

TÓM TẮT LUẬN ÁN

Họ và tên nghiên cứu sinh: **Lý Hải Triều**

Tên luận án: **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**

Họ và tên cán bộ hướng dẫn (học hàm, học vị):

Cán bộ hướng dẫn 1: **TS. Lê Văn Minh**

Cán bộ hướng dẫn 2: **PGS. TS. Nguyễn Thị Thu Hương**

Tên cơ sở đào tạo: **Viện Dược liệu**

Nội dung tóm tắt luận án:

1. Mục tiêu

- Đánh giá tác dụng hạ glucose huyết và các tác dụng liên quan của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn trên mô hình gây tăng glucose huyết thực nghiệm.
- 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.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thực nghiệm dung nạp glucose đường uống

Chuột được cho nhịn đói qua đêm, thực nghiệm dung nạp glucose đường uống (OGTT) được thực hiện sau một giờ cho uống mẫu thử (cao chiết ở các liều 12,5, 25 và 50 mg/kg; glibenclamid liều 5 mg/kg). 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. Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm nồng độ glucose huyết ở các thời điểm, phần trăm hạ glucose huyết so với lô chứng ở cùng thời điểm và diện tích dưới đường cong (AUC) của glucose.

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

Chuột được cho nhịn đói qua đêm, máu đuôi được thu để xác định glucose huyết ban đầu. Những con chuột có nồng độ glucose huyết bình thường được tiêm (*i.p.*) STZ một liều duy nhất 170 mg/kg. Vào ngày thứ 7, máu đuôi 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 natri citrat 0,1 M, pH = 4,5 (dung môi pha STZ) cùng thời điểm với tiêm STZ.

Chuột được cho uống các mẫu thử (cao chiết ở các liều 12,5, 25 và 50 mg/kg, glibenclamid liều 5 mg/kg) 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 tiểu 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. Các thử nghiệm đánh giá tác dụng làm giảm hay chậm hấp thu glucid

- Thử nghiệm ức chế α -amylase *in vitro*;
- Thử nghiệm ức chế α -glucosidase *in vitro*;
- Thử nghiệm ức chế hấp thu glucose qua đoạn ruột non cô lập *ex vivo*.

2.4. 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*

Trên tiểu đảo tụy cô lập được kích thích bởi glucose: Tiểu đảo tụy cô lập được đồng xử lý với glucose (2,8 và 16,8 mM) và cao chiết/các hợp chất ở các nồng độ khác nhau trong 60 phút. Glimepirid được sử dụng làm chứng dương. Tiến hành đánh giá tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin của cao chiết và các hợp chất bằng thử nghiệm tiết insulin được kích thích bởi glucose (GSIS).

Trên mô hình gây tổn thương tiểu đảo tụy bằng STZ: Tiểu đảo tụy cô lập được đồng xử lý với STZ (5 mM) và cao chiết/các hợp chất ở các nồng độ khác nhau trong 24 giờ. Glimepirid được sử dụng làm chứng dương. Tiến hành đánh giá tác dụng của cao chiết và các hợp chất thông qua:

- Đánh giá tác dụng kích thích tế bào β tụy tiết insulin của cao chiết và các hợp chất bằng thử nghiệm GSIS.
- Đánh giá tác dụng bảo vệ của cao chiết và các hợp chất trên khả năng sống sót của tế bào tiểu đảo bằng thử nghiệm MTT và của cao chiết thông qua kiểm tra sự biểu hiện của các protein Bax, Bcl-2, cleaved caspase-3, PARP bằng Western blot.

2.5. Thử nghiệm *in vitro* đánh giá tác dụng làm tăng độ nhạy với insulin

- Thử nghiệm ức chế PTP1B *in vitro*.

3. Kết quả chính và kết luận

3.1. Tác dụng hạ glucose huyết và các tác dụng liên quan 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 giảm nồng độ AST, ALT, creatinin và BUN huyết thanh, 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.

3.2. 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

Các cơ chế tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết bao gồm: (1) Làm giảm/chậm hấp thu glucid bởi tác dụng ức chế α -amylase với IC_{50} là 222,80 μ g/ml, ức chế α -glucosidase với IC_{50} là 1,58 μ 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 ở nồng độ 50 hoặc 100 μ g/ml trên mô

hình tiểu đảo tụy cô lập và ở liều 25 và 50 mg/kg trên mô hình chuột gây tăng glucose huyết bằng STZ liều 170 mg/kg; (3) Bảo vệ tế bào tiểu đảo tụy ở nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$ có thể thông qua cơ chế chống apoptosis trên mô hình tiểu đảo tụy cô lập gây tổn thương bởi STZ; bảo vệ tế bào tụy ở liều 50 mg/kg thông qua cơ chế chống peroxy hóa lipid màng tế bào, chống viêm và chống apoptosis trên mô hình chuột gây tổn thương bởi STZ; (4) Làm tăng độ nhạy cảm với insulin thông qua cơ chế hoạt hóa AMPK gan ở liều 25 và 50 mg/kg trên mô hình chuột gây tổn thương bởi STZ và có thể là cơ chế ức chế PTP1B.

Các cơ chế tác dụng hạ glucose huyết một số hợp chất phân lập từ hạt chuối cô đơn: Afzelechin và coniferaldehyd có các tác dụng góp phần vào cơ chế hạ glucose huyết của cao chiết ethanol từ hạt chuối cô đơn bao gồm: (1) Làm giảm/chậm hấp thu glucid bởi tác dụng ức chế α -glucosidase với IC_{50} tương ứng là 184,63 và 52,84 μM ; (2) Kích thích tế bào β tụy tiết insulin ở nồng độ 100 μM trên mô hình 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 tụy ở nồng độ 100 μM trên mô hình tiểu đảo tụy cô lập gây tổn thương bởi STZ; (4) Làm tăng độ nhạy với insulin bởi tác dụng ức chế PTP1B với IC_{50} tương ứng là 7,58 và 8,39 μM .

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 19 tháng 8 năm 2024
Nghiên cứu sinh

Cán bộ hướng dẫn

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

Lý Hải Triều