

## KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐIỀU TRỊ BỆNH TIỂU ĐƯỜNG CỦA CAO CHIẾT LÁ ỒI (*PSIDIUM GUAJAVA* L.)

Đái Thị Xuân Trang<sup>1</sup>, Phạm Thị Lan Anh<sup>2</sup>, Trần Thanh Mến<sup>1</sup> và Bùi Tấn Anh<sup>1</sup>

### ABSTRACT

*Postprandial hyperglycemia is an early effect of type 2 diabetes and one of primary anti-diabetic targets. Treatment of postprandial hyperglycemia can be achieved by inhibiting intestinal  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase, the key enzyme for starch digestion and further glucose absorption. This study evaluated the anti-diabetic potential of guava leaf by determining their anti-postprandial hyperglycemic activities in vivo and in vitro. Ethanolic extract of the leaves of *Psidium guajava* was orally tested at doses of 400 mg/kg body weight for evaluating the hypoglycemic effect in normal and alloxan monohydrate induced diabetic mice. The results proved that diabetic mice treated with this plant extracts showed significant ( $P < 0.05$ ) reduction of the blood glucose to levels comparable to that of the non-diabetic control and those treated with gliclazide (standard drug). Similarly, there were significant changes in body weight in ethanolic extract treated diabetic animals, when compared with the diabetic control and normal animals. Finally, ethanolic plant extracts in this study showed no acute toxicity on healthy. The inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activity of aqueous, methanol and butanol extracts were carried out in vitro. The result demonstrated that these guava leaf extracts exerted significant inhibition and specific on intestinal  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidases activities. In conclusion, this study proved that guava extracts selectively and significantly inhibits intestinal  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase and suppresses postprandial hyperglycemia in diabetic mice. The anti-postprandial hyperglycemic activities demonstrated on the tested guava extract therefore suggest a potential for utilizing guava leaf-derived bioactive compounds in management of diabetes.*

**Keywords:** *Psidium guajava L., diabetes mellitus, hypoglycemic,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase*

**Title:** *Evaluation of antidiabetic activity of guava leaf (*Psidium guajava* L.)*

### TÓM TẮT

Tăng đường huyết sau bữa ăn là vấn đề khó kiểm soát của bệnh tiểu đường type 2 và đó cũng là mục tiêu chính của kiểm soát bệnh. Đường huyết sau bữa ăn được kiểm soát bằng cách ức chế enzyme tiêu hóa tinh bột và hấp thu glucose như enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase. Nghiên cứu này đánh giá hiệu quả điều trị tiểu đường của lá Ổi bằng cách khảo sát hoạt động kháng lại sự tăng đường huyết sau bữa ăn in vivo và in vitro. Cao ethanol lá Ổi được sử dụng liều 400 mg/kg trọng lượng cho chuột bệnh tiểu đường được gây bệnh bằng alloxan monohydrate và chuột bình thường uống. Kết quả chứng minh rằng cao ethanol lá Ổi có khả năng hạ đường huyết một cách có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) so với nhóm chuột bệnh tiểu đường không được uống cao chiết lá Ổi và tương đương với thuốc điều trị tiểu đường gliclazide. Kết quả thí nghiệm cũng chứng minh cao ethanol lá Ổi có thể cải thiện trọng lượng chuột bệnh tiểu đường một cách có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ) và cao chiết lá Ổi cũng không gây độc tính cấp cho chuột bình thường. Khả năng ức chế hoạt động của enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase của cao nước, methanol và butanol từ lá Ổi cũng được khảo sát in vitro. Kết quả cho thấy các cao này

<sup>1</sup> Khoa Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Trung tâm GDTX thành phố Cần thơ

đều có khả năng ức chế hoạt động của enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase có ý nghĩa thống kê. Kết quả trong nghiên cứu này chứng minh các chất trong lá Ôi ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase *in vitro* một cách có ý nghĩa thống kê và kiểm soát tình trạng tăng đường huyết sau bữa ăn ở chuột bệnh tiểu đường. Từ các kết quả được trình bày ở trên cho thấy lá Ôi có thể được sử dụng để kiểm soát bệnh tiểu đường.

**Từ khóa:** Cây ôi, tiểu đường type 2, hạ đường huyết,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase

## 1 GIỚI THIỆU

Bệnh tiểu đường (BTĐ) là sự rối loạn chuyển hóa carbohydrate do hormon insulin của tuyến tụy bị thiếu hay giảm tác động trong cơ thể, biểu hiện của bệnh là nồng độ đường trong máu cao vượt quá ngưỡng.

Việc điều trị khỏi hoàn toàn BTĐ vẫn còn đang nghiên cứu. Hiện nay, BTĐ được kiểm soát bằng nhiều hướng như sử dụng thuốc duy trì lượng glucose trong máu ổn định (Sulfonylurea hay Biguanide); thuốc hoạt hóa sự tiết insulin (Metformin); chất ức chế tiêu hóa và hấp thu tinh bột (Glucobay); thuốc cảm ứng độ nhạy của insulin. Nhìn chung, các liệu pháp này có tác dụng nhất định, công dụng chính của các nhóm thuốc này là hạ đường huyết hoặc cung cấp insulin thay thế tạm thời cho người BTĐ. Trong tất cả các loại thuốc điều trị BTĐ, phần lớn thường có thêm tác dụng phụ như béo phì, vàng da, suy đường huyết, ngộ độc gan... (Nathan *et al.*, 2006). Vì vậy, việc nghiên cứu phát triển các thuốc hạ đường huyết, có nguồn gốc thực vật, đặc biệt là những cây thuốc đã được sử dụng phổ biến trong dân gian, nhằm tìm những thuốc mới hiệu quả và không gây tác dụng phụ là rất cần thiết. Trong dân gian các bộ phận từ cây Ôi (*Psidium guajava* L.) đã được sử dụng trong điều trị bệnh tiểu đường. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh cao chiết từ Ôi có khả năng điều trị BTĐ theo nhiều cơ chế khác nhau (Shen *et al.*, 2008; Rai *et al.*, 2009; Soman *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2011).

Trong nghiên cứu này, khả năng kiểm soát đường huyết của cao chiết lá cây Ôi được chứng minh trên chuột bệnh tiểu đường cũng như khả năng ức chế enzyme biến dưỡng carbohydrate của cao chiết lá Ôi *in vitro* cũng được chứng minh trong nghiên cứu này.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện

Thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu này gồm máy đo đường huyết ACCU-CHEK<sup>®</sup> Active, máy đo quang phổ U-3000 (Nhật), máy ly tâm Eppendorf 5417C (Đức), máy cô quay Heidolph (Đức), máy vortex, máy khuấy từ, bồn ủ có điều chỉnh nhiệt độ.

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm gồm ethanol, methanol (Merck), butanol (Merck), hexane (Merck), alloxan monohydrate (Sigma), acarbose (Wako), enzyme  $\alpha$ -glucosidase (Wako), thuốc điều trị BTĐ gliclazide 80 mg (France),  $\alpha$ -amylase (Wako), DNSA (3,5-dinitrosalicylic acid) (Wako), p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (pNPG) (Wako), tinh bột, nước muối sinh lý, dimethyl sulfoside (DMSO) và một số hóa chất khác.

Vật liệu thí nghiệm là chuột nhắt trắng (*Mus musculus* L.) (trọng lượng 25-30 g) do viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

## 2.2 Phương pháp thí nghiệm

### 2.2.1 Phương pháp chiết cao lá Ôi

Lá Ôi sau khi phơi khô được chiết bằng dung môi ethanol. Cao thô ethanol được sử dụng cho thí nghiệm khảo sát khả năng hạ đường huyết trên chuột tiêu đường được gây bệnh bằng alloxan monohydrate.

Sự ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase được khảo sát ở các cao lá Ôi chiết bằng dung môi nước, methanol và butanol để được các cao thô nước, methanol và butanol.

### 2.2.2 Khảo sát tính an toàn của cao ethanol trên chuột nhắt trắng bình thường

Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của cao chiết đối với chuột được thực hiện ở nồng độ cao chiết 400 mg/kg trọng lượng chuột, sử dụng 0,1 ml/2 lần/ngày trong 7 ngày. Đường huyết và trọng lượng của chuột được đo vào các ngày thứ 7 sau khi chuột uống cao chiết. Mỗi nhóm chuột thí nghiệm gồm 4 con, chuột bình thường không được uống cao chiết được sử dụng như nghiệm thức đối chứng.

### 2.2.3 Khảo sát khả năng hạ đường huyết của cao ethanol lá Ôi

Chuột chín tuần tuổi khỏe mạnh được tiêm dung dịch alloxan monohydrate ở nồng độ 135 mg/kg trọng lượng chuột để gây BTĐ. Sau khi chuột BTĐ ổn định 3 ngày, khả năng hạ đường huyết của các cao ethanol lá Ôi được xác định bằng cách cho chuột BTĐ uống thuốc điều trị ĐTĐ gliclazide (10 mg/kg trọng lượng chuột) hoặc các cao ethanol của lá Ôi (400 mg/kg trọng lượng chuột) hoặc không được uống thuốc hay cao ethanol lá Ôi. Chuột BTĐ uống cao chiết lá Ôi 0,1 ml/2 lần/ngày trong 20 ngày điều trị. Trọng lượng và đường huyết được xác định vào 7-8 giờ sáng trước khi chuột được cho ăn. Sau khi đo các chỉ tiêu khoảng 60 phút chuột được cho ăn và uống nước bình thường.

### 2.2.4 2.2.3 Khảo sát khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -amylase và $\alpha$ -glucosidase của cao chiết lá Ôi

#### Khảo sát khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -amylase

Phản ứng ức chế sự thủy phân tinh bột của enzyme  $\alpha$ -amylase bởi cao chiết lá Ôi được thực hiện theo phương pháp của Adisakwattana et al., (2009) có hiệu chỉnh như sau 500  $\mu$ l hỗn hợp phản ứng trong 0,02 M dung dịch đệm natri phosphate pH 6,9 có chứa 6 mM natri clorua, bao gồm 1 mg/ml tinh bột, cao chiết ở các nồng độ 0,1, 0,2 và 0,4 mg/ml và 2,5 U enzyme  $\alpha$ -amylase. Hỗn hợp phản ứng sau khi được ủ 15 phút ở 37°C được thêm 500  $\mu$ l thuốc thử DNSA và đun sôi hỗn hợp phản ứng trong 5 phút. Hỗn hợp phản ứng được đo bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 540 nm. Mẫu đối chứng dương được thực hiện bằng thuốc acarbose.

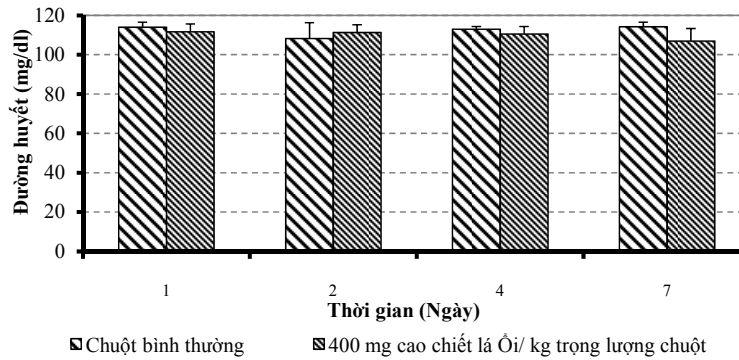
*Khảo sát khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase:* Khả năng ức chế hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase bởi các cao chiết thực vật được thực hiện theo phương pháp của Hogan et al., (2010) có hiệu chỉnh như sau: 50  $\mu$ l cao chiết lá Ôi ở nhiều nồng độ khác nhau được ủ với 25  $\mu$ l enzyme  $\alpha$ -glucosidase nồng độ 20 U/ml (nồng độ cuối cùng trong phản ứng 1 U/ml), sau đó 175  $\mu$ l dung dịch đệm phosphate nồng độ 100 mM, pH 6,8 được thêm vào hỗn hợp phản ứng. Sau khi hỗn hợp phản ứng

được ủ ở 37°C trong thời gian 30 phút, 250 µl của 4 mM pNPG được cho vào hỗn hợp phản ứng và ủ 30 phút ở 37°C. Sau đó hỗn hợp phản ứng được đo mật độ quang ở bước sóng 405 nm.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Sự an toàn (không gây độc tính cấp) của cao ethanol lá Ôi trên chuột

Để đánh giá sự an toàn của cao ethanol lá Ôi, chuột nhắt trắng được cho uống cao ethanol ở nồng độ 400 mg/kg trọng lượng. Kết quả về sự ổn định đường huyết của chuột được trình bày trong hình 1.



**Hình 1: Nồng độ đường huyết của chuột khi uống các cao chiết ở nồng độ 400 mg/kg**

Kết quả (Hình 1) cho thấy, sự thay đổi đường huyết của các nhóm chuột thí nghiệm sau thời gian 7 ngày uống cao ethanol lá Ôi ở nồng độ khảo sát khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức không uống cao chiết. Mặt khác, trọng lượng chuột sau thời gian 7 ngày uống cao chiết lá Ôi cũng không thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng (kết quả không trình bày). Ngoài ra, qua 7 ngày uống các cao chiết ở nồng độ 400 mg/kg trọng lượng, chuột có biểu hiện bình thường, không có các biểu hiện như sốc thuốc, co ro, di chuyển chậm chạp, lông bị vón hay xù, rụng lông nhiều, chuột bị gầy, tử vong do uống cao chiết,... Từ tất cả các kết quả trình bày trên cho thấy cao ethanol của lá Ôi không gây độc tính cấp trên chuột bình thường ở nồng độ 400 mg/ml ở thời gian 7 ngày.

#### 3.2 Hiệu quả hạ đường huyết của cao chiết lá Ôi

Hiệu quả hạ đường huyết của cao ethanol lá Ôi khi sử dụng nồng độ 400 mg/kg trọng lượng để điều trị cho chuột BTĐ được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1: Nồng độ đường huyết trung bình của chuột BTĐ được điều trị bằng cao ethanol lá Ôi**

Nghiệm thức	Nồng độ đường huyết (mg/dl)				
	Ngày 1	Ngày 5	Ngày 9	Ngày 14	Ngày 20
Bình thường	118,4 <sup>a</sup> ± 7,09	118,6 <sup>a</sup> ± 6,54	115,8 <sup>a</sup> ± ,53	118,2 <sup>a</sup> ±6,30	117,8 <sup>a</sup> ±6,69
Bệnh	511,4 <sup>b</sup> ±67,34	476 <sup>c</sup> ± 52,65	529,67 <sup>d</sup> ±26,27	Chuột chết	Chuột chết
Gliclazide	522,6 <sup>b</sup> ±63,42	330,8 <sup>b</sup> ±46,61	162,2 <sup>ab</sup> ± 37,12	143,6 <sup>ab</sup> ±24,05	129,8 <sup>ab</sup> ±14,74
Cao lá Ôi	552,4 <sup>b</sup> ±57,92	390,6 <sup>cd</sup> ±54,39	204,2 <sup>b</sup> ± 28,78	188,4 <sup>cd</sup> ±29,54	165,2 <sup>c</sup> ± 12,7

*Ghi chú: số chuột trong mỗi nghiệm thức 5, các chữ cái theo sau trong cùng một hàng khác biệt thì sẽ khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Ngày 1, 5, 9, 14 và 20 tính từ khi chuột BTĐ được uống cao chiết*

Sau khi tiêm alloxan monohydrate 3 ngày chuột BTĐ có đường huyết trong khoảng từ 511,4±67,34 đến 552,4±57,92 mg/dl. Nhóm chuột bình thường có đường huyết 118,4 ± 7,09. Chuột BTĐ được chọn vào thử nghiệm đều có tình trạng bệnh đồng nhất, mức đường huyết giữa các nhóm sau khi tiêm alloxan monohydrate không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Chuột BTĐ được cho uống các cao chiết như trình bày trong phần phương pháp. Sau 5 ngày điều trị, đường huyết của các nhóm chuột được uống thuốc gliclazide và uống các cao chiết đều giảm có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng (BTĐ không được điều trị).

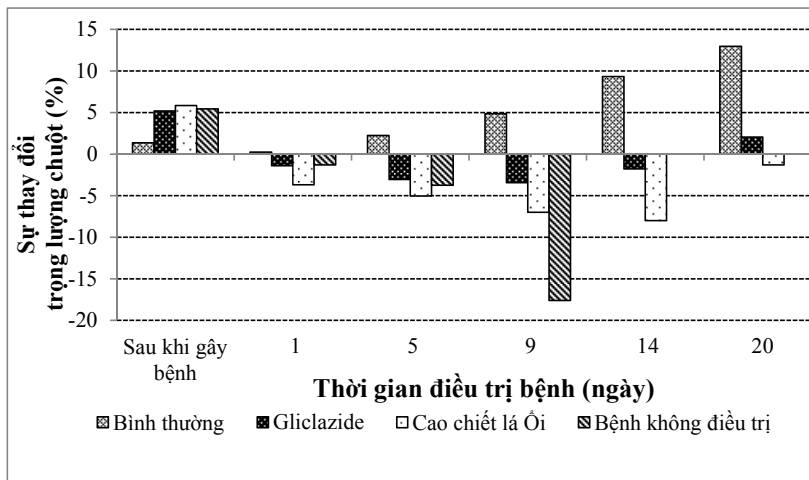
Kết quả cho thấy, đối với nhóm chuột bình thường, đường huyết gần như ổn định trong suốt quá trình thí nghiệm. Ở nhóm chuột BTĐ không được điều trị, nồng độ đường huyết cao liên tục trong quá trình thí nghiệm và xuất hiện chuột chết vào ngày thứ 9 và tất cả chuột chết sau 14 ngày bị bệnh không được điều trị (Bảng 1).

Nhóm chuột BTĐ được điều trị bằng thuốc gliclazide hoặc cao chiết, nồng độ đường huyết giảm một cách có ý nghĩa thống kê ở các ngày khảo sát (Bảng 1). Đối với các nhóm chuột BTĐ được điều trị bằng thuốc gliclazide, kết quả cho thấy sau 5 ngày uống thuốc nồng độ đường huyết giảm 36,7%, giảm từ 522,6 ± 63,42 mg/dl xuống còn 330,8 ± 46,61 mg/dl. Nồng độ đường huyết trong nhóm chuột BTĐ được điều trị bằng thuốc gliclazide ở các ngày tiếp theo cũng giảm có ý nghĩa thống kê (Bảng 1). Đặc biệt đến ngày thứ 20 nồng độ đường huyết chuột BTĐ là 129,8 ± 14,74 mg/dl, tương đương giảm 75,16% và gần với nồng độ đường huyết bình thường (117,8 ± 6,69).

Kết quả về khả năng hạ đường huyết của cao chiết lá Ôi ở nhóm chuột BTĐ cho thấy, nồng độ đường huyết trong nhóm chuột thí nghiệm được điều trị bằng cao chiết lá Ôi giảm có ý nghĩa thống kê ở các ngày trong quá trình điều trị. Sau 5 ngày chuột bệnh được uống cao chiết lá Ôi nồng độ đường huyết chuột bệnh giảm còn 390,6 ± 54,39 mg/dl, tương đương giảm 29,29%. Nồng độ đường huyết trong nhóm chuột BTĐ được điều trị bằng cao chiết lá Ôi ở các ngày tiếp theo cũng giảm có ý nghĩa thống kê (Bảng 1). Sau 20 ngày điều trị bằng cao ethanol lá Ôi, nồng độ đường huyết chuột BTĐ giảm còn 165,2 ± 12,7 (tương đương nồng độ đường huyết của chuột bình thường) tương ứng giảm 70,09%. Nhiều bộ phận khác nhau của cây Ôi cũng được chứng minh có hiệu quả hạ đường huyết trên chuột BTĐ (Roman-Ramos *et al.*, 1995; Oh *et al.*, 2005; Wang B *et al.*, 2005; Mukhtar *et al.*, 2006; Shen *et al.*, 2008; Rai *et al.*, 2009; Soman S *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2011).

Như vậy, kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây về hiệu quả điều trị BTD của cây Ôi.

Sự thay đổi trọng lượng chuột trong quá trình điều trị bệnh tiểu đường của cao chiết lá Ôi được trình bày trong Hình 2 cho thấy sau 72 giờ tiêm dung dịch alloxan monohydrate, trọng lượng chuột BTD đều tăng nhiều hơn nhóm chuột bình thường. Qua kết quả trình bày trong hình 2 cho thấy, trọng lượng trung bình của nhóm chuột bình thường luôn tăng trong thời gian thử nghiệm, trọng lượng chuột tăng 12,95% ở ngày thứ 20 và tăng 14,46% so với ngày đầu trước khi tiêm alloxan monohydrate. Nhóm chuột BTD được điều trị thuốc gliclazide, trọng lượng giảm nhiều sau 9 ngày uống cao chiết và sau 14 ngày uống thuốc gliclazide trọng lượng giảm rất ít và trọng lượng tăng 2,05% sau 20 ngày điều trị. Chuột BTD được điều trị cao chiết lá Ôi, trọng lượng giảm liên tục trong 14 ngày uống cao chiết (giảm 8,02%). Tuy nhiên, đến ngày thứ 20 trọng lượng chuột được cải thiện (giảm 1,32%).



Hình 2: Sự thay đổi trọng lượng chuột trong thời gian điều trị BTD bằng cao chiết lá Ôi

### 3.3 Khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -amylase và $\alpha$ -glucosidase của cao chiết lá Ôi

#### 3.3.1 Sự ức chế $\alpha$ -glucosidase in vitro

Khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase in vitro của cao chiết lá Ôi bằng dung môi nước, methanol, và butanol được trình bày trong bảng 2 và hình 3.

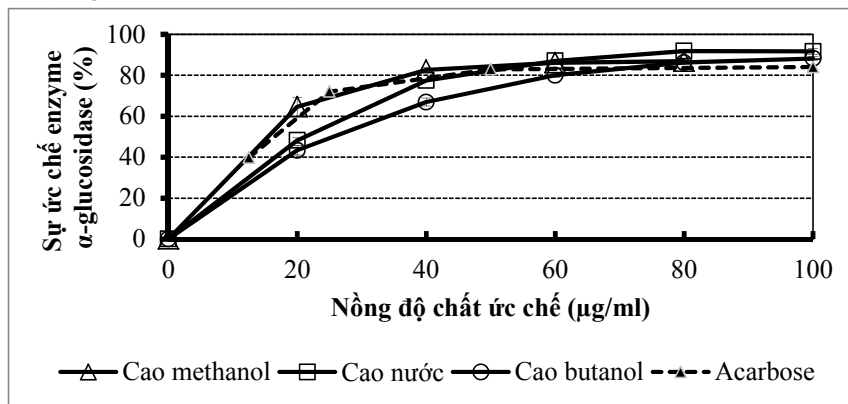
Bảng 2: Sự ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cao chiết lá Ôi ở các nồng độ khảo sát

Nồng độ chất ức chế ( $\mu\text{g/ml}$ )	Phần trăm ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase (%)				
	100	80	60	40	20
Cao nước	91,68 <sup>a</sup> ±0,16	91,88 <sup>a</sup> ±0,2	87,08 <sup>b</sup> ±2,9	77,49 <sup>c</sup> ±2,9	48,17 <sup>d</sup> ±2,4
Cao methanol	87,18 <sup>a</sup> ±1,05	86,85 <sup>a</sup> ±0,65	86,2 <sup>a</sup> ±0,2	82,6 <sup>b</sup> ±1,05	64,65 <sup>c</sup> ±4,57
Cao butanol	88,22 <sup>a</sup> ±0,9	86,25 <sup>a</sup> ±0,84	80 <sup>b</sup> ±0,92	66,95 <sup>c</sup> ±1,9	43,36 <sup>d</sup> ±2,3

Ghi chú: Các chữ cái theo sau trong cùng một hàng giống nhau thì sẽ không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả trình bày ở bảng 2 và hình 3 cho thấy, cao nước lá Ôi có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase đạt 91,88% ± 0,2 ở nồng độ chất ức chế 80  $\mu\text{g/ml}$  khi nồng độ khảo sát giảm dần ở 60, 40 và 20  $\mu\text{g/ml}$  khả năng ức chế lần lượt là 87,08% ± 2,9; 77,5% ± 2,87 và 48,17 ± 2,44 và sự khác biệt này có ý nghĩa thống

kê ở mức 5%. Đối với cao methanol sự ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase ở nồng độ cao chiết 60  $\mu\text{g/ml}$  là  $86,2\% \pm 0,2$  và sự ức chế này sẽ không khác biệt có ý nghĩa thống kê khi tiếp tục tăng nồng độ cao chiết 80 và 100  $\mu\text{g/ml}$ . Sự ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase thấp nhất là  $43,36 \pm 2,3$  ở nồng độ cao chiết 20  $\mu\text{g/ml}$ . Sự ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cao butanol là  $\text{Ồi}$  cao nhất là  $88,22\% \pm 0,9$  ở nồng độ cao 100  $\mu\text{g/ml}$ , sự ức chế của cao butanol ở nồng độ 80  $\mu\text{g/ml}$  khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$  (Bảng 2). Nồng độ cao butanol 60  $\mu\text{g/ml}$  có khả năng ức chế hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase là  $80\% \pm 0,92$  và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với sự ức chế hoạt động của  $\alpha$ -glucosidase nồng độ cao butanol 100 và 80  $\mu\text{g/ml}$ . Sự ức chế hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase của cao butanol thấp nhất là  $43,36\% \pm 2,3$  ở nồng độ cao 20  $\mu\text{g/ml}$ . Kết quả  $\text{IC}_{50}$  (nồng độ cao chiết có khả năng ức chế 50%) của cao nước, methanol và butanol lần lượt là 17,78, 7,25 và 22,75  $\mu\text{g/ml}$  (Bảng 2). Như vậy, khả năng ức chế sự hoạt động của enzyme  $\alpha$ -glucosidase theo thứ tự lần lượt là cao methanol, cao nước và cao butanol. Cao chiết lá  $\text{Ồi}$  được chứng minh có khả năng ức chế hoạt động của các enzyme thủy phân disaccharide trong quá trình thủy phân tinh bột như maltase và sucrase (Deguchi *et al.*, 1998).



Hình 3: Hoạt động ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase (1 U/ml) của cao chiết lá  $\text{Ồi}$

### 3.3.2 Sự ức chế enzyme $\alpha$ -amylase

Kết quả về sự ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase của các cao chiết từ lá  $\text{Ồi}$  được trình bày trong bảng 3 và hình 2.

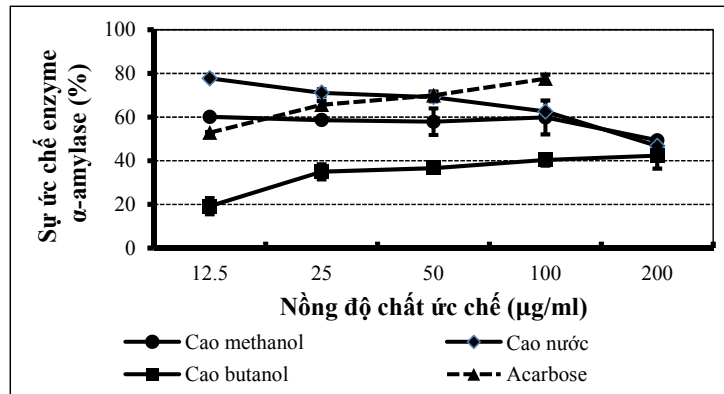
Bảng 3: Sự ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase của cao chiết lá  $\text{Ồi}$  ở các nồng độ khảo sát

Nồng độ chất ức chế ( $\mu\text{g/ml}$ )	Phần trăm ức chế enzyme $\alpha$ -amylase				
	200	100	50	25	12,5
Cao nước	$77,69^a \pm 0,08$	$71,12^b \pm 1,61$	$69,11^b \pm 1,92$	$62,54^c \pm 0,67$	$46,74^d \pm 3,46$
Cao methanol	$60,8^a \pm 1,13$	$59,83^a \pm 0,72$	$58,61^a \pm 6,06$	$57,86^a \pm 7,8$	$49,27^b \pm 1,33$
Cao butanol	$42,27^a \pm 3,78$	$40,3^{ab} \pm 3,48$	$36,63^{ab} \pm 1,93$	$34,9^b \pm 2,57$	$19,15^{bc} \pm 5,9$

Ghi chú: Các chữ cái theo sau trong cùng một hàng giống nhau thì sẽ không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Sự ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase của cao lá  $\text{Ồi}$  tỷ lệ tuyến tính với nồng độ cao, khi tăng nồng độ cao chiết thì khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase càng cao. Sự ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase *in vitro* của cao nước cao nhất  $77,69\% \pm 0,08$  ở nồng độ cao 200  $\mu\text{g/ml}$ . Cao butanol có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase thấp nhất, ở nồng độ cao 200  $\mu\text{g/ml}$  ức chế  $42,27\%$ , khả năng ức chế này chỉ tương đương với cao

nước (46,74%) và cao methanol (49,27%) ở nồng độ cao 12,5 µg/ml. Theo nghiên cứu của Deguchi *et al.*, (1998) cao nước của lá Ôi có khả năng ức chế 50% hoạt động của enzyme α-amylase ở nồng độ cao chiết 0,6 mg/ml. Kết quả về khả năng ức chế enzyme α-amylase (Bảng 3) cho thấy những chất có khả năng ức chế α-amylase là những chất tan trong dung môi phân cực.



Hình 4: Hoạt động ức chế enzyme α-amylase (2,5 U/ml) của cao chiết lá Ôi

Khả năng ức chế của cao chiết lá Ôi đối với enzyme α-amylase và α-glucosidase được xác định bằng nồng độ ức chế 50% (IC<sub>50</sub>) được trình bày trong Bảng 4. Kết quả về giá trị IC<sub>50</sub> đối với enzyme α-amylase cho thấy cao methanol có giá trị IC<sub>50</sub> nhỏ nhất (IC<sub>50</sub> = 52,48 µg/ml), cao nước có giá trị IC<sub>50</sub> = 114,82 µg/ml. Cao butanol có giá trị IC<sub>50</sub> = 3162,1 µg/ml, cho thấy khả năng ức chế hoạt động của enzyme α-amylase của cao butanol rất yếu. Tương tự kết quả về khả năng ức chế enzyme α-glucosidase theo thứ tự lần lượt là cao methanol (IC<sub>50</sub> = 7,52 µg/ml), cao nước (IC<sub>50</sub> = 17,78 µg/ml) và cao butanol (IC<sub>50</sub> = 22,75 µg/ml).

Bảng 4: Giá trị IC<sub>50</sub> của cao chiết lá Ôi đối với enzyme α-amylase và α-glucosidase

Chất ức chế (µg/ml)	Nồng độ ức chế 50% (IC <sub>50</sub> )	
	α-amylase	α-glucosidase
Acarbose	17,78	10,23
Cao nước	114,82	17,78
Cao methanol	52,48	7,52
Cao butanol	3162,1	22,75

Như vậy, các kết quả trình bày trong thí nghiệm về khả năng ức chế enzyme α-amylase và enzyme α-glucosidase cho thấy cao chiết lá Ôi bằng dung môi nước, methanol và butanol có khả năng ức chế enzyme α-glucosidase. Đối với enzyme α-amylase thì hoạt động ức chế của cao chiết lá Ôi yếu hơn so với sự ức chế hoạt động của enzyme α-glucosidase (Bảng 3), cao butanol gần như không ức chế hoạt động của enzyme α-amylase. Hoạt động ức chế enzyme thủy phân tinh bột của cao chiết lá Ôi bằng dung môi nước cũng đã được chứng minh (Deguchi *et al.*, 1998). Nhiều cao chiết thực vật cũng cho thấy có khả năng điều trị tiểu đường theo cơ chế ức chế enzyme α-amylase và enzyme α-glucosidase (Subramanian *et al.*, 2008; Sajiyo *et al.*, 2008; Hogan *et al.*, 2010; Akkarachiyasist *et al.*, 2010; Sudha *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2011).

Từ tất cả các kết quả trình bày trên cho thấy cao chiết từ lá Ôi có khả năng điều trị BTD theo cơ chế ức chế hoạt động của enzyme thủy phân tinh bột là α-amylase và



$\alpha$ -glucosidase. Kết quả về khả năng điều trị tiểu đường của cao chiết lá Ôi bổ sung cơ sở khoa học cho y học cổ truyền về khả năng điều trị BTĐ của lá Ôi.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akkarachiyasit S, Charoenlertkul P, Yibchok-anun S and Adisakwattana S. 2010. Inhibitory activities of Cyanidin and its glycosides and synergistic effect with acarbose against intestinal  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic  $\alpha$ -amylase. *Int. J. Mol. Sci.* 11: 3387-3396.
- Deguchi Y, Osada K, Uchida K, Kimura H, Yoshikawa M, Kudo T, Yasui H and Watanuki M. 1998. Effect of extract of guava leaves on the development of diabetes in the db/db mouse and on the postprandial blood glucose of human subject. *Nippon Nogeikagaku Kaishi.* 72:923-932.
- Hogan S, Zhang L, Li J, Sun S, Canning C, Zhou K. 2010. Antioxidant rich grape pomace extract suppresses postprandial hyperglycemia in diabetic mice by specifically inhibiting alpha-glucosidase. *Nutrition & Metabolism.* 7:71-79.
- Huang CS, Yin MC, Chiu LC, 2011. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Psidium guajava* fruit in streptozotocin induced diabetic rats. 49 (9): 2189-2195.
- Kim SH, Jo SH, Kwon YI and Hwang JK. 2011. Effect of onion (*Allium cepa* L.) extract administration on intestinal  $\alpha$ -glucosidase activities and spikes in postprandial blood glucose levels in SD rat model. *Int.J.Mol. Sci.* 12: 3757-3769.
- Mukhtar HM, Ansari SH, Bhat ZA, Naved T, Singh P. 2006. Antidiabetic activity of ethanol extract obtained from the stem bark of *Psidium guajava* (Myrtaceae). *Pharmazie* 61(8): 725-727.
- Nathan DM. 2006. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 29: 1963-1972.
- Oh, W.K, C.H. Lee, M.S. Lee, E.Y. Bae, C.B. Sohn, H. Oh, B.Y. Kim and J.S. Ahn. 2007. Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava*. *J Ethnopharmacology*, 96, 411-415.
- Ponnusamy S, Ravindran R, Zinjarde S, Bhargava S and Kumar AR. 2011. Evaluation of traditional Indian Antidiabetic medicinal plants for human pancreatic amylase inhibitory effect *in vitro*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* ID 515647.
- Rai PK, Jaiswal D, Mehta S, Watal G. 2009. Anti-hyperglycaemic potential of *Psidium guajava* raw fruit peel. *Indian J Med Res.* 129(5): 561-565.
- Roman-Ramos R, Flores-saenz JL, Alarcon-Aguilar FJ. 1995. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *J Ethnopharmacol* 48(1):25-31.
- Saijyo J, Suzuki Y, Okuno Y and Yamaki H. 2008.  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *Bergenia ligulata*. *Journal of Oleo Science.* 57(8) 431-435.
- Shen SC, Cheng FC, Wu NJ. 2008. Effect of guava (*Psidium guajava* Linn.) leaf soluble solids on glucose metabolism in type 2 diabetic rats. 2008. *Phytother Res.* 22(11): 1458-1464.
- Soman S, Rauf AA, Indira M, Rajamanickam C, 2010. Antioxidant and antiglycative potential of ethyl acetate fraction of *Psidium guajava* leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Plant Foods Hum Nutr.* 65 (4): 386-391.
- Subramanian R, Zaini Asmawi M and Sadikun Amirin. 2008. In vitro  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta Biochimica Polonica.* 55(2): 391-398.
- Sudha P, Smita SZ, Shobha YB and Kumar AR. Potent  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. 2011. *BMC Complementary & Alternative Medicine.* 11: 5-14.
- Wang B, Liu HC, Ju CY. 2005. Study on the hypoglycemic activity of different extracts of wild *Psidium guajava* leaves in Panzhuhua Area. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 36(9): 858-861.