

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



LÝ HẢI TRIỀU

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG VÀ CƠ CHẾ HẠ GLUCOSE
HUYẾT CỦA HẠT CHUỐI CÔ ĐƠN (*Ensete glaucum*
(Roxb.) Cheesman) TRÊN THỰC NGHIỆM**

Chuyên ngành: Dược lý - Dược lâm sàng

Mã số: 972.02.05

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2024

Công trình được hoàn thành tại:

Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh, Viện
Dược liệu

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS. Lê Văn Minh
2. PGS. TS. Nguyễn Thị Thu Hương

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Viện
họp tại Viện Dược liệu

Vào hồigiờ.....ngày.....tháng.....năm 2024

Có thể tìm hiểu Luận án tại:

Thư viện Quốc gia Việt Nam

Thư viện Viện Dược liệu

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Tính cấp thiết của Luận án

Đái tháo đường (ĐTĐ) là một bệnh rối loạn chuyển hóa đặc trưng bởi tình trạng tăng đường huyết mạn tính với nhiều biến chứng nguy hiểm. Trong đó, bệnh ĐTĐ tuýp 2 chiếm hơn 90% số người mắc bệnh ĐTĐ, đang có xu hướng trẻ hoá và tỷ lệ mắc bệnh ngày càng tăng trên thế giới và tại Việt Nam [1]. Mặc dù liệu pháp insulin và/hoặc thuốc điều trị ĐTĐ đường uống được sử dụng đơn trị hay phối hợp mang lại những hiệu quả nhất định cho bệnh nhân ĐTĐ nhưng vẫn có một số hạn chế. Do đó, nghiên cứu các liệu pháp mới bổ sung hay thay thế giúp kiểm soát nồng độ đường huyết và ngăn ngừa hiệu quả tiến triển các biến chứng đang rất được quan tâm. Dược liệu là một đối tượng tiềm năng có thể tạo ra đa tác động giúp kiểm soát đường huyết, ngăn ngừa biến chứng và bảo vệ các cơ quan do sự tồn tại đa dạng các hợp chất chuyển hóa thứ cấp.

Chuối cô đơn có tên khoa học là *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman, phân bố phổ biến ở khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới châu Á và châu Phi. Ở Việt Nam, chuối cô đơn phân bố ở nhiều nơi nhưng được phát hiện nhiều ở tỉnh Ninh Thuận. Chuối cô đơn là một loài chuối đặc biệt, có hạt lớn, sinh sản bằng hạt và sau khi quả chín thì cây tự héo rũ dần rồi chết đi. Theo kinh nghiệm dân gian, quả hay hạt chuối cô đơn được ngâm với rượu hoặc sắc với nước, uống chữa sỏi tiết niệu, sỏi thận, sỏi bàng quang, đái tháo đường, đau nhức xương khớp, tiểu gắt, phù nề, dị ứng da, táo bón, mụn nhọt [2]. Tuy nhiên,

chưa có bằng chứng khoa học của những tác dụng này. Các cao chiết từ vỏ quả, thịt quả và hạt được chứng minh có các tác dụng như kháng oxy hóa và ức chế α -glucosidase; trong đó, cao chiết từ hạt thể hiện các tác dụng này cao hơn [3],[4]. Chính vì vậy, luận án tiếp cận nghiên cứu tác dụng dược lý của hạt chuối cô đơn theo hướng hạ glucose huyết trong hỗ trợ điều trị ĐTĐ. Các kết quả nghiên cứu của đề tài không chỉ cung cấp bằng chứng khoa học của việc sử dụng hạt chuối cô đơn trong chữa ĐTĐ theo kinh nghiệm dân gian mà còn là cơ sở để định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo trong tương lai.

2. Mục tiêu của Luận án

Mục tiêu 1: Đánh giá tác dụng hạ glucose huyết, bảo vệ gan và thận của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn trên mô hình gây tăng glucose huyết thực nghiệm.

Mục tiêu 2: Xác định cơ chế tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol và một số hợp chất phân lập từ hạt chuối cô đơn trên các mô hình thực nghiệm.

3. Bố cục của Luận án

Luận án gồm 146 trang, bao gồm: Đặt vấn đề (02 trang); Chương 1. Tổng quan (33 trang); Chương 2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu (31 trang); Chương 3. Kết quả nghiên cứu (38 trang); Chương 4. Bàn luận (39 trang); Kết luận (02 trang) và Kiến nghị (01 trang).

Luận án có 292 tài liệu tham khảo trong đó có 02 tài liệu tiếng Việt và 290 tài liệu tiếng Anh. Luận án có 09 bảng, 55 hình và 23 phụ lục kèm theo.

B. NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về chi *Ensete*

Chi *Ensete* thuộc họ Chuối (Musaceae), có 3 loài bao gồm *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman, *Ensete superbum* (Roxb.) Cheesman và *Ensete lecongkietii* Luu, N.L.Vu & Q.D.Nguyen tại Việt Nam.

E. glaucum thường được gọi là chuối tuyết, chuối cô đơn, chuối mò cô, chuối chân voi, chuối hoa sen.



Hình 1.1. Hình ảnh cây chuối cô đơn (*Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman)

Cây chuối cô đơn được sử dụng chữa các bệnh đường hô hấp (hen suyễn, khô khè) (thân giả, lá), bệnh đường tiêu hóa (loét dạ dày, kiết lỵ, tiêu chảy, táo bón) (hoa, toàn cây), bệnh đường tiết niệu (sỏi thận, sỏi tiết niệu, khó tiểu), đái tháo đường, đau nhức xương khớp (hạt) [2]. Một báo cáo tổng quan năm 2022 cho thấy *E. glaucum* là loài chưa được khám phá rõ

ràng các thành phần hóa học và tác dụng sinh học trước đó [5]. Các nghiên cứu sàng lọc ban đầu cho thấy hạt chuối cô đơn tại Việt Nam có hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế α -glucosidase *in vitro* tốt, cho thấy hạt chuối cô đơn có thể là đối tượng tiềm năng để tiếp tục nghiên cứu thêm nhằm xác minh các tác dụng sinh học, góp phần cung cấp các thông tin cho việc dùng đối tượng này trong y học dân gian.

1.2. Tổng quan về bệnh đái tháo đường tuýp 2

ĐTĐ tuýp 2 là tình trạng cơ thể vẫn còn sản xuất insulin vì lượng tế bào β tụy vẫn còn, nhưng insulin được sản xuất ra không đủ do suy giảm chức năng và số lượng tế bào β hoặc các tế bào kém hoặc không nhạy với insulin (đề kháng insulin).

Có nhiều nguyên nhân dẫn đến suy giảm chức năng và số lượng tế bào β như yếu tố di truyền, glucotoxicity (ngộ độc glucose), lipotoxicity (ngộ độc lipid), giảm tiết GLP-1, tăng apoptosis tế bào,... Hai cơ chế được thảo luận nhiều gần đây là ngộ độc glucose, ngộ độc lipid và sự kết hợp của chúng (glucolipotoxicity).

Kháng insulin là tình trạng giảm hoặc mất tính nhạy cảm của insulin với cơ quan đích. Tình trạng này cũng gián tiếp ảnh hưởng đến chức năng tiết insulin của tế bào β tụy vì tế bào β phải tăng tiết insulin bù trừ hiện tượng kháng insulin. Nguyên nhân dẫn đến hiện tượng kháng insulin có thể do các bất thường trước thụ thể như bất thường insulin hoặc do kháng thể kháng insulin; các khiếm khuyết tại thụ thể như ái lực của insulin với thụ thể.

1.3. **Đích tác dụng của các thuốc điều trị đái tháo đường**

Làm giảm/chậm sự hấp thu glucid trên đường tiêu hóa: Ức chế α -glucosidase với điển hình là acarbose; ức chế hoạt động SGLT1 (chưa có thuốc điều trị vì chưa có hoạt chất ức chế chọn lọc trên SGLT1 ở ruột).

Kích thích tế bào β tụy tiết insulin: Kích thích trực tiếp tế bào β tụy tiết insulin thông qua gắn và đóng kênh K_{ATP} , điển hình là nhóm sulfonylurea và nhóm glinid hoặc kích thích gián tiếp thông qua tác dụng incretin bao gồm nhóm đồng vận tại thụ thể GLP-1 và ức chế DPP-4.

Làm giảm kháng insulin/tăng nhạy cảm với insulin: Một số đích tác động theo hướng này như AMPK, PPAR γ , PTP1B, ACC,... điển hình là metformin thuộc nhóm biguanid và pioglitazon thuộc nhóm thiazolidinedion (TZD).

Một số đích tác động khác như ức chế chất đồng vận chuyển natri-glucose 2 (SGLT2); resin gắn acid mật; chủ vận trên thụ thể dopamin D2.

1.4. **Một số mô hình thực nghiệm trong nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết**

Mô hình ức chế các enzym tiêu hóa carbohydrat: Thử nghiệm *in vitro* ức chế α -amylase bằng thuốc thử DNSA hay iodine và ức chế α -glucosidase sử dụng cơ chất pNPG.

Mô hình ức chế hấp thu glucose ở ruột non: Mô hình *in vitro* sử dụng dòng các dòng tế bào (điển hình là dòng Caco-2) và mô hình ống thẩm tách. Mô hình *ex vivo* sử dụng buồng Ussing và đoạn ruột non lộn ngược.

Mô hình đánh giá khả năng tiết insulin: Mô hình *in vitro* sử dụng các dòng tế bào β tụy thương mại, tế bào β và tiểu đảo tụy phân lập từ tụy của động vật nghiên cứu (thường là chuột).

Mô hình đánh giá mức độ nhạy với insulin: Mô hình *in vitro* sử dụng các dòng tế bào mô đích như 3T3-L1 (dòng tế bào tiền mỡ, preadipose), L6, C2C12 (dòng tế bào cơ xương) và HepG2 (dòng tế bào gan) hoặc tế bào phân lập từ mô đích.

Một số mô hình thực nghiệm *in vivo*: Động vật nhỏ như giun tròn *C. elegans*, ruồi giấm *D. melanogaster* và cá ngựa vằn *D. rerio*; động vật gặm nhấm nhỏ như chuột cống và chuột nhắt; động vật lớn như chó và lợn là những động vật thường được sử dụng để thiết lập mô hình nghiên cứu bệnh ĐTĐ. Một số tác nhân có thể dùng để gây mô hình ĐTĐ như hóa chất (phổ biến nhất là STZ và alloxan), hormon, kháng thể, virus, phẫu thuật, di truyền, chế độ ăn uống.

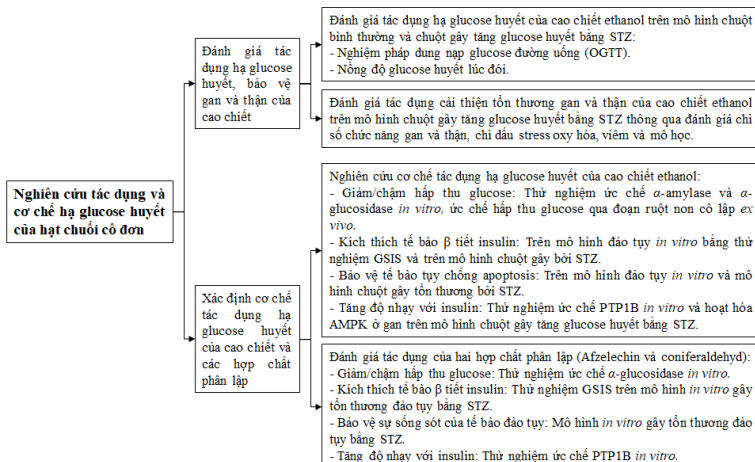
CHƯƠNG 2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu

Đối tượng nghiên cứu là cao chiết ethanol và hai hợp chất được phân lập từ hạt chuối cô đơn bao gồm afzelechin và coniferaldehyd. Cao chiết và các hợp chất được cung cấp bởi Phòng Hóa-Chế phẩm, Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM.

Động vật nghiên cứu là chuột nhắt trắng đực trưởng thành, khỏe mạnh (5-6 tuần tuổi) chủng *Swiss albino*. Chuột được nuôi ổn định ở điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi thí nghiệm.

2.2. Nội dung nghiên cứu



Hình 2.1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thử nghiệm dung nạp glucose đường uống

Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô như sau: Lô chứng sinh lý: Chuột được uống nước cất; Các lô thử: Chuột được uống cao chiết ethanol ở các liều khác nhau (12,5, 25, 50 mg/kg); Lô đối chiếu: Chuột được uống glibenclamid liều 5 mg/kg. Chuột được cho nhịn đói qua đêm, thực nghiệm dung nạp được thực hiện sau một giờ cho uống mẫu thử. Nồng độ glucose huyết được xác định tại các thời điểm 0 phút, 30 phút, 60 phút và 120 phút sau khi uống glucose liều 2 g/kg [6].

Các chỉ tiêu đánh giá: Nồng độ glucose huyết ở các thời điểm; phần trăm hạ glucose huyết so với lô chứng ở cùng thời điểm; diện tích dưới đường cong (AUC) của glucose.

2.3.2. Thiết kế nghiên cứu đánh giá tác dụng của cao chiết ethanol trên chuột nhắt trắng gây tăng glucose huyết bởi streptozotocin

Chuột được cho nhịn đói qua đêm, máu đuôi chuột được thu để xác định glucose huyết ban đầu. Những con chuột có nồng độ glucose huyết bình thường được tiêm màng bụng (*i.p.*) STZ một liều cao duy nhất 170 mg/kg [6]. Vào ngày thứ 7, máu đuôi chuột được thu để xác định nồng độ glucose huyết lúc đói, những con chuột có nồng độ glucose huyết cao hơn 200 mg/dl được chọn vào thử nghiệm. Những con chuột được chia vào lô chứng sinh lý được tiêm (*i.p.*) dung dịch pha STZ natri citrat 0,1 M, pH = 4,5 cùng thời điểm với tiêm STZ.

Chuột được chia thành các lô như sau: Lô 1 (Chứng sinh lý): Chuột bình thường được uống nước cất; Lô 2 (Chứng bệnh lý): Chuột tăng glucose huyết được uống nước cất; Lô 3 (Thử): Chuột tăng glucose huyết được uống cao chiết liều 12,5 mg/kg/ngày; Lô 4 (Thử): Chuột tăng glucose huyết được uống cao chiết liều 25 mg/kg/ngày; Lô 5 (Thử): Chuột tăng glucose huyết được uống cao chiết liều 50 mg/kg/ngày; Lô 6 (Đối chiếu): Chuột tăng glucose huyết được uống glibenclamid 5 mg/kg/ngày [6].

Chuột được cho uống các mẫu thử tương ứng ở các lô mỗi ngày một lần vào các buổi sáng trong 7 ngày liên tục. Sau 1 giờ uống ở ngày thứ 7, đánh giá các chỉ tiêu như sau:

Đánh giá tác dụng hạ glucose huyết: Nồng độ glucose huyết lúc đói; Thử nghiệm dung nạp glucose đường uống.

Đánh giá tác dụng cải thiện tổn thương gan và thận: Chỉ số sinh hóa: AST, ALT, ALP, GGT, creatinin và BUN trong huyết thanh; Xét nghiệm mô bệnh học gan và thận; Hàm lượng chỉ dấu stress oxy hóa ở mô gan và thận: MDA và GSH; Hàm lượng chỉ dấu viêm ở mô gan và thận: TNF- α và IL-6.

Đánh giá tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin: Nồng độ insulin huyết lúc đói.

Đánh giá tác dụng bảo vệ tụy: Kích thước và số lượng đảo tụy; Mức độ biểu hiện của một số protein trong con đường apoptosis tế bào (Bax, Bcl-2, Cytochrom c, cleaved caspase-3, Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP), p-p38 MAPK, ERK1/2, JNK1, p-AMPK và NF- κ B p65) ở mô tụy bằng Western blot; Hàm lượng chỉ dấu stress oxy hóa ở mô tụy: MDA và GSH; Hàm lượng chỉ dấu viêm ở mô tụy: TNF- α và IL-6.

Đánh giá tác dụng tăng nhạy cảm với insulin: Mức độ biểu hiện của p-AMPK ở mô gan bằng Western blot.

2.3.3. Thực nghiệm ức chế α -amylase *in vitro*

2.3.4. Thực nghiệm ức chế α -glucosidase *in vitro*

2.3.5. Thực nghiệm ức chế hấp thu glucose tại ruột non *ex vivo*

2.3.6. Thiết kế nghiên cứu đánh giá tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin và bảo vệ tế bào tiểu đảo tụy trên mô hình tiểu đảo tụy *in vitro*

Tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin của cao chiết ethanol và hai hợp chất phân lập (Afzelechin và coniferaldehyd) từ hạt chuối cô đơn được đánh giá trên mô hình tiểu đảo tụy

phân lập *in vitro*, quá trình được tiến hành như sau: Phân lập và nuôi cấy tiểu đảo tụy; Đánh giá tính đặc hiệu và chức năng tiết insulin của tiểu đảo; Đánh giá tác động của cao chiết ethanol, afzelechin và coniferaldehyd lên khả năng sống sót của tế bào tiểu đảo bằng thử nghiệm MTT; Đánh giá tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin bằng thử nghiệm tiết insulin được kích thích bởi glucose (GSIS, Glucose-stimulated insulin secretion); Đánh giá tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin và bảo vệ tế bào tiểu đảo của cao chiết ethanol, afzelechin và coniferaldehyd trên mô hình gây tổn thương tiểu đảo tụy *in vitro* bằng STZ.

2.3.7. Thử nghiệm ức chế PTP1B *in vitro*

2.3.8. Xử lý số liệu

Số liệu thực nghiệm được xử lý và phân tích thống kê theo các phương pháp phù hợp bằng phần mềm GraphPad Prism (phiên bản 8.0.2, Inc., La Jolla, CA, Mỹ). Số liệu được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn (Trung bình \pm SD). Sự khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê nếu $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuỗi cô đơn bằng nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống trên chuột bình thường

Kết quả ở **bảng 3.1** cho thấy cao chiết liều 12,5 và 25 mg/kg, glibenclamid liều 5 mg/kg có tác dụng làm giảm nồng độ glucose huyết trong thực nghiệm dung nạp glucose đường uống trên chuột bình thường.

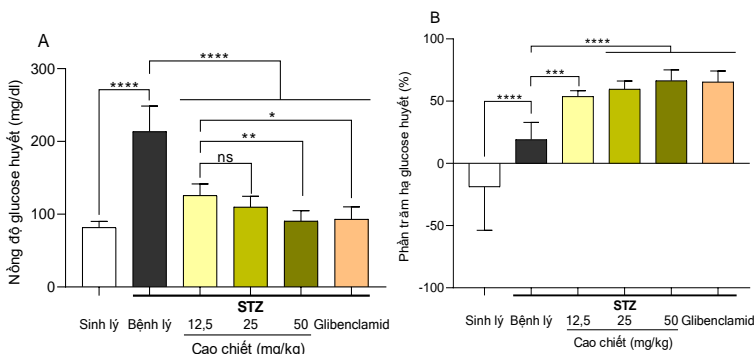
**Bảng 3.1. Tác dụng của cao chiết ethanol trên glucose huyết
bằng thực nghiệm OGTT trên chuột bình thường**

Lô	Nồng độ glucose huyết (mg/dl)			
	0 phút	30 phút	60 phút	120 phút
Chứng	90,35 ± 25,33	198,15 ± 47,19	143,51 ± 27,70	83,51 ± 18,06
Cao chiết 12,5 mg/kg	108,30 ± 23,36	126,00 ± 48,34** (↓36,41%)	94,69 ± 26,97** (↓34,02%)	66,69 ± 18,90
Cao chiết 25 mg/kg	94,92 ± 27,85	134,47 ± 33,11* (↓32,14%)	93,31 ± 23,78** (↓34,98%)	72,49 ± 22,93
Cao chiết 50 mg/kg	91,11 ± 18,91	169,89 ± 35,68 (↓14,26%)	120,97 ± 16,93 (↓15,71%)	74,51 ± 16,90
Glibenclamid 5 mg/kg	98,06 ± 12,41	134,90 ± 18,98* (↓31,92%)	95,73 ± 22,78** (↓33,29%)	76,05 ± 12,09

*Trung bình ± SD (n = 8); (↓a%) Phần trăm hạ glucose huyết so với lô chứng ở cùng thời điểm; *p < 0,05 và **p < 0,01 so với lô chứng ở cùng thời điểm (Phép kiểm Tukey)*

3.2. Tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn trên chuột nhắt gây tăng glucose huyết bởi streptozotocin

Kết quả ở **hình 3.2** cho thấy cao chiết liều 12,5, 25 và 50 mg/kg và glibenclamid liều 5 mg/kg có tác dụng hạ glucose huyết trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ.



Hình 3.2. Tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol sau 7 ngày điều trị trên chuột tăng glucose huyết bởi STZ

Trung bình \pm SD ($n = 9$); (A) Nồng độ glucose huyết của các lô chuột sau 7 ngày điều trị, $^{ns}p > 0,05$, $^*p < 0,05$, $^{**}p < 0,01$ và $^{****}p < 0,0001$ (Phép kiểm Tukey); (B) Phần trăm hạ glucose huyết của các lô chuột so với trước điều trị, $^{***}p < 0,001$ và $^{****}p < 0,0001$ (Phép kiểm Dunnett)

3.3. Tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn bằng nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống trên chuột nhắt gây tăng glucose huyết bởi streptozotocin

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết liều 12,5, 25 và 50 mg/kg và glibenclamid liều 5 mg/kg có tác dụng hạ glucose huyết trong thực nghiệm dung nạp glucose đường uống trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ.

3.4. Tác dụng cải thiện tổn thương gan và thận của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn trên chuột nhắt gây tăng glucose huyết bởi streptozotocin

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết ethanol ở liều 50 mg/kg có tác dụng cải thiện chức năng gan thông qua giảm nồng độ AST và ALT huyết thanh; cải thiện chức năng thận thông qua giảm nồng độ creatinin và BUN trong huyết thanh.

Kết quả đánh giá mô học cho thấy cao chiết liều 50 mg/kg cải thiện cấu trúc mô gan và thận của chuột bệnh lý.

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn có tác dụng cải thiện tổn thương gan và thận có thể thông qua cơ chế điều hoà tình trạng stress oxy hoá (giảm MDA và tăng GSH).

3.5. Cơ chế tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn

Cơ chế tác dụng làm giảm hoặc chậm hấp thu glucose

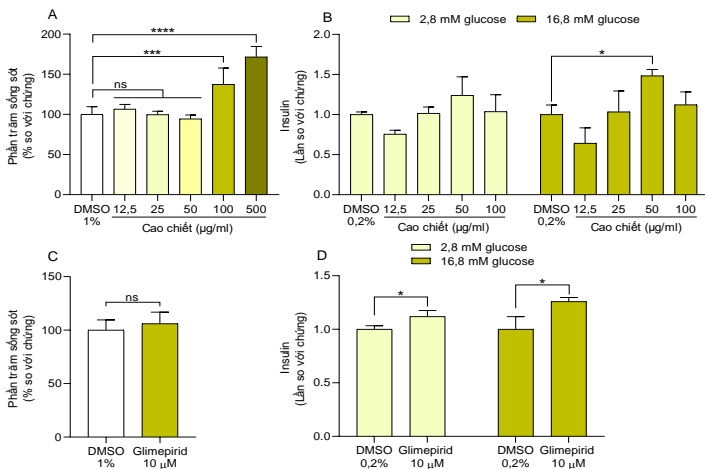
Cao chiết ethanol và acarbose có tác dụng ức chế α -amylase với IC_{50} tương ứng là 222,80 và 206,73 μ g/ml.

Cao chiết ethanol và acarbose có tác dụng ức chế α -glucosidase với IC_{50} tương ứng là 1,58 và 411,77 μ g/ml.

Cao chiết ethanol ở các nồng độ 2,5 và 5 mg/ml có tác dụng ức chế hấp thu glucose qua đoạn ruột non cô lập với chứng dương được sử dụng là phloridzin 50 μ M.

Cơ chế tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin

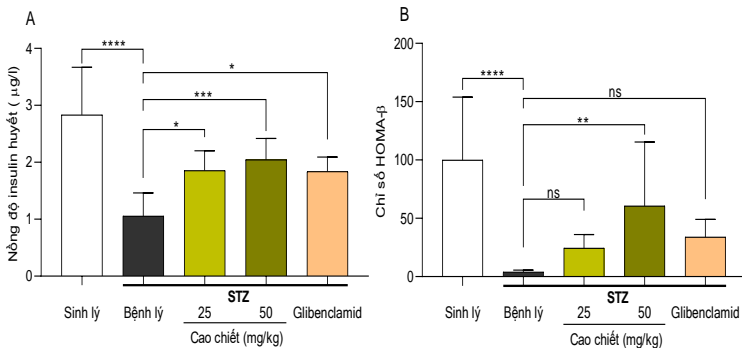
Kết quả ở **hình 3.11** cho thấy cao chiết ở nồng độ 50 μ g/ml có tác dụng làm tăng tiết insulin trong thử nghiệm kích thích tế bào β tiêu đảo tụy bằng glucose (nồng độ 16,8 mM).



Hình 3.11. Tác dụng làm tăng tiết insulin của cao chiết ethanol trong thử nghiệm kích thích tế bào β tiểu đảo tụy bằng glucose
Trung bình ± SD (n = 3); (A, C) Phần trăm sống sót tế bào tiểu đảo; (B, D) Mức độ insulin được giải phóng từ tiểu đảo; ns $p > 0,05$, $*p < 0,05$, $***p < 0,001$ và $****p < 0,0001$ (Phép kiểm Tukey)

Bên cạnh đó, cao chiết ở nồng độ 100 μg/ml có tác dụng kích thích tế bào β tiết insulin trên thực nghiệm *in vitro* gây tổn thương đảo tụy bằng STZ.

Kết quả ở **hình 3.13** cho thấy cao chiết ở liều 25 và 50 mg/kg có tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin và cao chiết 50 mg/kg có tác dụng cải thiện chức năng tiết insulin của tế bào β trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ.



Hình 3.13. Tác dụng cải thiện nồng độ insulin huyết và chức năng tế bào β của cao chiết ethanol sau 7 ngày điều trị trên chuột tăng glucose huyết bởi STZ

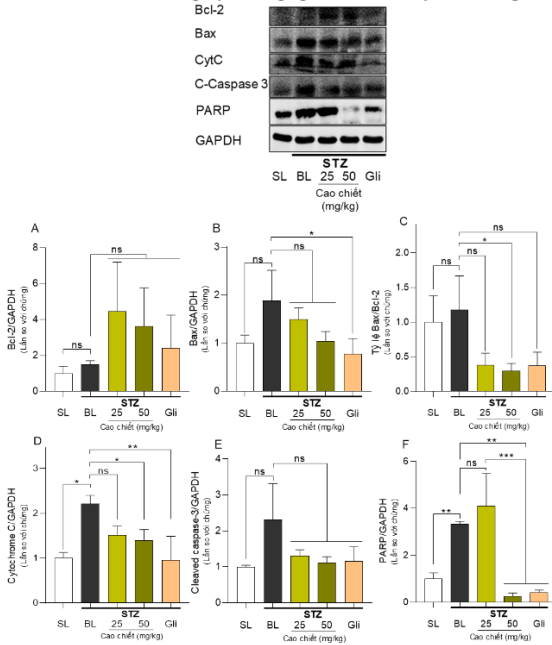
Trung bình \pm SD ($n = 9$); $^{ns}p > 0,05$, $^*p < 0,05$, $^{**}p < 0,01$, $^{***}p < 0,001$ và $^{****}p < 0,0001$ (Phép kiểm Tukey (A) và Dunnett (B))

Cơ chế tác dụng bảo vệ tế bào tiểu đảo tụy

Kết quả nghiên cứu trên *in vitro* cho thấy cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn có khả năng bảo vệ tế bào tiểu đảo chống lại độc tính của STZ thông qua cải thiện đáng kể khả năng sống sót của tế bào tiểu đảo tụy so với nhóm chỉ xử lý với STZ ở nồng độ 50 và 100 $\mu\text{g/ml}$.

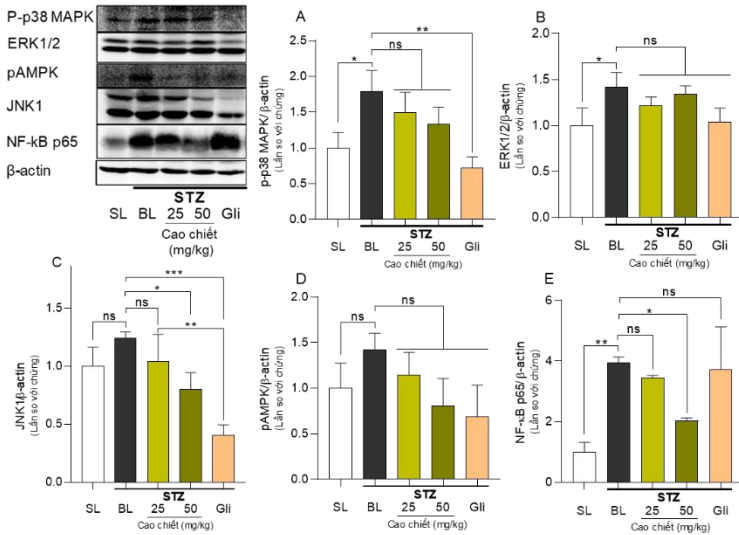
Cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$ thể hiện xu hướng tác dụng bảo vệ tế bào tiểu đảo tụy có thể thông qua cơ chế ngăn chặn quá trình apoptosis tế bào tiểu đảo do STZ gây ra thông qua sự biểu hiện của một số protein liên quan đến con đường apoptosis tế bào bao gồm Bax, cleaved-caspase-3 và PARP.

Kết quả *in vivo* đánh giá mô bệnh học tụy cho thấy cao chiết liều 50 mg/kg có tác dụng cải thiện tổn thương tiểu đảo tụy trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ.



Hình 3.17. Tác động của cao chiết ethanol lên mức độ biểu hiện tương đối của một số protein liên quan đến con đường tín hiệu apoptosis ở mô tụy chuột tăng glucose huyết bởi STZ sau 7 ngày điều trị

Gli: Glibenclamid, Trung bình \pm SD ($n = 3$); $^{ns}p > 0,05$, $^*p < 0,05$, $^{**}p < 0,01$ và $^{***}p < 0,001$ (Phép kiểm Tukey)



Hình 3.18. Tác động của cao chiết ethanol lên mức độ biểu hiện tương đối của một số protein liên quan đến con đường tín hiệu MAPK và NF-κB ở mô tụy chuột tăng glucose huyết bởi STZ sau 7 ngày điều trị

Gli: Glibenclamid, Trung bình \pm SD ($n = 3$); $^{ns}p > 0,05$, $^{*}p < 0,05$, $^{**}p < 0,01$ và $^{***}p < 0,001$ (Phép kiểm Tukey)

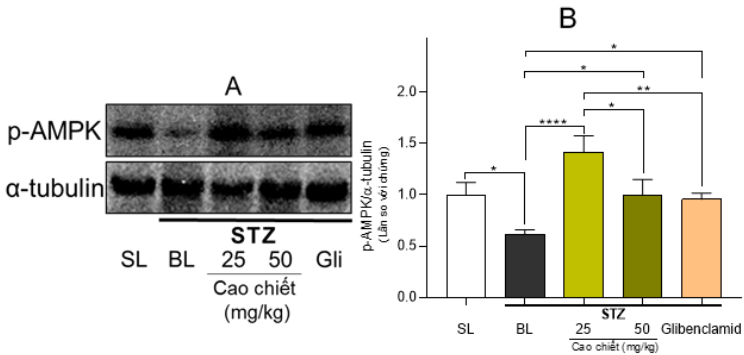
Kết quả ở **hình 3.17** và **3.18** cho thấy cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn liều 50 mg/kg có tác dụng bảo vệ tụy có thể thông qua cơ chế ngăn chặn quá trình apoptosis, con đường tín hiệu MAPK và NF-κB trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ bởi điều chỉnh giảm sự biểu hiện của một số protein bao gồm cytochrom c, PARP, JNK1 và NF-κB p65.

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn có tác dụng cải thiện tổn thương tụy thông qua cơ chế chống peroxy hóa lipid màng tế bào (giảm MDA).

Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn có tác dụng cải thiện tổn thương tụy thông qua cơ chế chống viêm (giảm TNF- α và IL-6).

Cơ chế tác dụng làm tăng độ nhạy cảm của insulin

Cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn ở các nồng độ khảo sát (1,25; 2,5 và 10 μ g/ml) và acid ursolic (20 μ M) đều có tác dụng ức chế PTP1B *in vitro*.



Hình 3.22. Tác động của cao chiết ethanol lên sự biểu hiện của p-AMPK ở mô gan chuột tăng glucose huyết bởi STZ sau 7 ngày điều trị

Trung bình \pm SD ($n = 3$); * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ và **** $p < 0,0001$

(Phép kiểm Tukey)

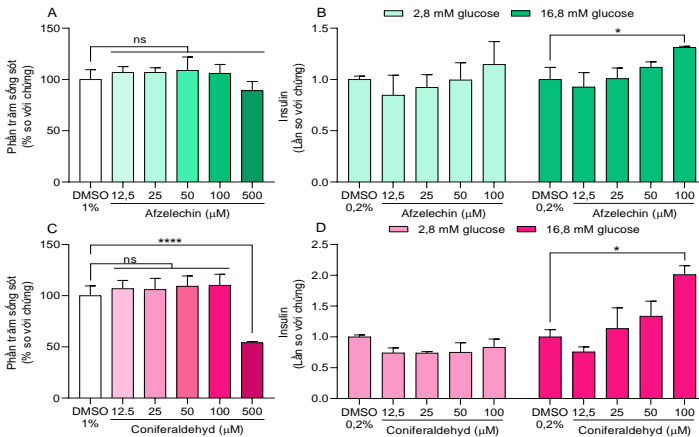
Kết quả ở hình 3.22 cho thấy cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn có tác dụng hoạt hoá AMPK ở gan trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bởi STZ.

3.6. Tác dụng của hai hợp chất phân lập từ hạt chuối cô đơn

Tác dụng làm chậm hấp thu glucid của afzelechin và coniferaldehyd

Afzelechin và coniferaldehyd có tác dụng ức chế α -glucosidase với IC_{50} tương ứng là 184,63 và 52,84 μM so với IC_{50} của acarbose là 637,80 μM .

Tác dụng kích thích tế bào β tiểu đảo tụy tiết insulin của afzelechin và coniferaldehyd



Hình 3.23. Tác dụng làm tăng tiết insulin của afzelechin và coniferaldehyd từ hạt chuối cô đơn trong thử nghiệm kích thích tế bào β tiểu đảo tụy bằng glucose

Trung bình \pm SD ($n = 3$); (A, C) Phân trăm sống sót tế bào tiểu đảo, (B, D) Mức độ insulin được giải phóng từ tiểu đảo trong thử nghiệm GSIS;

$^{ns}p > 0,05$, $^*p < 0,05$ và $^{****}p < 0,0001$ (Phép kiểm Tukey)

Kết quả ở hình 3.23 cho thấy afzelechin và coniferaldehyd ở nồng độ 100 μM có tác dụng làm tăng tiết

insulin ở tế bào β tiểu đảo tụy phân lập từ chuột nhắt trắng khi được kích thích ở nồng độ glucose cao (16,8 mM).

Bên cạnh đó, afzelechin và coniferaldehyd ở nồng độ 100 μ M có tác dụng kích thích tế bào β tiểu đảo tiết insulin trên mô hình tiểu đảo tụy phân lập gây tổn thương bằng STZ.

Tác dụng bảo vệ tế bào tiểu đảo tụy của afzelechin và coniferaldehyd

Kết quả nghiên cứu cho thấy afzelechin và coniferaldehyd 100 μ M có khả năng bảo vệ tế bào tiểu đảo chống lại độc tính của STZ thông qua cải thiện đáng kể khả năng sống sót của tế bào đảo tụy so với nhóm xử lý với STZ.

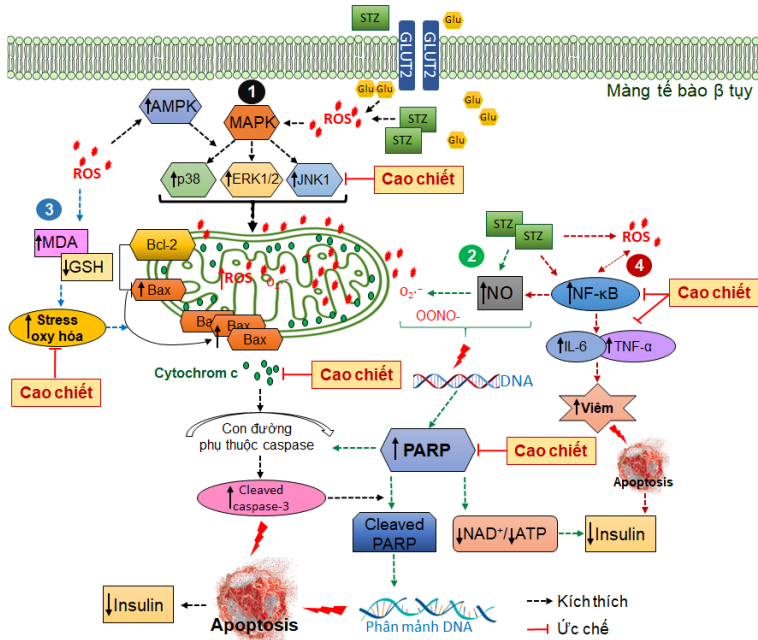
Tác dụng làm tăng độ nhạy với insulin của afzelechin và coniferaldehyd

Afzelechin và coniferaldehyd có tác dụng ức chế PTP1B với IC_{50} tương ứng là 7,58 và 8,39 μ M so với IC_{50} của acid ursolic là 3,70 μ M.

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

Cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn có tác dụng hạ glucose huyết trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ, trong thực nghiệm dung nạp glucose đường uống trên chuột bình thường và chuột tăng glucose huyết bằng STZ. Khám phá các cơ chế tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol và một số hợp chất phân lập (afzelechin và coniferaldehyd) từ hạt chuối cô đơn là điểm nổi bật của luận án. Các cơ chế tác dụng được chứng minh bao gồm giảm/chậm hấp thu glucid thông qua tác dụng ức chế α -amylase, α -glucosidase

và hấp thu glucose qua ruột; kích thích tế bào β tụy tiết insulin với cơ chế được dự đoán là gắn và làm đóng kênh K_{ATP} ; bảo vệ tế bào β tụy thông qua cơ chế điều hòa chống stress oxy hóa, chống viêm và chống apoptosis thông qua con đường truyền tín hiệu MAPK (Hình 4.2); tăng độ nhạy cảm với insulin thông qua cơ chế hoạt hóa AMPK ở gan và có thể là ức chế PTP1B. Ngoài ra, cao chiết còn thể hiện tác dụng cải thiện chức năng và tổn thương gan và thận thông qua tác động cải thiện tình trạng peroxy hóa lipid màng tế bào và cấu trúc mô bệnh học.



Hình 4.2. Cơ chế đề xuất tác dụng bảo vệ tế bào β tụy do STZ và/hoặc tăng glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô

Trong luận án này, lần đầu tiên tác dụng và cơ chế hạ glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn (*Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman) được nghiên cứu và chứng minh, cung cấp bằng chứng khoa học cho việc sử dụng cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn trong điều trị đái tháo đường. Các kết quả của luận án có ý nghĩa định hướng cho nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng trong tương lai về tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn.

KẾT LUẬN

Tác dụng hạ glucose huyết, bảo vệ gan và thận của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn trên mô hình gây tăng glucose huyết thực nghiệm:

Tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết: Cao chiết liều 12,5 và 25 mg/kg có tác dụng hạ glucose huyết trong nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống trên chuột bình thường. Cao chiết liều 12,5, 25 và 50 mg/kg có tác dụng hạ glucose huyết trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ liều 170 mg/kg. Cao chiết liều 25 và 50 mg/kg có tác dụng hạ glucose huyết trong nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ liều 170 mg/kg.

Tác dụng cải thiện tổn thương gan và thận của cao chiết: Cao chiết liều 50 mg/kg có tác dụng cải thiện chức năng gan và thận thông qua nồng độ AST, ALT, creatinin và BUN trong máu giảm đáng kể, giảm hàm lượng MDA trong mô gan, thận

và cải thiện cấu trúc mô gan và thận. Cao chiết liều 25 mg/kg có tác dụng làm tăng hàm lượng GSH trong mô gan và thận.

Cơ chế tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết ethanol và các hợp chất phân lập tiêu biểu (Afzelechin và coniferaldehyd) từ hạt chuối cô đơn trên các mô hình thực nghiệm:

Cao chiết có tác dụng hạ glucose huyết thông qua cơ chế như sau: **(1)** Làm giảm/chậm hấp thu glucid: Cao chiết có tác dụng ức chế α -amylase với IC_{50} là 222,80 $\mu\text{g/ml}$, ức chế α -glucosidase với IC_{50} là 1,58 $\mu\text{g/ml}$ và ức chế hấp thu glucose qua đoạn ruột non cô lập ở nồng độ 2,5 và 5 mg/ml; **(2)** Kích thích tế bào β tụy tiết insulin: Cao chiết nồng độ 50 và 100 $\mu\text{g/ml}$ có tác dụng làm tăng tiết insulin từ tiểu đảo tụy cô lập; cao chiết liều 25 và 50 mg/kg có tác dụng tăng tiết insulin trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ liều 170 mg/kg; **(3)** Bảo vệ tụy: Cao chiết nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$ có tác dụng bảo vệ tế bào tiểu đảo tụy thông qua cơ chế chống apoptosis do STZ gây ra; cao chiết liều 50 mg/kg có tác dụng bảo vệ tụy thông qua cơ chế chống stress oxy hóa, chống viêm và chống apoptosis; **(4)** Làm tăng độ nhạy cảm với insulin: Cao chiết liều 25 và 50 mg/kg có tác dụng làm tăng độ nhạy cảm với insulin thông qua cơ chế hoạt hóa AMPK ở gan trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ liều 170 mg/kg và có thể là cơ chế ức chế PTP1B.

Tác dụng của afzelechin và coniferaldehyd: Afzelechin và coniferaldehyd có các tác dụng góp phần vào cơ chế hạ

glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn như sau: (1) Làm giảm/chậm hấp thu glucid: Afzelechin và coniferaldehyd có tác dụng ức chế α -glucosidase với IC_{50} tương ứng là 184,63 và 52,84 μ M; (2) Kích thích tế bào β tụy tiết insulin: Afzelechin và coniferaldehyd nồng độ 100 μ M có tác dụng làm tăng tiết insulin từ tiểu đảo tụy cô lập với cơ chế được dự đoán là gắn và làm đóng kênh kali nhạy cảm ATP (K_{ATP}); (3) Bảo vệ tế bào β : Afzelechin và coniferaldehyd nồng độ 100 μ M có tác dụng bảo vệ sự sống của tế bào đảo tụy do STZ gây ra; (4) Làm tăng độ nhạy với insulin: Afzelechin và coniferaldehyd có tác dụng ức chế PTP1B với IC_{50} tương ứng là 7,58 và 8,39 μ M.

KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu tác dụng và cơ chế hạ glucose huyết của afzelechin và coniferaldehyd trên mô hình chuột tăng glucose huyết.

Nghiên cứu tác dụng và cơ chế hạ glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn trên mô hình chuột ĐTD túyp 2 kèm béo phì/đề kháng insulin.

Khảo sát tính an toàn của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn thông qua thử nghiệm độc tính bán trường diễn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Magliano D.J., Boyko E.J. (2021), IDF Diabetes Atlas 0th edition scientific committee. IDF Diabetes Atlas. Brussels: International Diabetes Federation; 2021.
2. Naikawadi V., Devikar S., Shirke H., Naikawadi V., Penna S., Nikam T. (2022), "Wild banana (genus *Ensete*) - An underutilised plant as source of food, fodder, fibre and medicine and need for biotechnological interventions", *Crop and Pasture Science*, 74(11), pp. 925-943.
3. Le T.K.O., Ly H.T., Le V.M. (2022), "Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman seeds", *Journal of Medicinal Materials*, 27(2), pp. 95-101.
4. Nguyen L.N., Vo P.A.T., Vong B.L., Ly H.T., Khuong H. T., Nguyen T.T.H., Le D.T., Pham V.T., Phan T.A.D. (2023), "The first study on the bioactivities of *Ensete glaucum* (Roxb.) Cheesman", *The 8th analytica Vietnam Conference, Vietnam National University Press, Hanoi*, pp. 321-328.
5. Laldingliani T.B.C., Thangjam N.M., Zomuanawma R., Bawitlung L., Pal A., Kumar A. (2022), "Ethnomedicinal study of medicinal plants used by Mizo tribes in Champhai district of Mizoram, India", *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 18(1), pp. 22.
6. Ly H.T., Nguyen T.T.H., Tran T.T.L., Lam B.T., Phung T.T.H., Le V.M. (2019), "Hypoglycemic and antioxidant activities of *Clerodendrum inerme* leaf extract on streptozotocin-induced diabetic models in mice", *Chinese Herbal Medicines*, 11(4), pp. 387-393.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

1. **Ly Hai Trieu**, Le Van Minh, Nguyen Thi Thu Huong (2023). Postprandial glyceimic regulating effect of *Ensete glaucum* seed extract. *Journal of Medicinal Materials*, 28(6), 371-378.
2. **Hai Trieu Ly**, Khuong Duy Pham, Phung Hien Le, Thi Hong Tui Do, Thi Thu Huong Nguyen, Van Minh Le (2024). Pharmacological properties of *Ensete glaucum* seed extract: Novel insights for antidiabetic effects via modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis and MAPK signaling pathways. *Journal of Ethnopharmacology*, 320, 117427.
3. **Ly Hai Trieu**, Nguyen Thi Thu Huong, Le Van Minh (2024). Involvement of pancreatic islet protection and AMPK activation in antihyperglycemic activity of *Ensete glaucum* seed extract. *Journal of Medicinal Materials*, 29(2), 119-125.
4. **Ly Hai Trieu**, Le Phung Hien, Le Thi Kim Anh, Lam Bich Thao, Nguyen Minh Khoi, Nguyen Thi Thu Huong, Le Van Minh (2024). Stimulation of insulin secretion and inhibition of K_{ATP} channels by afzelechin and coniferaldehyde from *Ensete glaucum* seeds. *Biomedical Research and Therapy*, 11(4), 6363-6378.