

DOI: <https://doi.org/10.59294/HIUJS.24.2023.317>

Tác dụng điều hòa đường huyết của cao chiết từ Lá cây bồ công anh (*LACTUCA INDICA* L., *ASTERACEAE*)

Nguyễn Thị Thu Hương*, Trần Thị Thu Hồng và Trần Thị Được
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Lá Bồ công anh (*Lactuca indica* L.) được sử dụng khá phổ biến tuy nhiên có ít công bố thực nghiệm về hiệu quả theo hướng kiểm soát bệnh đái tháo đường. **Mục tiêu:** Xác định cao chiết tiềm năng từ lá cây Bồ công anh có tác dụng điều hòa đường huyết trên thực nghiệm *in vitro* và *in vivo*. **Đối tượng và phương pháp:** Khảo sát *in vitro* hoạt tính ức chế α -amylase và α -glucosidase của các cao chiết nước và cao chiết ethanol 45% từ lá cây Bồ công anh. Nồng độ glucose máu sau thử nghiệm dung nạp glucose (2 g/kg) 30 phút-120 phút trên chuột nhắt trắng (*Swiss albino*) được áp dụng để đánh giá tác dụng của các cao chiết. **Kết quả:** Các cao chiết không thể hiện hoạt tính ức chế α -amylase. Cao chiết ethanol 45% thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase với IC_{50} là 549,52 μ g/mL (tương đương với acarbose) và tác dụng điều hòa glucose máu trong thử nghiệm dung nạp glucose (giảm 17.2-22.5%), điển hình hơn cao chiết nước (giảm 11-18%) ở các liều tương đương với 2.5 g dược liệu/kg. Tác dụng của cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh yếu hơn so với glibenclamide (5 mg/kg). **Kết luận:** Cao chiết ethanol 45% từ lá cây Bồ công anh thể hiện tác dụng ức chế α -glucosidase, ngăn ngừa tăng đường huyết và làm tăng khả năng dung nạp glucose điển hình.

Từ khóa: Lá cây Bồ công anh (*Lactuca indica* L.), α -amylase và α -glucosidase, thử nghiệm dung nạp glucose trên chuột nhắt trắng

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) là một trong những bệnh không lây nhiễm phổ biến trên toàn cầu, đang tiến triển với tốc độ nhanh, với nhiều biến chứng nguy hiểm trên tim mạch, gây đột quy, bệnh võng mạc, suy thoái thần kinh, suy thận. Theo báo cáo năm 2021 của Liên đoàn đái tháo đường quốc tế (IDF – International Diabetes Federation), có 537 triệu người (độ tuổi từ 20-79) mắc bệnh ĐTĐ và dự đoán đến năm 2030 là 643 triệu và năm 2045 có khoảng 783 triệu người mắc bệnh [1]. Theo kết quả điều tra của Bộ Y tế năm 2021 cho thấy tỷ lệ mắc đái tháo đường ở người trưởng thành ước tính là 7.1% [Cổng Thông tin điện tử, Bộ Y tế ngày 13/11/

2022]. Việc thực hiện lối sống lành mạnh, sử dụng các thực phẩm hỗ trợ từ dược liệu sẽ giúp phòng ngừa mắc bệnh ĐTĐ [2]. Bồ công anh (*Lactuca indica* L., họ Cúc, Asteraceae) đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, hỗ trợ kiểm soát đường huyết, giúp giảm cân, trị thiếu máu, giảm cholesterol, rối loạn tiêu hóa, cải thiện chức năng gan-mật, lợi tiểu, cung cấp canxi cần thiết cho xương [3]. Rutin, apigenin, kaempferol, luteolin, quercetin và luteolin-7-O-glucoside được xác định là thành phần flavonoid chính trong lá *L. indica* L. cv. Mengzao [4]. Hiện nay sản phẩm từ lá Bồ công anh đang được ưa chuộng ở Việt Nam tuy nhiên những nghiên cứu

Tác giả liên hệ: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương
Email: huongntt1@hiu.vn

khoa học trong nước để chứng minh hiệu quả của Bồ công anh chưa nhiều, đặc biệt là theo hướng phòng và hỗ trợ điều trị bệnh ĐTĐ. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là xác định cao chiết tiềm năng theo hướng phát triển sản phẩm từ lá cây Bồ công anh có tác dụng trong hỗ trợ phòng và kiểm soát bệnh ĐTĐ. Đối tượng nghiên cứu của đề tài là dạng cao chiết nước và cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh. Dạng chiết xuất dược liệu bằng nước (sắc) thường có hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học và tính ổn định kém hơn so với chiết xuất bằng ethanol, tuy nhiên lại thường được sử dụng trong y học cổ truyền nên được chọn là đối tượng trong nghiên cứu sàng lọc. Thiết kế nghiên cứu sẽ bao gồm khảo sát hoạt tính ức chế enzym α -amylase và α -glucosidase *in vitro* và đánh giá hiệu quả của các cao chiết trong thử nghiệm dung nạp glucose trên chuột nhắt trắng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá cây Bồ công anh (được thu hái vào tháng 6/2022) tại Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội và thẩm định tên khoa học bởi Trung tâm Sâm Dược liệu TP.HCM. Độ ẩm dược liệu đạt quy định của Dược điển Việt Nam V (không quá 13%).

Bột dược liệu khô (độ mịn qua rây số 250-0,25 mm, cân khoảng 200 g) được sắc 2 lần với nước ở nhiệt độ sôi (trong 30 phút) theo tỷ lệ 1:15 (dược liệu: dung môi). Các dịch chiết được tiếp tục cô cách thủy để thu được cao chiết nước với hiệu suất chiết là 12.5% (tính trên cao đã trừ ẩm). Cao chiết ethanol 45% được thu được bằng phương pháp chiết ngấm kiệt bột dược liệu với ethanol 45% cũng theo tỷ lệ 1:15 (dược liệu: dung môi), thời gian ngâm 48 giờ, tốc độ rút dịch 0,5 ml/phút. Tập trung các dịch chiết và cô cách thủy để thu được cao chiết ethanol 45% với hiệu suất chiết là 35.2% (tính trên cao đã trừ ẩm). Các cao chiết có độ ẩm không quá 20% (đạt quy định cao đặc của Dược điển Việt Nam V, Phụ lục 9.6), cụ thể cao chiết nước có độ ẩm là 15.16% và cao chiết ethanol 45% có độ ẩm là 10.04%.

Chọn liều thử các cao chiết trên chuột nhắt trắng:

Dược liệu Bồ công anh thường được sử dụng trong y học dân gian dưới dạng thuốc sắc với liều dùng mỗi ngày từ 20 – 40 g lá tươi hoặc từ 10 – 15 g lá khô. Các liều thử nghiệm của cao chiết được chọn tương đương với 5 và 10 g dược liệu khô/người/ngày và được tính theo hệ số quy đổi liều sử dụng từ người sang chuột nhắt trắng là 11,76 [5]. Cụ thể cách tính như sau: [Liều dược liệu sử dụng trên người x 11.76] / thể trọng người 40-50 kg = Liều dược liệu thử nghiệm trên chuột (1.25 và 2.5 g dược liệu/kg trọng lượng chuột). Liều thử nghiệm của các cao chiết được tính toán thông qua hiệu suất chiết của cao chưa trừ ẩm.

2.2. Động vật thí nghiệm

Các thử nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng đực (*Swiss albino*), 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng 25 ± 2 g. Chuột được nuôi ổn định ít nhất một tuần trước khi thí nghiệm. Chuột được nuôi trong phòng chăn nuôi ở điều kiện duy trì nhiệt độ $25 \pm 1^\circ\text{C}$ với độ ẩm $65 \pm 5\%$ và chu kỳ 12 giờ sáng – tối (sáng từ 6:00 - 18:00). Chuột được nuôi trong các lồng nhựa, thực phẩm dạng viên (được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Tp. Nha Trang), nước uống đầy đủ. Thể tích cho uống là 10 ml/kg thể trọng chuột, thời gian cho uống ở các thử nghiệm khoảng 8 – 9 giờ sáng. Các thí nghiệm trên động vật nghiên cứu được thực hiện theo “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu” của Bộ Y tế (ban hành kèm theo quyết định số 141/QĐ – K2ĐT ngày 27/10/2015) và đảm bảo tuân thủ nguyên tắc 3R (Reduction-Replacement-Refinement).

2.3. Hóa chất-Thiết bị

Hóa chất-Kit định lượng: α -Amylase (malt, *Himedia*), tinh bột (từ lúa mì), DNSA (acid 3,5-dinitrosalicylic, *Trung Quốc*), acarbose (*Sigma*), α -glucosidase (*Saccharomyces cerevisiae*, *Sigma*), p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG, *Sigma*). Bộ kit định lượng glucose (*Erba, Đức*).

Thuốc đối chiếu: glibenclamid (*Công ty cổ phần xuất nhập khẩu y tế Domescos*, số lô 00721, hạn sử dụng: 18/10/2025)

Thiết bị: Máy đọc đĩa ELISA đa năng (Biotek, USA).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Khảo sát hoạt tính ức chế enzym á-amylase

Hoạt tính á-amylase biểu thị khả năng của amylase xúc tác phản ứng thủy phân tinh bột đến dextrin ở 37°C và được thể hiện bằng số đơn vị của enzym trong 1 g mẫu. Đường tạo ra bởi á-amylase sẽ phản ứng với DNSA (acid 3,5-dinitrosalicylic) và tạo thành ANS (acid 3-amino-5-nitrosalicylic) hấp thụ bước sóng 540 nm.

Tiến hành: Quy trình được tiến hành dựa trên tham khảo công bố trước đây có cải tiến [6]. Phản ứng ức chế sự thủy phân tinh bột của á-amylase bởi cao chiết được thực hiện như sau: hỗn hợp phản ứng trong dung dịch đệm natri phosphat 0,02 M có chứa NaCl 6 mM (pH 6,9), bao gồm 25 µL dịch chiết ở các nồng độ khác nhau và 25 µL dung dịch đệm có chứa á-amylase 1 U/mL. Hỗn hợp được ủ 15 phút ở 37°C, sau đó 25 µL tinh bột 1% được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng sau khi được ủ 20 phút ở 37°C, thêm 50 µL thuốc thử DNSA, tiếp tục đun sôi hỗn hợp phản ứng trong 5 phút và để nguội đến nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được đo độ hấp thụ quang bằng máy đọc đĩa ELISA ở bước sóng 540 nm. Mẫu chứng dương được thực hiện bằng acarbose. Phép đo được lặp lại 3 lần, lấy giá trị trung bình từng nồng độ và tính toán.

Phần trăm ức chế á-amylase của mẫu thử được tính theo công thức:

$$I(\%) = \frac{(A_c - A_{0c}) - (A_t - A_{0t})}{(A_c - A_{0c})} \times 100$$

Trong đó:

A_c : Độ hấp thụ của mẫu chứng (có enzym, không có chất thử)

A_{0c} : Độ hấp thụ của mẫu trắng chứng (không có enzym, không có chất thử)

A_t : Độ hấp thụ của mẫu thử (có enzym, có chất thử)

A_{0t} : Độ hấp thụ của mẫu trắng thử (không có enzym, có chất thử)

Giá trị IC_{50} được tính dựa theo phương trình hồi quy không tuyến tính thể hiện sự tương quan giữa logarit nồng độ chất thử và phần trăm ức chế hoạt động enzym.

2.4.2. Khảo sát hoạt tính ức chế enzym á-glucosidase

Theo phản ứng, lượng glucose sinh ra tỉ lệ với p-nitrophenol (PNP). Vì vậy, có thể đo độ hấp thụ của PNP ở 405 nm để xác định lượng glucose sinh ra. So sánh lượng glucose sinh ra giữa mẫu có chất ức chế và mẫu không có chất ức chế để xác định phần trăm ức chế.

Tiến hành: Quy trình được tiến hành dựa trên tham khảo công bố trước đây có cải tiến [6]. Hoạt tính ức chế á-glucosidase được thực hiện như sau: hỗn hợp phản ứng trong dung dịch đệm phosphat 0.1 M (pH 6,8), bao gồm 50 µL dịch chiết ở các nồng độ khác nhau và 50 µL dung dịch đệm có chứa á-glucosidase 0,2 U/mL. Hỗn hợp được ủ 10 phút ở 37°C trên đĩa 96 giếng, sau đó thêm 50 µL dung dịch pNPG. Hỗn hợp phản ứng tiếp tục được ủ 20 phút ở 37°C, sau đó độ hấp thụ được đo ở bước sóng 405 nm bằng máy đọc đĩa ELISA. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị bằng trị số trung bình của 3 lần đo khác nhau. Acarbose được sử dụng làm chứng dương. Phép đo được lặp lại 3 lần, lấy giá trị trung bình từng nồng độ và tính toán. Cách tính phần trăm ức chế enzym á-glucosidase và giá trị IC_{50} tương tự như cách tính với á-amylase.

2.4.3. Thử nghiệm dung nạp glucose [7 - 8]

Phác đồ liều duy nhất:

Ở ngày thử nghiệm, nồng độ glucose máu (sau 12 giờ cho chuột nhịn đói và có nước uống đầy đủ) được đo theo nguyên tắc enzym màu bằng kit định lượng glucose để xác định nồng độ glucose máu ban đầu (C_0). Chuột được cho uống nước cất (lô chứng), các cao chiết ở các liều (lô thử) hoặc glibenclamid liều 5 mg/kg, 1 giờ sau khi cho chuột uống, thử nghiệm dung nạp glucose được thực hiện. Chuột được cho uống dung dịch glucose 20% (liều 2 g/kg), lấy máu đuôi để xác định nồng độ glucose máu sau khi dung

$$AUC \left(\frac{mg}{dl} \cdot phút \right) = \left(\frac{C_0 + C_{30}}{2} \right) \times (t_{30} - t_0) + \left(\frac{C_{30} + C_{60}}{2} \right) \times (t_{60} - t_{30}) + \left(\frac{C_{60} + C_{120}}{2} \right) \times (t_{120} - t_{60})$$

Trong đó, C_0 , C_{30} , C_{60} , C_{120} lần lượt là nồng độ glucose máu tại các thời điểm 0 phút (t_0), 30 phút (t_{30}), 60 phút (t_{60}) và 120 phút (t_{120}).

nạp glucose tại thời điểm 30 phút, 60 phút và 120 phút sau dung nạp. Nồng độ glucose máu được xác định bằng kit định lượng glucose.

Phác đồ liều lặp lại:

Ở ngày thử nghiệm, nồng độ glucose máu (sau 12 giờ cho chuột nhịn đói và có nước uống đầy đủ) được đo theo nguyên tắc enzym màu bằng kit định lượng glucose để xác định nồng độ glucose máu ban đầu (C_0). Chuột được cho uống nước cất hoặc các cao chiết ở các liều, một lần/ngày vào buổi sáng (8-9 giờ) trong 7 ngày, riêng glibenclamide liều 5 mg/kg chỉ cho uống vào ngày thứ 7. Một giờ sau khi cho chuột uống vào ngày thứ 7, thử nghiệm dung nạp glucose được thực hiện tương tự như trình bày ở phác đồ liều duy nhất.

Tác dụng của cao chiết được đánh giá qua các thông số: Nồng độ glucose máu và diện tích dưới đường

cong (AUC – Area under the curve) được tính theo công thức hình thang như sau [9]:

Đánh giá kết quả [7, 9]:

Khi nồng độ glucose máu ở lô chuột uống mẫu thử (các cao chiết từ lá cây Bồ công anh ở các liều khảo sát) giảm 30% hay hơn và đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng thì mẫu thử được đánh giá có tác dụng hạ đường huyết.

Khi nồng độ glucose máu ở lô chuột uống mẫu thử giảm trong khoảng 20 – 30% và đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng thì mẫu thử được đánh giá có tác dụng điều hòa đường huyết.

AUC thấp thể hiện mức độ dung nạp glucose càng cao, tương quan với sự giảm nồng độ glucose máu.

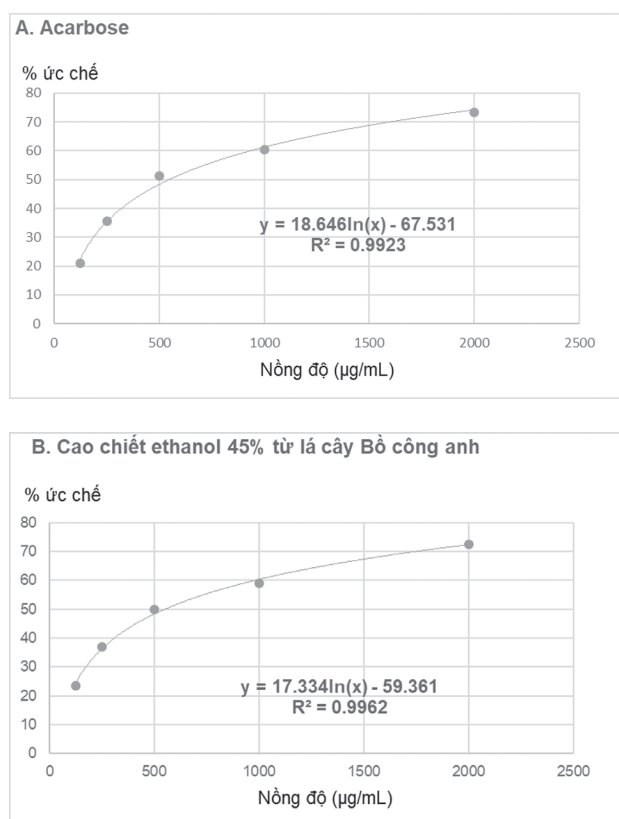
Xử lý thống kê: Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình: $M \pm SEM$ (Standard Error of the Mean –

Bảng 1. Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế α -glucosidase của cao chiết nước từ lá cây Bồ công anh

Nồng độ ($\mu g/mL$)	125	250	500	1000	2000	Chứng
A1	0.821	0.906	0.877	0.865	1,082	0.845
A2	0.838	0.855	0.907	0.862	1,142	0.863
A3	0.835	0.885	0.954	0.966	1,141	0,966
Chứng mẫu	0.095	0.201	0.412	0.425	0.67	0,074
% ức chế (Trung bình)	9.91	16.68	38.74	42.17	44.74	

Bảng 2. Phương trình hồi quy không tuyến tính và giá trị IC_{50} của các cao chiết từ lá cây Bồ công anh và acarbose trên α -glucosidase

Mẫu thử	Phương trình	R^2	$IC_{50} (\mu g/mL)$
Cao chiết nước	-	-	> 2000
Cao chiết ethanol	$y = 17,334 \ln(x) - 59,361$	0.996	549.52
Acarbose	$y = 18,646 \ln(x) - 67,531$	0.992	546.36



Hình 1. Đồ thị biểu diễn hoạt tính ức chế α -glucosidase của acarbose (A) và cao chiết ethanol 45% từ lá cây Bồ công anh (B)

sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-Way ANOVA và hậu kiểm bằng Dunnett test (phần mềm SigmaStat-3.5, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Hoạt tính ức chế enzym α -amylase và α -glucosidase

Ở các nồng độ thử nghiệm (từ 1,95 $\mu\text{g/mL}$ đến 250 $\mu\text{g/mL}$) đề tài không ghi nhận hoạt tính ức chế α -amylase của các cao chiết từ lá cây Bồ công anh (tỷ lệ phần trăm ức chế $< 10\%$) nên không thể xác định được giá trị IC_{50} .

A: Độ hấp thu

Cao chiết nước từ lá cây Bồ công anh ở nồng độ thử tối đa là 2000 $\mu\text{g/mL}$ với tỷ lệ phần trăm ức chế chỉ đạt 44.7% (Bảng 1) nên không thể xác định được giá trị IC_{50} .

Kết quả Bảng 2 cho thấy giá trị IC_{50} của cao chiết

Bảng 3. Kết quả khảo sát tác dụng của các cao chiết từ lá Bồ công anh sau liều uống duy nhất trong thử nghiệm dung nạp glucose trên chuột bình thường

Lô ($n = 8$)	Trị số glucose máu (mg/dL)			
	Trước dung nạp	Sau 30 phút uống glucose	Sau 60 phút uống glucose	Sau 120 phút uống glucose
Chứng	103.77 $\pm$ 7.51	187.76 $\pm$ 10.80*	138.35 $\pm$ 7.49*	80.63 $\pm$ 2.51
Cao chiết nước liều 160 mg/kg	100.45 $\pm$ 7.49	172.77 $\pm$ 12.22* (7.98%)	140.45 $\pm$ 7.35*	94.77 $\pm$ 6.60
Cao chiết nước liều 320 mg/kg	103.82 $\pm$ 5.62	163.40 $\pm$ 7.50* (12.97%)	132.31 $\pm$ 6.63* (4.37%)	83.96 $\pm$ 6.15
Cao chiết EtOH 45% liều 460 mg/kg	106.54 $\pm$ 3.65	180.17 $\pm$ 7.69* (4.05%)	134.31 $\pm$ 9.80* (2.93%)	93.31 $\pm$ 6.50
Cao chiết EtOH 45% liều 920 mg/kg	103.37 $\pm$ 5.26	155.00 $\pm$ 7.48*# (17.45%)	120.58 $\pm$ 7.42* (12.85%)	74.19 $\pm$ 5.04 (7.99%)
Glibenclamide liều 5 mg/kg	102.38 $\pm$ 7.40	107.90 $\pm$ 10.03*### (42.53%)	72.17 $\pm$ 2.51*### (47.87%)	50.23 $\pm$ 4.62*### (37.71%)

* $p < 0,05$ so với trước dung nạp

$p < 0,05$; ### $p < 0,001$ so với lô chứng tương ứng sau dung nạp glucose

Giá trị trong ngoặc: tỷ lệ % hạ glucose máu so với lô chứng tương ứng sau dung nạp glucose

Bảng 4. Kết quả khảo sát tác dụng của các cao chiết từ lá Bồ công anh sau 7 ngày uống trong thử nghiệm dung nạp glucose trên chuột bình thường

Lô ($n = 8$)	Trị số glucose máu (mg/dL)			
	Trước dung nạp	Sau 30 phút uống glucose	Sau 60 phút uống glucose	Sau 120 phút uống glucose
Chứng	106.68 ± 4.60	184.45 ± 8.38*	133.95 ± 5.15*	88.76 ± 7.32
Cao chiết nước liều 160 mg/kg	104.64 ± 6.86	156.21 ± 14.35* (15.31%)	112.98 ± 5.70# (15.65%)	86.57 ± 7.38
Cao chiết nước liều 320 mg/kg	108.53 ± 2.27	164.10 ± 6.08* (11.03%)	109.73 ± 5.49# (18.09%)	96.41 ± 5.62
Cao chiết EtOH 45% liều 460 mg/kg	107.46 ± 2.55	181.76 ± 5.59* (1.46%)	112.36 ± 8.33# (16.12%)	98.96 ± 7.11
Cao chiết EtOH 45% liều 920 mg/kg	101.11 ± 6.52	152.67 ± 7.87*# (1.23%)	103.76 ± 4.39# (22.54%)	86.68 ± 4.93
Glibenclamide liều 5 mg/kg	104.65 ± 5.47	109.34 ± 8.52*### (40.72%)	70.14 ± 8.22*### (47.64%)	54.56 ± 6.03*### (38.53%)

* $p < 0.05$ so với trước dung nạp

$p < 0.05$; ### $p < 0.001$ so với lô chứng tương ứng sau dung nạp glucose

Giá trị trong ngoặc: tỷ lệ % hạ glucose máu so với lô chứng tương ứng sau dung nạp glucose

Bảng 5. Diện tích dưới đường cong (AUC – Area under the curve) glucose máu sau khi uống các cao chiết Bồ công anh liều duy nhất và các liều lặp lại (sau 7 liều).

Lô ($n = 8$)	AUC glucose máu (mg/dl.phút)	
	Liều duy nhất	Liều lặp lại
Chứng	15,834.2 ± 647.2	15,824.2 ± 458.0
Cao chiết nước liều 160 mg/kg	15,853.3 ± 815.5	13,935.8 ± 748.6
Cao chiết nước liều 320 mg/kg	14,931.9 ± 642.0	14,380.9 ± 432.5
Cao chiết EtOH 45% liều 460 mg/kg	15,846.3 ± 675.2	15,089.7 ± 588.2
Cao chiết EtOH 45% liều 920 mg/kg	13,852.0 ± 631.1*#	13,365.9 ± 563.7*#
Glibenclamide liều 5 mg/kg	9,526.9 ± 312.5*	9,643.4 ± 745.3*

* $p < 0.05$ so với lô chứng tương ứng; # $p < 0.001$ so với lô thuốc đối chiếu glibenclamide

ethanol 45% từ lá cây Bồ công anh là 549.52 µg/mL, tương đương với acarbose (546.36 µg/mL), một thuốc có hiệu quả ức chế α-glucosidase trên lâm sàng.

3.2. Tác dụng điều hòa đường huyết *in vivo*

Kết quả Bảng 3 và Bảng 4 cho thấy nồng độ glucose máu ở các lô chứng đều tăng đạt ý nghĩa thống kê so với trước dung nạp, đạt nồng độ đỉnh sau 30 phút ($p < 0.001$), giảm dần sau 60 phút ($p < 0.001$) và trở về giá trị bình thường sau 120 phút. Thuốc đối chiếu

glibenclamid liều uống 5 mg/kg thể hiện tác dụng làm hạ đường huyết, giảm lần lượt là 40.72-42.53%; 47.64-47.87% và 37.71-38.53% ở các thời điểm khảo sát 30 phút, 60 phút và 120 phút của thử nghiệm dung nạp glucose ($p < 0.001$). Sau liều uống duy nhất, các cao chiết nước (160 mg/kg và 320 mg/kg) và cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh liều 460 mg/kg không thể hiện tác dụng làm giảm glucose máu đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở các thời điểm khảo sát. Lô chuột uống cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh liều 920 mg/kg có nồng độ glucose máu giảm sau 30 phút (giảm 17.45%), đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng, thể hiện tác dụng điều hòa đường huyết trên thử nghiệm dung nạp glucose. Tác dụng của cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh liều 920 mg/kg yếu hơn so với glibenclamide (*sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p = 0.002$*).

Sau 7 ngày uống, các cao chiết nước và cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh ở hai liều thử đều thể hiện tác dụng làm giảm glucose máu đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở các thời điểm 30 phút và 60 phút của thử nghiệm dung nạp glucose. Trị số glucose máu ở các lô cho uống cao chiết là Bồ công anh được đưa về giá trị bình thường sau 60 phút. Lô chuột uống cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh liều 920 mg/kg có nồng độ glucose máu giảm ở thời điểm sau 60 phút của thử nghiệm dung nạp glucose (giảm 22.54%), đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng, thể hiện tác dụng điều hòa đường huyết. Tác dụng của các cao chiết từ lá Bồ công anh đều yếu hơn so với glibenclamide (*sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0.001$*).

Kết quả Bảng 5 cho thấy diện tích dưới đường cong (AUC – Area under the curve) glucose máu (mg/dl.phút) sau khi uống cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh liều 920 mg/kg duy nhất hoặc các liều lặp lại (sau 7 liều) trong thử nghiệm dung nạp glucose đều giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0.05$), tuy nhiên giá trị này cao hơn AUC của glibenclamide ($p \leq 0.001$). Các lô uống cao chiết nước và cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh liều 460 mg/kg đều có AUC không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng.

4. BÀN LUẬN

Tổng quan nghiên cứu thử nghiệm trong và ngoài nước cho thấy Bồ công anh (*L. indica*) là một trong những dược liệu tiềm năng về hoạt tính chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, chống béo phì và ngăn ngừa đái tháo đường. Kết quả nghiên cứu của Hao và cộng sự [4] cho thấy hàm lượng flavonoid tổng của các bộ phận từ *L. indica* được đánh giá theo thứ tự hoa > lá > thân > rễ, trong đó hàm lượng flavonoid trong lá đạt tối đa khi được thu hái ở thời điểm cây ra hoa. Một nghiên cứu khác đã chứng minh cao ethanol tổng, cao phân đoạn ethyl acetat và cao phân đoạn *n*-hexan từ lá *L. indica* thể hiện khả năng chống đái tháo đường ở chuột bị đái tháo đường gây bởi streptozotocin. Điều này có thể được giải thích nhờ sự có mặt của các thành phần có trong cao chiết, cụ thể là các flavonoid, tannin, saponin, glycosid và triterpenoid/steroid. Luteolin, rutin, quercetin, luteolin-7-*O*-glucoside, apigenin và kaempferol là những hợp chất chính được định lượng trong lá Bồ công anh [4]. Cao phân đoạn ethyl acetat giàu flavonoid của lá *L. indica* (liều 100-200 mg/kg) có hoạt tính chống đái tháo đường điển hình nhất [10]. Đây là cơ sở để đề tài chọn bộ phận nghiên cứu là lá.

Trên lâm sàng, nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống (oral glucose tolerance test) là phương pháp được sử dụng để đo khả năng sử dụng đường glucose của cơ thể và được ứng dụng để chẩn đoán tiền đái tháo đường và bệnh đái tháo đường, đặc biệt là để phát hiện đái tháo đường thai kỳ [11]. Khi bị bệnh lý đái tháo đường, khả năng dung nạp glucose bị giảm và hấp thu đường ở ruột kém. Do đó, khi được bổ sung với lượng glucose lớn vào cơ thể, khả năng làm hạ nồng độ glucose trong máu sẽ kém. Đánh giá dung nạp glucose trên thực nghiệm góp phần đánh giá hiệu quả của mẫu khảo sát trên sự tăng đường huyết do quá tải glucose. Glibenclamide được sử dụng là thuốc đối chiếu trong nghiên cứu thuộc nhóm sulfonyleurea với tác dụng điều trị theo cơ chế kích thích tiết insulin từ tế bào beta của đảo tụy thông qua làm tăng độ nhạy cảm của các tế bào này với glucose. Nghiên cứu lâm sàng cho thấy glibenclamide làm tăng nồng độ insulin và hạ glucose máu đo khi

đói và trong các thời điểm sau test quá tải glucose [12]. Kết quả của nghiên cứu cho thấy glibenclamide thể hiện tác dụng hạ đường huyết rất điển hình ở các thời điểm khảo sát của thử nghiệm dung nạp glucose, có thể dẫn đến nguy cơ hạ đường huyết quá mức trên lâm sàng. Trong khi đó, nồng độ glucose máu ở lô chuột uống mẫu thử cao chiết từ lá Bồ công anh giảm trong khoảng 20 – 30%, được đánh giá có tác dụng điều hòa đường huyết và trở về giá trị bình thường sau 60 phút dung nạp glucose. Điều này thể hiện ưu điểm của dược liệu trong hạn chế sự hạ đường huyết quá mức so với tân dược.

Diện tích dưới đường cong (AUC – Area under the curve) của glucose thấp phản ánh mức độ dung nạp của cơ thể đối với glucose càng cao, tương quan với sự giảm nồng độ glucose máu [9]. Kết quả cho thấy sau khi uống cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh liều 920 mg/kg duy nhất hoặc các liều lặp lại (sau 7 liều) làm giảm glucose máu đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở các thời điểm 30 phút và 60 phút của thử nghiệm dung nạp glucose, tương quan với AUC của glucose thấp, phản ánh hiệu quả làm tăng mức độ dung nạp của cơ thể đối với glucose. Bên cạnh đó, thử nghiệm ức chế α -glucosidase *in vitro* cho thấy cao chiết cồn 45% từ lá Bồ công anh có hoạt tính ức chế enzyme này với giá trị IC_{50} tương đương với acarbose. Alpha-glucosidase là một trong những enzyme quan trọng trong quá trình phân giải các loại carbohydrate. Acarbose thuộc nhóm thuốc ức chế alpha- glucosidase giúp làm chậm sự phân giải các disaccharide và oligosaccharide trong thực phẩm thành glucose, làm giảm sự hấp thu của glucose tại

ruột non và ức chế sự gia tăng lượng đường trong máu sau bữa ăn. Do đó, đây có thể là một trong những cơ chế tác động giúp điều hòa đường huyết của cao chiết cồn 45% từ lá Bồ công anh, giúp kiểm soát đường huyết sau bữa ăn. Ngoài ra, apigenin và luteolin (hợp chất chính trong Bồ công anh) đã được chứng minh có khả năng ức chế hoạt động của α -glucosidase với giá trị IC_{50} tương ứng là 96,4 và 100,7 μ M [13].

Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu sâu hơn để làm sáng tỏ cơ chế sinh học và hợp chất quyết định tác dụng của cao chiết từ lá Bồ công anh. Ngoài ra, cần nghiên cứu tiếp tác dụng của cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh trên các mô hình gây đái tháo đường ở chuột để có thể khẳng định tiềm năng của dược liệu này trong phòng và hỗ trợ điều trị.

5. KẾT LUẬN

Cao chiết ethanol 45% từ lá Bồ công anh thể hiện tác dụng ức chế α -glucosidase *in vitro* (tương đương acarbose) và có tác dụng điều hòa đường huyết qua việc làm tăng khả năng dung nạp glucose, giảm nồng độ glucose máu điển hình hơn cao chiết nước. Kết quả nghiên cứu về tác dụng dược lý sẽ cung cấp cơ sở khoa học cho những nghiên cứu ứng dụng phát triển các sản phẩm từ lá cây Bồ công anh trong tăng cường sức khỏe và hỗ trợ điều trị.

LỜI CẢM ƠN: Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng đã hỗ trợ kinh phí cho việc thực hiện nhiệm vụ nghiên cứu khoa học cấp Trường năm học 2022-2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] The IDF (International Diabetes Federation) Diabetes Atlas, “The global diabetes prevalence”, Tenth edition 2021.
- [2] S. Kumar, A. Mittal, D. Babu, A.Mittal, “Herbal Medicines for Diabetes Management and its Secondary Complications”, *Current Diabetes*

Reviews, vol. 17, no. 4, pp. 437-456, 2021.

- [3] Đỗ Tất Lợi, “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam”. NXB Y học, pp.72-75, 2004.

- [4] J. Hao, Y. Li, Y. Jia, Z. Wang, R. Rong, J. Bao, M. Zhao, Z. Fu, G. Ge, “Comparative Analysis of Major Flavonoids among Parts of *Lactuca indica* during

Different Growth Periods”, *Molecules*, vol. 26, no. 24, pp.7445, 2021.

[5] Viện Dược Liệu, “Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược”, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, trang 355-368, 385-387, 2006.

[6] K. Li, F. Yao, Q. Xue, H. Fan, L. Yang, X. Li, L. Sun, Y. Liu, “Inhibitory effects against α -glucosidase and α -amylase of the flavonoids-rich extract from *Scutellaria baicalensis* shoots and interpretation of structure–activity relationship of its eight flavonoids by a refined assign-score method”, *Chemistry Central Journal*, vol.12, no. 82, 11 pages, 2018.

[7] Viện Dược liệu, “Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược”, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, pp. 199-207, 2006.

[8] S. Andrikopoulos, A.R. Blair, N. Deluca, B.C. Fam, J. Proietto, “Evaluating the glucose tolerance test in mice”, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 295, pp. E1323–E1332, 2008.

[9] M.M. Tai, “A mathematical model for the

determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves”, *Diabetes Care*, vol.17, no.2, 152-154, 1994.

[10] T. Rosanto, N. Marline, R. Noersal, “Phytochemical screening and antidiabetic activity test of extracts and fractions of *Lactuca indica* (L.) in streptozotocin-induced diabetic mice”, *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, vol. 8, no.3, pp. 62-65, 2020.

[11] American Diabetes Association (ADA), “2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes_2022”, *Diabetes Care*, vol. 45, Supplement_1, pp. S17–S38, 2022.

[12] A. Riefflin, U. Ayyagari, S.E. Manley, R.R. Holman, J.C. Levy, “The effect of glibenclamide on insulin secretion at normal glucose concentrations”, *Diabetologia*, vol. 58, no.1, pp. 43-49, 2015.

[13] C.I. Choi, H.J. Eom, K.H. Kim, “Antioxidant and α -glucosidase inhibitory phenolic constituents of *Lactuca indica* L.”, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry (Bioorganicheskaya Khimiya)*, vol. 42, no.3, pp. 310-315, 2016.

Hyperglycemia-preventive effect of *Lactuca indica* leaf extracts

Nguyen Thi Thu Huong*, Tran Thi Thu Hong and Tran Thi Duoc

ABSTRACT

Background: *Lactuca indica* L. are widely used in traditional medicine but there is very little published research on its efficacy in diabetes management. **Objective:** Determining the potential extract which has hyperglycemia-preventive effect on experimental study. **Methods:** The *in vitro* assays of α -amylase and α -glucosidase were applied to study on the inhibitory enzyme activities of *L. indica* leaf extracts (aqueous extract and 45% ethanol extract). The blood glucose levels after 30-120 min of mouse oral glucose tolerance test (glucose 2 g/kg, per os) were measured to evaluate *in vivo* effect of these extracts. **Results:** The results of study showed that all of *L. indica* leaf extracts did not present α -amylase inhibitory activities. The results also demonstrated that 45% ethanol extract exhibited α -glucosidase inhibitory activities (with IC_{50} values of 549.52 μ g/mL, equivalent to acarbose) and the modulating effect on blood glucose in oral glucose tolerance test (reducing by 17.2-22.5%) at the dose equivalent to 2.5 g raw materials/kg which were more significant than the aqueous extract (reducing by 11-18%). However, the effect of 45% ethanol *L. indica* leaf extract was less efficient than that of glibenclamide (5 mg/kg). **Conclusions:** The 45% ethanol *L. indica* leaf extract

significantly possessed α -glucosidase inhibitory activity, hyperglycemia-preventing effect, and accelerating glucose tolerance.

Keywords: *Lactuca indica* leaves, α -amylase and α -glucosidase, mouse oral glucose tolerance test

Received: 14/04/2023

Revised: 08/05/2023

Accepted for publication: 11/05/2023