., Jung, S. H., Yun, B. S., & Lee, K. W. (2007). Isolation of chebulic acid from *Terminalia chebula* Retz. and its antioxidant effect in isolated rat hepatocytes. *Archives of Toxicology*, 81, 211-218.

- Lopez-Velez, M., Martinez-Martine, F., & Del Valle-ribes, C. (2003). The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *43*, 233–244
- Nguyen, Q. V., & Eun, J. B. (2011). Antioxidant activity of solvent extracts from Vietnamese medicinal plants. *Journal of Med Plants Research*, *5*(13), 2798-2811.
- Nguyen, Q. V., Nguyen, V. B., Eun, J. B., Wang, S. L., Nguyen, D. H., Tran, T. N., & Nguyen, A. D. (2015). Antioxidant and antidiabetic effect of some medicinal plants belong to Terminalia species collected in Dak Lak Province, Vietnam. *Research on Chemical Intermediates*.
- Nguyen, Q. V., & Eun, J. B. (2013). Antimicrobial activity of solvent extracts from Vietnamese medicinal plants. *Journal of Med Plants Research*, *4*(35), 2597-2605.
- Osonwa, U. E., Nedum, H. C., Onyegbule, F. A., & Ezugwu, C. O. (2016). Anti-diabetic effects of stem bark extract and fractions of Terminalia catappa Linn. (Combretaceae). *Journal of Phytopharmacology*, *5*(5), 167-175.
- Piljac-žegarac, J., Martinez, S., Valek, L., Stipčević, T., & Kovačević-ganić, K. (2005). Correlation between the phenolic content and dpph radical scavenging activity of selected Croatian wines. *Acta Alimentaria*, *36*(2), 185-193.
- Ragavan, B., & Krishnakumari, S. (2005). Effect of Terminalia arjuna stem bark extract on the activities of marker enzymes in alloxan induced diabetic rats. *Ancient Science of Life*, *25*(1), 8-15.
- Ragavan, B., & Krishnakumari, S. (2006). Antidiabetic effect of T. arjuna bark extract in alloxan induced diabetic rats. *Indian Journal of Clinical and Biochemistry*, *21*(2), 123-128.
- Saleem, A., Husheem, M., Härkönen, P., & Pihlaja, K. (2002). Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of Terminalia chebula retz. fruit. *Journal of Ethnopharmacology*, *81*(3), 327-336.
- Wansi, J. D., Lallemand, M. C., Chiozem, D. D., Toze, F. A., Mbaze, L. M., Naharkhan, S. M. C., Iqbal, F., Tillequin, W. J., & Fomum, Z. T. (2007). Alpha-Glucosidase inhibitory constituents from stem bark of Terminalia superba (Combretaceae). *Phytochemistry*, *68*(15), 2096-100.

ANTIOXIDANT AND ANTI-HYPERGLYCEMIC ACTIVITIES OF FRACTIONAL EXTRACTS OF *Terminalia alata* Heyne ex Roth COLLECTED IN YOKDON NATIONAL PARK

Nguyen Quang Vinh^{1*}, Ho Thi Hao²

*Corresponding Author:

Nguyen Quang Vinh

Email: vinh12b@gmail.com

¹Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University

²Faculty of Forestry Agriculture, Tay Nguyen University

Received: March 1st, 2019

Accepted: April 10th, 2019

Keywords: Anti-hyperglycemic, *Terminalia alata*, DPPH, α -amylase, α -glucosidase

ABSTRACT

Antioxidant activity and anti-hyperglycemic activities fractionation extracts from trunk-bark of *Terminalia alata* Heyne ex Roth were investigated. The antioxidant activity was determined by DPPH radical scavenging and the antidiabetic activity was determined by digestive enzymes inhibition and lowering fast blood glucose in diabetic rats. The results indicated that polyphenol contents had an increase together with the polarity increase of extraction solvent, and DPPH radical scavenging activity of the fractions also depends on total polyphenol content. α -amylase inhibitory activity of ethyl acetate, butanol and water fraction extracts with the IC₅₀ values of 0.001; 0.138 ± 0.005 ; 0.022 ± 0.001 mg/ml, respectively was lower than that of acarbose (0.154 ± 0.02 mg/ml). However, IC₅₀ values of α -glucosidase inhibitory activity of these fraction extracts were higher than those of acarbose. In addition, these fraction extracts lowered blood glucose levels in streptozotocin induced diabetic rats at the dose of 200 mg/kg body weight but not induced body weight loss in rats comparing to acarbose. The results of the study suggested that the ethylacetate, butanol and water extracts of trunk-bark of *Terminalia alata* Heyne ex Roth are potentially useful for antiaging and treating diabetes.