

KHẢO SÁT HIỆU QUẢ HẠ ĐƯỜNG HUYẾT VÀ CHỐNG OXY HÓA CỦA CAO CHIẾT CÂY NHÀU (*MORINDA CITRIFOLIA* L.) Ở CHUỘT BỆNH TIỂU ĐƯỜNG

Đái Thị Xuân Trang¹, Nguyễn Thị Mai Phương¹, Võ Thị Ngọc Diễm¹ và Quách Tú Huệ¹

ABSTRACT

Hyperglycemia increase in oxidative stress results in diabetic complication. This study evaluated the anti-diabetic potential of ethanolic extracts from root, leaf, green and ripe fruits of Morinda citrifolia by determining their antioxidant and antihyperglycemic activities in vitro and in vivo. The antioxidant activity was determined through the measurement of DPPH radical scavenging activity in vitro. Mice were induced diabetes by using alloxan monohydrate. The extracts of Morinda citrifolia could suppress hyperglycemia in diabetic mice by the oral intake. Finally, the antioxidant effect of these plant extracts in the kidneys of experimental diabetic mice was observed through the total antioxidant status (TAS) in kidney of mice. The results showed that oral administration of ethanolic extracts (200 mg/kg × 2 times/ day) could make lower the glucose level of blood as well as the commercial antidiabetic drug (glucofast), and reduced oxidative stress-mediated damage in diabetic kidneys. The results also proved that Morinda citrifolia ethanolic extracts improved the DPPH radical scavenging activity in vitro.

Keywords: Diabetic, DPPH, TAS, antihyperglycemic, Morinda citrifolia

Title: Studies on hypoglycemic and antioxidant activities of ethanolic extracts from Morinda citrifolia L. in diabetic mice

TÓM TẮT

Tăng đường huyết làm gia tăng sự tạo thành stress oxy hóa là nguyên nhân của những biến chứng phức tạp ở bệnh tiểu đường (BTĐ). Nghiên cứu này khảo sát hiệu quả điều trị BTĐ của cao ethanol rễ, lá, trái xanh và trái chín cây Nhàu thông qua khả năng chống oxy hóa và hạ đường huyết in vivo và vi vitro. Hoạt động chống oxy hóa được xác định thông qua khả năng làm sạch gốc tự do DPPH in vitro. Chuột được gây bệnh tiểu đường bằng dung dịch alloxan monohydrate (AM). Sau đó, chuột BTĐ được điều trị bệnh với cao ethanol các bộ phận cây Nhàu. Thận của nhóm chuột điều trị BTĐ được khảo sát hiệu quả chống oxy hóa thông qua khả năng chống oxy hóa tổng số (TAS). Kết quả cho thấy, sau khi chuột BTĐ uống cao chiết cây Nhàu với liều lượng 200 mg/kg × 2 lần/ ngày có đường huyết tương đương nhóm chuột BTĐ được điều trị với thuốc trị tiểu đường glucofast và giảm thiểu stress oxy hóa trong thận. Kết quả cũng chứng minh rằng dịch chiết ethanol cây Nhàu cải thiện khả năng làm sạch gốc tự do DPPH in vitro.

Từ khóa: Bệnh tiểu đường, DPPH, TAS, sự tăng đường huyết, cây Nhàu

1 GIỚI THIỆU

Hiện nay BTĐ đang phát triển rất nhanh và là nguyên nhân của nhiều biến chứng phức tạp (Bhat *et al.*, 2008). Sự phát triển của BTĐ do nhiều nguyên nhân trong đó nguyên nhân chính là stress oxy hóa. Stress oxy hóa dẫn đến sự tạo thành các gốc

¹ Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

tự do là yếu tố chính của sự phát triển bệnh và những biến chứng phức tạp của BTĐ (Tripathi and Chandra, 2009). Ngăn chặn sự tiến triển của BTĐ bằng cách bổ sung các chất chống oxy hóa tự nhiên hiện diện trong thực vật do các chất chống oxy hóa này có khả năng làm sạch các gốc tự do có hại cho cơ thể từ sự stress oxy hóa (Pal *et al.*, 2011).

Cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) và các bộ phận của cây được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm trong những năm gần đây. Cây Nhàu chứa nhiều hợp chất chống oxy hóa như beta- carotene, acid ascorbic, terpenoid, alkaloids, beta sitosterol, carotene, polyphenol như flavonoid, flavone glycosides, rutin... (Ramamoorthy and Bono, 2007). Cây Nhàu được biết có hiệu quả, giá thành thấp lại ít tác dụng phụ nên sẽ là một trong những loại thuốc thực vật trị BTĐ triển vọng (Ramamoorthy and Bono, 2007).

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện

Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu gồm máy cô quay chân không Heidolph (Đức), máy đo đường huyết ACCU – CHECK[®] Active, máy ly tâm lạnh Mikro 220R (Đức), máy đo pH Metler Toledo, máy lắc 8 vị trí Daiki SI001 (Hàn Quốc), máy đo quang phổ, máy khuấy từ, máy vortex.

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm gồm ethanol (China), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Wako, Japan), hydrogen peroxide (H₂O₂) (Merck), EDTA (Merck), Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ (Merck), acid acetic, alloxan monohydrate (AM) (Sigma), Trolox (Denmark), nước muối sinh lý, sodium benzoate, TBA (thiobarbituric acid) (Merck), thuốc điều trị bệnh tiểu đường glucofast, diethyl ether và một số hóa chất khác.

Vật liệu thí nghiệm là chuột nhắt trắng do viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh cung cấp. Rễ, lá, trái xanh và trái chín cây Nhàu được thu hái ở tỉnh Kiên Giang.

2.2 Phương pháp

2.2.1 Trích cao cây Nhàu bằng dung môi ethanol

Nguyên liệu được sử dụng bao gồm lá, rễ, trái xanh và trái chín của cây Nhàu được thu hái ở tỉnh Kiên Giang. Các mẫu được rửa sạch bằng nước sau đó được cắt nhỏ, để riêng, phơi khô cho đến khi trọng lượng không đổi.

250 g mỗi loại lá, rễ, trái xanh và chín của cây Nhàu khô được ngâm trong ethanol 70% ở nhiệt độ phòng. Sau thời gian 7 ngày, phần nước dịch ngâm mẫu được lọc và cô đuổi dung môi dưới áp suất kém. Cao ethanol từ cây Nhàu sau khi loại bỏ dung môi được trữ ở 4°C để sử dụng cho thí nghiệm sau.

2.2.2 Khảo sát hoạt động làm sạch gốc tự do DPPH *in vitro*

Hoạt động làm sạch gốc tự do của các cao ethanol từ các bộ phận của cây Nhàu được thực hiện theo quy trình của Shirwaikar *et al.* (2006) có điều chỉnh như sau: Cao ethanol các bộ phận của cây Nhàu được pha thành các nồng độ là 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2 và 3 mg/ml trong ethanol. 200 µl cao chiết ở mỗi nồng độ khảo sát được thêm vào 100 µl DPPH 6.10⁻⁴M. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ 60 phút ở nhiệt độ phòng và để trong tối được đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm. Hoạt

động làm sạch gốc tự do DPPH được tính toán tương đương μM Trolox (Koracevic *et al.*, 2000).

2.2.3 Khảo sát khả năng hạ đường huyết của cao ethanol các bộ phận cây Nhàu

Chuột 9 tuần tuổi khỏe mạnh được tiêm dung dịch alloxan monohydrate (AM) ở nồng độ 130 mg/kg trọng lượng chuột để gây BTĐ. Sau khi chuột BTĐ ổn định 7 ngày, khả năng hạ đường huyết của cao ethanol lá, rễ, trái xanh và trái chín cây Nhàu được xác định bằng cách cho chuột BTĐ uống thuốc điều trị BTĐ glucofast (150 mg/kg trọng lượng chuột) hoặc cao ethanol từ các bộ phận của cây Nhàu (200 mg/kg trọng lượng chuột). Chuột BTĐ uống cao ethanol lá, rễ, trái xanh và trái chín 0,1 ml \times 2 lần/ngày trong 21 ngày điều trị. Đường huyết được xác định vào lúc 8 – 9 giờ sáng trước khi chuột được cho ăn. Sau khi đo đường huyết 60 phút, chuột được cho ăn và uống nước bình thường. Sau 21 ngày được điều trị bệnh với các cao chiết, chuột được cho nhịn đói qua đêm, thận được lấy ra và xử lý cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.4 Khảo sát sự chống oxy hóa tổng số (Total Antioxidant Status assay (TAS)) in vivo

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết cây Nhàu được thực hiện dựa trên nguyên tắc sau: Dung dịch sodium benzoate kết hợp với $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ tạo ra các O_2^- (superoxide). Nếu trong thận có hiện diện các chất chống oxy hóa thì sẽ kết hợp với các superoxide. Lượng superoxide còn lại sẽ kết hợp với TBA để thành lập TBA – RS (thiobarbituric acid reactive substances) được đo ở bước sóng 532 nm.

Quy trình phản ứng được thực hiện theo các bước sau: 100 mg thận chuột được tách ra nghiền mịn với 200 μL dung dịch đệm phosphate lạnh nồng độ 100 mM, pH = 7,4. Sau khi ly tâm trong 10 phút ở 10.000 vòng/phút, phần dịch nổi ở trên được sử dụng cho việc khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết (Bhat *et al.*, 2008).

TAS được xác định theo phương pháp của Koracevic *et al.* (2000) có hiệu chỉnh như sau: 10 μL dịch thận sau khi đồng nhất (kidney homogenate) được pha loãng với 490 μL dung dịch đệm sodium phosphate nồng độ 100 mM, pH = 7,4 được cho vào hỗn hợp gồm 0,5 mL dung dịch sodium benzoate 10 mM với 0,2 mL Fe – EDTA (2 mL Fe – EDTA được pha từ 2 mM dung dịch EDTA với 2 mM dung dịch $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$). Sau đó 0,2 mL H_2O_2 10 mM được cho vào hỗn hợp phản ứng, lắc đều và ủ ở 37°C trong 60 phút. Sau khi ủ, 1 mL acid acetic 20% và TBA (thiobarbituric acid) 0,8% trong NaOH được thêm vào ống nghiệm. Hỗn hợp phản ứng sau khi ủ ở 100°C trong 30 phút được để nguội ở nhiệt độ phòng. Độ hấp thụ quang phổ của phản ứng được đo ở bước sóng 532 nm. TAS trong thận được tính toán tương đương nồng độ mM Trolox (Erejuwa *et al.*, 2011).

2.2.5 Thống kê phân tích số liệu

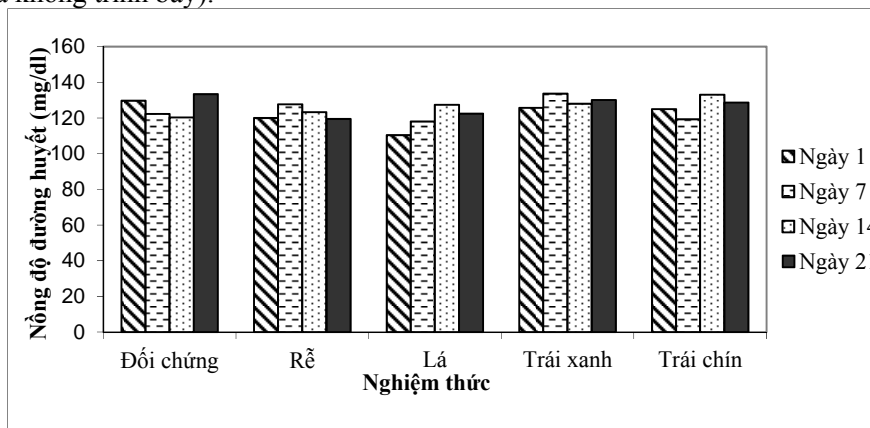
Số liệu được trình bày bằng MEAN \pm SEM. Kết quả được xử lý thống kê theo phương pháp ANOVA bằng phần mềm minitab 16.0.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Sự an toàn của cao ethanol các bộ phận cây Nhàu trên chuột bình thường

Để đánh giá sự an toàn (không gây độc tính cấp) của cao ethanol các bộ phận cây Nhàu, chuột nhắt trắng bình thường được cho uống cao ethanol ở nồng độ 200 mg/kg trọng lượng. Kết quả về sự thay đổi đường huyết của chuột được trình bày trong hình 1.

Theo kết quả hình 1 cho thấy, đường huyết của chuột uống các cao chiết và nhóm chuột đối chứng thay đổi không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm và các ngày uống cao chiết trong suốt quá trình thử nghiệm 21 ngày. Như vậy cao ethanol các bộ phận cây Nhàu không ảnh hưởng đến đường huyết chuột bình thường. Mặt khác, trọng lượng chuột sau 21 ngày uống cao ethanol các bộ phận cây Nhàu cũng không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng (kết quả không trình bày).



Hình 1: Nồng độ đường huyết của chuột khi uống các cao chiết ở nồng độ 200 mg/kg trọng lượng

Từ tất cả kết quả trình bày trên cho thấy cao ethanol các bộ phận cây Nhàu không gây độc trên chuột bình thường ở nồng độ 200 mg/kg trọng lượng trong 21 ngày.

3.2 Khả năng hạ đường huyết của các cao chiết từ các bộ phận cây Nhàu trên chuột bệnh tiểu đường

Nồng độ đường huyết của chuột sau 7 ngày được tiêm dung dịch AM vào khoang bụng được trình bày trong bảng 1. Kết quả cho thấy nồng độ đường huyết có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) khi tiêm AM nồng độ 130 mg/kg trọng lượng so với chuột ở nhóm đối chứng không tiêm AM.

Bảng 1: Nồng độ đường huyết của chuột trước và sau khi tiêm alloxan monohydrate

Nghiệm thức	n	Trước khi tiêm AM	Sau khi tiêm AM
Đối chứng	3	124,33 ± 4,04	121,33 ^b ± 1,15
Tiêm AM	18	133,44 ± 13,95	421,94 ^a ± 65,90

Ghi chú: các chữ cái theo sau trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Qua 21 ngày điều trị, kết quả cho thấy ở nhóm chuột bình thường uống nước cất đường huyết gần như ổn định trong suốt quá trình thí nghiệm (không có khác biệt

có ý nghĩa thống kê $P > 0,05$). Đối với các nhóm chuột BTĐ không được điều trị xuất hiện chuột chết rải rác sau 2 ngày và tất cả chuột chết sau 9 ngày thí nghiệm. Nhóm điều trị bằng thuốc glucofast có nồng độ đường huyết giảm cao nhất là 67,65%. Trong các nhóm chuột điều trị bằng cao chiết cây Nhàu thì nhóm điều trị bằng cao rễ có hiệu quả cao nhất (giảm 58,01%), sau đó là nhóm điều trị với cao trái chín (giảm 51,62%), cao trái xanh (giảm 41,43%) và cuối cùng là cao lá (giảm 34,21%).

Bảng 2: Đường huyết của các nhóm nghiệm thức trước và sau khi điều trị bệnh tiểu đường

Nghiệm thức	Đường huyết (mg/dl)		Tỷ lệ tăng (+), giảm (-) (%)
	Trước điều trị	Sau điều trị	
Bình thường	121,33 ^b ± 1,15	132,67 ^c ± 11,85	+ 9,35
Không trị bệnh	464,33 ^a ± 76,81	Chết	
Glucofast	477,00 ^a ± 28,58	154,33 ^c ± 4,04	- 67,65
Rễ	443,00 ^a ± 53,81	186,00 ^{bc} ± 16,52	- 58,01
Lá	381,00 ^a ± 61,61	250,67 ^a ± 22,03	- 34,21
Trái xanh	385,33 ^a ± 90,05	225,67 ^{ab} ± 45,24	- 41,43
Trái chín	381,00 ^a ± 21,28	184,33 ^{bc} ± 57,66	- 51,62

Ghi chú: các chữ cái theo sau trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Theo nghiên cứu của Phạm Thị Lan Anh (2011) trên chuột BTĐ được gây bệnh bằng AM và điều trị với cao chiết rễ Nhàu với liều lượng 400 mg/kg trọng lượng, sử dụng 0,1 ml/2 lần/ ngày trong 20 ngày điều trị đường huyết giảm 71,62%. Như vậy hiệu quả hạ đường huyết của cao ethanol rễ Nhàu được sử dụng trong nghiên cứu này thấp hơn (58,01%) do liều lượng cao chiết được sử dụng thấp hơn (200 mg/kg trọng lượng chuột).

Nhiều cao chiết thực vật cũng được chứng minh có khả năng hạ đường huyết trên chuột bệnh tiểu đường. Trong đó khả năng hạ đường huyết của mướp đắng (*Momordica charantia*) (giảm 51,2%), cỏ ca ri (*Trigonella foenum graecum*) (giảm 55,2%) (Tripathi and Chandra, 2009) tương ứng với cao rễ Nhàu (giảm 58,01%) và cao trái chín (giảm 51,2%) trong nghiên cứu này. Tuy nhiên khả năng hạ đường huyết của cao chiết từ các bộ phận cây Nhàu thấp hơn so với nho đỏ (*Vitis vinifera* variety Burgund mare) (giảm 65,33%) (Chis *et al.*, 2009) và cây lá dứa (*Pandanus amaryllifolius* R.) (giảm 73,2% khi sử dụng nồng độ 400 mg/kg trọng lượng chuột) (Phạm Thị Lan Anh, 2011).

3.3 Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết cây Nhàu

3.3.1 Khảo sát khả năng làm sạch gốc tự do DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) của cao chiết từ các bộ phận cây Nhàu in vitro

Xác định khả năng chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH là phương pháp đơn giản, nhanh chóng và ít tốn kém. Trong những năm gần đây phương pháp này cũng được sử dụng để định lượng chất chống oxy hóa trong các hệ thống sinh học phức tạp (Prakash *et al.*, 2000). DPPH là hợp chất có màu tím được phát hiện ở bước sóng 517 nm. Khi các điện tử lẻ của các gốc tự do DPPH kết hợp với hydro từ chất chống oxy hóa thì sẽ hình thành nên DPPH-H lúc này màu sắc chuyển từ màu tím sang màu vàng. Sự biến đổi màu này tương ứng với lượng electron kết hợp với DPPH (Prakash *et al.*, 2000). Do đó, khả năng làm sạch gốc tự do của một

chất càng cao thì sự hấp thụ quang phổ được đo ở 517 nm của phản ứng DPPH có giá trị càng giảm và ngược lại.

Trolox (Vitamin E) là chất chống oxy hóa chuẩn thường được sử dụng để so sánh khả năng làm sạch gốc tự do của các chất cần được khảo sát. Đường chuẩn DPPH được tính theo μM Trolox theo phương trình đường chuẩn là $y = -0,0096x + 1,6226$ ($R^2 = 0,9918$).

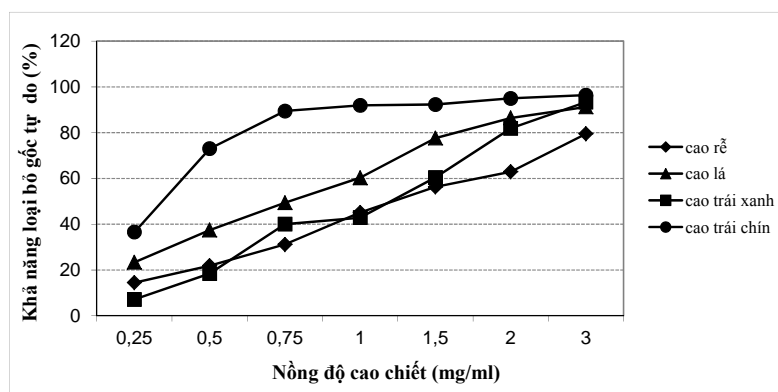
Khả năng làm sạch gốc tự do ở các nồng độ của cao ethanol các bộ phận cây Nhàu tính tương đương theo μM Trolox dựa vào phương trình đường chuẩn, kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3: Nồng độ của cao chiết rễ, lá, trái xanh và trái chín cây Nhàu tính tương đương Trolox

Nồng độ cao chiết (mg/ml)	Giá trị nồng độ cao theo chuẩn Trolox (μM)			
	Cao rễ	Cao lá	Cao trái xanh	Cao trái chín
0,25	$21,38 \pm 4,25$	$36,77 \pm 6,38$	$8,68 \pm 1,99$	$59,5 \pm 4,38$
0,5	$34,14 \pm 3,71$	$61,01 \pm 6,54$	$28,22 \pm 0,93$	$122,39 \pm 2,8$
0,75	$50,19 \pm 3,67$	$81,67 \pm 8,28$	$65,49 \pm 0,55$	$150,8 \pm 0,43$
1,0	$74,31 \pm 2,61$	$100,5 \pm 7,21$	$70,41 \pm 1,97$	$155,11 \pm 0,6$
1,5	$93,59 \pm 2,93$	$130,44 \pm 4,87$	$100,66 \pm 0,95$	$155,67 \pm 0,38$
2,0	$105,05 \pm 1,36$	$145,66 \pm 5,62$	$137,73 \pm 0,94$	$160,35 \pm 0,49$
3,0	$133,64 \pm 1,56$	$153,96 \pm 4,98$	$157,55 \pm 0,6$	$162,78 \pm 0,5$
EC_{50} (mg/ml)	$1,2531 \pm 0,003$	$0,9172 \pm 0,007$	$1,0252 \pm 0,001$	$0,2369 \pm 0,002$

Kết quả cho thấy khả năng làm sạch gốc tự do tỷ lệ thuận với nồng độ của cao chiết, nồng độ của cao chiết càng cao thì khả năng làm sạch gốc tự do càng lớn và ngược lại. Khả năng làm sạch 50% các gốc tự do EC_{50} (Effective concentration of 50%) được tính toán dựa vào đồ thị và kết quả được trình bày trong Bảng 2. Trong đó cao chiết trái chín có khả năng làm sạch gốc tự do cao nhất ($\text{EC}_{50} = 0,2369 \pm 0,002$) sau đó là cao lá ($\text{EC}_{50} = 0,9172 \pm 0,007$), cao trái xanh ($\text{EC}_{50} = 1,0252 \pm 0,001$) và cuối cùng là cao rễ ($\text{EC}_{50} = 1,253 \pm 0,003$).

Phần trăm độ hấp thụ DPPH của cao ethanol các bộ phận cây Nhàu được thể hiện ở hình 2 cho thấy khi nồng độ cao chiết tăng thì độ hấp thụ DPPH cũng tăng. Trong đó, phần trăm độ hấp thụ DPPH của cao trái chín là lớn nhất ở nồng độ 0,25 mg/ml (36,57%), thấp nhất là cao trái xanh (7,14%). Ở nồng độ 3 mg/ml cao chiết, độ hấp thụ DPPH của cao trái chín là 96,39%, thấp nhất là cao rễ 79,51%.



Hình 2: Khả năng làm sạch gốc tự do của cao ethanol các bộ phận cây Nhàu (%)

EC₅₀ của cao lá trong phản ứng DPPH theo nghiên cứu của Thani *et al.* (2010) (0,31 mg/ml) thấp hơn so với cao lá sử dụng trong thí nghiệm này (0,91716 mg/ml) vì có thể cao lá được sử dụng trong thí nghiệm của Thani *et al.* (2010) là cao ethanol 95%. Dịch chiết của lá Nhàu thu được từ những kỹ thuật tách chiết khác nhau cũng được sử dụng để khảo sát khả năng làm sạch gốc tự do DPPH theo nghiên cứu của Pak-Dek *et al.* (2011) cũng phù hợp với giá trị EC₅₀ của cao lá trong nghiên cứu này.

3.3.2 Khảo sát khả năng chống oxy hóa tổng số (Total Antioxidant Status (TAS) assay) *in vivo*

Thận là một trong những cơ quan của cơ thể bị ảnh hưởng bởi stress oxy hóa dẫn đến những biến chứng phức tạp, nên sự loại bỏ các gốc tự do có hại bởi những chất có khả năng chống oxy hóa tự nhiên nhằm ngăn chặn những biến chứng phức tạp của BTĐ cũng là một trong những mục tiêu được lựa chọn để hướng tới kiểm soát BTĐ hiệu quả (Pah *et al.*, 2011). Khả năng chống oxy hóa của cao chiết cây Nhàu được khảo sát ở thận của chuột BTĐ theo phương pháp TAS. Kết quả về khả năng chống oxy hóa của cao ethanol từ các bộ phận cây Nhàu được tính tương đương theo mM Trolox dựa vào đường chuẩn và phương trình đường chuẩn $y = -0,3923x + 1,1822$ ($R^2 = 0,9902$), kết quả được trình bày trong bảng 4.

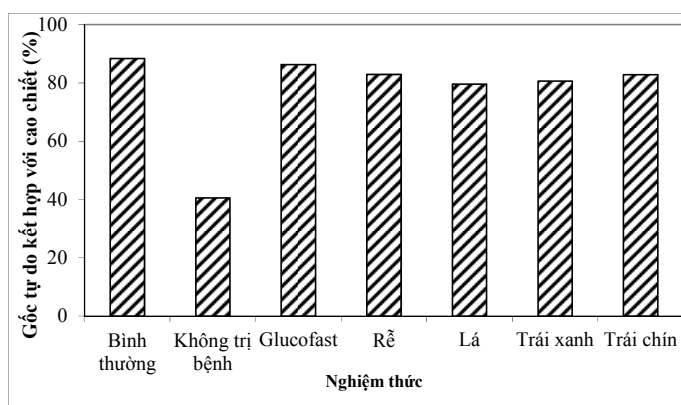
Kết quả ở bảng 4 cho thấy nhóm chuột BTĐ không được điều trị có khả năng chống oxy hóa thấp nhất ($0,5240 \pm 0,0123$ mM Trolox) có khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$). Khả năng chống oxy hóa được cải thiện ở các nhóm được điều trị bệnh với glucofast và các cao chiết. Trong đó nhóm chuột điều trị bằng glucofast có khả năng chống oxy hóa tương đương với nhóm chuột bình thường uống nước cất (không có khác biệt có ý nghĩa thống kê $P > 0,05$). Khả năng chống oxy hóa của nhóm chuột BTĐ điều trị với cao rễ và cao trái chín tương đương nhau, nhóm chuột BTĐ điều trị với cao lá tương đương với nhóm điều trị với cao trái xanh. Tuy nhiên, các nhóm điều trị với cao ethanol từ các bộ phận cây Nhàu đều có khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chuột bình thường uống nước cất ($P < 0,05$).

Bảng 4: Hiệu quả chống oxy hóa của cao chiết từ các bộ phận cây Nhàu được khảo sát ở thận chuột bệnh tiểu đường

Nghiệm thức	Hiệu quả chống oxy hóa được tính theo mM Trolox	Hiệu quả chống oxy hóa được tính theo tỷ lệ %
Bình thường	1,1218 ^a ± 0,0215	88,33
Bệnh không trị	0,5240 ^d ± 0,0123	40,48
Glucofast	1,0963 ^a ± 0,0015	86,29
Rễ	1,0536 ^b ± 0,0051	82,88
Lá	1,0120 ^c ± 0,0256	79,55
Trái xanh	1,0251 ^{bc} ± 0,0259	80,59
Trái chín	1,0522 ^{bc} ± 0,0497	82,76

Ghi chú: các chữ cái theo sau trong cùng một cột khác nhau sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Lượng gốc tự do đã kết hợp với chất chống oxy hóa có trong thận của chuột tương ứng ở các nghiệm thức được thể hiện trong bảng 4 và hình 3. Kết quả cho thấy phần trăm lượng gốc tự do kết hợp với chất chống oxy hóa cao nhất ở nhóm chuột bình thường uống nước cất (88,33 %) và thấp nhất ở nhóm chuột BTĐ không được điều trị (40,48 %). Đối với các nhóm chuột BTĐ được điều trị với glucofast (86,29%) và giảm dần ở các nhóm chuột BTĐ điều trị với cao chiết cây Nhàu lần lượt là rễ (82,88%), trái chín (82,76%) trái xanh (80,59%) và lá (79,55%).



Hình 3: Phần trăm lượng gốc tự do kết hợp với chất chống oxy hóa trong thận

Theo nghiên cứu của Erejuwa *et al.* (2011) chuột BTĐ được điều trị với thuốc điều trị BTĐ như metformin hoặc glibenclamide kết hợp với mật ong cải thiện được tình trạng stress oxy hóa ở thận hiệu quả hơn so với chỉ sử dụng thuốc điều trị metformin hoặc glibenclamide.

Từ kết quả nghiên cứu đạt được cho thấy cao chiết từ các bộ phận của cây Nhàu có hiệu quả ổn định đường huyết ở chuột BTĐ cũng như loại bỏ được các tác nhân gây ra stress oxy hóa ở thận của chuột BTĐ. Điều này cho thấy hiệu quả của việc sử dụng cây Nhàu như liệu pháp hỗ trợ trong điều trị BTĐ. Đây chính là thông tin khoa học hữu ích cho các bệnh nhân BTĐ lựa chọn cây Nhàu để hỗ trợ điều trị bệnh. Nghiên cứu này cũng góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho y học cổ truyền những dữ liệu liên quan đến việc ứng dụng cây Nhàu trong điều trị bệnh.

4 KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1 Kết luận

- Cao ethanol của cây Nhàu có tác dụng hạ đường huyết trên chuột BTĐ sau 21 ngày điều trị theo thứ tự rễ (58,01%), trái chín (51,62%), trái xanh (41,43% và lá (34,21%).
- Hiệu quả loại bỏ gốc tự do của cao chiết Nhàu theo thứ tự trái chín ($EC_{50} = 0,237 \pm 0,002$), lá ($EC_{50} = 0,917 \pm 0,006$), trái xanh ($EC_{50} = 1,025 \pm 0,001$) và rễ ($EC_{50} = 1,531 \pm 0,003$).
- Phần trăm lượng gốc tự do tạo ra ở thận của chuột bệnh tiểu đường kết hợp với các chất chống oxy hóa trong cao chiết cây Nhàu theo thứ tự lần lượt trái chín (82,76%), rễ (82,88%) trái xanh (80,59) và lá (79,55%). Hiệu quả loại bỏ gốc tự do của các cao chiết Nhàu tương đương với glucofast (86,29%) và gần bằng với chuột khỏe mạnh (88,33%).

4.2 Kiến nghị

- Khảo sát các cơ chế hạ đường huyết của cao chiết cây Nhàu trên chuột bệnh tiểu đường.
- Khảo sát cơ chế chống oxy hóa của cao chiết cây Nhàu ở các cơ quan khác nhau của chuột bệnh tiểu đường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bhat M, S.S Zinjarde, S.Y Bhargava, A.R Kumar and B.N Joshi. 2008. Antidiabetic Indian plants: a good sources of potent amylase inhibitors. *eCAM*. Article ID 810207, 6 pages.
- Chis I.C, M.I Ungureanu, A. Marton, R. Simedrea, A. Muresan, I.D Postescu and N. Decea. 2009. Antioxidant effects of a grape seed extract in a rat model of diabetes mellitus. *Diabetes & Vascular research*. 6 (3). 200 – 204.
- Erejuwa O.O, S.A Sulaiman, M.S.A Wahab, S.K.N Salam, M.S.M Salleh and S. Gurtu. 2011. Comparison of antioxidant effects of honey, glibenclamide, metformin, and their combinations in the kidneys of streptozotocin-induced diabetic rats. *Int. J. Mol. Sci*. 12(1), 829-843.
- Georgiev V.G, J. Weber, E.M Kneschke, P.N Dnev, T. Bley and A.I Pavlov. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit Dark red. *Plant foods hum nutr*. 65. 105 – 111.
- Koracevic D, G.Koracevic, V.Djordjevic, S.Andrejevic and V.Cosis. 2000. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J. Clin. Pathol*. 54, 356 – 361.
- Pak-Dek M.S, A. Osman, N.G. Sahib, N. Saari, M. Markom, A.A. Hamid and F. Anwar. 2011. Effects of extraction techniques on phenolic components and antioxidant activity of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(20): 5050-5057.
- Pal R, K.Girhepunje, N.Shrivastav, M.M.Hussain and Thirumoorthy. 2011. Antioxidant and free radical scavenging activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia*. *Annals of Biological Research*, 2 (1) : 127-131.
- Phạm Thị Lan Anh. 2011. Khảo sát khả năng hạ đường huyết của một số dược liệu dân gian. Trường Đại học Cần Thơ. Luận văn tốt nghiệp cao học.
- Prakash A, F.Rigelhof and E.Miller. 2000. Antioxidant activity. *Analytical progress Medallion Laboratories*. 1 - 4.

- Ramamoorthy P.K and A.Bono. 2007. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction process. *Journal of Engineering Science and Technology Vol. 2. 1*: 70 – 80.
- Shirwaikar A, K.Rajendran and I.S.Punithaa. 2006. In vivo antionxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine. *Biol Pharm Bull.* 29, 1906 – 1910; DOI: 10.1248/bpb.29.1906.
- Thani W, O. Vallisuta, P. Siripong and N. Ruangwises. 2010. Anti – proliferative and antioxidative activities of Thai noni/ Yor (*Morinda citrifolia* Linn.) leaf extract. *Southeast Asian J Trop Med public health.* 41 (2): 482 – 489.
- Tripathi U.N and D.Chandra. 2009. The plant extracts of *Momordica charantia* and *Trigonella foenum graecum* have antioxidant and anti – hyperglycemic properties for cardiac tissue during diabetes mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2: 5, 290 – 296.