

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT TP. HỒ CHÍ MINH
KHOA CÔNG NGHỆ HÓA HỌC VÀ THỰC PHẨM



KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP
NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

**ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI
THÁO ĐƯỜNG LOẠI 2 VÀ THỪA CÂN BÉO PHÌ
CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY
DƯƠNG ĐẦU OLAX IMBRICATA BẰNG THỬ
Nghiệm IN VIVO**

GVHD: PGS.TS. TRỊNH KHÁNH SƠN
TS. VÕ THỊ NGÀ

SVTH: LÊ HỒNG PHƯƠNG

MSSV: 16116166

SVTH: TRẦN LÊ TRI

MSSV: 16116186



Tp. Hồ Chí Minh, tháng 01/2021

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH
KHOA CÔNG NGHỆ HÓA HỌC VÀ THỰC PHẨM
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM



KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

MÃ SỐ: 2020-16116166

**ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI
THÁO ĐƯỜNG LOẠI 2 VÀ THÙA CÂN BÉO PHÌ
CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY
DƯƠNG ĐẦU *OLAX IMBRICATA* BẰNG THỦ
NGHIỆM *IN VIVO***

GVHD: PGS.TS. TRỊNH KHÁNH SƠN

TS. VÕ THỊ NGÀ

SVTH: LÊ HỒNG PHƯƠNG 16116166

TRẦN LÊ TRI 16116186

THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH – 01/2021

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH
KHOA CÔNG NGHỆ HÓA HỌC VÀ THỰC PHẨM
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM



KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

MÃ SỐ: 2020-16116166

**ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI
THÁO ĐƯỜNG LOẠI 2 VÀ THÙA CÂN BÉO PHÌ
CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY
DƯƠNG ĐẦU *OLAX IMBRICATA* BẰNG THỦ
NGHIỆM *IN VIVO***

GVHD: PGS.TS. TRỊNH KHÁNH SƠN

TS. VÕ THỊ NGÀ

SVTH: LÊ HỒNG PHƯƠNG 16116166

TRẦN LÊ TRI 16116186

THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH – 01/2021

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH
KHOA CÔNG NGHỆ HÓA HỌC VÀ THỰC PHẨM
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

NHIỆM VỤ KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

Họ và tên sinh viên:

Lê Hồng Phương MSSV: 16116166
Trần Lê Tri MSSV: 16116186

Ngành: Công nghệ Thực phẩm

- Tên khóa luận:** Đánh giá khả năng ngăn ngừa bệnh đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì của cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu *Olax imbricata* bằng thử nghiệm *in vivo*
 - Nhiệm vụ của khóa luận:** Nghiên cứu sự ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ rễ cây dương đầu trên mô hình động vật mắc bệnh đái tháo đường loại 2, bệnh thừa cân béo phì và những thay đổi về hành vi, sự vận động. Qua đó đánh giá tác dụng của cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu trong việc kiểm soát đường huyết, các chỉ số lipid máu, cân nặng và sự cải thiện các tổn thương ở tế bào gan, mỡ do khẩu phần ăn giàu béo tạo ra.
 - Ngày giao nhiệm vụ khóa luận:** 01/08/2020
 - Ngày hoàn thành khóa luận:** 25/01/2021
 - Họ tên người hướng dẫn 1:** PGS.TS Trịnh Khánh Sơn
Phần hướng dẫn: 80%
 - Họ tên người hướng dẫn 2:** TS. Võ Thị Ngà
Phần hướng dẫn: 20%

Nội dung và yêu cầu khóa luận tốt nghiệp đã được thông qua bởi

Trưởng Bộ môn Công nghệ Thực phẩm

Tp.HCM, ngày 25 tháng 01 năm 2021

Trường Bộ môn

Người hướng dẫn

TS. Vũ Trần Khánh Linh

PGS.TS. Trịnh Khánh Sơn

LỜI CẢM ƠN

Đầu tiên chúng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và sự kính trọng tới các thầy cô khoa Công nghệ Hóa học và Thực phẩm, các anh chị và bạn bè cùng ngành đã đóng góp ý kiến giúp chúng tôi hoàn thành đề tài này.

Và đặc biệt, chúng tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến giảng viên hướng dẫn trực tiếp Thầy PGS.TS. Trịnh Khánh Sơn và Cô TS. Võ Thị Ngà đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo chúng tôi trong suốt quá trình thực hiện đề tài.

Trong quá trình nghiên cứu, do giới hạn về thời gian cũng như lượng kiến thức và thông tin thu thập còn hạn chế nên không tránh khỏi những thiếu sót trong cách hiểu, đánh giá và trình bày. Chúng tôi rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến và đánh giá chân thành của quý thầy cô để đề tài được đầy đủ và hoàn chỉnh hơn.

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn!

Thành phố Hồ Chí Minh, ngày 25 tháng 01 năm 2021.

LỜI CAM ĐOAN

Chúng tôi xin cam đoan toàn bộ nội dung được trình bày trong khóa luận tốt nghiệp là do chính chúng tôi gồm giáo viên hướng dẫn và sinh viên thực hiện. Các nội dung nghiên cứu được thực hiện dựa trên các yêu cầu, được thiết kế, được hướng dẫn và được xác nhận kết quả bởi giáo viên hướng dẫn. Chúng tôi xin cam đoan các nội dung được tham khảo trong khóa luận tốt nghiệp đã được trích dẫn chính xác và đầy đủ theo qui định.

Tp.HCM, Ngày 25 tháng 01 năm 2021

Ký tên

Lê Hồng Phương
Trần Lê Tri

PHIẾU ĐÁNH GIÁ KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP

CỦA NGƯỜI HƯỚNG DẪN

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐH Sư phạm Kỹ thuật Tp.HCM
Khoa Công nghệ Hóa học và Thực phẩm
Bộ môn Công nghệ Thực phẩm

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

PHIẾU ĐÁNH GIÁ

KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM

KHÓA 2016SP

(NGƯỜI HƯỚNG DẪN)

1. Tên khóa luận: Đánh giá khả năng ngăn ngừa bệnh đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì của cao chiết ethanol từ rễ cây dương đầu *Oanax imbricata* bằng thử nghiệm *in vivo*

2. Mã số khóa luận: 2020-16116166

3. Họ và tên sinh viên: Lê Hồng Phương (16116166); Trần Lê Tri (16116186)

4. Họ và tên người hướng dẫn: PGS. TS. Trịnh Khánh Sơn, TS. Võ Thị Ngà

5. Hình thức luận văn:

Tổng số trang: >120; Số chương: 5; Số bảng: 04; Số hình: 21

Số tài liệu tham khảo: >100; Phần mềm tính toán: excel, SPSS, Origin Lab

Bố cục: rõ ràng

Hành văn: rõ ràng, mạch lạc

Sử dụng thuật ngữ chuyên môn: phù hợp

6. Những ưu điểm của khóa luận:

-Mục tiêu: Nghiên cứu đánh giá khả năng ngăn ngừa bệnh đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì của cao chiết ethanol từ rễ cây dương đầu bằng thử nghiệm *in vivo* được thực hiện trên chuột nhắt trắng *Mus musculus*

-Nội dung: thực hiện đúng mục tiêu đề ra. Do đây là một thực nghiệm *in vivo* nên công sức mà các sinh viên bỏ ra là rất lớn. Nội dung nghiên cứu rất nhiều so với một đề tài khóa luận tốt nghiệp đại học. Vì vậy, việc xử lý một khối lượng lớn kết quả, hiểu và biện luận kết quả là một sự cố gắng vượt bật của các sinh viên thực hiện.

-Phương pháp: các phương pháp đều được trích dẫn đầy đủ, đều là những phương pháp mới phù hợp với mục đích nghiên cứu

-Kết quả và biện luận: kết quả đạt được là rất đáng kể và được biện luận phù hợp, các trích dẫn được sử dụng phù hợp và đầy đủ

-Ý nghĩa khoa học, ý nghĩa thực tiễn và triển vọng của đề tài: đề tài hoàn toàn có tính mới về mặt khoa học. Các kết quả đạt được ở thử nghiệm *in vivo* đã đủ các yếu tố về mặt khoa học và pháp lý để có thể triển khai thực tiễn. Căn cứ trên so sánh với các nghiên cứu ngoài nước, các nghiên cứu đã được sử dụng trong các trích dẫn, các số liệu thu nhận được đủ điều kiện về mặt khoa học để công bố trên một tạp chí quốc tế chuyên ngành về thực phẩm chức năng hoặc khoa học dinh dưỡng.

7. Những thiếu sót của khóa luận:

Nếu có thời gian kéo dài hơn, có thể tiến hành thử nghiệm lên đến 8-10 tuần để thấy rõ hơn kết quả

8. Đề nghị của người hướng dẫn

Được bảo vệ Bổ sung thêm để được bảo vệ

Không được bảo vệ Bảo vệ vào đợt khác

9. Đánh giá của người hướng dẫn:

STT	Nội dung đánh giá	Điểm tối đa	Điểm đánh giá
1	Giá trị khoa học và công nghệ của đề tài Giá trị khoa học (<i>khái niệm, phạm trù, cách tiếp cận..., có hay không có sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại</i>)	50	
	Giá trị công nghệ (<i>công nghệ, quy trình, sản, cách tiếp cận...)</i> hoặc cách thức lựa chọn và thiết kế, phương pháp tính cân bằng vật chất	25	
2	Các hiệu quả của đề tài Khả năng ứng dụng (<i>qui mô nhỏ, qui mô sản xuất...</i>)	15	
	Khả năng chuyên giao công nghệ	10	
		5	
4	Chất lượng bài viết Hình thức trình bày (<i>đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...</i>)	35	
	Bố cục của bài viết	5	
	Các dữ kiện nghiên cứu (<i>độ tin cậy, cách xử lý số liệu...</i>)	10	
		20	
Tổng		100	95

Ghi chú: Xếp loại (theo điểm trung bình cuối cùng): Xuất sắc: 95-100 điểm; Tốt: 85-94 điểm; Khá: 70-84 điểm; Đạt: 50-69 điểm; Không đạt: < 50 điểm

10. Ý kiến và kiến nghị khác:

Ngày 26 tháng 01 năm 2021
Người hướng dẫn



PGS.TS. Trịnh Khánh Sơn

PHIẾU ĐÁNH GIÁ KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP CỦA NGƯỜI PHẢN BIỆN

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐH Sư phạm Kỹ thuật Tp.HCM
Khoa Công nghệ Hóa học và Thực phẩm
Bộ môn Công nghệ Thực phẩm

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

PHIẾU ĐÁNH GIÁ KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM KHÓA 2016 (PHẢN BIỆN)

1. Tên khóa luận: **ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG
LOẠI 2 VÀ THỬA CÂN BÉO PHÌ CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY
ĐƯỜNG ĐẦU OLAX IMBRICATA BẰNG THỬ NGHIỆM IN VIVO**

2. Mã số khóa luận: 2020-16116166

3. Họ và tên sinh viên 1: Lê Hồng Phương 16116166

Họ và tên sinh viên 2: Trần Lê Tri 16116186

4. Họ và tên người hướng dẫn 1: PGS. TS. Trịnh Khánh Sơn

Họ và tên người hướng dẫn 2: TS. Võ Thị Ngà

5. Hình thức luận văn:

Tổng số trang: 91; Số chương: 5; Số bảng: 8; Số hình: 30.

Số tài liệu tham khảo: 165; Phần mềm tính toán: Microsoft Excel 2010, SPSS 16.0, GraphPad Prism 8.0, OriginLab 2019a.

Bố cục: tương đối rõ ràng

Hành văn: sử dụng ngôn ngữ khoa học; văn phong mạch lạc

Sử dụng thuật ngữ chuyên môn: có sử dụng nhiều thuật ngữ chuyên môn phù hợp

6. Những ưu điểm của khóa luận:

- Mục tiêu của khóa luận: rõ ràng
- Nội dung nghiên cứu: phù hợp với mục tiêu của khóa luận.
- Tổng quan: Cung cấp nhiều thông tin hữu ích, hành văn khá tốt
- Phương pháp: pp nghiên cứu phù hợp nội dung nghiên cứu.
- Kết quả và biện luận: kết quả nghiên cứu khá nhiều, biện luận giải thích khá đầy đủ.

- Ý nghĩa khoa học, ý nghĩa thực tiễn và triển vọng của đề tài: đề tài có tính khoa học; kết quả của đề tài là nền tảng để nghiên cứu ứng dụng cao chiết ethanol từ rễ cây dương đầu *olax imbricata* trong ngăn ngừa bệnh đái tháo đường type 2 và thừa cân béo phì

7. Những thiếu sót của khóa luận:

- Luận văn khá dài, cần lựa chọn thông tin để trình bày khái quát hơn (VD có thể rút gọn phần tổng quan).
- Văn còn lỗi chính tả, lỗi diễn đạt (câu chưa hoàn chỉnh, đoạn cuối trang 36)
- Đặt vấn đề còn sơ sài, chưa đủ sức thuyết phục
- Một số nội dung chưa trích dẫn tài liệu tham khảo (TLTK).
- Trích dẫn và liệt kê tài liệu tham khảo chưa thống nhất định dạng, có TLTK trích dẫn trong bài nhưng lại không liệt kê ở mục TLTK (VD: Mahmood và cộng sự, 1996?)
- Chương 3:
 - o thiết kế thí nghiệm trình bày lộn xộn, khó hiểu (Hình 3.2), một số thông tin chưa chính xác hoặc mâu thuẫn (Hình 3.2 và nội dung trang 42, 43)
 - o Thử nghiệm in vitro cần được trình bày được thử nghiệm in vivo. Phần 3.8 (PP xác định liều gây độc) cần được trình bày trước thử nghiệm in vitro
 - o Các Hình 3.5, 3.6, 3.7 và 3.8 là do các tác giả tự chụp hay tham khảo từ nguồn khác?
Nếu tham khảo cần trích dẫn TLTK.
- Chương 4:
 - o Ko có đơn vị cho khả năng kháng α – glucosidase của CED in vitro (Bảng 4.1)

8. Đề nghị của người phản biện

Được bảo vệ Bổ sung thêm để được bảo vệ
Không được bảo vệ Bao vệ vào đợt khác

9. Câu hỏi của người phản biện (ít nhất 02 câu hỏi)

Câu 1: Dựa vào đâu tác giả xác định được thành phần dinh dưỡng của khẩu phần ăn HF ở Bảng 3.1 trang 39 (vì không thấy kết quả kiểm nghiệm cho mẫu HF ở phần Phụ lục)

Câu 2: Phụ lục 11, nội dung chứng nhận số IRB-A-2002 có ghi “*Đảm bảo trước khi thực hiện các nhiệm vụ nghiên cứu, mỗi thành viên tham gia đề tài đã được tập huấn về cách thức triển khai nghiên cứu đảm bảo quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học*” Vậy các tác giả đã được tập huấn như thế nào? Có được cấp giấy chứng nhận không?.

Câu 3: Trang 32 tác giả có đề cập “*Không nên thực hiện phẫu thuật động vật khi chưa được gây mê, bị tê liệt do tác nhân hóa học*”. Tuy nhiên ở trang 45, tác giả “sử dụng lực để kéo giãn đốt sống lưng để chuột không còn khả năng cử động”, sử dụng ghim để cố định 4 chân rồi mới tiến hành vi phẫu → không dùng tác nhân hóa học. Như vậy có đảm bảo *Nguyên tắc 3R* (trang 31) hoặc đảm bảo “*giảm thiểu hoặc loại bỏ sự đau đớn và đau khổ cho động vật*” (trang 33) như tác giả đã nêu?

Câu 4: Hình 4.8 (trang 74) biểu diễn “Kết quả xác định hành vi của chuột thử nghiệm”: để có các error bar như trên đồ thị cần quay phim hành vi của mỗi con chuột ít nhất 3 lần. Như vậy sự quay phim được thực hiện cùng một lúc (nhiều camera quay nhiều chuột đồng thời) hay tuần tự (1 camera duy nhất và quay lần lượt từng con)? Nếu rơi vào trường hợp thứ hai, liệu kết quả đo hành vi có còn chính xác (vì thời gian chờ đợi càng lâu thì hành vi tại các thời điểm “trước khi ăn” hoặc “sau khi ăn” đã không còn giống nhau nữa).

Câu 5: Hình 4.9 (trang 76): hình HFD, HFE-200, HFE-1400 và HFA-100 được đo tại ngày nào? Thời điểm nào trong ngày?

Câu 6: Trình bày cách tính IC₅₀ (Bảng 4.1 Trang 54).

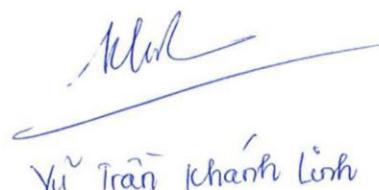
10. Đánh giá của người phản biện:

STT	Nội dung đánh giá	Điểm tối đa	Điểm đánh giá
1	Giá trị khoa học và công nghệ của đề tài	50	
	Giá trị khoa học (<i>khái niệm, phạm trù, cách tiếp cận..., có hay không có sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại</i>)	25	23
	Giá trị công nghệ (<i>công nghệ, quy trình, sản, cách tiếp cận...</i>) hoặc cách thức lựa chọn và thiết kế, phương pháp tính cân bằng vật chất	25	22
2	Các hiệu quả của đề tài	15	
	Khả năng ứng dụng (<i>qui mô nhỏ, qui mô sản xuất...</i>)	10	8
	Khả năng chuyển giao công nghệ	5	3
4	Chất lượng bài viết	35	
	Hình thức trình bày (<i>đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...</i>)	5	4
	Bố cục của bài viết	10	8
	Các dữ kiện nghiên cứu (<i>độ tin cậy, cách xử lý số liệu...</i>)	20	15
Tổng		100	83

Ghi chú: Xếp loại (theo điểm trung bình cuối cùng): Xuất sắc: 95-100 điểm; Tốt: 85-94 điểm; Khá: 70-84 điểm; Đạt: 50-69 điểm; Không đạt: < 50 điểm

10. Ý kiến và kiến nghị khác: Đề nghị các tác giả chỉnh sửa và bổ sung những thiếu sót đã nêu ở mục 7

Ngày 28 tháng 01 năm 2021
Người phản biện



Vũ Trần Khanh Linh

PHIẾU ĐÁNH GIÁ KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP CỦA THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐH Sư phạm Kỹ thuật Tp.HCM
Khoa Công nghệ Hóa học và Thực phẩm
Bộ môn Công nghệ Thực phẩm

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

PHIẾU ĐÁNH GIÁ KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM KHÓA 2016 (THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG)

- Tên khóa luận: **DÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG
LOẠI 2 VÀ THỬA CÂN BÉO PHÌ CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY DƯƠNG
ĐẦU OLAX IMBRICATA BẰNG THỦ NGHIỆM IN VIVO**
- Mã số khóa luận: 2020-16116166
- Họ và tên sinh viên: Lê Hồng Phương
- Mã số sinh viên: 16116166
- Đánh giá của thành viên hội đồng:

STT	Nội dung đánh giá	Điểm tối đa	Điểm đánh giá
1	Giá trị khoa học và công nghệ của khóa luận	50	50
	Giá trị khoa học (khái niệm, phạm trù, cách tiếp cận..., có hay không có sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại)	25	
	Giá trị công nghệ (công nghệ, qui trình, sản, cách tiếp cận...) hoặc cách thức lựa chọn và thiết kế, phương pháp tính cân bằng vật chất	25	
2	Các hiệu quả của khóa luận	10	10
	Khả năng ứng dụng (qui mô nhỏ, qui mô sản xuất...)	5	
3	Khả năng chuyển giao công nghệ	5	
	Chất lượng bài viết	20	18
	Hình thức trình bày (đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...)	5	
	Bố cục của bài viết	5	
4	Các dữ kiện nghiên cứu (độ tin cậy, cách xử lý số liệu...)	10	
	Khả năng trình bày khóa luận trước hội đồng đánh giá	20	18
	Hình thức, bố cục (đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...)	5	
	Kỹ năng thuyết trình	5	
	Khả năng trả lời các câu hỏi	10	
	Tổng	100	90

Ghi chú: Xếp loại (theo điểm trung bình cuối cùng): Xuất sắc: 95-100 điểm; Tốt: 85-94 điểm; Khá: 70-84 điểm; Đạt: 50-69 điểm;
Không đạt: < 50 điểm

10. Ý kiến và kiến nghị khác:

Ngày 30/01/2021.
Thành viên Hội đồng

Lê Thị Huyền
Nguyễn Văn Lực

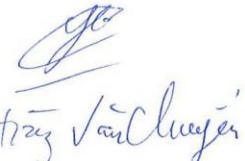
PHIẾU ĐÁNH GIÁ
KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM
KHÓA 2016
(THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG)

1. Tên khóa luận: **ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG LOẠI 2 VÀ THỬA CÂN BÉO PHÌ CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY DƯƠNG ĐÀU OLAX IMBRICATA BẰNG THỬ NGHIỆM IN VIVO**
2. Mã số khóa luận: 2020-16116166
3. Họ và tên sinh viên: Lê Hồng Phương
4. Mã số sinh viên: 16116166
5. Đánh giá của thành viên hội đồng:

STT	Nội dung đánh giá	Điểm tối đa	Điểm đánh giá
1	Giá trị khoa học và công nghệ của khóa luận Giá trị khoa học (<i>khái niệm, phạm trù, cách tiếp cận..., có hay không có sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại</i>)	50	50
	Giá trị công nghệ (<i>công nghệ, quy trình, sản, cách tiếp cận...</i>) hoặc cách thức lựa chọn và thiết kế, phương pháp tính cân bằng vật chất	25	
		25	
2	Các hiệu quả của khóa luận Khả năng ứng dụng (<i>qui mô nhỏ, qui mô sản xuất...</i>)	10	7
	Khả năng chuyển giao công nghệ	5	
		5	
3	Chất lượng bài viết Hình thức trình bày (<i>đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/da dạng...</i>)	20	18
	Bố cục của bài viết	5	
	Các dữ kiện nghiên cứu (<i>độ tin cậy, cách xử lý số liệu...</i>)	10	
4	Khả năng trình bày khóa luận trước hội đồng đánh giá Hình thức, bố cục (<i>đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/da dạng...</i>)	20	18
	Kỹ năng thuyết trình	5	
	Khả năng trả lời các câu hỏi	10	
	Tổng	100	93

Ghi chú: Xếp loại (theo điểm trung bình cuối cùng): Xuất sắc: 95-100 điểm; Tốt: 85-94 điểm; Khá: 70-84 điểm; Đạt: 50-69 điểm;
Không đạt: < 50 điểm

10. Ý kiến và kiến nghị khác:


Huynh Văn Chuyên

PHIẾU ĐÁNH GIÁ
KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM
KHÓA 2016
(THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG)

1. Tên khóa luận: **ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG LOẠI 2 VÀ THỬA CÂN BÉO PHÌ CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY DƯƠNG ĐẦU *OLAX IMBRICATA* BẰNG THỬ NGHIỆM *IN VIVO***
2. Mã số khóa luận: 2020-16116166
3. Họ và tên sinh viên: Lê Hồng Phương
4. Mã số sinh viên: 16116166
5. Đánh giá của thành viên hội đồng:

STT	Nội dung đánh giá	Điểm tối đa	Điểm đánh giá
1	Giá trị khoa học và công nghệ của khóa luận	50	50
	Giá trị khoa học (<i>khái niệm, phạm trù, cách tiếp cận..., có hay không có sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại</i>)	25	
	Giá trị công nghệ (<i>công nghệ, qui trình, sản, cách tiếp cận...</i>) hoặc cách thức lựa chọn và thiết kế, phương pháp tính cân bằng vật chất	25	
2	Các hiệu quả của khóa luận	10	10
	Khả năng ứng dụng (<i>qui mô nhỏ, qui mô sản xuất...</i>)	5	
3	Khả năng chuyển giao công nghệ	5	
	Chất lượng bài viết	20	17
	Hình thức trình bày (đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...)	5	
	Bố cục của bài viết	5	
4	Các dữ kiện nghiên cứu (<i>độ tin cậy, cách xử lý số liệu...</i>)	10	
	Khả năng trình bày khóa luận trước hội đồng đánh giá	20	18
	Hình thức, bố cục (<i>đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...</i>)	5	
	Kỹ năng thuyết trình	5	
	Khả năng trả lời các câu hỏi	10	
	Tổng	100	95

Ghi chú: Xếp loại (theo điểm trung bình cuối cùng): Xuất sắc: 95-100 điểm; Tốt: 85-94 điểm; Khá: 70-84 điểm; Đạt: 50-69 điểm; Không đạt: < 50 điểm

10. Ý kiến và kiến nghị khác:

ngày 30/1/2021

*JK
Hồ Thị Thu Trang*

PHIẾU ĐÁNH GIÁ
KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM
KHÓA 2016
(THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG)

- Tên khóa luận: **ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG LOẠI 2 VÀ THỬA CÂN BÉO PHÌ CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY DƯƠNG ĐẦU OLAX IMBRICATA BẰNG THỬ NGHIỆM IN VIVO**
- Mã số khóa luận: 2020-16116166
- Họ và tên sinh viên: Trần Lê Tri
- Mã số sinh viên: 16116186
- Đánh giá của thành viên hội đồng:

STT	Nội dung đánh giá	Điểm tối đa	Điểm đánh giá
1	Giá trị khoa học và công nghệ của khóa luận	50	50
	Giá trị khoa học (khái niệm, phạm trù, cách tiếp cận..., có hay không có sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại)	25	
	Giá trị công nghệ (công nghệ, quy trình, sản, cách tiếp cận ...) hoặc cách thức lựa chọn và thiết kế, phương pháp tính cân bằng vật chất	25	
2	Các hiệu quả của khóa luận	10	10
	Khả năng ứng dụng (qui mô nhỏ, qui mô sản xuất...)	5	
3	Khả năng chuyển giao công nghệ	5	
	Chất lượng bài viết	20	18
	Hình thức trình bày (đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...)	5	
	Bố cục của bài viết	5	
4	Các dữ kiện nghiên cứu (độ tin cậy, cách xử lý số liệu...)	10	
	Khả năng trình bày khóa luận trước hội đồng đánh giá	20	12
	Hình thức, bố cục (đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...)	5	
	Kỹ năng thuyết trình	5	
	Khả năng trả lời các câu hỏi	10	
	Tổng	100	90

Ghi chú: Xếp loại (theo điểm trung bình cuối cùng): Xuất sắc: 95-100 điểm; Tốt: 85-94 điểm; Khá: 70-84 điểm; Đạt: 50-69 điểm;
Không đạt: < 50 điểm

10. Ý kiến và kiến nghị khác:

Ngày 30/1/2021
Thành viên HĐ
Huell
Nữ Triệu Huyền

PHIẾU ĐÁNH GIÁ
KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM
KHÓA 2016
(THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG)

1. Tên khóa luận: **ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG LOẠI 2 VÀ THỬA CÂN BÉO PHÌ CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY DƯƠNG ĐẦU OLAX IMBRICATA BẰNG THỬ NGHIỆM IN VIVO**
2. Mã số khóa luận: 2020-16116166
3. Họ và tên sinh viên: Trần Lê Tri
4. Mã số sinh viên: 16116186
5. Đánh giá của thành viên hội đồng:

STT	Nội dung đánh giá	Điểm tối đa	Điểm đánh giá
1	Giá trị khoa học và công nghệ của khóa luận Giá trị khoa học (<i>khái niệm, phạm trù, cách tiếp cận..., có hay không có sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại</i>)	50	50
	Giá trị công nghệ (<i>công nghệ, quy trình, sản, cách tiếp cận...</i>) hoặc cách thức lựa chọn và thiết kế, phương pháp tính cân bằng vật chất	25	
	Các hiệu quả của khóa luận Khả năng ứng dụng (<i>qui mô nhỏ, qui mô sản xuất...</i>) Khả năng chuyển giao công nghệ	10	7
2	Chất lượng bài viết Hình thức trình bày (<i>đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...</i>)	20	18
	Bố cục của bài viết	5	
	Các dữ kiện nghiên cứu (<i>độ tin cậy, cách xử lý số liệu...</i>)	10	
3	Khả năng trình bày khóa luận trước hội đồng đánh giá Hình thức, bố cục (<i>đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/đa dạng...</i>)	20	18
	Kỹ năng thuyết trình	5	
	Khả năng trả lời các câu hỏi	10	
	Tổng	100	93

Ghi chú: Xếp loại (theo điểm trung bình cuối cùng): Xuất sắc: 95-100 điểm; Tốt: 85-94 điểm; Khá: 70-84 điểm; Đạt: 50-69 điểm;
Không đạt: < 50 điểm

10. Ý kiến và kiến nghị khác:

Hoàng Văn Chung

PHIẾU ĐÁNH GIÁ
KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP NGÀNH CÔNG NGHỆ THỰC PHẨM
KHÓA 2016
(THÀNH VIÊN HỘI ĐỒNG)

1. Tên khóa luận: **ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG NGĂN NGỪA BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG LOẠI 2 VÀ THỬA CÂN BÉO PHÌ CỦA CAO CHIẾT ETHANOL TỪ RỄ CÂY DƯƠNG ĐẦU OLAX IMBRICATA BẰNG THỬ NGHIỆM IN VIVO**
2. Mã số khóa luận: 2020-16116166
3. Họ và tên sinh viên: Trần Lê Tri
4. Mã số sinh viên: 16116186
5. Đánh giá của thành viên hội đồng:

STT	Nội dung đánh giá	Điểm tối đa	Điểm đánh giá
1	Giá trị khoa học và công nghệ của khóa luận Giá trị khoa học (<i>khái niệm, phạm trù, cách tiếp cận..., có hay không có sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại</i>)	50	50
		25	
	Giá trị công nghệ (<i>công nghệ, quy trình, sản, cách tiếp cận...</i>) hoặc cách thức lựa chọn và thiết kế, phương pháp tính cân bằng vật chất	25	
2	Các hiệu quả của khóa luận	10	10
	Khả năng ứng dụng (<i>qui mô nhỏ, qui mô sản xuất...</i>)	5	
	Khả năng chuyển giao công nghệ	5	
3	Chất lượng bài viết	20	17
	Hình thức trình bày (đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/da dạng...)	5	
	Bố cục của bài viết	5	
	Các dữ kiện nghiên cứu (<i>độ tin cậy, cách xử lý số liệu...</i>)	10	
4	Khả năng trình bày khóa luận trước hội đồng đánh giá	20	18
	Hình thức, bố cục (<i>đẹp, rõ ràng, tài liệu tham khảo đầy đủ/da dạng...</i>)	5	
	Kỹ năng thuyết trình	5	
	Khả năng trả lời các câu hỏi	10	
	Tổng	100	95

Ghi chú: Xếp loại (theo điểm trung bình cuối cùng): Xuất sắc: 95-100 điểm; Tốt: 85-94 điểm; Khá: 70-84 điểm; Đạt: 50-69 điểm;
Không đạt: < 50 điểm

10. Ý kiến và kiến nghị khác:

Ngày 30/1/2021

Trần Lê Tri
Họ - tên - ngày

MỤC LỤC

DANH MỤC HÌNH	i
DANH MỤC BẢNG.....	iii
DANH MỤC VIẾT TẮT	iv
TÓM TẮT KHOÁ LUẬN	vi
CHƯƠNG 1: MỞ ĐẦU/GIỚI THIỆU ĐỀ TÀI	1
1.1. Đặt vấn đề	1
1.2. Mục tiêu của đề tài	1
1.3. Giới hạn và phạm vi nghiên cứu của đề tài	1
1.3.1. Phạm vi nghiên cứu	1
1.3.2. Giới hạn	2
1.4. Nội dung nghiên cứu	2
1.5. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài	2
1.6. Bố cục của báo cáo	2
CHƯƠNG 2: TỔNG QUAN	3
2.1. Giới thiệu về cây Dương đàu (<i>olax imbicata</i>)	3
2.1.1. Nguồn gốc	3
2.1.2. Thành phần hóa học	5
2.1.3. Khả năng ức chế ức chế enzyme α -glucosidase.....	8
2.2. Một số phương pháp trích ly	11
2.2.1. Phương pháp trích ly cổ điển.....	12
2.2.2. Phương pháp trích ly hiện đại	15
2.3. Chuyển hóa chất dinh dưỡng trong cơ thể	16
2.3.1. Chuyển hóa carbohydrate	16
2.3.2. Chuyển hóa lipid.....	17
2.3.3. Chuyển hóa protein	20
2.4. Một số bệnh căn bệnh về dinh dưỡng thường gặp ở người.....	21
2.4.1. Bệnh đái tháo đường loại 2	21
2.4.2. Bệnh thừa cân béo phì.....	22

2.4.3. Bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (Nonalcoholic fatty liver disease - NAFLD)	23
.....
2.5. Thử nghiệm <i>in vivo</i> trên động vật	25
2.5.1. Giới thiệu về thử nghiệm trên động vật.....	25
2.5.2. Tầm quan trọng của thử nghiệm <i>in vivo</i>	26
2.6. Tổng quan về chuột.....	26
2.6.1. Lịch sử, chủng giống và phân loại.....	26
2.6.2. Lợi ích và hạn chế trong việc sử dụng chuột thí nghiệm	28
2.6.3. Điều kiện nuôi chuột thí nghiệm	28
2.6.4. Quy tắc 3R trong sử dụng động vật thí nghiệm.....	31
2.6.5. Quy định về thí nghiệm <i>in vivo</i> trên động vật trong và ngoài nước.....	31
2.7. Các nghiên cứu trước đây	33
2.7.1. Nghiên cứu trong nước.....	33
2.7.2. Nghiên cứu ngoài nước.....	34
2.8. Mục tiêu nghiên cứu.....	35
CHƯƠNG 3: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP	37
3.1. Mẫu cao chiết ethanol thử nghiệm	37
3.2. Mẫu động vật thử nghiệm	38
3.3. Khẩu phần ăn	38
3.4. Thiết kế thí nghiệm <i>in vivo</i>	40
3.4.1. Thử nghiệm 1	42
3.4.2. Thử nghiệm 2	43
3.5. Các phương pháp thực hiện trên động vật	44
3.5.1. Phương pháp sử dụng cao chiết qua đường miệng	44
3.5.2. Phương pháp vi phẫu và lấy máu tim chuột thử nghiệm.....	45
3.5.3. Phương pháp làm tiêu bản mô	46
3.5.4. Phương pháp đánh giá hành vi (Locomotion)	46
3.6. Các phương pháp đo trên chuột	47
3.6.1. Thể trọng chuột.....	48
3.6.2. Các chỉ tiêu sinh hóa.....	49

3.7. Các phương pháp thực hiện trên mẫu thực vật	52
3.7.1. Xác định khả năng kháng α -glucosidase trong thử nghiệm <i>in vitro</i>	52
3.7.2. Xác định dư lượng ethanol	53
3.8. Phương pháp xác định liều gây độc.....	53
3.9. Phương pháp thống kê.....	53
CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ BÀN LUẬN.....	54
4.1. Dư lượng ethanol trong cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu (CED).....	54
4.2. Liều gây độc cấp tính trong cao chiết (CED).....	54
4.3. Khả năng kháng α -glucosidase của CED trong thử nghiệm <i>in vitro</i>	54
4.4. Thể trọng của các nhóm chuột thử nghiệm	55
4.5. Khả năng dung nạp glucose qua đường miệng (OGTT)	58
4.6. Đường huyết sau khi sử dụng tinh bột	62
4.7. Chỉ số lipid máu.....	64
4.8. Khối lượng và hình thái giải phẫu mô gan, thận, mõ	66
4.9. Hành vi của chuột thử nghiệm.....	74
CHƯƠNG 5: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT	78

DANH MỤC HÌNH

Hình 2. 1. Cây dương đầu (<i>Olax imbricata</i>)	3
Hình 2. 2. Các bộ phận của cây dương đầu (<i>Olax Imbricata</i>)	4
Hình 2. 3. Quy trình điều chế và cô lập các hợp chất tinh khiết từ rễ cây dương đầu <i>olax imbricata</i> (Nga Vo Thi và cộng sự, 2019)	6
Hình 2. 4. Cấu trúc hoá học của các hợp chất có hoạt tính ức chế enzym α - glucosidase mạnh từ rễ cây dương đầu (Nga Vo Thi và cộng sự, 2019)	8
Hình 2. 5. Cơ chế ức chế enzyme α -glucosidase (Hossain và cộng sự, 2020).....	9
Hình 2. 6. Cấu tạo của các chế phẩm ức chế enzyme α -glucosidase	10
Hình 2. 7. Mô phỏng thiết bị đun hồi lưu.....	13
Hình 2. 8. Quá trình chuyển hóa carbohydrate (Ashok Katta, 2014).....	17
Hình 2. 9. Quá trình chuyển hóa chất béo trong cơ thể (Jamkatel và cộng sự, 2014)	19
Hình 2. 10. Quá trình chuyển hóa protein trong cơ thể.....	20
Hình 2. 11. Tế bào mô mỡ (Sbraccia và cộng sự, 2019).....	23
Hình 2. 12. Tiêu bản mô gan (Paul Angulo M.D, 2002).....	25
Hình 2. 13. Chuột nhắt nhà (<i>Mus musculus</i>).....	27
Hình 3. 1. Sơ đồ sản xuất cao chiết EtOH từ rễ cây dương đầu	37
Hình 3. 2. Quy trình thử nghiệm trên động vật.....	41
Hình 3. 3. Mẫu đầu ống tiêm Gavage	45
Hình 3. 4. Quy trình làm việc của MouseActivity	47
Hình 3. 5. Phương pháp cân chuột trong thử nghiệm <i>in vivo</i>	48
Hình 3. 6. Kỹ thuật bơm trực tiếp glucose qua đường miệng	49
Hình 3. 7. Tĩnh mạch máu bên của đuôi chuột	50
Hình 3. 8. Quy trình đo đường huyết	51
Hình 4. 1. Thể trọng và năng lượng thu được từ bữa ăn (kcal/con/ngày) của các nhóm trong 6 tuần thử nghiệm.....	55
Hình 4. 2. Đồ thị khả năng dung nạp glucose qua đường miệng của các nhóm chuột	58
Hình 4. 3. Đường huyết sau khi sử dụng tinh bột của các nhóm	62

Hình 4. 4. Vi phẫu mõ ở các nhóm chuột thí nghiệm nhuộm Hematoxylin và Eosin được quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại $\times 100$ lần.	67
Hình 4. 5. Vi phẫu gan ở các nhóm chuột thí nghiệm nhuộm Hematoxylin và Eosin được quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại $\times 100$	69
Hình 4. 6. Vi phẫu gan ở các nhóm chuột thí nghiệm nhuộm Hematoxylin và Eosin được quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại $\times 100$	71
Hình 4. 7. Quá trình sát nhập của các tế bào mõ (Yu & Li, 2017)	73
Hình 4. 8. Đồ thị quãng đường di chuyển theo thời gian của các nhóm chuột.....	74
Hình 4. 9. Ghi lại quá trình di chuyển trong khu vực quan sát của các nhóm chuột	75

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2. 1. Tên gọi của 13 hợp chất mới được phân lập từ rễ cây dương đàu (Nga Vo Thi và cộng sự, 2019).....	7
Bảng 2. 2. Phân loại chuẩn giống chuột thử nghiệm (Luechtefeld và cộng sự, 2018).....	27
Bảng 2. 3. Thành phần trong khẩu phần ăn tiêu chuẩn đối với chuột thí nghiệm, theo AIN-93 (Hedrich, 2004)	30
Bảng 3. 1. Thành phần chính trong 100g khẩu phần ăn tiêu chuẩn (ND) và giàu béo (HF)....	39
Bảng 4. 1. Khả năng kháng α -glucosidase của CED <i>in vitro</i>	54
Bảng 4. 2. So sánh diện tích dưới đường cong (AUC) của quá trình dung nạp glucose.....	59
Bảng 4. 3. Các chỉ số lipid máu của các nhóm chuột thí nghiệm.....	64
Bảng 4. 4. Khối lượng nội tạng của các nhóm chuột thử nghiệm	66

DANH MỤC VIẾT TẮT

AGIs	α -glucosidase inhibitors	Úc chế α -glucosidase
BGL	Blood Glucose Level	Mức glucose trong máu
CED		Cao chiết Ethanol từ rễ cây Dương đầu
CIOMS	Council for International Organizations of Medical Sciences	Hội đồng Tổ chức Khoa học Y tế Quốc tế
EtOH	Ethanol Alcohol	Rượu ethanol
HDL	High Density Lipoprotein cholesterol	Cholesterol tỷ trọng cao
HF	High Fat	Khẩu phần ăn giàu béo
HFA-100	High Fat Acarbose-200 (mg/kg.w/day)	Nhóm ăn khẩu phần giàu béo và sử dụng Acarbose 100mg/kg thể trọng/ngày
HFD	High Fat Diet	Nhóm ăn khẩu phần giàu béo
HFE-1000	High Fat Ethanol-1000 (mg/kg.w/day)	Nhóm ăn khẩu phần giàu béo và sử dụng cao chiết ethanol 1000mg/kg thể trọng/ngày
HFE-1400	High Fat Ethanol-1400 (mg/kg.w/day)	Nhóm ăn khẩu phần giàu béo và sử dụng cao chiết ethanol 1400mg/kg thể trọng/ngày
HFE-200	High Fat Ethanol-200 (mg/kg.w/day)	Nhóm ăn khẩu phần giàu béo và sử dụng cao chiết ethanol 200mg/kg thể trọng/ngày
HFE-600	High Fat Ethanol-600 (mg/kg.w/day)	Nhóm ăn khẩu phần giàu béo và sử dụng cao chiết ethanol 600mg/kg thể trọng/ngày
IC ₅₀	Half maximal Inhibitory Concentration	Úc chế 50% đối tượng thử

NAFDL	NonAlcoholic Fatty Liver Disease	Gan nhiễm mỡ không do rượu
LDL	Low Density Lipoprotein cholesterol	Cholesterol tỷ trọng thấp
MA	MouseActivity	
NAFLD	Non-alcoholic Fatty Liver Disease	Bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu
ND	Normal Diet	Nhóm ăn khẩu phần chuẩn
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test	Kiểm tra khả năng dung nạp glucose qua đường miệng
PBGL	Postprandial Blood Glucose Level	Mức đường huyết sau ăn
RCD		Rễ cây Dương Đầu
T2D	Type 2 Diabetes	Đái tháo đường loại 2
TC	Total Cholesterol	Cholesterol tổng
TG	Triglyceride	Triglyceride
WHO	World Health Organization	Tổ chức y tế thế giới

TÓM TẮT KHOÁ LUẬN

Trong nghiên cứu này, hoạt tính sinh học của cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu *Olax imbricata* (CED) được đánh giá trên các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo*. Kết quả *in vitro* cho thấy khả năng kháng α -glucosidase của CED khá tương đồng với acarbose (một loại thuốc điều trị đái tháo đường loại 2). Chuột nhắt trắng được dùng trong các thử nghiệm *in vivo* để đánh giá ảnh hưởng của liều CED (200-1400 mg/kg thể trọng/ngày) sử dụng đến khả năng giảm tình trạng thừa cân béo phì và đái tháo đường loại 2. Bên cạnh đó, nghiên cứu này còn đánh giá khả năng chết động vật thí nghiệm (LD50) của cao chiết. Sau 3 tháng sử dụng với liều 2000 mg/kg thể trọng/ngày (tương ứng 140g/ngày đối với một người nặng 70kg), không có động vật nào xuất hiện tình trạng bất thường hoặc chết. Điều này bước đầu chứng minh tính an toàn của cao chiết. Bên cạnh đó, sau 6 tuần thử nghiệm trên khẩu phần ăn giàu béo kích ứng gây bệnh, CED với liều ≥ 600 mg/kg thể trọng/ngày (tương ứng 42 g/ngày đối với một người nặng 70kg) đã chứng minh có tác dụng tích cực giảm đáng kể tình trạng thừa cân béo phì và đái tháo đường loại 2 thông qua các kết quả về thể trọng, lipid máu, khả năng dung nạp glucose, mô học (mỡ trắng, gan và thận) và hành vi khi so sánh với acarbose.

CHƯƠNG 1: MỞ ĐẦU/GIỚI THIỆU ĐỀ TÀI

1.1. Đặt vấn đề

Đái tháo đường loại 2 (T2D) và thừa cân béo phì là các căn bệnh có liên quan đến dinh dưỡng phô biến trên người với tỉ lệ mắc bệnh tăng lên hàng năm. Theo báo cáo của WHO, trên thế giới có khoảng 422 triệu người trưởng thành mắc bệnh đái tháo đường (năm 2014) và có hơn 1,9 tỷ người lớn từ 18 tuổi trở lên bị thừa cân với hơn 650 triệu người lớn bị béo phì (năm 2016). Hai căn bệnh này là nguyên nhân chính gây ra các bệnh liên quan đến tim mạch, ung thư. Hiện nay, các loại thuốc điều trị căn bệnh này đã xuất hiện trên thị trường nhưng gây nhiều tác dụng phụ như chán ăn, khô miệng, mất ngủ, táo bón. Do đó, các nghiên cứu vẫn được đẩy mạnh để có thể tìm ra được các giải pháp thích hợp ngăn ngừa, điều trị hai căn bệnh trên và hạn chế đến mức tối đa các tác dụng phụ có thể gây ra trên người (Ahren, 2005).

1.2. Mục tiêu của đề tài

Một trong những giải pháp hiệu quả để ngăn ngừa bệnh đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì là làm chậm quá trình hấp thu glucose bằng cách ức chế sự hoạt động của enzyme tiêu hóa carbohydrate như α -glucosidase. Do đó, lượng glucose vận chuyển vào máu giảm giúp ổn định đường huyết sau ăn và làm giảm năng lượng cung cấp cho cơ thể. Cây dương đầu (*Olax imbricate*) chứa các hợp chất OLAX2, OLAX5, OI3 có khả năng ức chế α -glucosidase là một trong những loại cây dược liệu chữa bệnh đái tháo đường được sử dụng trong dân gian. Các hợp chất kháng α -glucosidase trong rễ cây dương đầu được trích ly bằng dung môi 70/30 (v/v) ethanol/nước. Cao chiết ethanol từ rễ cây dương đầu (CED) thu được sẽ dùng để thử nghiệm trên mô hình động vật để chứng minh được những công dụng của nó trong việc điều tiết đường huyết và duy trì cân nặng của các nhóm chuột thí nghiệm.

1.3. Giới hạn và phạm vi nghiên cứu của đề tài

1.3.1. Phạm vi nghiên cứu

Nghiên cứu đánh giá khả năng ngăn ngừa bệnh đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì của cao chiết ethanol từ rễ cây dương đầu bằng thử nghiệm *in vivo* được thực hiện trên chuột nhắt trắng *Mus musculus*. Thời gian nghiên cứu từ tháng 01/08/2020 đến 25/01/2021 tại

khoa công nghệ Hóa học và Thực phẩm thuộc trường đại học Sư phạm Kỹ thuật thành phố Hồ Chí Minh.

1.3.2. Giới hạn

(i) Thời gian tiến hành thử nghiệm *in vivo* còn ngắn nên không khảo sát được khả năng điều tiết đường huyết và cân nặng sau khi ngừng sử dụng CED.

(ii) Trong CED có chứa nhiều thành phần khác nhau nhưng chỉ có các hợp chất OLAX2, OLAX5, OI3 có khả năng ức chế α -glucosidase. Các chất khác có trong cao chiết làm giảm hiệu suất của CED trong việc ngăn ngừa bệnh đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì.

(iii) Mặc dù, ethanol là dung môi không độc hại. Tuy nhiên, dư lượng ethanol có trong CED là 63.8 mg/kg có thể làm ảnh hưởng khác nhau đến tác dụng của cao và tiếp tục nghiên cứu để giảm đến mức tối đa.

1.4. Nội dung nghiên cứu

Nghiên cứu sự ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ rễ cây dương đầu trên mô hình động vật mắc bệnh đái tháo đường loại 2, bệnh thừa cân béo phì và những thay đổi về hành vi, sự vận động. Qua đó đánh giá tác dụng của cao chiết ethanol từ rễ cây dương đầu trong việc kiểm soát đường huyết, các chỉ số lipid máu, cân nặng và sự cải thiện các tổn thương ở tế bào gan, mỡ do khẩu phần ăn giàu béo tạo ra.

1.5. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Đánh giá khả năng ngăn ngừa bệnh đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì trên *in vivo* kết hợp với các thử nghiệm đã được chứng minh về khả năng ức chế enzyme α -glucosidase trên *in vitro* của CED để từng bước đưa CED vào sử dụng trong thực tiễn trong việc ngăn ngừa các căn bệnh trên dưới dạng sản phẩm thực phẩm chức năng hoặc dược phẩm.

1.6. Bộ cục của báo cáo

Chương 1: Mở đầu

Chương 2: Tổng quan

Chương 3: Vật liệu phương pháp

Chương 4: Kết quả và bàn luận

Chương 5: Kiến nghị

CHƯƠNG 2: TỔNG QUAN

2.1. Giới thiệu về cây Dương đầu (*olax imbricata*)

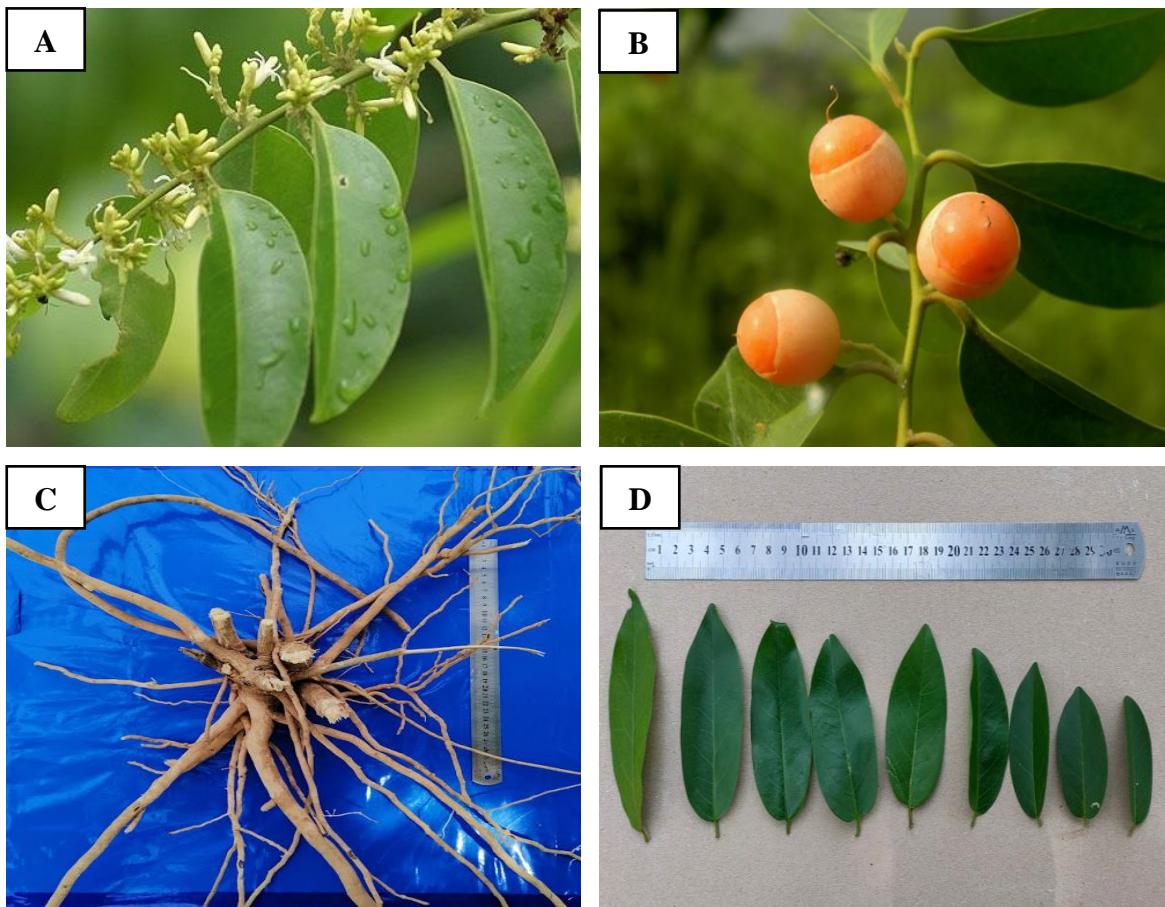
2.1.1. Nguồn gốc

Cây Dương đầu có tên khoa học *Olax imbricata* là thực vật có hoa thuộc họ *Olacaceae*; thuộc chi *Olax* được William Roxburgh tìm thấy và mô tả khoa học lần đầu tiên năm 1820. Cây còn có tên gọi thông thường khác: dương đầu kết lợp, cây cát lộ, dây mao trật (Hình 2.1). Họ *Olacaceae* bao gồm khoảng 30 chi và 250 loài thực vật phổ biến ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, ven biển Ấn Độ, Myanmar, Malaysia, Việt Nam, Trung Quốc và Indonesia. Ở Việt Nam, cây Dương đầu *Olax imbricata* được tìm thấy ở vùng núi Đakrông của tỉnh Quảng Trị (Phạm Hoang Ho, 2003; Roxburgh, 1820).

Chi *Olax* có khoảng 40 loài, dạng cây bụi, cao 2-6 m, thân gỗ, nhánh mọc xà, thân cây màu nâu, cành non màu xám. Ở vùng nhiệt đới thường xanh, loài cây này thường có dạng dây leo. Cây Dương đầu *Olax imbricata* có lá mọc so le, phiến lá hình trứng, dài 5-10 cm, rộng 2,5-3,5 cm. Đài hoa nhỏ, hoa màu trắng hoặc hơi vàng, mọc ở nách lá. Quả hạch hình cầu hoặc dạng hình trứng ngược, bao bởi đài hoa cùng lớn lên với quả, phôi nhỏ, 2-4 lá mầm. Cây thường ra hoa từ tháng 4 tới tháng 10 (Phạm Hoang Ho, 2003). Hình ảnh các bộ phận cây dương đầu được trình bày trong Hình 2.2.



Hình 2. 1. Cây Dương đầu (*Olax imbricata*)



(A) Cành; (B) Quả; (C) Rễ; (D) Lá

Hình 2. 2. Các bộ phận của cây Dương đầu (*Olax Imbricata*)

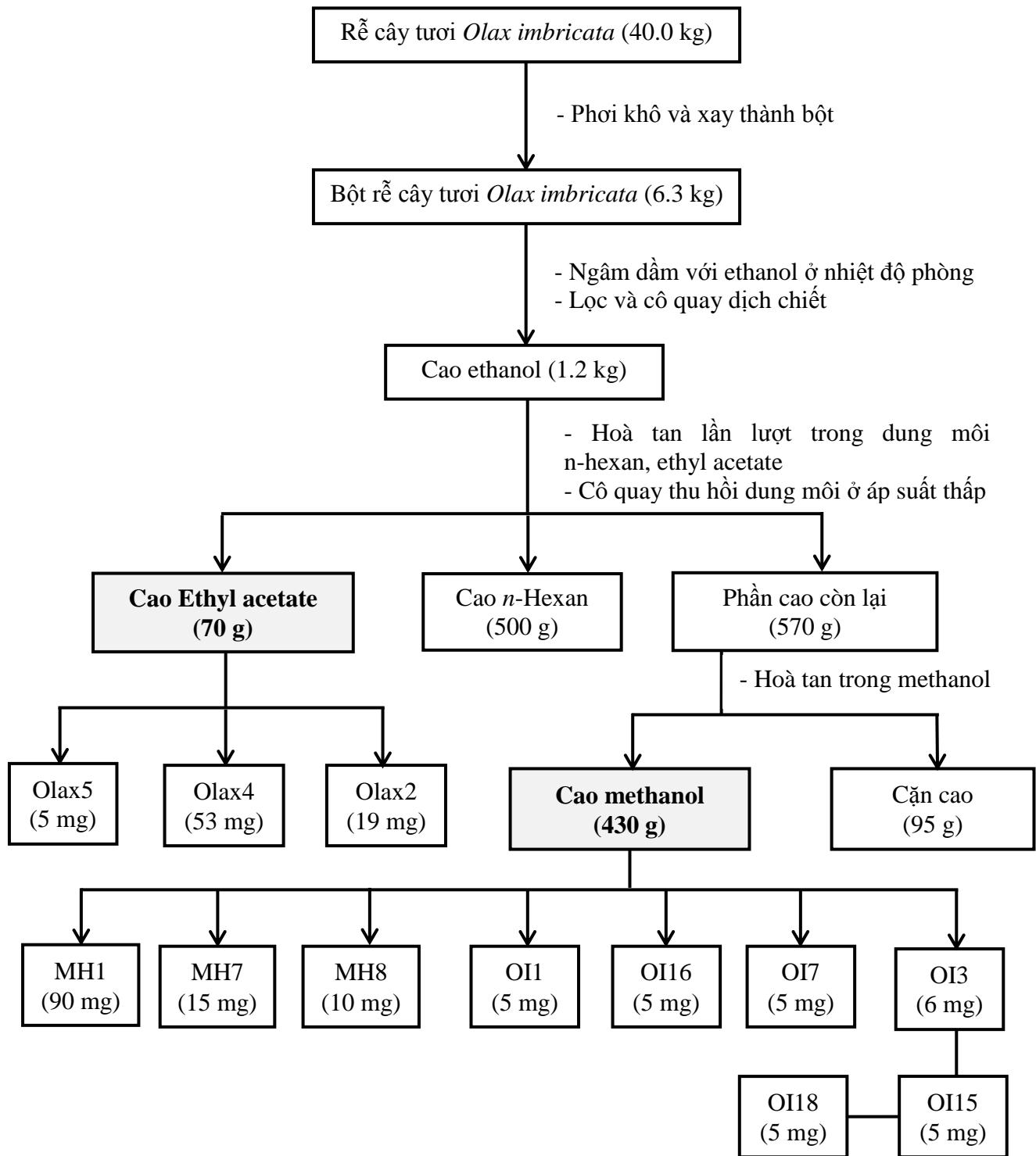
Những loại cây chi *Olax* thuộc họ *Olacaceae* được người dân khắp nơi trên thế giới sử dụng với mục đích chữa bệnh và bảo vệ sức khoẻ. Ở phía Bắc Nigeria, rễ cây *Olax viridis* được sử dụng trong điều trị chứng mất ngủ, giải nhiệt, chữa bệnh tiêu chảy, điều trị sốt và đau đầu; cành cây dùng để chữa bệnh đau răng; vỏ cây dùng để điều trị các vết loét và là phương thuốc cho bệnh sốt thương hàn. Dịch chiết methanol từ rễ cây *Olax viridis* còn được dùng làm thuốc giảm đau để bảo vệ gan chống lại sự phá huỷ gan (Nwaigwe và cộng sự, 2012). Còn ở miền tây Châu Phi, vỏ và rễ cây *Olax viridis* dùng để chữa loét, điều trị các bệnh da liễu và nhiễm trùng nấm ngoài da (Mitchel W và cộng sự, 1960). Ngoài ra, cây *Olax subscorpioidea* dùng để điều trị bệnh đái tháo đường và các bệnh nhiễm trùng (Ayandele & Adebiyi, 2007).

Trong nhân gian, cây dương đầu *Olax imbricata* được biết đến là loại thảo dược có khả năng kháng oxy hoá, chống viêm, chống nhiễm trùng, kháng khuẩn, và hỗ trợ phòng chống

một số bệnh liên quan đến phụ khoa cũng như chữa bệnh đái tháo đường. Theo kinh nghiệm của người đồng bào Pako-Vân Kiều thì loài cây này còn có tác dụng chống ung thư, chữa trị khối u ở ngực và chữa đau dạ dày (Panyaphu và cộng sự, 2012).

2.1.2. Thành phần hóa học

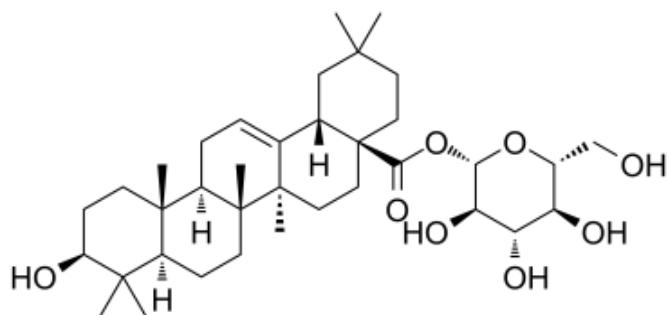
Theo nghiên cứu Panyaphu và cộng sự (2012), đã chỉ ra các hợp chất từ cây Dương đầu *Olax imbricata* gồm flavonoid, các hợp chất polyphenolic, glycoside, tannin, saponin, alkaloid. Một nghiên cứu gần đây, đã cô lập được 13 hợp chất mới, lần đầu tiên được tìm thấy từ cây Dương đầu, gồm những hợp chất dẫn xuất 1,2,3,4-tetrahydronaphthalene, hợp chất tropolone và nhóm hợp chất béo chứa liên kết ba (Bảng 2.1). Trong đó, nhóm hợp chất béo có liên kết ba (OLAX5, OLAX4 và OLAX2) được cô lập từ cao ethyl acetate. Nhóm hợp chất phenolic (OI16 và OI18), nhóm dẫn xuất 1,2,3,4-tetrahydronaphthalene (OI1, MH7 và MH8), nhóm triterpenoid glycoside (OI3, OI15 và OI7) và nhóm hợp chất tropolone (MH1) là những hợp chất được cô lập từ cao methanol, xem ở Hình 2.3 (Nga Vo Thi và cộng sự, 2018). Hợp chất OI3 là một oleanolic 28-ester glucoside cô lập từ cao ethyl acetate của rễ cây *Olax imbricata*, thể hiện hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase mạnh với giá trị IC₅₀ = 34.75 μ g/mL (56.15 μ M). Hai hợp chất OLAX2 và OLAX5 thu được từ cao ethyl acetate của cây *Olax imbricata* thuộc dạng acetylenic acid là acid béo mạch dài mang các nối ba trong phân tử, có khả năng ức chế enzyme α -glucosidase với giá trị IC₅₀ lần lượt là 3.15 μ g/mL (10.10 μ M), 29.64 μ g/mL (92.63 μ M) được đánh giá là cao hơn so với acarbose là loại thuốc chữa đái tháo đường đang được dùng phổ biến hiện nay (Nga Vo Thi và cộng sự, 2019). Cấu trúc của hợp chất OI3, OLAX2 và OLAX5 được trình bày ở Hình 2.4.



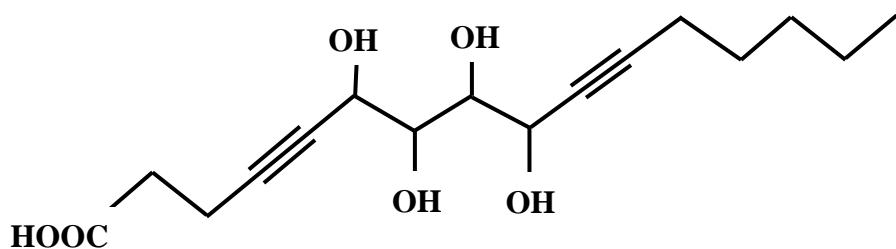
Hình 2.3. Quy trình điều chế và cô lập các hợp chất tinh khiết từ rễ cây dương đầu *olax imbricata*
(Nga Vo Thi và cộng sự, 2019)

Bảng 2. 1. Tên gọi của 13 hợp chất mới được phân lập từ rễ cây Dương đầu (Nga Vo Thi và cộng sự, 2019)

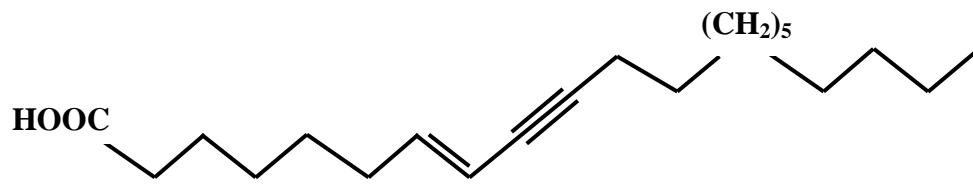
Kí hiệu	Tên hoá học	Tên gọi khác
OI16	1-(3,4-dihydroxyphenyl)-8-(3-hydroxy-4- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl henyl)octan-5-ol-4-one	imbricatagenin D
OI18	(4E)-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-4-(3-hydroxy-4- <i>O</i> -β-D-glucopyra nosylphenyl)hept-4-en-6-ol-3-one	imbricatagenin E
OI15	3- <i>O</i> -α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-6' - <i>O</i> -ethyl-β-D-glucuronyl oleanolic acid	
OI7	3- <i>O</i> -α-L-rhamnopyranosyl-(1→3)-β-D-xylopyranosylhopane-12 β,16β-diol-22-one	spergulacin
OI3	28- <i>O</i> - β-D-glucopyranosyl oleanolate	
OI1	(2R)-6-hydroxy-2-(1-hydroxy-1-methyl)ethyl-8-methyl-1,2,3,4-t etrahydronaphthalene	olaximbriside B
MH1	(2R)-6-hydroxy-2-(1-hydroxy-1-methyl)ethyl-9-methylbicyclo[5. 4.0]undeca- 5,8,10(11)-triene-7-one	olaximbriside A
MH7	(2R,11S)-(1,2-dihydroxy-1-methyl)ethyl-8-methyl-5- <i>O</i> -β-D-gluc opyranosyl-1,2,3,4-tetrahydro- naphthalene	olaximbriside C
MH8	(2R,11R)-(1,2-dihydroxy-1-methyl)ethyl-8-methyl-5- <i>O</i> -β-D-gluc opyranosyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	olaximbriside D
OLAX2	7,8,9,10-tetrahydroxyhexadeca-4,10-diynoic acid	
OLAX4	(<i>E</i>)-henicos-7-en-9-ynoylglycerol acid	
OLAX5	(<i>E</i>)-henicos-7-en-9-yneic acid	



OI3: 28-*O*- β -D-glucopyranosyl oleanolate



OLAX2: 7,8,9,10-tetrahydroxyhexadeca-4,10-diynoic acid



OLAX5: (E)-henicos-7-en-9-ynoic acid

Hình 2. 4. Cấu trúc hoá học của các hợp chất có hoạt tính ức chế enzym α - glucosidase mạnh từ rễ cây dương đầu ([Nga Vo Thi và cộng sự, 2019](#))

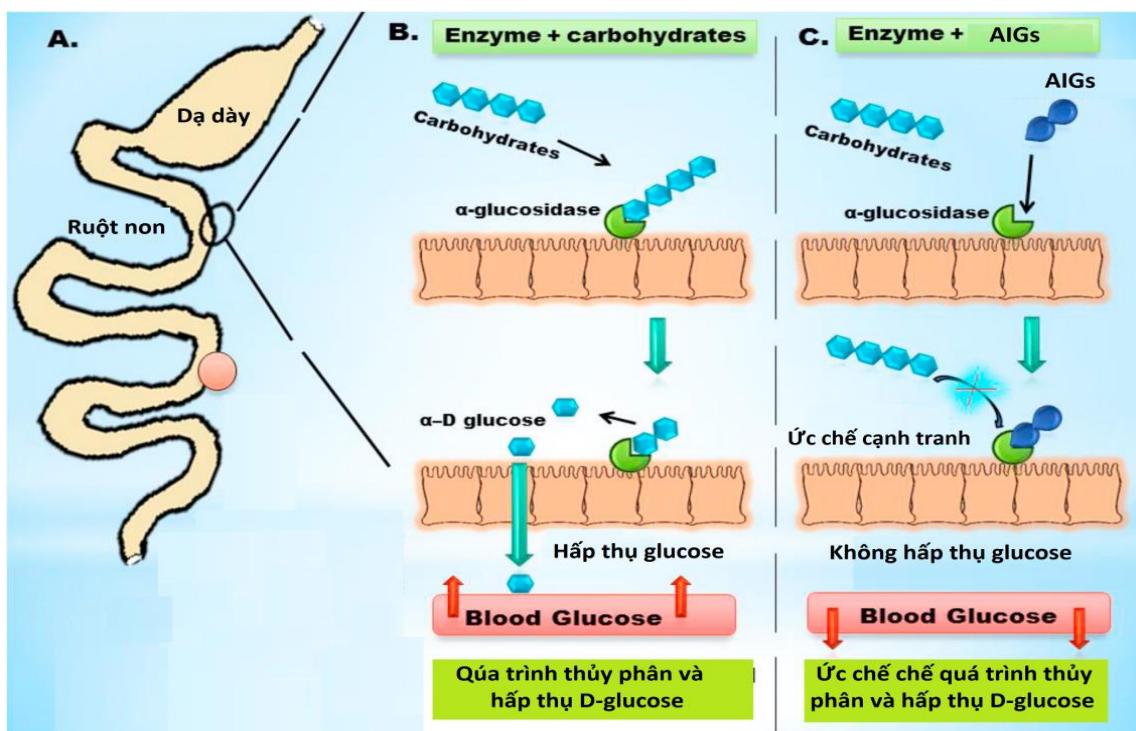
2.1.3. Khả năng ức chế ức chế enzyme α -glucosidase

2.1.3.1. Cơ chế ức chế enzyme α -glucosidase (AGIs)

Tăng đường huyết sau ăn là một đặc điểm chính của bệnh đái tháo đường loại 2, có thể được kiểm soát bằng cách làm chậm quá trình hấp thu carbohydrate bằng cách ức chế các enzyme thủy phân carbohydrate ([Rengasamy và cộng sự, 2013](#)). Trong đó, α -glucosidase là enzyme quan trọng xúc tác bước cuối cùng trong quá trình tiêu hóa carbohydrate. Enzyme này có mặt tại niêm mạc ruột non góp phần phân giải oligosaccharides, trisaccharides và disaccharides thành D-glucose bằng cách thủy phân liên kết α -1,4 glycosidic ([Ding và cộng](#)

sự, 2018). Do đó, khi sử dụng các chất AGIs có thể làm chậm quá trình giải phóng D-glucose từ carbohydrate trong thức ăn và làm chậm sự hấp thu glucose vào máu, dẫn đến giảm nồng độ glucose huyết tương sau ăn (Kumar và cộng sự, 2011). Cơ chế hoạt động này đóng một vai trò quan trọng trong việc kiểm soát tăng đường huyết sau ăn, là một trong những phương pháp điều trị hiện đại hướng tới ổn định mức đường huyết ở bệnh nhân T2D.

Rễ cây Dương đầu gồm các hợp chất: OLAX2 và OLAX5, OI3 có khả năng kháng α -glucosidase. Các hợp chất AGIs có cấu trúc giống với disaccharides hoặc oligosaccharides và có thể liên kết với trung tâm hoạt động của enzyme α -glucosidase, tạo thành phức hợp có ái lực mạnh hơn so với phức hợp carbohydrate- α -glucosidase (Hình 2.5). Dẫn đến sự ức chế cạnh tranh hoạt động và làm giảm quá trình thủy phân carbohydrate, giảm hấp thu glucose vào trong cơ thể (Hossain và cộng sự, 2020).

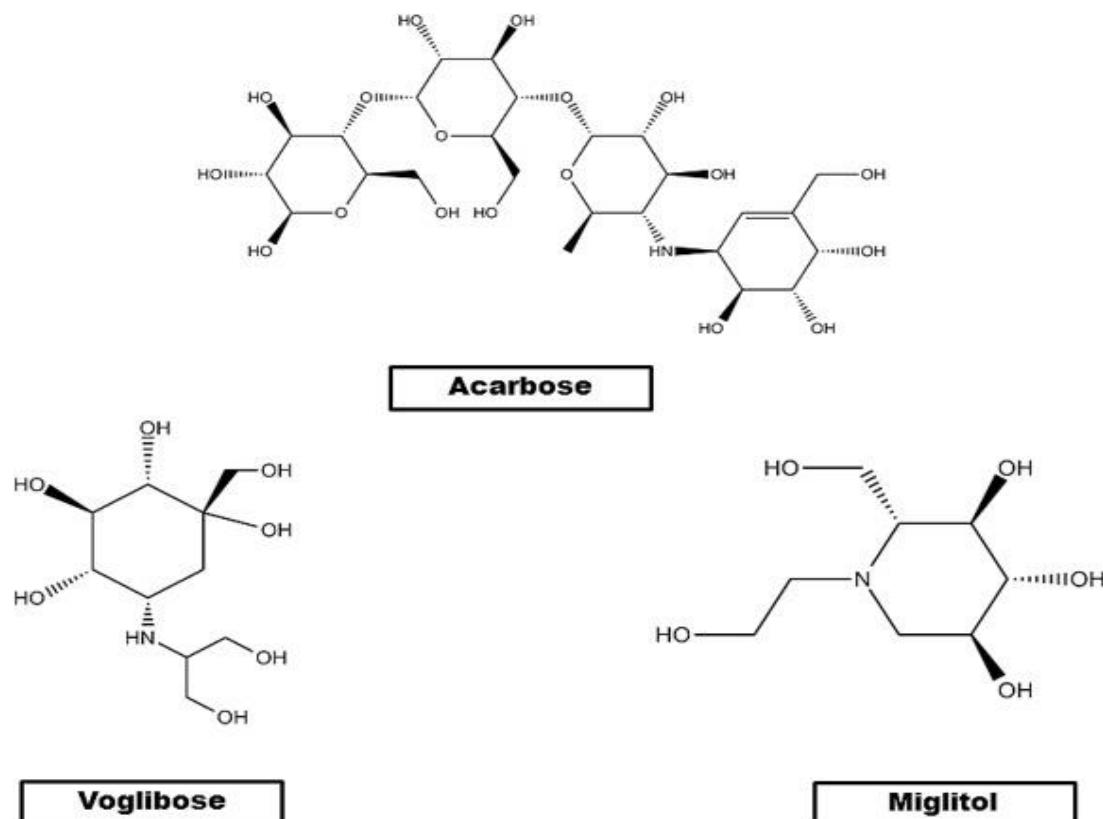


Hình 2.5. Cơ chế ức chế enzyme α -glucosidase (Hossain và cộng sự, 2020).

2.1.3.2. Một số chế phẩm ức chế enzyme α -glucosidase trên thị trường hiện nay.

Các AGIs đặc trưng nhất là acarbose, miglitol và voglibose (Hình 2.6). Acarbose lần đầu tiên thu được từ các loại xạ khuẩn khác nhau, là một tetrasaccharide giả có chứa nitơ

(Wehmeier & Piepersberg, 2004). Đây là loại thuốc đầu tiên trong danh mục chất ức chế α -glucosidase được Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm (FDA) phê duyệt với tên thương mại “Precose” tại Hoa Kỳ. Acarbose hoạt động cục bộ trên các tế bào niêm mạc ruột non (Pyner và cộng sự, 2017), trì hoãn việc giải phóng glucose từ polysaccharide bằng cách liên kết cạnh tranh với α -glucosidase và giảm mức đường huyết sau ăn (Ketema & Kibret, 2015). Voglibose, là dẫn xuất của valiolamine giúp cản trở sự hấp thu và chuyển hóa polysaccharid bằng cách ức chế thuận nghịch các enzyme tiêu hóa carbohydrate. Vì voglibose không ức chế α -amylase và lactase của tuyến tụy, nên voglibose có tính chọn lọc hơn acarbose (Baron, 1998). Miglitol là dẫn xuất của nojirimycin, chất ức chế α -glucosidase già monosaccharide đầu tiên, được FDA chấp thuận vào năm 1996. Miglitol gần như được hấp thu hoàn toàn ở ruột non và làm giảm lượng đường sau ăn (Yee và cộng sự, 1996).



Hình 2. 6. Cấu tạo của các chế phẩm ức chế enzyme α -glucosidase

2.2. Một số phương pháp trích ly

Trích ly là bước đầu tiên để tách các hợp chất tự nhiên ra khỏi nguyên liệu thô (Oroian & Escriche, 2015), bao gồm các phương pháp trích ly bằng dung môi, ép, chưng cất và thăng hoa (McDonnell & Tiwari, 2017). Trích ly bằng dung môi là phương pháp được sử dụng rộng rãi hiện nay. Trích ly bằng dung môi là phương pháp truyền thống, năng suất trích ly của các hợp chất có hoạt tính sinh học phụ thuộc vào điều kiện trích và độ phân cực của dung môi (Delfanian và cộng sự, 2015).

Phương pháp này sử dụng dung môi để chiết/tách một thành phần mong muốn ra khỏi nguyên liệu rắn. Động lực của quá trình này là sự chênh lệch nồng độ của thành phần giữa hai pha (Oroian & Escriche, 2015). Quá trình trích ly các hợp chất tự nhiên trải qua các giai đoạn sau:

- (i) Dung môi thâm nhập vào hỗn hợp chất rắn;
- (ii) Chất tan hoà tan trong dung môi;
- (iii) Chất tan được khuếch tán ra khỏi chất rắn;
- (iv) Các chất hoà tan được thu nhận.

Việc lựa chọn dung môi là rất quan trọng, tính chọn lọc, chi phí, độ hoà tan và độ an toàn cần phải được xem xét khi lựa chọn dung môi. Các dung môi có độ phân cực gần với độ phân cực của chất tan thì có khả năng hoạt động tốt hơn và ngược lại (Zhang và cộng sự, 2018). Về nguyên tắc, một dung môi lý tưởng cần có các đặc tính sau: tính chọn lọc cao, có thể hoà tan chất tan cao, hoà tan thành phần cụ thể ở mức độ lớn trong khi công suất tối thiểu cho các thành phần phụ khác, ổn định về mặt hoá học, có thể tái sử dụng và có độ nhót thấp để bơm dễ dàng (Oroian & Escriche, 2015).

Ethanol là một trong những dung môi được sử dụng nhiều để trích ly các chất chống oxy hoá, bởi ethanol có giá rẻ, có thể tái sử dụng, không độc hại và các chất được trích ly bằng ethanol có thể được sử dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm (Oroian & Escriche, 2015). Rượu methanol và ethanol là các dung môi phổ biến được dùng trong trích ly bằng dung môi (Zhang và cộng sự, 2018). Theo một nghiên cứu khác, việc sử dụng các dung môi như ethanol, acetone và metanol giúp tăng khả năng hoà tan và có thể làm tăng hiệu quả trích ly các hợp chất phân cực (Delfanian và cộng sự, 2015).

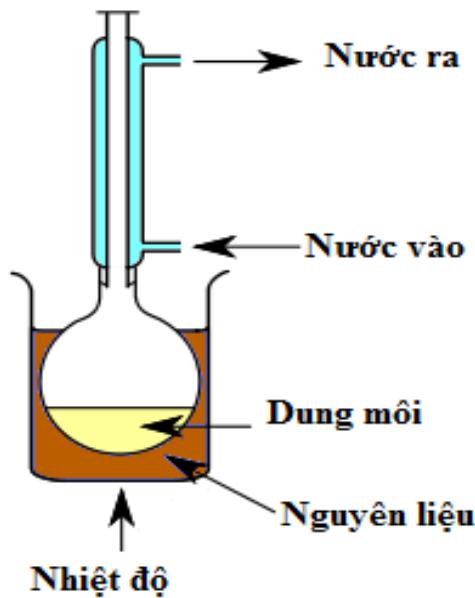
Độ phân cực là một trong những thông số quan trọng trong việc lựa chọn dung môi. Việc sử dụng ethanol bổ sung thêm nước thường được thực hiện và cho năng suất trích ly tốt hơn sử dụng nước hoặc ethanol nguyên chất. Vì nước là một hợp chất có độ phân cực cao, ethanol là hợp chất có độ phân cực thấp. Vậy nên khi sử dụng hỗn hợp ethanol/nước sẽ trích ly được các hợp chất ít phân cực và phân cực tốt (Zhang và cộng sự, 2007). Trong nguyên liệu thực vật có chứa nhiều thành phần khác nhau với các tương tác phức tạp. Các hợp chất phân cực nằm phía bên ngoài thì sẽ ngăn cản quá trình trích ly các hợp chất ít phân cực ở bên trong và ngược lại. Do đó, khi sử dụng hệ dung môi thì các hợp chất phân cực sẽ được lôi cuốn ra bên ngoài, tạo điều kiện để dung môi ít phân cực hơn hoạt động (Markom và cộng sự, 2007). Từ đó nâng cao được hiệu suất thu hồi trong trích ly.

2.2.1. Phương pháp trích ly cổ điển

2.2.1.1. Phương pháp đun hồi lưu

Phương pháp đun hồi lưu có nhiều ưu điểm như: tiết kiệm dung môi, thiết bị đơn giản, chi phí đầu tư thiết bị thấp, hạn chế được sự ô nhiễm môi trường, thực hiện dễ dàng và có thể trích ly tối đa các hợp chất có trong nguyên liệu. Bên cạnh đó, vẫn còn tồn tại một vài nhược điểm như là: tốn thời gian phân riêng chất cần trích trong hỗn hợp thu được sau trích ly, dịch chiết luôn ở nhiệt độ sôi của dung môi nên các chất không bền dễ bị phân huỷ (Rydberg và cộng sự, 2004). Từ những ưu điểm nói trên, cho nên chúng tôi quyết định sử dụng phương pháp đun hồi lưu để thực hiện cho bài nghiên cứu.

Hệ thống trích ly đun hồi lưu được mô tả trong [Hình 2.7](#), phương pháp này sử dụng dung môi để lấy các chất tan ra khỏi mô thực vật dưới tác dụng nhiệt. Dung môi và các chất dễ bay hơi sẽ được chuyển trở lại môi trường phản ứng thông qua hệ thống ngưng tụ. Bột nguyên liệu và dung môi được chứa trong bình cầu có gắn ống sinh hàn. Đun hoàn lưu trên bếp ở nhiệt độ sôi của dung môi. Sau một thời gian, dung dịch chiết được lấy ra, châm thêm dung môi và chiết thêm 3-4 lần nữa cho đến kiệt. Sản phẩm thu được sau quá trình chiết là dung dịch của các chất hòa tan trong dung môi, dung dịch này được gọi là dịch chiết (Rydberg và cộng sự, 2004).



Hình 2. 7. Mô phỏng thiết bị đun hồi lưu

2.2.1.2. Phương pháp trích Soxhlet

Trích ly bằng phương pháp Soxhlet là kiểu trích liên tục được thực hiện nhờ cấu tạo đặc biệt của bộ dụng cụ chiết. Bản chất của phương pháp này tuân theo định luật phân bố chất, trong hai pha không trộn lẫn vào nhau. Trong đó, pha rắn bên trong mẫu sẽ được hoà tan bởi pha lỏng của dung môi ([Kislik, 2012](#)). Hệ thống thiết bị gồm 3 bộ phận tháo ráp dễ dàng: một bình cầu được đặt trong bếp đun, một bộ phận chứa mẫu và ống ngưng tụ. Khi thực hiện, để biết quá trình chiết cạn kiệt hay chưa thì chỉ cần tháo phần ống ngưng hơi, dùng pipet hút lấy vài giọt dung dịch trong bình chứa mẫu nhỏ lên mặt kính hoặc giấy lọc, đuối hết dung môi và kiểm tra vết. Nếu còn xuất hiện vết thì phải chiết thêm, nếu không còn thấy vết thì đã chiết kiệt ([Siddiqui và cộng sự, 2016](#)).

Phương pháp trích này có ưu điểm là chỉ sử dụng một lượng ít dung môi mà vẫn có thể trích kiệt được hoạt chất. Quá trình trích ly tự động, liên tục và nhanh chóng. Tuy nhiên, nhược điểm của phương pháp này là không trích được một lượng lớn mẫu, chỉ thích hợp cho nghiên cứu trong phòng thí nghiệm. Một nhược điểm lớn khác là trong suốt quá trình trích, mẫu nguyên liệu luôn có nhiệt độ bằng nhiệt độ sôi của dung môi nên những hợp chất kém bền nhiệt dễ bị thuỷ phân, phân giải ([Rydberg và cộng sự, 2004](#)).

2.2.1.3. Phương pháp ngâm đầm (Maceration)

Đây là phương pháp trích ly đơn giản, không đòi hỏi thiết bị phức tạp và dễ dàng thao tác với một lượng lớn nguyên liệu thực vật. Có thể gia tăng hiệu suất trích ly bằng cách thỉnh thoảng đảo trộn, xôc đều nguyên liệu thực vật hoặc có thể sử dụng máy lắc để đầm bão đồng nhất. Cho nên phương pháp này thường được sử dụng rộng rãi (Pavia và cộng sự, 2012). Nhược điểm của phương pháp này là làm mất nhiều thời gian, có thể kéo dài từ vài giờ đến vài tuần (Takahashi và cộng sự, 2001). Toàn bộ quá trình có thể làm tiêu tốn một lượng lớn dung môi, dễ gây thất thoát các hợp chất có trong nguyên liệu. Ngoài ra, một số hợp chất không trích ly hiệu quả nếu chúng kém hoà tan ở nhiệt độ phòng (Pavia và cộng sự, 2012).

Tiến hành cho mẫu vào bình chứa bằng thuỷ tinh hoặc bằng thép không gỉ có nắp đậy để ngâm. Tránh sử dụng bình chứa bằng nhựa vì dung môi hữu cơ có thể hoà tan các hợp chất có trong nhựa, gây ra sự nhầm lẫn khi phân tích các hợp chất trong mẫu. Sau khi trích ly, nguyên liệu thực vật còn sót lại sẽ được tách ra khỏi dung môi bằng cách lọc hoặc ly tâm nếu bột quá mịn (Pavia và cộng sự, 2012).

2.2.1.4. Phương pháp trích ngấm kiệt (Percolation)

Trích ngấm kiệt là một phương pháp được sử dụng phổ biến vì không đòi hỏi thiết bị phức tạp, tốn kém. Trong phương pháp này, dung môi được dịch chuyển qua khói nguyên liệu theo một chiều xác định với tốc độ nhất định. Trong quá trình dịch chuyển, các chất tan trong nguyên liệu sẽ tan vào trong dung môi và nồng độ dung dịch tăng dần cho tới khi bão hoà. Trích ngấm kiệt là quá trình chiết ngược dòng với nồng độ dịch chiết, tăng dần từ đầu tới cuối của khói nguyên liệu. Dung môi mới cho vào sẽ tiếp xúc với phần nguyên liệu có hoạt chất thấp nhất. Do vậy quá trình chiết được thực hiện hoàn toàn hơn. Dụng cụ cần thiết gồm một bình ngấm kiệt bằng thuỷ tinh, hình trụ đứng, dưới đáy bình có một van xả để điều chỉnh vận tốc của dung dịch chảy ra. Phía dưới đặt một bình để hứng dịch chiết và phía trên là bình chứa dung môi tinh khiết (Kislik, 2012).

2.2.2. Phương pháp trích ly hiện đại

2.2.2.1. Phương pháp trích lỏng siêu tới hạn

Ưu điểm của phương pháp này là: sự hồi lưu ngược của chất lỏng siêu tới hạn trong mẫu giúp việc tách chiết đạt hiệu quả cao; tính chọn lọc của trạng thái siêu tới hạn cao hơn dung môi thông thường; việc phân tích các hợp chất tan ra khỏi dung môi có thể thực hiện dễ dàng thông qua hạ áp suất của chất lỏng siêu tới hạn; tiêu thụ ít dung môi và thân thiện với môi trường. Bên cạnh đó, vẫn tồn tại những nhược điểm như: chi phí đầu tư thiết bị đắt tiền; yêu cầu áp suất hoạt động cao để tạo ra trạng thái tới hạn cho nên tốn kém đầu tư cho thiết bị, an toàn khi sử dụng và sử dụng thiết bị ([Mukhopadhyay, 2000](#)).

Hệ thống chiết siêu tới hạn lỏng bao gồm các chi tiết sau: một máy bơm để nén khí; một bình chứa pha động, thường là CO₂; một lò chứa nhiều cột chiết; một thiết bị để duy trì áp suất cao trong hệ thống và bình bẫy. Phương pháp này sử dụng dạng dung môi đặc biệt là dung môi ở dạng siêu tới hạn. Trạng thái siêu tới hạn là một trạng thái đặc biệt khi một chất đạt tới nhiệt độ và áp suất vượt ngoài ngưỡng tới hạn của nó. Trong trạng thái siêu tới hạn thì các đặc tính riêng của khí và lỏng biến mất, nghĩa là hợp chất đó không thể hoá lỏng bằng cách điều chỉnh áp suất hay nhiệt độ. Trạng thái tới hạn lỏng sở hữu những đặc tính của khí như: độ khuếch tán, sức căng bề mặt, độ nhớt và khả năng hòa tan tốt ([Mukhopadhyay, 2000](#)).

2.2.2.2. Phương pháp trích ly hő trợ vi sóng

Ưu điểm của phương pháp trích ly có hő trợ vi sóng là hiệu suất trích ly cao hơn các phương pháp khác, sản phẩm trích ly có chất lượng tốt, tiết kiệm dung môi, tiết kiệm thời gian. Tuy nhiên, phương pháp này có một số nhược điểm là chỉ áp dụng cho quy mô nghiên cứu nhỏ, dễ gây cháy nổ do nhiệt độ sôi của dung môi đạt rất nhanh ([Camel, 2001](#)).

Cơ chế của phương pháp này là dựa vào tính chất của vi sóng, khi vi sóng chạm đến vật liệu thì phần lớn được vật liệu hấp thu. Nguồn năng lượng này chuyển hóa thành nhiệt lượng và giảm dần khi nó truyền đi bên trong vật liệu. Sức nóng làm cho tế bào bị mất nước thông qua sự bốc hơi, hơi nóng sẽ làm trương nở và phá vỡ tế bào, dung môi khuếch tán vào mẫu và cuối cùng hợp chất cần trích ly sẽ thoát ra ngoài ([Camel, 2001](#)).

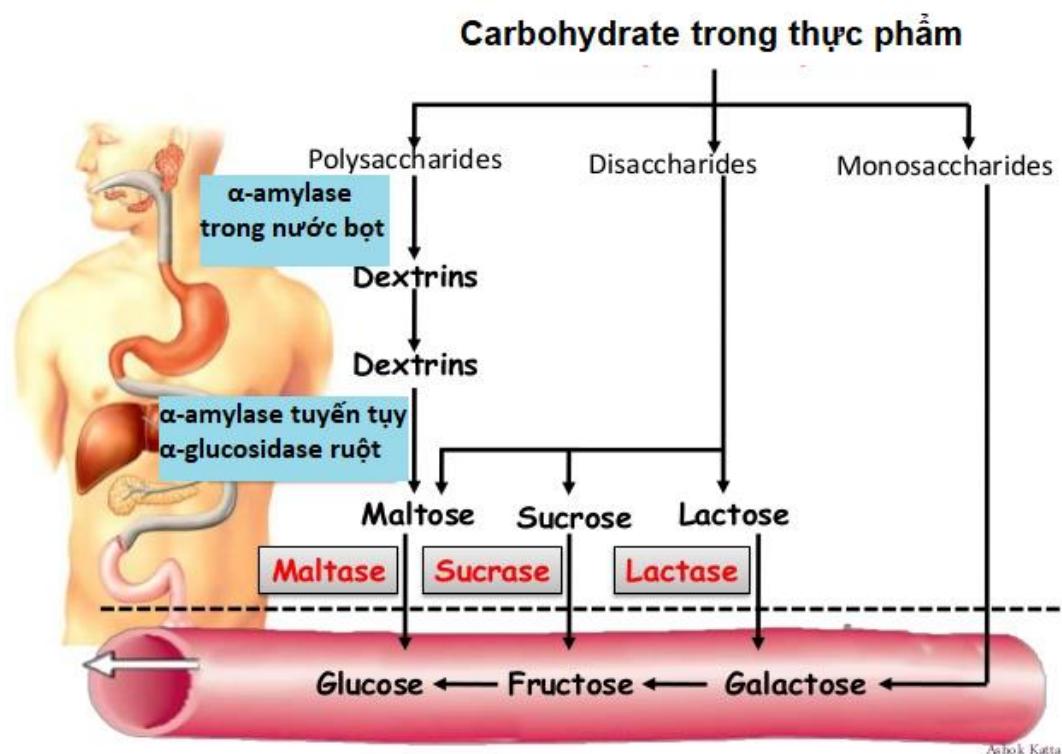
2.3. Chuyển hóa chất dinh dưỡng trong cơ thể

2.3.1. Chuyển hóa carbohydrate

Carbohydrate được biết đến là nguồn cung cấp năng lượng chính cho cơ thể con người. Phần lớn carbohydrate được đưa vào cơ thể là tinh bột, đường sucrose và lactose. Quá trình chuyển hóa của carbohydrate bắt đầu tại khoang miệng. Tại đây, enzyme α -amylase trong nước bọt thủy phân liên kết α ,1-4 glucosidic của tinh bột tạo thành dextrin. Còn sucrose, lactose thì không xuất hiện biến đổi (Holmes, 1971). Hỗn hợp gồm các thành phần sucrose, lactose và dextrin sẽ di chuyển xuống dạ dày. Enzyme α -amylase sẽ bị bất hoạt bởi pH thấp của của dạ dày. Sau đó, hỗn hợp thức ăn đi xuống dạ dày. Tại ruột non, tuyến tụy sẽ tiết ra α -amylase và HCO_3^- . Trong đó, α -amylase do tuyến tụy tiết ra sẽ thủy phân các dextrin thành disaccharide, trisaccharide và oligosaccharide. Gốc HCO_3^- sẽ trung hòa pH acid của dạ dày, nâng lên pH tối ưu cho hoạt động của các enzyme hoạt động (Gray, 1970). Sau đó, hỗn hợp này gắn trên bề mặt ngoài của tế bào biểu mô ruột và được thủy phân bởi các enzyme thành monosaccharide (Hình 2.8). Trong hỗn hợp các enzyme này chứa một loại enzyme quan trọng đó là α -glucosidase. Nó có nhiệm vụ chính là xúc tác quá trình tiêu hóa carbohydrate, góp phần phân giải oligosaccharides, trisaccharides và disaccharides thành D-glucose bằng cách thủy phân liên kết α -1,4 glucosidic góp phần tạo các monosaccharide cho cơ thể (Ding và cộng sự, 2018). Sau đó, các monosaccharide được tạo thành bởi quá trình trên sẽ được vận chuyển chủ động vào các tế bào biểu mô và truyền vào máu để mang đến các mô khác. Ở trạng thái đói, monosaccharide sẽ đi vào quá trình đường phân, chu trình acid citric và con đường pentose phosphate để tạo ra năng lượng cung cấp cho cơ thể. Ở trạng thái bình thường, cơ xương và tế bào gan dự trữ monosaccharide dưới dạng glycogen. Ở trạng thái dư thừa, lượng glucose dư được chuyển hóa thành triglyceride và được lưu trữ dưới dạng các giọt lipid của tế bào mỡ (Dashty, 2013).

Carbohydrate được biết đến là một trong những thành phần cung cấp nguồn năng lượng chính cho cơ thể. Khi carbohydrate chuyển hóa sẽ tạo ra glucose để vận chuyển vào máu dẫn đến tăng nồng độ glucose trong máu (Shihabudeen và cộng sự, 2011). Nếu sử dụng khẩu phần ăn giàu carbohydrate, kết hợp với tình trạng tuyến tụy tạo ra không đủ insulin hoặc độ nhạy của thụ thể insulin giảm là các nguyên nhân gây bệnh đái tháo đường loại 2 ở người. Căn bệnh

này thường được đánh giá dựa vào chỉ số đường huyết. Đây là một trong những chỉ số quan trọng biểu thị nồng độ glucose trong máu của con người và động vật nhằm đánh giá bệnh đái tháo đường ở người. Khi lượng đường huyết trong máu cao làm tăng nguy cơ mắc bệnh (Ruderman và cộng sự, 1992). Theo báo cáo của WHO (2006), mức đường huyết khi đói của người $\geq 7,0$ mmol/l (126 mg/dL) và mức đường huyết sau khi dung nạp glucose (2h) $\geq 11,1$ mmol/l (200 mg/dL) là dấu hiệu nhận biết người bị đái tháo đường. Còn ở động vật thí nghiệm (chuột nhắt) thì mức đường huyết sau ăn đánh dấu mắc bệnh đái tháo đường là 240 mg/dL (Surwit và cộng sự, 1988).



Hình 2. 8. Quá trình chuyển hóa carbohydrate (Ashok Katta, 2014)

2.3.2. Chuyển hóa lipid

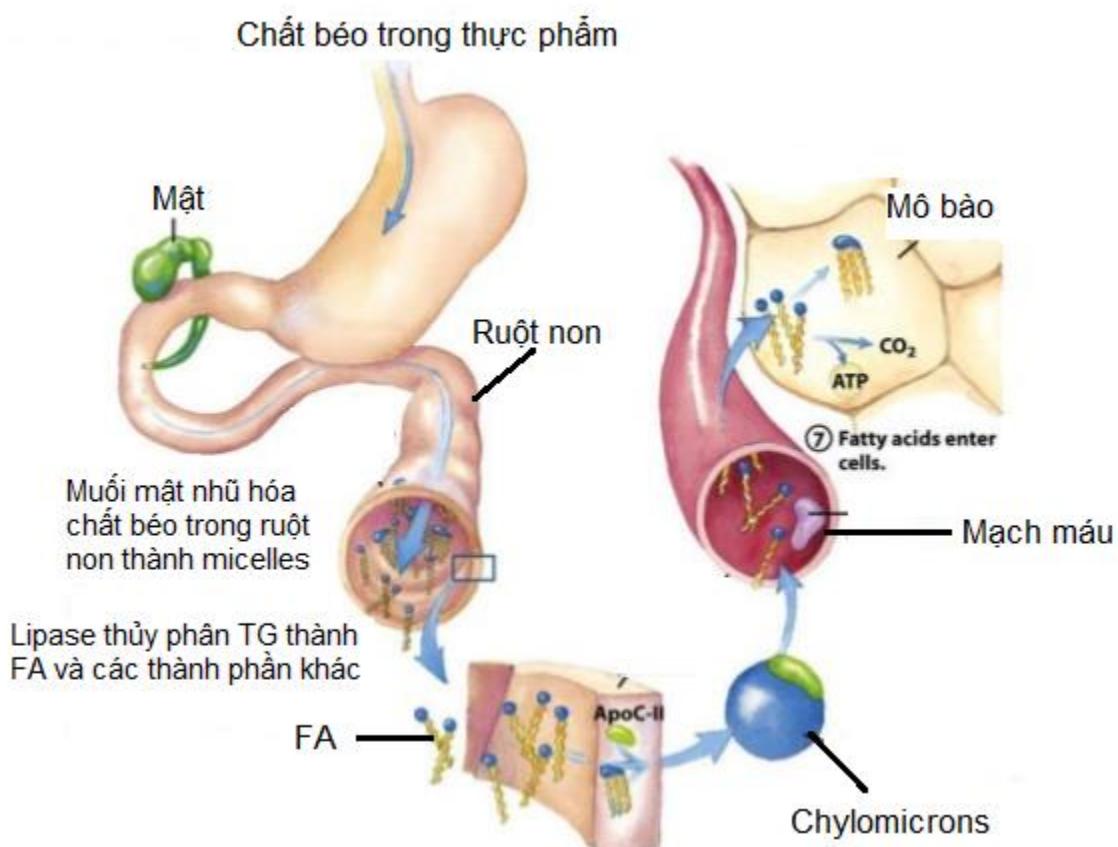
Phần lớn lipid được cơ thể thu nhận từ thực phẩm là triacylglycerol (chất béo trung tính). Quá trình chuyển hóa lipid bắt đầu tại khoang miệng bằng cách thủy phân triacylglycerol bởi enzyme lipase để tạo thành 1,2-diacylglycerol và các acid béo tự do (quá trình này xảy ra chủ yếu ở trẻ sơ sinh). Sau đó, hỗn hợp các chất này chuyển xuống dạ dày. Nhờ có pH thấp và sự

co bóp của dạ dày mà lipid được phân tán thành dạng nhũ tương thô (Gargouri và cộng sự, 1989). Tại ruột non, muối mêt nhũ hóa chất béo trong ruột non tạo thành các dạng micelles (Brindley, 1984). Enzyme lipase từ ruột tiết ra sẽ tấn công vào liên kết sn-1 và sn-3 của triacylglycerol hình thành 2-monoacylglycerol và các acid béo tự do. Các acid béo và các thành phần khác sẽ được hấp thụ vào tế bào biểu mô ruột. Trong tế bào biểu mô ruột non, các thành phần này sẽ chuyển hóa để tạo thành triacylglycerol một lần nữa. Triacylglycerol kết hợp với cholesterol tự do, phospholipid và apoprotein để tạo thành hạt chylomicrons. Chylomicrons thông qua hệ bạch huyết và máu di chuyển đến các mô bào (Mahmood và cộng sự, 1996). Sau đó, các lipoprotein (chylomicrons và lipoprotein mật độ thấp) sẽ được kích hoạt bởi apoC - II để chuyển hóa thành acid béo và monoacylglycerol. Các acid béo khuếch tán vào tế bào (Drackley, 2000). Các thành phần còn lại sẽ được thủy phân để làm nhỏ kích thước và được thải ra bên ngoài bởi gan. Tại các tế bào, các acid béo sẽ được oxy hóa để cung cấp năng lượng hoặc chuyển hóa để trở lại thành các giọt béo tồn tại trong tế bào. Tại các tế bào, các acid béo sẽ được oxy hóa để cung cấp năng lượng, chuyển hóa thành các chất có hoạt tính sinh học hoặc tái tổng hợp thành triacylglycerol để dự trữ năng lượng (Lichtenstein, 2012).

Triglyceride (triacylglycerol) hay còn được gọi là chất béo trung tính được hình thành bằng cách kết hợp glycerol với ba phân tử của acid béo. Triglyceride là một trong những thành phần quan trọng được vận chuyển vào máu bởi chylomicrons. Nếu hàm lượng chất béo trong khẩu phần ăn lớn thì dẫn đến lượng triglyceride trong máu cao và có thể bám vào thành mạch máu. Nếu nồng độ triglyceride trong máu cao kết hợp với nồng độ HDL thấp và LDL cao là một trong những nguyên nhân gây xơ vữa động mạch. Ở người bình thường lượng triglycerides < 150 mg/dL (Song và cộng sự, 2012).

Cholesterol là một chất béo có trong cơ thể người và các loài động vật. Nó được tổng hợp từ các acid béo (tại gan) và vận chuyển vào máu thông qua LDL. Ngoài ra, cholesterol trong thức ăn cũng được vận chuyển vào máu thông qua chylomicrons (Kapourchali và cộng sự, 2015). Vai trò của hợp chất này là tổng hợp lipoprotein, acid mêt, vitamin D và hormone (Von Eckardstein và cộng sự, 2001). Cholesterol không thể tự vận chuyển trong hệ tuần hoàn nên sẽ kết hợp với các hợp chất khác để tạo thành các hạt lipoprotein và thông qua hạt này để di chuyển đến những vị trí trong cơ thể (Kapourchali và cộng sự, 2015). Cholesterol được chia làm 2 loại chính LDL (cholesterol tỉ trọng thấp) và HDL (cholesterol tỉ trọng cao). HDL là

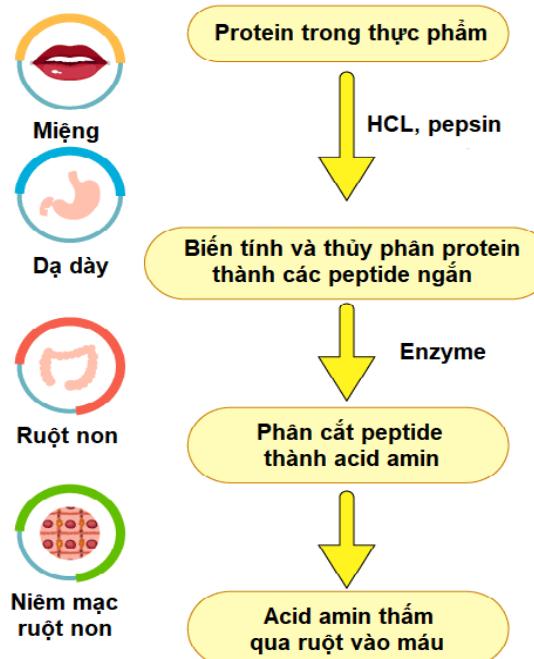
“cholesterol tốt” có khả năng vận chuyển cholesterol từ máu quay trở lại gan để thực hiện quá trình di chuyển. Do đó, HDL làm giảm nguy cơ mắc các bệnh về tim mạch (Von Eckardstein và cộng sự, 2001). LDL là “cholesterol xấu” có khả năng vận chuyển cholesterol từ gan đến máu làm cho động mạch máu trở nên hẹp dần. Do đó, LDL làm tăng nguy cơ mắc các bệnh về tim. Sự suy giảm chuyển hóa LDL và HDL gây tích tụ cholesterol trong thành động mạch, dẫn đến sự phát triển của xơ vữa động mạch. Các thông số về cholesterol và HDL, LDL, triglyceride cần nắm trong một khoảng nhất định. Ở người bình thường, cholesterol < 200 mg/dL, LDL cholesterol < 100 mg/dL, HDL cholesterol ≥ 60 mg/dL. (Ohkawa và cộng sự, 2020).



Hình 2.9. Quá trình chuyển hóa chất béo trong cơ thể (Jamkate và cộng sự, 2014)

2.3.3. Chuyển hóa protein

Khi đưa vào cơ thể, protein từ thực phẩm sẽ được chuyển hóa theo một chu trình cụ thể xem tại [Hình 2.10](#). Tại dạ dày, HCl sẽ làm biến tính protein và chuyển đổi pepsinogen (apoenzyme) thành pepsin dạng hoạt động. Pepsin sẽ thủy phân protein thành các peptide ngắn ([Chau Pham Thi Tran & Ang, 2008](#)). Hỗn hợp này sẽ được chuyển xuống ruột non. Tại ruột non, dịch từ tụy tiết ra sẽ trung hòa pH acid của dạ dày (nâng lên pH=7) và tiết ra các enzyme ở dạng chưa hoạt động (trypsinogen, chymotrypsinogen, proelastase & procarboxypeptidases). Các enzyme này chuyển đổi thành dạng hoạt động để phân cắt các peptide thành các acid amin ([Allison và cộng sự, 1991](#)). Sau đó, các acid amin sẽ thẩm qua màng ruột theo máu để đi đến gan. Tại gan, các acid amin được chuyển hóa tạo thành NH_4^+ và keto acid. Trong đó, NH_4^+ sẽ cung cấp nitơ cho quá trình sinh tổng hợp các hợp chất sinh học khác hoặc đào thải ra khỏi cơ thể dưới dạng urea. Keto acid sẽ tham gia vào chu trình Krebs để chuyển hóa thành các hợp chất mới và cung cấp năng lượng cho cơ thể ([Chau Pham Thi Tran & Ang, 2008](#)).



Hình 2. 10. Quá trình chuyển hóa protein trong cơ thể

2.4. Một số bệnh căn bệnh về dinh dưỡng thường gặp ở người

2.4.1. Bệnh đái tháo đường loại 2

Theo WHO (2016), đái tháo đường là một căn bệnh mãn tính xảy ra khi tuyến tụy không sản xuất đủ insulin (một loại hormone điều chỉnh lượng đường trong máu hoặc glucose) hoặc khi cơ thể không thể sử dụng hiệu quả insulin mà nó sản xuất. Rối loạn chuyển hóa này được tạo ra do cơ thể không duy trì được trạng thái cân bằng nội môi glucose dẫn đến tăng đường huyết trong máu. Đái tháo đường được chia làm 2 loại (Du và cộng sự, 2006). Đái tháo đường loại 1 gây ra do hệ thống miễn dịch của cơ thể phá hủy các tế bào tuyến tụy sản xuất insulin. Đái tháo đường loại 2 do tuyến tụy tạo ra không đủ insulin hoặc cơ thể không thể sử dụng đúng cách (tức là giảm độ nhạy của thụ thể insulin) (Triplitt CL và cộng sự, 2011). Trong đó, insulin là một hormone được sản xuất bởi các tế bào β -tuyến tụy với vai trò chính là vận chuyển đường vào trong tế bào để sản xuất năng lượng cho cơ thể. Khi hàm lượng insulin bài tiết ra không đủ cho nhu cầu sử dụng của cơ thể hoặc độ nhạy của các thụ thể insulin bị giảm thì có thể làm tăng lượng đường trong máu và ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe của con người (Ahren, 2005b).

Theo tổ chức WHO (2006), mức đường huyết khi đói của người $\geq 7,0$ mmol/l (126 mg/dL) và mức đường huyết sau khi dung nạp glucose (2h) $\geq 11,1$ mmol/l (200mg/dL) là dấu hiệu nhận biết người bị đái tháo đường. Bệnh đái tháo đường là một trong bốn bệnh không lây nhiễm và tỷ lệ mắc bệnh đang gia tăng nhanh chóng trong những năm gần đây. Trên toàn cầu, ước tính có khoảng 422 triệu người trưởng thành sống chung với bệnh đái tháo đường vào năm 2014. Con số này của Việt Nam năm 2015 là 4,1% ở những người trong độ tuổi 18-69. Để phát hiện căn bệnh này cần phải dựa vào chỉ số đường huyết (chỉ số biểu thị nồng độ glucose trong máu của con người và động vật).

Hiện nay, tỉ lệ người bị đái tháo đường loại 2 thường cao hơn loại 1 và chiếm từ 80 - 90% trên tổng số người mắc, thường xuất hiện ở những người trên 30 tuổi với thể trạng thừa cân béo phì. Hậu quả gây ra là làm tăng nguy cơ mắc các bệnh về tim mạch, thần kinh, võng mạc và làm suy giảm chất lượng cuộc sống. Bệnh có thể điều trị bằng thuốc hạ đường huyết dạng sử dụng như metformin, sulfonylureas, thiazolidinediones. Tuy nhiên cần kết hợp với

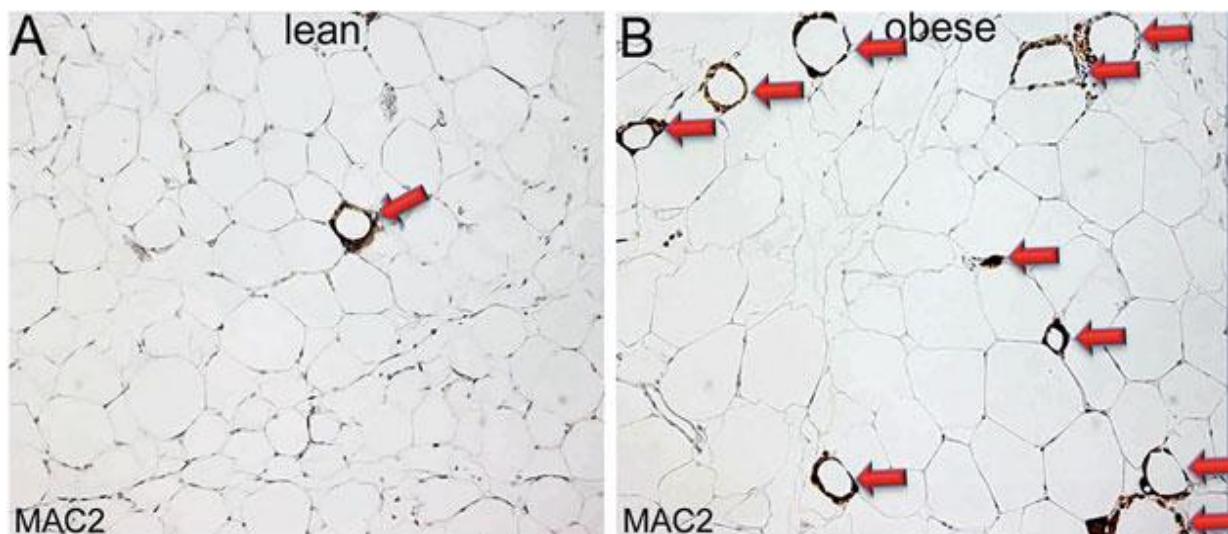
việc ăn sử dụng khoa học hạn chế lượng đường trong khẩu phần nhằm ngăn ngừa tình trạng tăng đường huyết một cách đột ngột (Du và cộng sự, 2006).

Các nguyên nhân gây ra bệnh đái tháo đường loại 2 bao gồm: yếu tố di truyền (dân tộc, tiền sử gia đình đã có người từng mắc bệnh) và rối loạn chuyển hóa trong thai kỳ, thừa cân béo phì, chế độ ăn sử dụng không lành mạnh, ít vận động và hút thuốc lá. Trong đó, nguyên nhân chủ yếu gây nên bệnh đái tháo đường loại 2 là do béo phì và ít hoạt động thể chất WHO (2016). Dấu hiệu của bệnh không rõ ràng nên thường phát hiện sau khi đã khởi phát một thời gian dài. Tại thời điểm chuẩn đoán đái tháo đường, khoảng 8% bệnh nhân bệnh liên quan đến thận, 25% bệnh nhân mắc bệnh liên quan đến võng mạc (Astrup & Finer, 2000). Đái tháo đường loại 2 là một trong những căn bệnh nghiêm trọng và phổ biến. Do đó việc nghiên cứu cơ chế và hướng điều trị đang được quan tâm. Hiện nay, bệnh đang được nghiên cứu trên mô hình nhiều loài động vật khác nhau bằng cách cho động vật ăn khẩu phần giàu béo, tiêm hóa chất hoặc kết hợp cả hai phương pháp trên (Astrup & Finer, 2000).

2.4.2. Bệnh thừa cân béo phì

Thừa cân, béo phì được định nghĩa là tình trạng tích tụ mỡ bất thường hoặc quá mức có thể làm suy giảm sức khỏe con người. BMI là chỉ số khái lượng cơ thể được sử dụng để phân loại thừa cân và béo phì ở người trưởng thành; được tính bằng cách lấy trọng lượng (kg) chia cho bình phương chiều cao của người đó (m). Ở người trưởng thành bệnh thừa cân xảy ra khi chỉ số BMI ≥ 25 ; và béo phì khi BMI ≥ 30 . Những người bình thường thì chỉ số này nằm trong khoảng 18,5 - 24,9 (WHO, 2020). Béo phì còn được biết đến là bệnh rối loạn chuyển hóa mãn tính do mất cân bằng giữa năng lượng nạp vào và năng lượng tiêu hao. Nguồn năng lượng dư thừa được chuyển hóa để dự trữ trong mô mỡ và những nơi khác trong cơ thể làm cho nồng độ lipid trong máu tăng cao. Số lượng và kích thước của tế bào mỡ sẽ tăng lên dẫn đến khói lượng cơ thể cũng tăng theo (Devlin và cộng sự, 2000). Tỷ lệ béo phì ngày càng phổ biến là nguyên nhân chính dẫn đến các căn bệnh khác như kháng insulin, tăng huyết áp và tăng lipid máu, ung thư, xơ vữa động mạch. (Saklayen, 2018). Nguyên nhân gây nên căn bệnh này là do chế độ ăn có thực phẩm giàu năng lượng, giàu chất béo và đường kết hợp với tình trạng lười vận động. Hiện nay, số lượng người mắc bệnh béo phì vẫn đang tăng không ngừng. Theo báo cáo của WHO (2016), trên thế giới có hơn 1,9 tỷ người lớn từ 18 tuổi trở lên bị thừa cân.

Trong số này hơn 650 triệu người lớn bị béo phì. Nhìn chung, khoảng 13% dân số trưởng thành trên thế giới bị béo phì vào năm 2016. Tỷ lệ béo phì trên toàn thế giới tăng gần gấp ba lần từ năm 1975 đến năm 2016 ([WHO, 2020](#)). Với những con số báo động như trên, nhiều nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra giải pháp điều trị căn bệnh này. Trong đó, thuốc Sibutramine (chất ức chế sự thèm ăn), Orlistat (chất ức chế hấp thu lipid đường tiêu hóa) đã được đưa vào sử dụng ([Padwal và cộng sự, 2007](#)). Tuy nhiên, chúng lại gây ra các tác dụng phụ không mong muốn như khô miệng, chán ăn, táo bón, mất ngủ, chóng mặt và buồn nôn ([Bray và cộng sự, 2011](#)). Do đó, các nghiên cứu về căn bệnh này trên mô hình động vật thử nghiệm vẫn luôn được thực hiện trong thời gian qua để có thể tìm ra giải pháp tốt nhất chữa trị thừa cân, béo phì ([Choi và cộng sự, 2007](#)).



Chú thích: A té bào mỡ bình thường; B. Té bào mỡ béo phì

Hình 2. 11. Té bào mỡ mõ ([Sbraccia và cộng sự, 2019](#))

2.4.3. Bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (Nonalcoholic fatty liver disease - NAFLD)

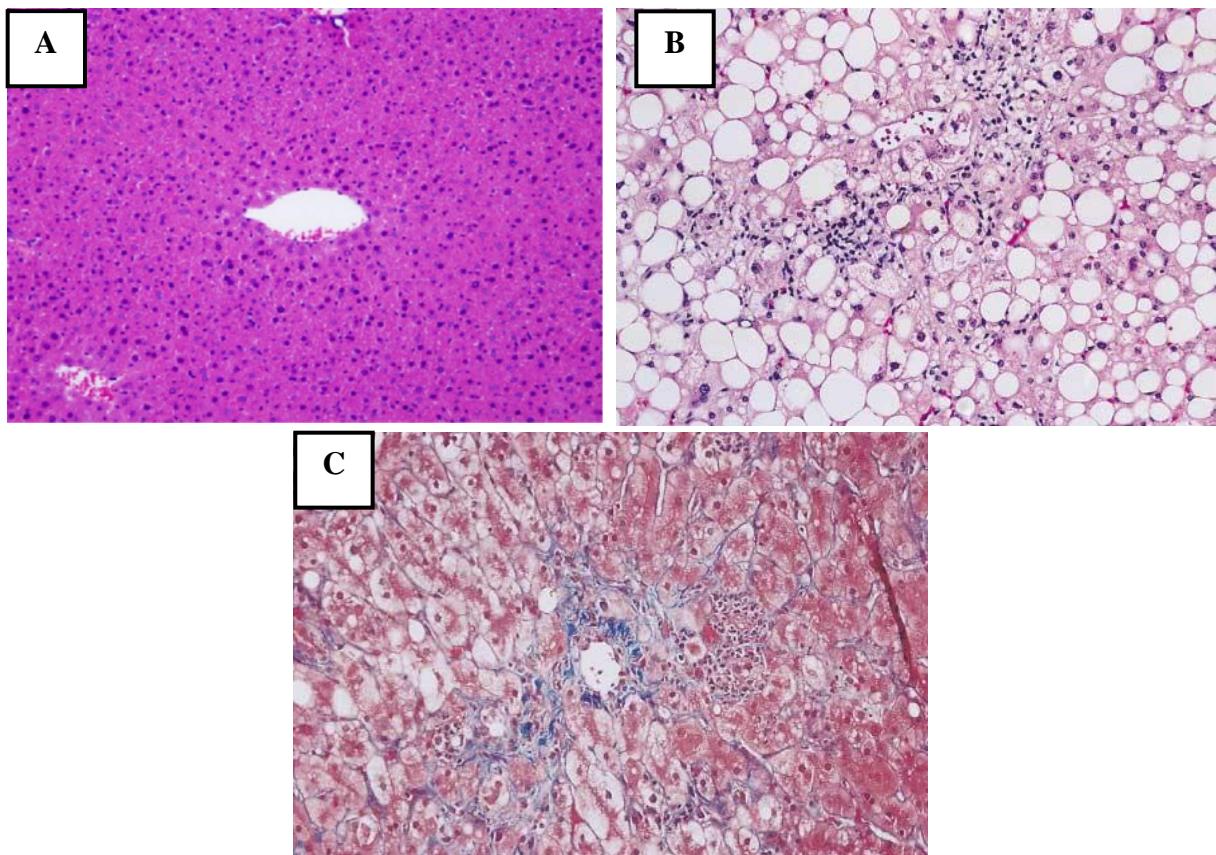
Bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD) là một trong những căn bệnh phổ biến trên toàn thế giới với tỉ lệ người mắc từ 25% đến 45%. Bệnh nhân mắc NAFLD thì nguy cơ phát triển thành xơ gan, suy gan từ 15 - 20% ([Lewis & Mohanty, 2010](#)). NAFLD có thể xuất hiện ở nhiều đối tượng khác nhau như phụ nữ, nam giới và kể cả trẻ em. Hầu hết các bệnh nhân mắc gan nhiễm mỡ đều bị các bệnh liên quan như béo phì, đái tháo đường loại 2, tăng

lipid trong máu. Tỷ lệ béo phì ở một số bệnh nhân mắc bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu dao động từ 30-100%, tỷ lệ mắc bệnh đái tháo đường loại 2 từ 10-75%, và tỷ lệ tăng lipid máu dao động từ 20-92% (Ludwig J và cộng sự, 1980).

NAFLD được định nghĩa là sự tích tụ chất béo (tồn tại dưới dạng các giọt lipid) trong gan vượt quá 5-10% trọng lượng của gan (Bellentani và cộng sự, 2010). NAFLD gồm 2 cấp độ: gan nhiễm mỡ đơn thuần (NAFL) và gan nhiễm mỡ nghiêm trọng hơn với tình trạng viêm, tổn thương, xơ hóa tế bào tủy tế bào (NASH). Trong đó, NASH có thể tiến triển thành xo gan, ung thư gan (Neuschwander-Tetri & Caldwell, 2003). Đái tháo đường loại 2 (kháng insulin), béo phì, các chỉ số trong máu (lipid, triglycerid, cholesterol) cao làm tăng nguy cơ mắc NAFLD (Paul Angulo, 2002). Nếu nồng độ acid béo trong máu tăng cao trong thời gian dài do ăn quá nhiều năng lượng, triglyceride có thể được tích lũy trong gan và dẫn đến sự phát triển của bệnh gan nhiễm mỡ (Wang và cộng sự, 2003).

Chất béo trong gan được tổng hợp từ lượng acid béo không được ester hóa trong cơ thể hoặc tổng hợp mới từ glucose. Thông thường, acid béo trong chế độ ăn sẽ được hấp thụ từ ruột non sẽ tập hợp tạo thành chất béo trung tính (triglycerid). Các chất béo trung tính kết hợp với nhau để tạo nên chylomicron. Sau đó, chylomicron sẽ đi vào huyết tương và phân phối acid béo (70%) đến mô mỡ, phần còn lại sẽ được gan hấp thụ (Donnelly và cộng sự, 2005). Các acid béo tổng hợp từ gan được đóng gói thành các hạt lipoprotein tỉ trọng rất thấp (VLDL) và được tiết từ gan vào huyết tương để sử dụng cho các hoạt động sống. Trong trường hợp, các acid béo không este hóa hết sẽ kết hợp để tạo thành triglycerid trong gan gây nên bệnh gan nhiễm mỡ (Kawano & Cohen, 2013). Các acid béo trong gan sẽ được tổng hợp từ glucose theo một chu trình như sau: Glucose được chuyển thành acetyl-CoA thông qua quá trình đường phân và quá trình oxy hóa pyruvate. Acetyl-CoA được chuyển thành malonyl-CoA bởi acetyl-CoA carboxylase sau đó tiếp tục chuyển hóa tạo thành acid palmitic (Kawano & Cohen, 2013). Acid palmitic được kéo dài và khử bão hòa để tạo ra oleate (acid béo không bão hòa). Đây là thành phần acid béo chính của triglyceride. Các acid béo trên kết hợp lại để tạo thành chất béo trung tính (triglyceride) trong gan và hình thành bệnh gan nhiễm mỡ (Kapourchali và cộng sự, 2015). Hiện tại, NAFLD là bệnh rất khó phát hiện vì không có triệu chứng rõ ràng. Khi mắc bệnh các triệu chứng thường gặp là chướng bụng, đầy hơi, đau phần bụng phía trên.

Dấu hiệu để nhận biết chính xác bệnh đó là dựa vào khối lượng gan hoặc các chỉ số trong máu (lipid, triglycerid, cholesterol) tăng lên bất thường ([Ludwig J và cộng sự, 1980](#)).



*Chú thích: (A) Tiêu bản mô gan bình thường; (B) Tiêu bản mô gan nhiễm mỡ;
(C) Tiêu bản mô gan bị xơ hóa*

Hình 2. 12. Tiêu bản mô gan ([Paul Angulo M.D, 2002](#))

2.5. Thử nghiệm *in vivo* trên động vật

2.5.1. Giới thiệu về thử nghiệm trên động vật

Thử nghiệm trên động vật (animal testing) hay còn được gọi là thử nghiệm *in vivo* là việc sử dụng các loài động vật (không phải là con người) để thực hiện thí nghiệm. Mục đích của thử nghiệm này là kiểm soát các yếu tố ảnh hưởng đến hành vi hoặc hệ thống sinh học đang được nghiên cứu ([Kolar, 2006](#)).

2.5.2. Tầm quan trọng của thử nghiệm *in vivo*

Thử nghiệm trên động vật được ứng dụng vào nhiều lĩnh vực khác nhau bao gồm:

- (i) Nghiên cứu y sinh
- (ii) Thử nghiệm thuốc, hợp chất và sản phẩm mới
- (iii) Thử nghiệm các chất và sản phẩm sinh học
- (iv) Sử dụng trong các hoạt động nghiên cứu liên quan đến giáo dục

Mô hình thử nghiệm gồm có 2 loại: *in vivo* và *in vitro*. Điểm khác biệt của 2 thử nghiệm này đó là *in vivo* thực hiện trên động vật sống còn *in vitro* thực hiện trên môi trường nhân tạo (trong ống nghiệm). Trong các thử nghiệm *in vivo* các điều kiện không được kiểm soát nên gặp nhiều khó khăn hơn. Nhưng nó được đánh giá cao hơn so với *in vitro* vì có thể cho thấy được các phản ứng của động vật thử nghiệm. Động vật sử dụng trong thử nghiệm *in vivo* là các loài động vật có xương sống, từ động vật nguyên sinh không có tri giác đến vượn sống như: chuột, chó, mèo, éch, thỏ, heo, khỉ, cá và chim. Trong đó, chuột cống và chuột nhắt được sử dụng phổ biến nhất ([Kolar, 2006](#)). Chuột được đánh giá cao vì có nhiều đặc tính phù hợp để thực hiện thí nghiệm như kích thước nhỏ, thời gian thế hệ ngắn và dễ nuôi, sinh sản nhanh. Chúng có đặc điểm di truyền đặc trưng nhất của tất cả các động vật có vú và có hệ gene gần giống với người ([Danneman và cộng sự, 2000](#)). Do đó, hầu hết các mô hình thử nghiệm *in vivo* sử dụng chuột nhắt là chính.

2.6. Tổng quan về chuột

2.6.1. Lịch sử, chủng giống và phân loại

Chuột có nhiều điểm tương đồng về giải phẫu và sinh lý so với con người. Những đặc điểm tương đồng này bao gồm: phôi học, sự trao đổi chất và sinh lý học của các hệ cơ quan chính. Mặc dù loài chuột đã sống chung với loài người bắt nguồn từ thời kỳ đầu của nền văn minh loài người, việc thuần hoá chuột làm vật nuôi bắt đầu từ những năm 1700 bởi những người đam mê chuột ở Nhật Bản và Trung Quốc. Sau khi phát hiện lại các định luật của Mendel vào năm 1900, những đàn chuột được tạo ra từ con lai giữa *Mus musculus domesticus* và *M. m. musculus* đã trở thành nguồn cung cấp chuột thí nghiệm cho các di truyền ban đầu ([Bucan, 2013](#)). Nhận thấy giá trị của những con chuột đồng hợp tử trong nghiên cứu di truyền,

một số dòng lai cận huyết đã được thiết lập bằng cách lai giữa những con chuột anh chị em. Nhiều chủng thường được sử dụng bao gồm C57BL/6J, C3H, DBA và BALB/c được trình bày tại [Bảng 2.2](#), đã được lai tạo trong hơn 150 thế hệ dẫn đến các dòng chuột này có kiểu gen gần như đồng hợp tử ([Beck và cộng sự, 2000](#)).

Bảng 2. 2. Phân loại chuẩn giống chuột thử nghiệm ([Luechtefeld và cộng sự, 2018](#))

Loài	Chủng (Strain)	Số lượng
Mice	C57BL/6	298
	BALB/c	58
	CD – 1	9
	SCID	8
	A/J	4
Rat	Sprague – Dawley	10
	Wistar	7

**Mice là loài chuột có kích thước nhỏ (con trưởng thành từ 28 – 32 g)*

Rat là loài chuột có kích thước lớn (con trưởng thành từ 225 – 300 g)

Chuột nhắt nhà (*Mus musculus*) là động vật có vú, loài phổ biến nhất được sử dụng trong phòng thí nghiệm, được thể hiện ở [Hình 2.13](#). *Mus musculus* có lông màu trắng, mắt đỏ, độ dài 65-95 mm từ đầu mũi đến cuối cơ thể, đuôi dài 60-105 mm, khối lượng trung bình 12-30 g, tuổi thọ trung bình khoảng 2 năm. Hành vi xã hội của loài chuột nhắt nhà không cố định ở một kiểu cụ thể nào, mà thay vào đó là chúng dễ dàng thích nghi với các điều kiện môi trường có sẵn của thức ăn và không gian ([Frynta và cộng sự, 2005](#)). Khi dân số chuột tăng, phạm vi không gian chật hẹp sẽ gây ra sự chuyên đổi từ hành vi lãnh thổ sang hệ thống phân hoá cấp bậc giữa các cá thể chuột. Điều này dẫn đến tăng mức độ đấu tranh giữa các cá thể với nhau, mức độ gây hấn giữa các con đực là cao hơn so với giữa các con cái ([S. Gray & Hurst, 1997](#))



Hình 2. 13. Chuột nhắt nhà (*Mus musculus*)

2.6.2. Lợi ích và hạn chế trong việc sử dụng chuột thí nghiệm

Thử nghiệm trên động vật là nền tảng của khoa học y sinh, không chỉ để nâng cao hiểu biết của con người về bản chất của sự sống hoặc các quá trình chuyển hóa quan trọng, mà còn giúp cải thiện các phương pháp phòng ngừa, chẩn đoán, điều trị bệnh tật ở người và ở động vật. Một số loại động vật thường được sử dụng trong thí nghiệm *in vivo* như chuột, heo, chó, thỏ, khỉ, ếch, cá và chim. Trong đó thì chuột là loài được sử dụng phổ biến nhất, hiện nay chuột thí nghiệm được công nhận là mô hình ưu việt cho nghiên cứu di truyền hiện đại (George, 2000). Ngoài ra, mô hình chuột cũng được sử dụng để nghiên cứu về bệnh ung thư, miễn dịch học, chuyển hóa, độc chất học, đái tháo đường, béo phì, gan nhiễm mỡ (Danneman và cộng sự, 2000).

Chuột được đánh giá cao về những phẩm chất có lợi cho nghiên cứu như kích thước cơ thể nhỏ, thời gian thế hệ ngắn, sinh sản dễ dàng trong thí nghiệm. Điều đặc biệt là chúng có đặc điểm di truyền đặc trưng nhất của tất cả các loài động vật có vú, dẫn đến giá trị của chúng tăng lên trong lĩnh vực nghiên cứu (Danneman và cộng sự, 2000). Về mặt thực tế, chuột thí nghiệm tương đối rẻ tiền, dễ mua, vẫn đề chăm sóc không quá phức tạp và dễ dàng thiết lập các điều kiện môi trường cho hoạt động sống của chuột. Bên cạnh những ưu điểm vượt trội nêu trên thì chuột thí nghiệm vẫn tồn tại một vài hạn chế như: tính hợp tác không cao, vẫn còn tồn tại các đặc tính hoang dã và dễ mang các mầm bệnh truyền nhiễm.

2.6.3. Điều kiện nuôi chuột thí nghiệm

Điều kiện nuôi chuột thí nghiệm là một trong những vấn đề quan trọng, cần phải được thiết lập và theo dõi thường xuyên. Một số yếu tố như nhiệt độ, độ ẩm, lưu thông không khí, chu kỳ sáng tối và vệ sinh chuồng nuôi phải thường xuyên duy trì ở chế độ thích hợp.

2.6.3.1. Chuồng nuôi

Chuồng nuôi chuột phải đảm bảo được sức khoẻ chung, chuột được bảo vệ và tránh căng thẳng quá mức. Cần phải chú ý đặc biệt đến việc phân bổ không gian cho từng con và cần duy trì các tiêu chuẩn vệ sinh đầy đủ cũng như bảo vệ chống lại các loài ăn thịt, sâu bọ và các loại gây hại khác (Klein và cộng sự, 2003).

2.6.3.2. Nhiệt độ và độ ẩm

Nhiệt độ và độ ẩm môi trường có mối quan hệ chặt chẽ trong việc ảnh hưởng đến khả năng duy trì thân nhiệt bình thường của chuột, ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm. Chuột sẽ sống khỏe mạnh và hoạt động tốt nếu được duy trì nhiệt độ trong phạm vi từ 18 đến 26 °C và độ ẩm tương đối từ 30 đến 70 %. Có bằng chứng cho rằng chuột hoạt động tốt nhất khi được duy trì trong phạm vi độ ẩm tương đối từ 45 đến 60 % ([D. Clark và cộng sự, 1996](#)). Sự thay đổi đột ngột giữa nhiệt độ và độ ẩm dễ dàng bị tác động bởi điều kiện môi trường bên ngoài, khi có sự thay đổi sẽ gây ra vấn đề về hoạt động sống ở chuột. Do đó, trong khu vực chuồng nuôi cần phải có thiết bị kiểm soát và cân bằng nhiệt độ, độ ẩm. Cần phải lắp đặt đồng hồ theo dõi nhiệt độ, độ ẩm để kịp thời xử lý khi có sự dao động ([George, 2000](#)).

2.6.3.3. Hệ thống thông gió và điều hòa không khí

Cần phải lắp đặt hệ thống thông gió để cung cấp oxy, điều chỉnh nhiệt độ, độ ẩm trong khu vực nuôi. Hệ thống thông gió còn có vai trò lọc khí để giảm thiểu mức độ ô nhiễm của các khí như carbon dioxide và amoniac, đồng thời tản nhiệt do chuột và thiết bị tạo ra ([Danneman và cộng sự, 2000](#)). Thiết bị thông gió phải được lựa chọn phù hợp với diện tích khu vực nuôi và số lượng chuột. Tốc độ thông gió được khuyến nghị từ 10 đến 15 lần, thay đổi không khí mỗi giờ cho phòng có chuột. Thường xuyên theo dõi hệ thống thông gió, nếu không khí bên trong sẽ không được lưu thông thì chuột sẽ bị căng thẳng nghiêm trọng hoặc tử vong ([George, 2000](#)).

2.6.3.4. Âm thanh và ánh sáng

Mặc dù có rất ít thông tin nghiên cứu về việc ảnh hưởng của âm thanh đến hoạt động sống của chuột. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của ([Holy & Guo, 2005](#)) thì cường độ cảm nhận âm thanh tốt nhất của chuột rơi vào khoảng 10÷20 kHz và phản ứng thính giác có thể lên đến 110 kHz. Khi môi trường nuôi xuất hiện âm thanh lớn sẽ ảnh hưởng đến sức khoẻ, hệ thần kinh và tập tính sinh hoạt của chuột, cho nên cần sử dụng các vật liệu cách âm để làm chuồng nuôi, tránh tác động từ âm thanh lớn.

Ánh sáng có sự ảnh hưởng đến tập tính sinh hoạt, hành vi và sinh lý của chuột. Do đó, việc cung cấp ánh sáng thích hợp về cường độ sáng và tần suất là cần thiết cho hoạt động sống của chuột. Sử dụng bộ phận điều khiển ánh sáng để thiết lập chu kỳ sáng/tối, chu kỳ này phụ thuộc vào từng loại mô hình thí nghiệm khác nhau. Chu kỳ sáng/tối bình thường nên là 12-14/12-10 giờ, thông thường là sáng vào ban ngày và tối vào ban đêm (George, 2000).

2.6.3.5. Dinh dưỡng

Chuột phải được cung cấp nguồn thức ăn phù hợp với yêu cầu của chúng và phải có chất lượng cũng như số lượng thích hợp để bảo vệ sức khoẻ của chúng. Việc cung cấp nước sử dụng phải được chuột tự nguyện sử dụng (Klein và cộng sự, 2003). Trong khẩu phần ăn phải luôn đảm bảo tiêu chuẩn về các thành phần protein, carbohydrate và lipid. Các thành phần chất xơ, vitamin, khoáng chất cũng phải đi kèm với trong khẩu phần ăn của chuột thí nghiệm. Trong những năm qua, khẩu phần ăn được xây dựng dựa trên khẩu phần của NRC (The National Research Council, 1995) (Fox và cộng sự, 2006). Một khẩu phần ăn khác cũng tuân theo khuyến nghị của NRC, Viện dinh dưỡng Hoa Kỳ đưa ra khẩu phần ăn tiêu chuẩn được gọi là khẩu phần AIN-93 (Hedrich, 2004).

Bảng 2. 3. Thành phần trong khẩu phần ăn tiêu chuẩn đối với chuột thí nghiệm, theo AIN-93 (Hedrich, 2004)

Thành phần	Hàm lượng (g)
Casein	14.0
Bột bắp	71.5
Solkafloc (cellulose)	5.0
Dầu bắp	4.0
Choline bitartrate	0.2
L-cystine	0.2
Vitamin và khoáng tổng hợp	5
Methionine	0.1
Tổng	100

2.6.4. Quy tắc 3R trong sử dụng động vật thí nghiệm

William M. S. Russell và Rex L. Burch được biết đến là tác giả của cuốn sách “Nguyên tắc của Kỹ thuật Thí nghiệm Nhân đạo” lần đầu tiên trình bày các khái niệm về “Ba chữ R” ([Russell & Burch, 1959](#)). Mặc dù cuốn sách được xuất bản vào năm 1959, tuy nhiên các nguyên tắc về 3R đã không được chấp nhận rộng rãi trong hơn 30 năm. Giờ đây, 3R là cơ sở cho các hướng dẫn và quy định quản lý việc sử dụng động vật thí nghiệm trên toàn thế giới. Ba R đại diện cho sự thay thế, giảm thiểu và cải tiến việc sử dụng động vật thí nghiệm ([Clark và cộng sự, 2012](#)).

(i) **Thay thế (Replacement):** gồm thay thế tuyệt đối và thay thế tương đối. Thay thế tuyệt đối là việc sử dụng vật liệu không có tri giác (in vitro, mô hình toán học hoặc mô hình máy tính) để thay thế cho phương pháp sử dụng động vật bậc cao, có ý thức. Thay thế tương đối có nghĩa là thay thế bất kỳ loài động vật có xương sống nào đó bằng một loại động vật không xương sống hoặc loài thấp hơn trên thang phát sinh loài (ví dụ: thay thế khỉ bằng chuột) ([Tannenbaum & Bennett, 2015](#)).

(ii) **Giảm thiểu (Reduce):** Giảm thiểu được hiểu là các phương pháp giảm thiểu số lượng động vật sử dụng cho mỗi thí nghiệm hoặc nghiên cứu. Tuy nhiên, việc giảm thiểu số lượng này vẫn thu được đầy đủ dữ liệu, kết quả hoặc thu được nhiều thông tin hơn từ một số lượng động vật nhất định. Việc giảm phụ thuộc vào thiết kế thử nghiệm thích hợp và sử dụng số liệu thống kê thích hợp trong phân tích dữ liệu ([MacArthur và cộng sự, 2012](#)).

(iii) **Sàng lọc (Refinement):** liên quan đến các phương pháp giảm thiểu hoặc loại bỏ đau đớn, đau khổ và cải thiện sức khỏe của động vật. Các phương pháp này bao gồm sử dụng thuốc gây mê, giảm đau thích hợp, chăm sóc, giám sát thú y và thiết lập điều kiện môi trường để thúc đẩy phát triển hành vi cụ thể của loài ([MacArthur và cộng sự, 2012](#)).

2.6.5. Quy định về thí nghiệm *in vivo* trên động vật trong và ngoài nước

2.6.5.1. Trong nước

Hiện nay, các nghiên cứu khoa học trong nước chủ yếu ở mô hình *in vitro*, có rất ít các công trình nghiên cứu trên mô hình *in vivo*. Các thí nghiệm *in vivo* trên động vật được áp dụng chủ yếu cho lĩnh vực y học và chưa được áp dụng rộng rãi cho các lĩnh vực khác. Do đó, chưa

có bất kỳ nguyên tắc hay quy định cụ thể nào về thí nghiệm *in vivo*. Vì vậy, hầu hết các thí nghiệm *in vivo* trong nước thường tuân theo các nguyên tắc của tổ chức NC3R. Các nguyên tắc của tổ chức này chủ yếu là dùng để bảo vệ và chăm sóc sức khoẻ cho động vật. Các nguyên tắc này không chỉ có lợi cho động vật mà còn không làm ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm.

2.6.5.2. Ngoài nước

Tại Hoa Kỳ, luật bảo vệ động vật thí nghiệm được ban hành sớm nhất vào năm 1966 với tên gọi “Đạo luật phúc lợi động vật phòng thí nghiệm”. Đạo luật này chủ yếu để ngăn chặn việc trộm cắp vật nuôi và bán cho các phòng thí nghiệm nghiên cứu (MacArthur và cộng sự, 2012). Ở Châu Á, tại Trung Quốc, quy chế quản lý động vật phòng thí nghiệm được thông qua năm 1988. Cung cấp sự giám sát chung đối với luật hướng dẫn và chính sách trong phòng thí nghiệm về các thủ tục trên động vật cho mục đích thí nghiệm và khoa học. Thiết lập mạng lưới kiểm soát chất lượng động vật thí nghiệm, chương trình kiểm dịch và kiểm soát bệnh truyền nhiễm. Quy định đầu tiên này liên quan đến quyền lợi động vật và tập trung vào các vấn đề có thể xảy ra trong chăn nuôi, cho sóc, sử dụng và vận chuyển đã được Bộ Khoa học và Công nghệ thông qua vào năm 2006 mang tên “Hướng dẫn đối xử nhân đạo với động vật phòng thí nghiệm” (MacArthur và cộng sự, 2012). Các hướng dẫn này hoạt động tương tự như hướng dẫn của Hoa Kỳ về chăm sóc và sử dụng động vật phòng thí nghiệm (Garber và cộng sự, 1985).

Các nguyên tắc hướng dẫn Quốc tế về nghiên cứu liên quan đến động vật thí nghiệm được phát triển bởi Hội đồng Tổ chức Khoa học Y tế Quốc tế (CIOMS) (Klein và cộng sự, 2003):

- (i) Các động vật được chọn cho một thí nghiệm cần phải có chủng loại, chất lượng thích hợp và số lượng tối thiểu cần thiết để thu được kết quả có giá trị khoa học.
- (ii) Kỹ thuật viên phải chăm sóc, sử dụng động vật thí nghiệm đúng cách, tránh hoặc giảm thiểu sự gây khó chịu, đau đớn.
- (iii) Các thủ tục thực hiện trên động vật có thể gây ra nhiều đau đớn, cho nên trước khi tiến hành thực hiện các thủ tục thì cần phải gây mê. Không nên thực hiện phẫu thuật động vật khi chưa được gây mê bị tê liệt do tác nhân hoá học.

(iv) Trong quá trình thử nghiệm, những con vật bị đau nặng hoặc mẫn tính không thể thuyên giảm thì sẽ bị giết không đau.

Vấn đề đạo đức là yếu tố hàng đầu được quan tâm đến khi thử nghiệm *in vivo*. Để đạt được sự tối ưu về vấn đề đạo đức khi sử dụng động vật thí nghiệm thì cần giảm thiểu hoặc loại bỏ sự đau đớn và đau khổ cho động vật. Giảm sự đau đớn cho động vật là tránh các tác động trực tiếp gây cảm giác khó chịu hoặc các vết thương trên cơ thể động vật (Treede, 2018). Ở chuột, các dấu hiệu đau đớn thường khó theo dõi, do đó cần phải theo dõi chặt chẽ đến hành vi của nó để phát hiện những thay đổi tinh vi. Theo một nghiên cứu gần đây, đã báo cáo sự phát triển của thang đo mức độ nhăn mặt của chuột để đánh giá mức độ đau đớn. Hệ thống này tương tự hệ thống đánh giá hành động trên khuôn mặt người (Langford và cộng sự, 2010).

2.7. Các nghiên cứu trước đây

2.7.1. Nghiên cứu trong nước

Vào năm 2011, Nguyễn Thị Thanh Mai và cộng sự của mình đã thực hiện khảo sát khả năng ức chế enzyme α -glucosidase trong hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường của cây huyết rồng hoa nhỏ. Kết quả khảo sát cho thấy cao MeOH của cây Huyết rồng hoa nhỏ (*Stholobus parviflorus Roxb.*) có hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase rất mạnh với IC₅₀ là 0.05 µg/mL (Mai Nguyen Thi Thanh và cộng sự, 2011).

Năm 2012, Đái Thị Xuân Trang và cộng sự đã khảo sát khả năng điều trị bệnh đái tháo đường của cao chiết lá ổi (*Psidium guajava L.*). Kết quả thử nghiệm *in vitro* cho thấy khả năng ức chế của cao chiết lá ổi đối với enzyme α -glucosidase theo thứ tự lần lượt là cao methanol (IC₅₀ = 7,52 µg/ml), cao nước (IC₅₀ = 17,78 µg/mL) và cao butanol (IC₅₀ = 22,75 µg/mL). Kết quả nghiên cứu *in vivo* cho thấy cao ethanol lá ổi được sử dụng liều 400 mg/kg trọng lượng có hiệu quả cho chuột bệnh đái tháo đường được gây bệnh bằng alloxan monohydrate và chuột bình thường sử dụng (Trang Dai Thi Xuan và cộng sự, 2012).

Năm 2014, Đái Thị Xuân Trang cùng với Nguyễn Thị Lam Phương đã thực hiện thí nghiệm *in vitro*, nghiên cứu khả năng ức chế enzyme α -glucosidase trong điều trị bệnh đái tháo đường của cao chiết cây Nhài (*Morinda citrifolia L.*) (Trang Dai Thi Xuan và cộng sự, 2014). Kết quả cho thấy giá trị IC₅₀ của tất cả các cao chiết đều thấp hơn rất nhiều so với chất

úc chế α -glucosidase thương mại, acarbose ($IC_{50} = 8,78$ mg/mL), cao rẽ nhau úc chế enzyme α -glucosidase mạnh nhất với $IC_{50} = 0,36$ mg/mL.

Năm 2018, Nguyễn Thé Hân cùng với cộng sự đã nghiên cứu *in vitro*, đánh giá hoạt tính úc chế enzyme α -glucosidase của dịch chiết từ một số loài rong biển. Kết quả được công bố trên tạp chí khoa học công nghệ thuỷ sản cho thấy giá trị IC_{50} dịch chiết của *Sargassum oligocystem*, *Sargassum microcystem* và *Turbinaria ornata* lần lượt là 2,89; 1,99 và 0,53 mg/mL. Quá đó cho thấy, loài rong *Turbinaria ornata* có khả năng úc chế enzyme α -glucosidase mạnh nhất trong các loài rong của bài nghiên cứu (Han Nguyen The và cộng sự, 2018).

Mới đây nhất, các cao chiết *n*-hexane, ethyl acetate và methanol từ cây Dương đài *Olax imbricata* được thử nghiệm hoạt tính úc chế enzyme α -glucosidase, trên mô hình *in vitro*. Kết quả là cao chiết ethyl acetate có hoạt tính tốt hơn cao methanol với phần trăm úc chế trên 50 % ở nồng độ 64 μ g/mL trở lên và giá trị $IC_{50} = 41.84$ μ g/mL. Cao chiết *n*-hexane có hoạt tính tốt nhất với phần trăm úc chế trên 50 % ở nồng độ 0.0625 μ g/mL trở lên và giá trị $IC_{50} = 0.02$ μ g/mL. Đây là kết quả của đề tài nghiên cứu khoa học và công nghệ cấp bộ đã được TS. Võ Thị Ngà công bố vào năm 2019 (Vo Nga Thi và cộng sự, 2019).

2.7.2. Nghiên cứu ngoài nước

Một nghiên cứu về chiết xuất methanol 70 % từ *Pelvetia babingtonii* úc chế hoạt động của enzyme α -glucosidase, sucrase và maltase (Ohta và cộng sự, 2002). Ở mô hình *in vitro* úc chế sucrase và maltase có giá trị IC_{50} lần lượt là 2,24 và 2,84 mg/mL, còn trên mô hình chuột úc chế enzyme α -glucosidase ở liều 1000 mg/kg sau khi dung nạp sucrose là tốt nhất.

Tác dụng úc chế từ chiết xuất nước nóng của đậu Adzuki (*Vigna angularis*) đối với sự tăng đường huyết sau khi nạp sucrose ở chuột mắc bệnh đái tháo đường (Itoh và cộng sự, 2004). Kết quả cho thấy mức đường huyết bị kiềm hãm tốt sau khi dung nạp sucrose (2 g/kg.w) ở liều thử 100 và 500 mg/kg.w.

Vào năm 2008, có một bài nghiên cứu về tác dụng úc chế men α -glucosidase và α -amylase của chiết xuất *Andrographis paniculata* và *Andrographolide*. Chiết xuất cho thấy hiệu quả úc chế enzyme α -glucosidase đáng kể theo cách phụ thuộc vào nồng độ $IC_{50} = 17,2 \pm 0,15$ mg/mL) và hoạt động úc chế α -amylase yếu $IC_{50} = 50,9 \pm 0,17$ mg/mL (Subramanian và

cộng sự, 2008). Các nghiên cứu in vivo cũng đã chứng minh rằng chiết xuất *Andrographis paniculata* ($P < 0,05$) làm giảm đáng kể lượng đường huyết đỉnh và diện tích đường cong ở chuột mắc bệnh đái tháo đường khi cho sử dụng tinh bột và đường sucrose.

Sáu triterpen pentacyclic được phân lập từ lá *Lagerstroemia speciosa* thể hiện hoạt tính α -glucosidase như sau: acid corosolic > acid maslinic > acid oleanolic > 23-acid hydroxyursolic > acid arjunolic > acid asiatic (Hou và cộng sự, 2009). Hiện nay, các nghiên cứu tập trung vào acid oleanolic và acid ursolic vì chúng có thể ức chế sự gia tăng lượng đường trong máu và các biến chứng đái tháo đường (Castellano và cộng sự, 2013).

Trong một nghiên cứu gần đây, tác dụng ức chế của hợp chất tannin trong quả hồng xiêm (*Diospyros kaki Thunb.*) đối với enzyme α -glucosidase và vai trò trong điều tiết đường huyết sau ăn được thể hiện rõ trên mô hình chuột. Bằng thực nghiệm, Li và cộng sự đã xác định được giá trị IC₅₀ tanin quả hồng và acarbose (đối chứng dương tính) trên α -glucosidase lần lượt là 0,2391 và 0,2445 mg/mL. Đặc biệt hơn, tanin trong quả hồng xiêm có khả năng liên kết mạnh mẽ với các hạt tinh bột, dẫn đến giảm tỷ lệ tiêu hóa tinh bột và do đó làm giảm mức tăng đường huyết sau ăn (Li và cộng sự, 2018).

Ngoài ra, chất chiết xuất từ lá trà (*Cyclocarya paliurus*) ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase ở giá trị IC₅₀ là $31,5 \pm 1,05$ µg/mL, thấp hơn rất nhiều so với giá trị IC₅₀ của acarbose là $296,6 \pm 1,06$ µg/mL. Các thành phần tích cực của chiết xuất có hoạt tính ức chế α -glucosidase là quercetin, kaempferol, genistein và acid asiatic. Các nghiên cứu liên quan đến cấu trúc phân tử đã cho rằng các thành phần này có thể chiếm các vị trí hoạt động của α -glucosidase dễ dàng hơn acarbose (Ning và cộng sự, 2019).

2.8. Mục tiêu nghiên cứu

Hiện nay, bệnh thừa cân béo phì là một trong những mối quan tâm chính về sức khỏe cộng đồng. Bệnh thừa cân béo phì là nguyên nhân chính, gây ra gánh nặng toàn cầu, của các bệnh mãn tính bao gồm bệnh tim mạch, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, đái tháo đường loại 2 và một số loại ung thư (Batal & Hunter, 2007). Sự phân hủy carbohydrate bởi các enzym tiêu hóa carbohydrate như α -amylase, α -glucosidase và sự hấp thụ glucose ở ruột non, vẫn là mục tiêu điều trị cho bệnh đái tháo đường rối loạn liên quan đến béo phì (Marrelli et al., 2020). Mặc dù, các chế phẩm úc chế men α -glucosidase như acarbose, voglibose, miglitol và

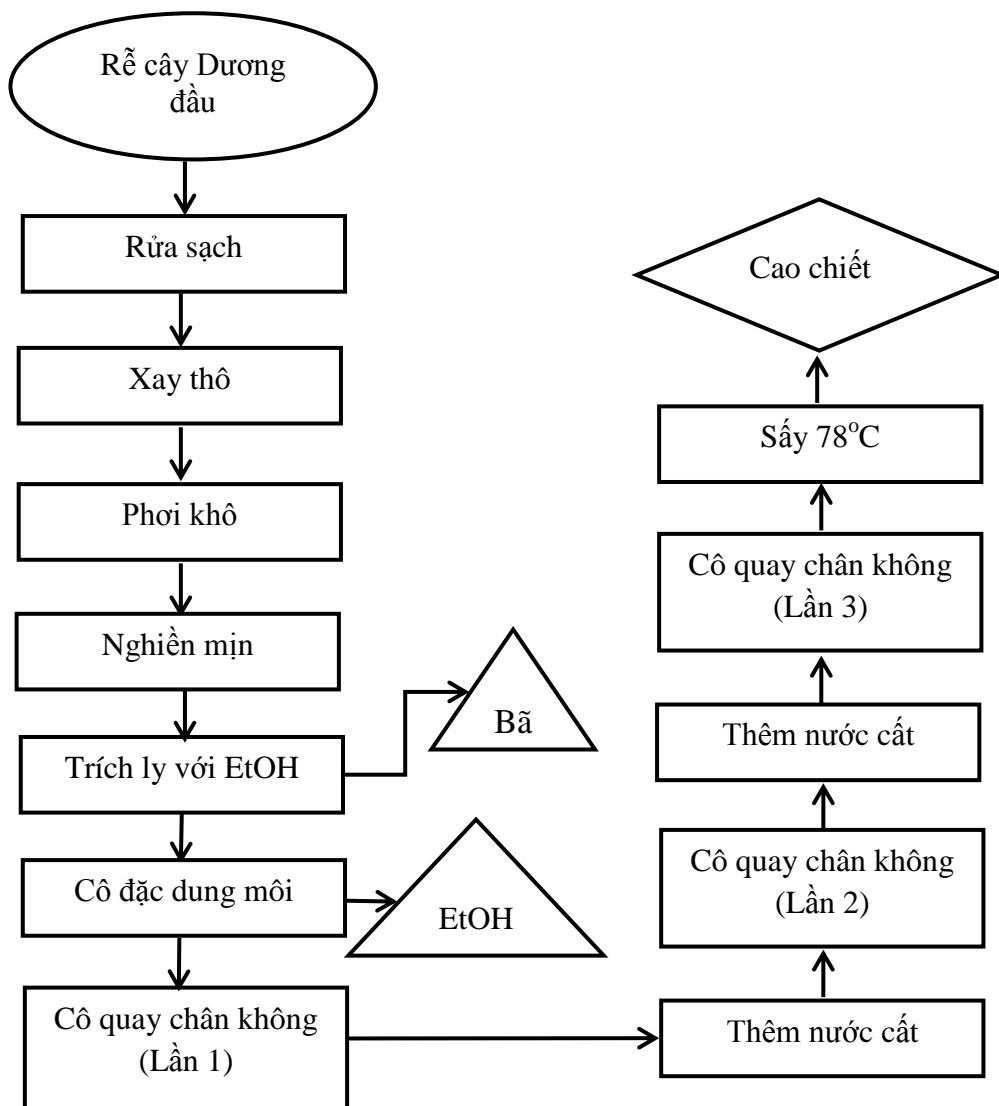
emiglitate đã được bán trên thị trường để kiểm soát tăng đường huyết sau ăn. Tuy nhiên, việc thường xuyên sử dụng các loại thuốc này dẫn đến các tác dụng phụ khác nhau như tiêu chảy, nôn mửa, đầy hơi, đau dạ dày nghiêm trọng, phản ứng dị ứng (Patil et al., 2015). Gần đây, việc sử dụng các chất ức chế enzyme α -glucosidase có hoạt tính sinh học để điều trị bệnh đái tháo đường đã được chứng minh là phương thuốc hiệu quả nhất để kiểm soát tăng đường huyết sau ăn và các biến chứng sinh lý bất lợi của nó, đặc biệt là ở bệnh nhân đái tháo đường loại 2 (Ghani, 2015; Kumar và cộng sự, 2011b).

Dựa trên kết quả nghiên cứu *in vitro* ban đầu của (Nga Vo Thi và cộng sự, 2019) về rễ cây Dương đài *Olax imbricata*. Nhóm chúng tôi quyết định nghiên cứu tác dụng của cao chiết Ethanol 70° từ rễ cây Dương đài *Olax imbricata* ở chuột bị đái tháo đường loại 2 trên nền béo phì. Để đóng góp một phần nhỏ cho công cuộc tìm ra những chế phẩm sinh học ức chế enzyme α -glucosidase có hoạt lực tốt nhưng tác dụng phụ thấp. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sẽ đánh giá tác dụng của cao chiết trong hỗ trợ điều trị đái tháo đường loại 2, khả năng điều hòa chỉ số đường huyết, chỉ số chất béo (TG, TC, LDL, HDL) và biểu hiện hành vi trên chuột.

CHƯƠNG 3: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

3.1. Mẫu cao chiết ethanol thử nghiệm

Cao chiết ethanol được chuẩn bị bằng cách trích ly các hợp chất có trong rễ cây Dương đầu (RCD), bằng cách sử dụng dung môi ethanol (EtOH) với một vài thay đổi (Nga Vo Thi và cộng sự, 2019; Vo Nga Thi và cộng sự, 2020).



Hình 3. 1. Sơ đồ sản xuất cao chiết EtOH từ rễ cây Dương đầu

Rễ cây Dương đầu (*Olax imbricata*) được thu hái tại Trung tâm Dược liệu miền Trung, huyện Đông Hòa, tỉnh Phú Yên, Việt Nam. RCD được rửa sạch xay khô với kích thước 5:1 cm, phơi khô khoảng 5 ngày và đem đi nghiền mịn với kích thước 3:1 mm.

Cho RCD (2,2 kg) đã nghiền mịn vào túi vải, dung môi ethanol/nước (15 L) theo tỉ lệ tương ứng là 70:30 (v/v) trong nồi chưng cất để trích ly (3 giờ). Phần dịch trích sẽ được thu nhận chứa trong bình thủy tinh. Mỗi mẫu sẽ được thực hiện lặp lại 3 lần. Dịch trích trong 3 lần nấu sẽ được trộn thành hỗn hợp đồng nhất, cho vào thiết bị chưng cất để tách phần lớn dung môi. Sau đó, mẫu (250 g) tiếp tục được cô đặc bằng thiết bị cô quay chân không (Yamato, model RE 301A-W) để loại bỏ dung môi ra khỏi cao chiết. Cao chiết tiếp tục được bổ sung thêm nước cát (200 ml), khuấy đều và cô quay ($\times 2$ lần). Cuối cùng, cao chiết được dàn mỏng và sấy trong tủ sấy đối lưu Memmert (UF260) ở nhiệt độ 78°C để bay hơi hoàn toàn dung môi. Cao EtOH được lưu trữ trong bình thuỷ tinh có nắp và bảo quản ở 4°C để sử dụng cho các thử nghiệm sau ([Panyaphu và cộng sự, 2012](#)).

3.2. Mẫu động vật thử nghiệm

Động vật thử nghiệm gồm 45 con chuột nhắt đực trắng (*Mus musculus*) 6 tuần tuổi với trọng lượng 28 ± 1 g/con. Chuột được cung cấp bởi Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam. Chuột được nuôi (45 – 60% RH, 30 ± 2 °C) với chu kỳ 12 giờ sáng/tối và được cung cấp nước (nước khoáng Lavie) theo nhu cầu ([Mohamed và cộng sự, 2011](#)). Chuột được nuôi thích nghi cho đến khi khối lượng chuột đạt 30 ± 1 g/con (khoảng 1 tuần) thì bắt đầu tiến hành thử nghiệm.

Toàn bộ quá trình thử nghiệm *in vivo* trong nghiên cứu này được xem là phù hợp với các tiêu chuẩn về đạo đức sinh học căn cứ theo Chứng nhận số IRB-A-2002 ([phụ lục 11](#)) được cung cấp bởi Hội đồng Đạo đức của Viện Nghiên cứu Y học Đinh Tiên Hoàng (được Bộ Y tế Việt Nam cấp mã số hoạt động IRB-VN02010 ngày 15/10/2015).

3.3. Khẩu phần ăn

Trong thử nghiệm này chúng tôi sử dụng 2 khẩu phần ăn khác nhau được trình bày ở [Bảng 3.1](#), gồm khẩu phần ăn thương mại tiêu chuẩn Fullvit (ND) của hãng Jolly Nobi-117T và

khẩu phần ăn thương mại Fullvit bổ sung thêm 30% chất béo từ mỡ bò (HF). Lượng mỡ bò dạng rắn sẽ được làm sạch và nấu chảy thành dạng mỡ bò lỏng. Khẩu phần HF được chuẩn bị bằng cách trộn đều mỡ bò dạng lỏng (30g) và thức ăn ND (70g). Khẩu phần HF được chuẩn bị 2 ngày/lần và bảo quản ở 10°C.

Bảng 3. 1. Thành phần chính trong 100g khẩu phần ăn tiêu chuẩn (ND) và giàu béo (HF)

Thành phần	Khẩu phần ăn	
	ND	HF
Carbohydrate (g)	70.8	49.56
Protein (g)	15.5	10.85
Lipid (g)	3.26	32.28
Xơ (g)	16.0	11.2
Năng lượng (kcal/g)	3.1	4.87

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng khẩu phần ăn HF nhằm mục đích xây dựng mô hình động vật thử nghiệm bị thừa cân béo phì và đái tháo đường loại 2 kết hợp với việc sử dụng cao chiết. Theo nghiên cứu của Surwit và cộng sự (1988), việc sử dụng khẩu phần ăn giàu béo thường xuyên gây ra những thay đổi trong thành phần cơ thể (ví dụ: tăng cân nặng, tăng khối lượng mô mỡ bên) và dẫn đến tình trạng kháng insulin ở chuột. Tương tự như vậy, Collins và cộng sự (2004) đã chứng minh sự gia tăng hàm lượng chất béo trong khẩu phần ăn sẽ gây ra bệnh đái tháo đường và thừa cân béo phì ở các dòng chuột khác nhau.

Để xây dựng mô hình động vật này thì cần phải xây dựng khẩu phần ăn HF đáp ứng đủ 3 tiêu chí sau: (i) loại chất béo sử dụng, (ii) phần trăm về khối lượng và (iii) năng lượng từ chất béo phải nằm trong ngưỡng nhất định. Thứ nhất, để gây béo phì trên chuột thì hàm lượng chất béo phải chiếm từ 20 - 40 % về khối lượng và năng lượng từ chất béo nằm trong khoảng 30 - 78 % tổng năng lượng ăn vào (Deuel và cộng sự, 1947). Thứ hai, để gây đái tháo đường loại 2 trên động vật thử nghiệm, năng lượng nạp vào từ chất béo phải > 40 % (Hariri & Thibault, 2010). Hiện nay, mô hình đái tháo đường loại 2 trên chuột với khẩu phần chứa năng lượng từ chất béo lên đến 60 % được áp dụng rộng rãi (Ikarashi và cộng sự, 2011). Thứ ba, loại chất béo được sử dụng cũng khá quan trọng cần được lựa chọn cho phù hợp. Theo nghiên cứu của

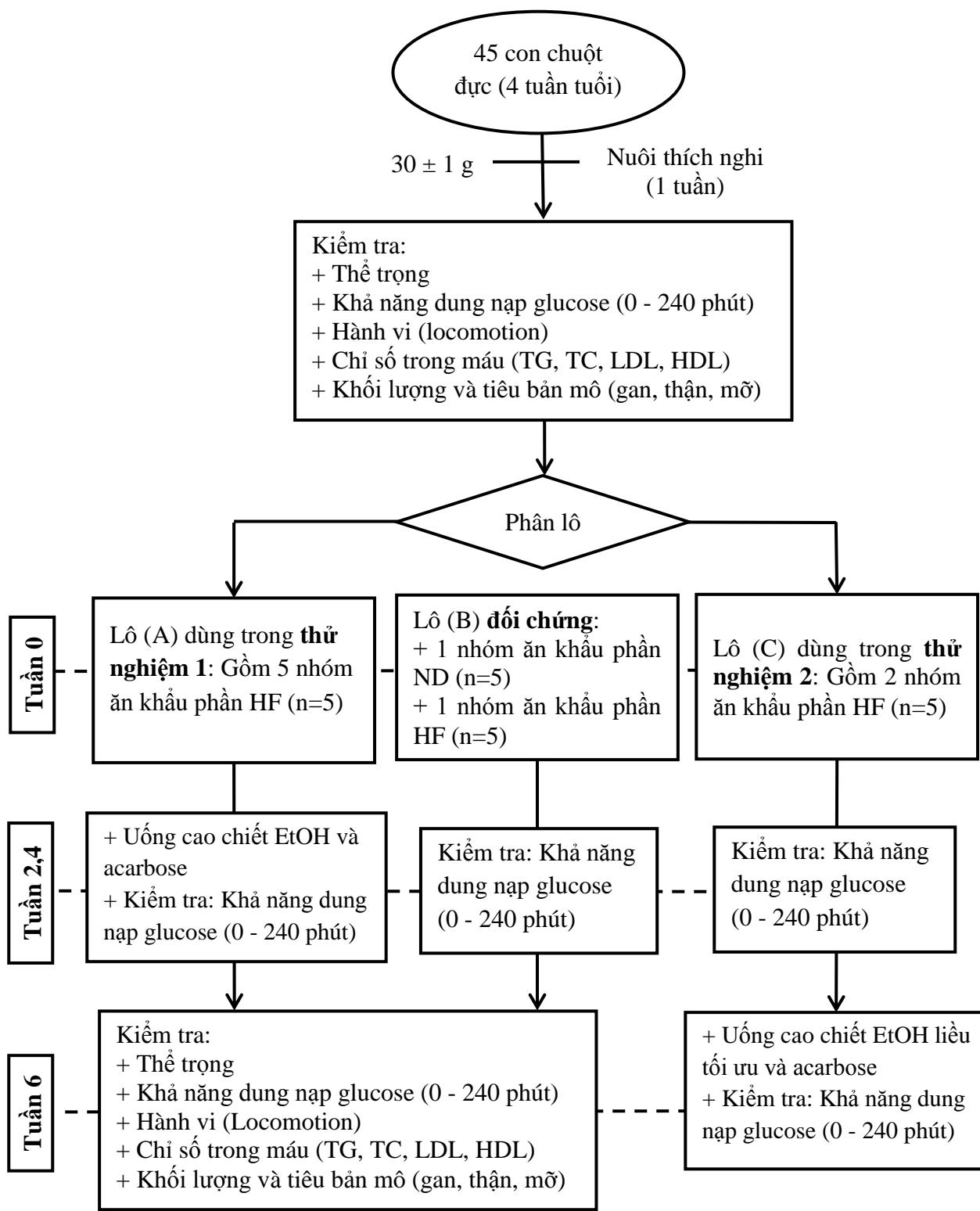
Rivellese & Lilli (2003) việc sử dụng khẩu phần ăn giàu béo với hàm lượng các chất béo bão hòa cao có nguồn gốc từ động vật làm giảm độ nhạy của insulin và làm tăng nguy cơ gây đái tháo đường loại 2. Chất béo bão hòa làm tăng kích thước tế bào mỡ, tăng lượng mỡ và khối lượng cơ thể của động vật thử nghiệm tốt hơn khi ăn khẩu phần chứa các chất béo không bão hòa (Heydemann, 2016). Sự khác biệt này là do quá trình chuyển hóa các chất béo bão hòa phức tạp. Chất béo bão hòa chỉ được chuyển hóa một phần thành năng lượng, phần còn lại sẽ được acyl hóa thành triglyceride và được lưu trữ trong mô mỡ (Hariri & Thibault, 2010). Mỡ bò chứa hàm lượng chất béo bão hòa cao lên đến 50% là một trong những nguyên liệu thích hợp (Lichtenstein, 2013). Trong nghiên cứu của chúng tôi, chất béo được sử dụng chính là mỡ bò với năng lượng chiếm 60 % tương ứng với khối lượng chiếm 32.28 % tổng lượng ăn vào. Do đó, khẩu phần HF hoàn toàn phù hợp với những yêu cầu như trên để xây dựng mô hình đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì trên chuột.

3.4. Thiết kế thí nghiệm *in vivo*

Số chuột ban đầu (45 con) được chia làm 3 lô như [Hình 2.2](#), để thực hiện 2 thử nghiệm.

- a) Lô (A), dùng trong thử nghiệm 1: sử dụng cao EtOH và acarbose trong vòng 4 tuần, khẩu phần ăn HF.
- b) Lô (B), dùng để đối chứng với thử nghiệm 1 và 2 gồm 2 nhóm: 1 nhóm sử dụng khẩu phần ăn TC và 1 nhóm sử dụng khẩu phần HF.
- c) Lô (C), dùng trong thử nghiệm 2: sử dụng cao EtOH với 1 liều duy nhất vào tuần 6, khẩu phần ăn HF.

Thời gian thử nghiệm *in vivo* kéo dài trong vòng 8 tuần, chuột sẽ được cho ăn, theo dõi cân nặng và lượng thức ăn thừa để xác định được tốc độ tăng trưởng và lượng caloide tiêu thụ hàng ngày ([Kim và cộng sự, 2017](#)). Tại tuần thứ 0, các nhóm chuột được kiểm tra cân nặng, kiểm tra hành vi (locomotion) trước và sau khi ăn, khả năng dung nạp glucose (0 - 240 phút), đánh giá vi phẫu (tiêu bản) mô (gan, thận, mỡ), các chỉ số mỡ (lipid) máu như triglycerides, cholesterol total, LDL cholesterol, HDL cholesterol ([Ojewale và cộng sự, 2020](#)).



Hình 3. 2. Quy trình thử nghiệm trên động vật

3.4.1. Thủ nghiệm 1

Mục đích: Khảo sát liều lượng thích hợp của cao chiết EtOH trên nền chuột tiền đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì. Bảy nhóm chuột (n=5) trong lô (A) và (B) được sử dụng trong thử nghiệm này. Các nhóm thử nghiệm như sau:

Nhóm 1: Đối chứng (ND), khẩu phần ăn ND

Nhóm 2: Đối chứng dương (HFD), khẩu phần ăn HF

Nhóm 3: Thử nghiệm cao EtOH hàm lượng 200 mg/kg/ngày (HFE-100), khẩu phần ăn HF

Nhóm 4: Thử nghiệm cao EtOH hàm lượng 600 mg/kg/ngày (HFE-400), khẩu phần ăn HF

Nhóm 5: Thử nghiệm cao EtOH hàm lượng 1000 mg/kg/ngày (HFE-700), khẩu phần ăn HF

Nhóm 6: Thử nghiệm cao EtOH hàm lượng 1400 mg/kg/ngày (HFE-1000), khẩu phần ăn HF

Nhóm 7: Thử nghiệm Acarbose hàm lượng 100 mg/kg/ngày (A-100), khẩu phần ăn HF

Theo nghiên cứu của [Buettner và cộng sự \(2007\)](#), việc cho động vật thử nghiệm ăn khẩu phần giàu béo trong ít nhất 2 tuần sẽ gây nên tình trạng kháng insulin và tăng trọng lượng cơ thể một cách đáng kể. Dựa vào căn cứ này, trong nghiên cứu của chúng tôi, các lô chuột được sử dụng khẩu phần HF trong 2 tuần để tạo ra những con chuột mắc hội chứng kháng insulin với đặc điểm là tăng trọng cơ thể, tăng lượng đường huyết trong máu. Triệu chứng này tương tự như tình trạng tiền đái tháo đường ở người ([Srinivasan và cộng sự, 2005](#)). Sau đó, nhóm chuột bị tiền đái tháo đường loại 2 này sẽ được cho sử dụng cao chiết để đánh giá tác dụng của cao chiết so với các nhóm chuột đối chứng.

Từ tuần 0-6, chuột sẽ được theo dõi cân nặng, thức ăn thừa để xác định được tốc độ tăng trưởng và lượng caloride tiêu thụ hàng ngày ([Kim và cộng sự, 2017](#)). Vào tuần 0, 2 và 4, tiến hành xác định các giá trị locomotion trước và sau khi ăn ([C. Zhang và cộng sự, 2020](#)) cũng như khả năng dung nạp glucose (0-240 phút) của các nhóm thử nghiệm. Thời gian sử dụng cao chiết là 4 tuần (từ tuần 2 đến tuần 6), tương tự với nghiên cứu của [Ojewale và cộng sự \(2020\)](#). Các nhóm 3, 4, 5 và 6 sử dụng cao chiết với liều lượng lần lượt là 200, 600, 1000, 1400 mg/kg thể trọng/ngày (2 lần/ngày). Trong khi đó, nhóm 7 được sử dụng Acarbose với liều 100mg/kg thể trọng/ngày (2 lần/ngày) ([Heo và cộng sự, 2009](#)). Ở tuần 6, mỗi nhóm chuột được xác định các giá trị locomotion trước và sau khi ăn, khả năng dung nạp glucose (0-240 phút), đánh giá

tiêu bản vi phẫu mô gan thận mỡ, các chỉ số mỡ máu (triglycerides, cholesterol total, LDL cholesterol , HDL cholesterol) ([Ojewale và cộng sự, 2020](#)).

Mức độ tin cậy của cỡ mẫu được xác định theo công thức của ([Charan & Kantharia, 2013](#)): $E = \frac{\text{Tổng số động vật thử nghiệm}}{\text{Tổng số nhóm thử nghiệm}}$ (3.1)

Giá trị của E phải nằm trong khoảng từ 10 đến 20. Nếu $E < 10$ thì cần tăng số lượng chuột ở mỗi nhóm để tăng độ chính xác của thử nghiệm. Nếu $E > 20$ thì độ chính xác của kết quả thử nghiệm càng cao. Trong thử nghiệm của chúng tôi, $E = 35 - 7 = 28 (> 20)$ nên kích cỡ mẫu đạt yêu cầu.

Số lượng động vật tối thiểu và tối đa mỗi nhóm được tính dựa trên công thức của [Arifin & Zahiruddin \(2017\)](#), như sau:

$$\text{Min } n=10/k+1 \quad (3.2)$$

$$\text{Max } n=20/k+1 \quad (3.3)$$

Trong đó: Min n, Max n lần lượt là số lượng động vật tối thiểu và tối đa trong mỗi nhóm thử nghiệm; k là số nhóm thử nghiệm.

Khi xác định số lượng động vật trong mỗi nhóm thử nghiệm cần tính toán đến tỉ lệ sống sót của chúng. Giả sử tỉ lệ sống sót của động vật trong thử nghiệm này là 80% ([Arifin & Zahiruddin, 2017](#)). Số lượng động vật tối thiểu và tối đa được tính toán như sau:

$$\text{Min } n= (10/k+1)/0.8 = (10/7+1)/0.8 = 3.025; \text{ làm tròn Min } n=3$$

$$\text{Max } n= (20/k+1)/0.8 = (20/7+1)/0.8 = 4.75; \text{ làm tròn Max } n=5$$

Trong thử nghiệm này, số lượng động vật trong mỗi nhóm ($n=5$) nằm trong khoảng cho phép và phù hợp với các tiêu chuẩn trong thử nghiệm *in vivo*.

3.4.2. Thử nghiệm 2

Mục đích: Đánh giá khả năng điều tiết đường huyết của chuột bị thừa cân béo phì và đái tháo đường loại 2 khi sử dụng cao chiết.

Bốn nhóm chuột ($n=5$) thuộc lô (B) và (C) nuôi trong khoảng thời gian 8 tuần, theo dõi thể trọng, thức ăn thừa và lượng caloide tiêu thụ hàng ngày. Ngoài ra, chỉ số đường huyết của các mẫu chuột sau khi ăn cũng được theo dõi.

Các nhóm thử nghiệm 2 như sau:

Nhóm 1: Đối chứng (ND), khẩu phần ăn ND

Nhóm 2: Đối chứng dương (HFD), khẩu phần ăn HF

Nhóm 3: Thử nghiệm liều acarbose với hàm lượng 100 mg/kg/ngày, khẩu phần ăn HF.

Nhóm 4: Thử nghiệm liều cao chiết tối ưu, khẩu phần ăn HF

Mức độ tin cậy của cỡ mẫu được xác định theo công thức của [Charan & Kantharia \(2013\)](#): $E = \frac{\text{Tổng số động vật thử nghiệm}}{\text{Tổng số nhóm thử nghiệm}}$ (3.1)

Giá trị của E phải nằm trong khoảng từ 10 đến 20. Trong thử nghiệm này, $E=20-4= 16$ vậy nên cỡ mẫu đạt yêu cầu. Giả sử tỉ lệ sống sót của động vật thử nghiệm là 80% ([Nor Arifin và cộng sự, 2017](#)). Số lượng động vật thử nghiệm tối thiểu và tối đa được tính toán như sau:

$$\text{Min } n = (10/4 + 1)/0.8 = 4.375; \text{ làm tròn Min } n = 4$$

$$\text{Max } n = (20/4+1)/0.8 = 7.5; \text{ làm tròn Max } n = 8$$

Trong thử nghiệm này, số lượng động vật trong mỗi nhóm ($n=5$) nằm trong khoảng cho phép và phù hợp với các tiêu chuẩn trong thử nghiệm *in vivo*.

3.5. Các phương pháp thực hiện trên động vật

3.5.1. Phương pháp sử dụng cao chiết qua đường miệng

Có nhiều phương pháp để đưa các chất nghiên cứu vào bên trong cơ thể động vật, trong đó phương pháp cho sử dụng qua đường miệng được sử dụng rộng rãi nhất ([George, 2000](#)). Đối với loài gặm nhấm, phương pháp này cho phép phân phổi khối lượng và liều lượng chính xác hơn và hấp thụ nhanh và tốt hơn so với cách phổi trộn các chất đó vào thức ăn. Điểm đặc biệt nữa đó là có thể thử nghiệm khi động vật nhịn ăn ([Solubilized, 1994](#)). Với cách này, ống tiêm gavage 18G được sử dụng để cho cao chiết vào đường miệng động vật thí nghiệm. Thiết bị này gồm 2 phần: đầu kim tiêm và phần thân ống. Phần đầu kim tiêm có dạng hình bầu dục tròn, nhẵn nên khi đặt vào miệng chuột không gây đau đớn. Khi sử dụng lấy lượng mẫu vừa đủ theo vạch chia trên thân ống. Sau đó, đặt đầu kim vào miệng chuột gần vị trí sử dụng họng và bơm nhanh mẫu vào.



Hình 3. 3. Mẫu đầu ống tiêm Gavage

3.5.2. Phương pháp vi phẫu và lấy máu tim chuột thử nghiệm

Sau 6 tuần, chuột sẽ được giải phẫu để thu nhận các mô (gan, thận, mỡ) và máu tim. Trước khi tiến hành giải phẫu, chuột sẽ được gây mê và giãn cơ bằng diethyl ether. Hóa chất này có công dụng làm mất ý thức, mất cảm giác nhưng không gây xáo trộn chức năng tuần hoàn và hô hấp (Ojewale và cộng sự, 2020).

Trình tự giải phẫu được tiến hành như sau: dùng ngón tay cái và ngón trỏ đặt vào gáy chuột, phần đuôi được giữ bằng tay còn lại. Sử dụng lực để kéo giãn đốt sống lưng để chuột không còn khả năng cử động (Fox và cộng sự, 2006). Chuột được đặt nằm ngửa lên bề mặt sạch trong môi trường vô trùng và các dụng cụ được khử trùng bằng cồn y tế 96° . Sử dụng ghim để cố định 4 chân của chuột trước khi tiến hành vi phẫu. Làm ẩm phần bụng bằng cách nhúng hoặc phun ethanol 70° , mục đích làm ướt phần lông và sát khuẩn (Treuting và cộng sự, 2017). Phần da được loại bỏ bằng cách rạch một đường ngang nhỏ ở dưới bộ phận sinh dục. Dùng tay kéo nhẹ phần da về phía đầu (Treuting & Snyder, 2015). Mở khoang bụng và lồng ngực, lấy máu tim bằng cách cắt đứt động mạch chủ. Dùng kim tiêm hút phần máu chảy ra khoang ngực và cho phần máu vào ống nghiệm chứa máu chuyên dụng (có chứa EDTA để chống đông máu). Gan được cắt bỏ phần cơ hoành để tách ra khỏi lồng ngực. Để tránh các tác động đến mô nên sử dụng kẹp tại phần liên kết để lấy gan ra ngoài (Treuting và cộng sự, 2017). Mở rộng khoang bụng để lấy mô thận, mỡ. Thận gồm có 2 quả thường nằm bên dưới của lớp mỡ vì vậy nên lấy kẹp tách các lớp mỡ bụng ra để thuận tiện cho việc giải phẫu (Hedrich, 2004). Phần nội tạng sau khi cắt xong được rửa bằng nước muối và bỏ vào dung dịch 10% fomadehyde để bảo quản trong thời gian dài (Sung và cộng sự, 2012).

3.5.3. Phương pháp làm tiêu bản mô

Phương pháp này được thực hiện nhằm nhuộm màu và tạo ra những lát mỏng của mô, cơ quan đem đến sự thuận tiện cho việc phân tích hình ảnh và quan sát các tế bào bên dưới kính hiển vi. Các mẫu mô (gan, thận, mỡ) sau khi được lấy ra khỏi cơ thể được ngâm trong dung 10% fomaldehyde trong vòng 1 ngày và nhúng vào parafin. Sau đó, mẫu mô được chuyển đến bệnh viện Quận 2 để tạo tiêu bản. Mô được cắt lát với độ dày 4 µm và nhuộm bằng và eosin ([Sung và cộng sự, 2012](#)). Khi nhuộm, hematoxylin sẽ chuyển nhân tế bào thành màu xanh tím, eosin chuyển phần ngoại bào màu hồng nên dễ dàng quan sát mô dưới kính hiển vi.

3.5.4. Phương pháp đánh giá hành vi (Locomotion)

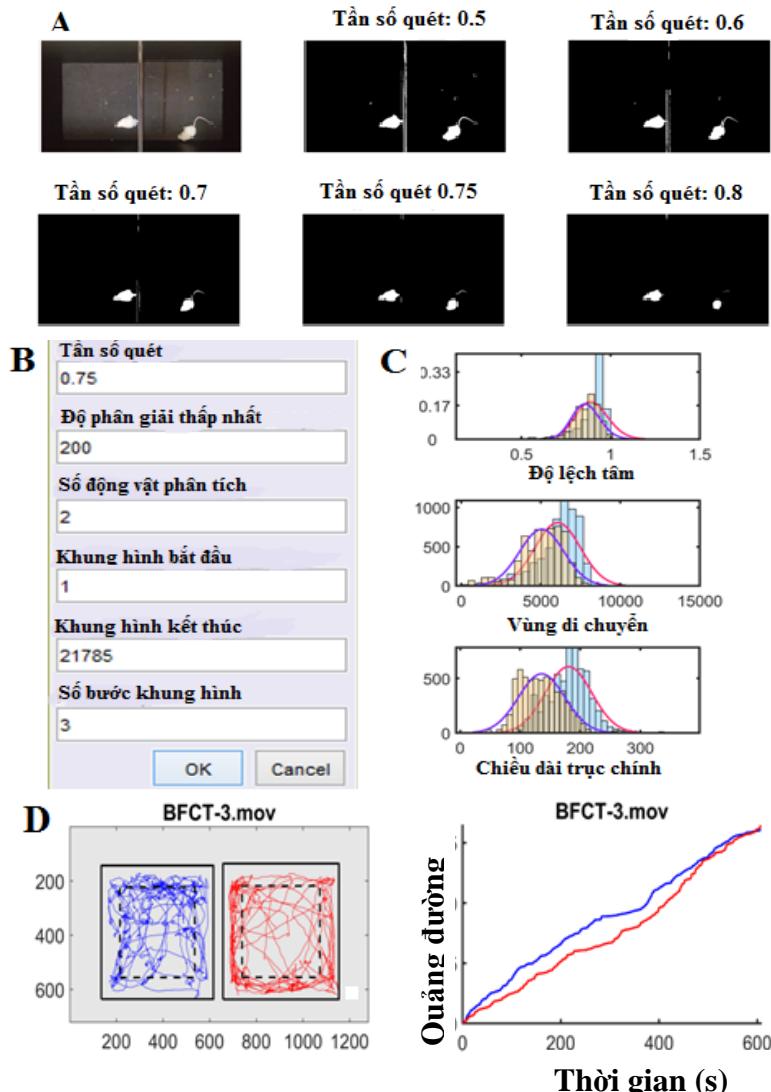
Để xác định ảnh hưởng của điều kiện môi trường, chất y tế, cao chiết hoặc bệnh tật đối với động vật, thì người ta thường quan sát hành vi của động vật. Những thay đổi trong hành vi của động vật có thể là những dấu hiệu đầu tiên cho thấy ảnh hưởng của một chất hoặc sự can thiệp nào đó lên động vật, từ đó cho phép suy đoán về các cơ chế sinh lý cơ bản. Các thuộc tính hành vi được quan tâm là các thông số chuyển động như vận tốc hoặc hướng, mô hình hoạt động, sự phân bố trong không gian và sự xuất hiện của một số kiểu hành vi tiêu chuẩn của động vật ([Schwarz và cộng sự, 2002](#)).

Sử dụng tệp lệnh MouseActivity (MA) được cung cấp bởi [Renzhi Han \(2020\)](#), là một tập lệnh chạy trên nền chương trình MATLAB có sẵn mã nguồn mở. MA giúp phân tích nhanh chóng các tham số chuyển động, chẳng hạn: khoảng cách di chuyển, tốc độ trung bình và thị lực. Sử dụng một hoặc hai khoang nhựa mica trong suốt có kích thước 12 inches × 12 inches × 12 inches, với mỗi khoang chỉ chứa một con chuột duy nhất để phân tích. Có thể dễ dàng phân tích một, hai hoặc nhiều khoang cùng lúc. Các video được thu thập ở định dạng MP4 và thời gian ghi video là 10 phút/lần ([C. Zhang và cộng sự, 2020](#)).

Khi khởi động xong MA, chương trình sẽ yêu cầu chọn tệp phim cần phân tích. Tiếp đó, một file ảnh có chứa các khung hình được quét ở các ngưỡng khác nhau từ 0.5 đến 0.8 được lên ([Hình 3.4 A](#)). Sau khi nhập vào khung hình có ngưỡng quét tốt nhất, chương trình sẽ yêu người dùng nhập một số thông số khác bao gồm kích thước pixel tối thiểu, số lượng động vật trong video, khung hình bắt đầu, khung hình cuối cùng phân tích và số bước khung hình phân tích ([Hình 3.4 B](#)). Sau khi hoàn thành quá trình theo dõi trong tất cả các khung, chương trình

lưu dữ liệu theo dõi (ví dụ như tọa độ vị trí và diện tích của mỗi con chuột) vào tệp MATLAB bắt đầu phân tích dữ liệu. Kết quả đầu ra bao gồm một hình tóm tắt về quỹ đạo chuột và cách di chuyển (**Hình 3.4 D**), một hình về sự phân bố của từng vùng chuột, độ lệch tâm và dài trực chính (ví dụ: chiều dài thân chuột) xem tại **Hình 3.4 C**, và một tệp Excel với vị trí khoảng cách di chuyển và thị lực (**C. Zhang và cộng sự, 2020**).

3.6. Các phương pháp đo trên chuột



Chú thích: (A): Tăng ngưỡng từ 0,5 lên 0,8 dần dần cải thiện tỷ lệ tín hiệu nhiễu của hình ảnh chuột; (B): Bước nhập các thông số cần phân tích; (C): Kết quả phân tích sự di chuyển của chuột; (D): Tracking và biểu đồ quãng đường theo thời gian

Hình 3.4. Quy trình làm việc của MouseActivity

3.6.1. Thê trọng chuột

Cân nặng của chuột được theo dõi và đo vào mỗi tuần. Tất cả số chuột trong mỗi nhóm đều được đo khối lượng. Cân nặng của chuột sẽ được đo bằng cân điện tử (CAN-DT-MINI-R01) xem tại [Hình 3.5](#). Ban đầu, một cái cốc được đặt lên cân và hiệu chỉnh về giá trị 0. Tiếp theo đó, đặt nhẹ nhàng từng con chuột vào cốc. Cuối cùng là ghi nhận lại số liệu hiển thị trên màn hình cân khi chuột đã giữ thăng bằng.

Công thức tính tốc độ tăng trưởng trung bình của từng nhóm chuột qua các tuần thử nghiệm (μ):

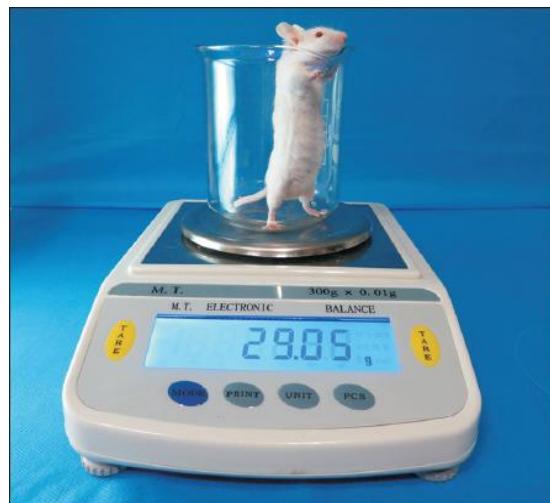
$$\mu = \frac{m_i - m_0}{m_0} \quad (3.4)$$

Trong đó: m_i , m_0 lần lượt là khối lượng trung bình của từng chuột ở tuần thứ i và ở ngày nuôi đầu tiên (ngày 1).

Công thức tính tỷ lệ giữa cân nặng và năng lượng tiêu thụ trung bình của mỗi nhóm qua các tuần thử nghiệm (T):

$$T = \frac{m_i - m_0}{N_i} \quad (3.5)$$

Trong đó: m_i , m_0 lần lượt là khối lượng trung bình của từng chuột ở tuần thứ i và ở ngày nuôi đầu tiên (ngày 1); N_i là năng lượng tiêu thụ trung bình của từng nhóm chuột ở tuần thứ i .

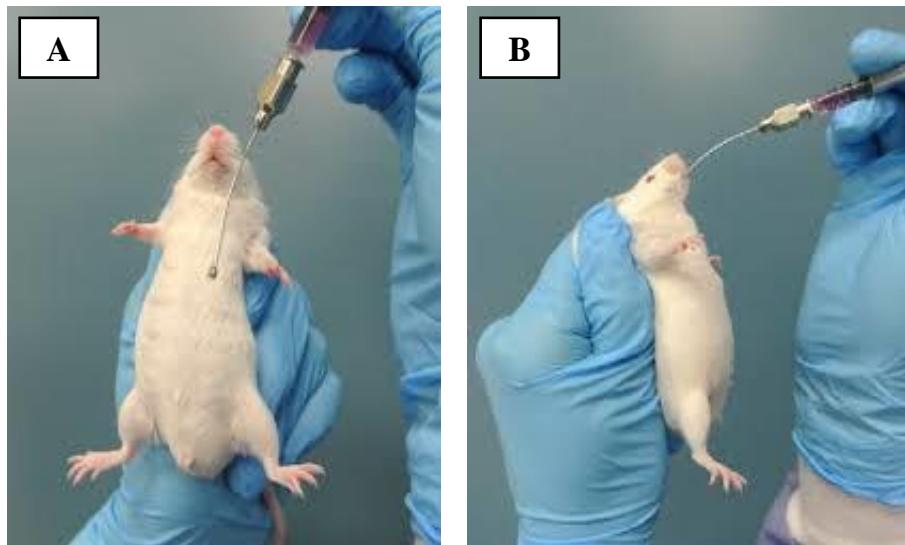


Hình 3. 5. Phương pháp cân chuột trong thử nghiệm in vivo

3.6.2. Các chỉ tiêu sinh hóa

3.6.2.1. Khả năng dung nạp glucose (Oral Glucose tolerance test)

Đo khả năng dung nạp glucose là một phương pháp sàng lọc đơn giản để phát hiện những thay đổi trong chuyển hóa glucose ([Ayala và cộng sự, 2010](#)). Khả năng dung nạp glucose là phương tiện duy nhất để xác định rối loạn dung nạp glucose ([Andrikopoulos và cộng sự, 2008](#)). được cho nhịn đói qua đêm (16 giờ) trước khi thử nghiệm ([Jürgens và cộng sự, 2007](#)). Theo [Shin và cộng sự \(2007\)](#), các xét nghiệm đường huyết được thực hiện bằng cách bơm 7,5% (w/v) glucose (0,5 ml) trực tiếp qua đường miệng bằng kim Gavage 18G (Hình 3.6). Mẫu máu sẽ được lấy từ tĩnh mạch đuôi của mỗi con chuột tại 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 và 240 phút. Nồng độ đường (glucose) huyết trong máu được đo bằng thiết bị Accu-Chek (Roche Diagnostics, Toronto, ON, Canada) (phạm vi đo 10-600 mg/dL hoặc 0,6-33,3 mmol/L), thông qua phản ứng glucose oxidase và đo màu xác định.



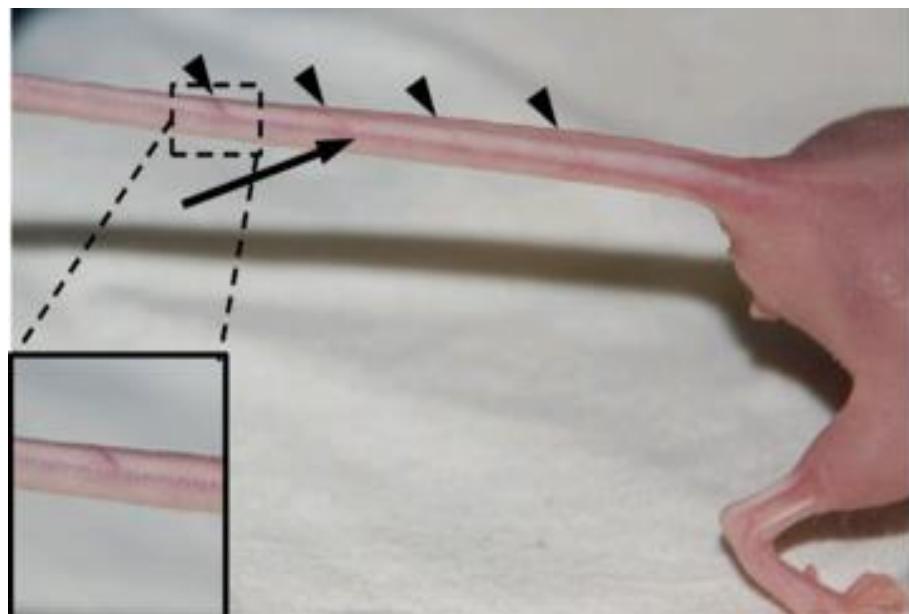
- (A) Đo khoảng cách từ khoang miệng đến điểm đuôi của xương ức
(B) Tiến hành bơm dung dịch glucose

Hình 3. 6. Kỹ thuật bơm trực tiếp glucose qua đường miệng

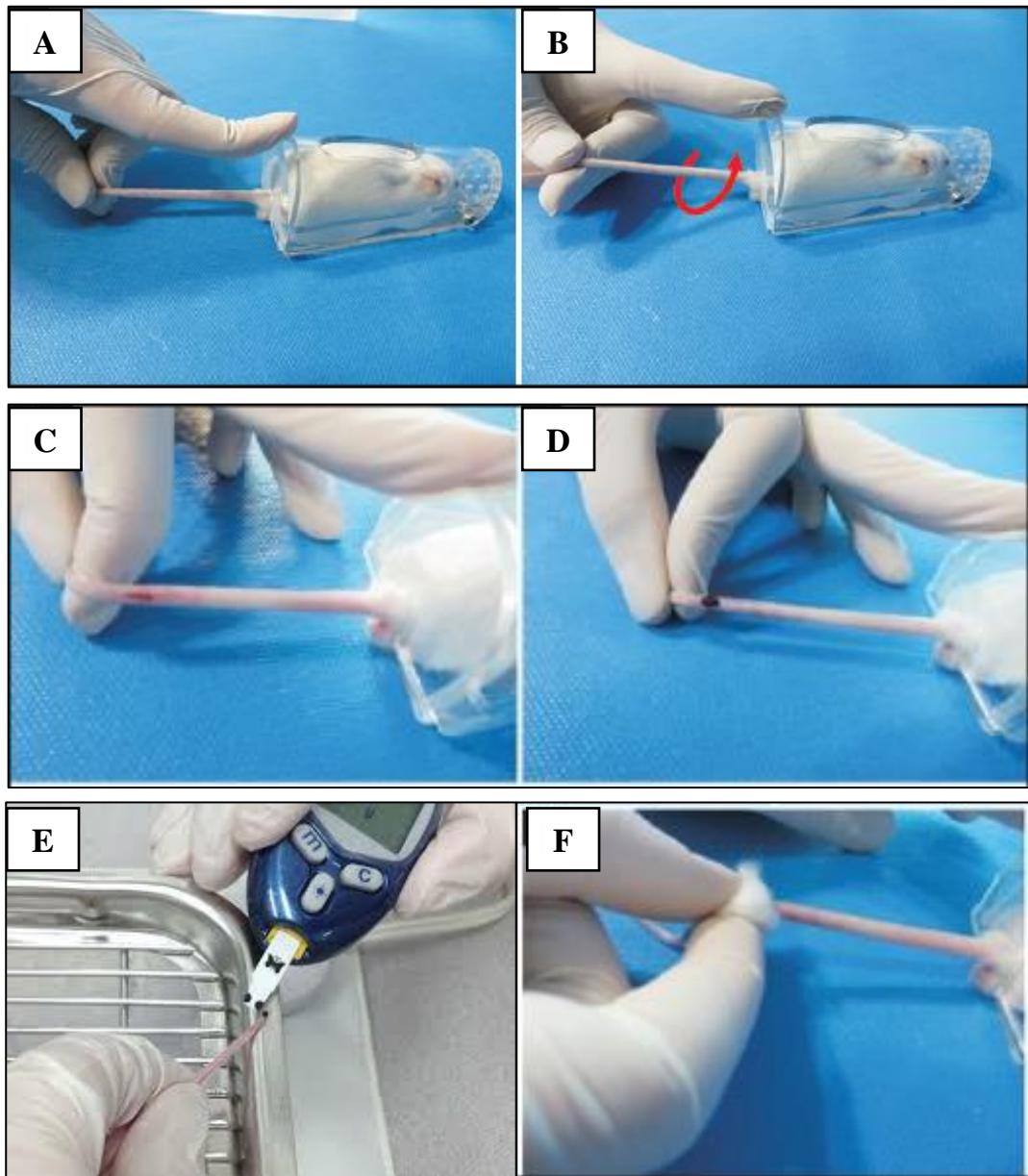
Theo [Diehl và cộng sự \(2001\)](#), khi lấy máu đuôi không cần thiết phải gây mê và được thực hiện bằng cách sử dụng kim tiêm đâm thẳng tĩnh mạch bên đuôi. Tuy nhiên, không nên

sử dụng cùng một vị trí đâm mà nên sử dụng các điểm khác nhau dọc theo tĩnh mạch đuôi [Hình 3.7](#).

Quy trình đo đường huyết cáp tĩnh được tiến hành như [Hình 3.8](#). Chuột được giữ thoải mái trong dụng cụ cố định, duy trì nhiệt độ trong khoảng 27 đến 30°C. Hiệu chỉnh thiết bị Accu-chek với kít thử glucose. Sử dụng cồn 70° để sát khuẩn vùng đuôi và làm rõ tĩnh mạch. Đo nồng độ glucose ($T=0$) tại thời điểm lấy chuột ra khỏi chuồng. Dùng kim tiêm lấy một mẫu máu nhỏ (~3 μ l) ở tĩnh mạch bên đuôi chuột cách vị trí đầu đuôi 1 đến 2 cm. Chạm trực tiếp đầu que thử đã đặt sẵn trong thiết bị Accu-chek vào mẫu máu nhỏ, thiết bị sẽ tự động hiển thị kết quả sau 5 giây. Sau đó, dùng bông gạc thấm cồn 70° chạm trực tiếp vào vết thủng cho đến khi máu đông lại và đưa chuột trở lại chuồng của nó ([Heikkinen và cộng sự, 2007; Muniyappa và cộng sự, 2008](#)). Kết thúc đo nồng độ glucose ở thời điểm ($T=0$), ngay lập tức bơm dung dịch 7,5% (w/v) glucose (0,5 ml) vào chuột bằng đường miệng. Thực hiện lặp lại các bước ở ($T=0$) cho các mốc thời gian khác nhau trong 4 giờ.



Hình 3.7. Tĩnh mạch máu bên của đuôi chuột



- | | |
|---|---|
| (A) <i>Đưa chuột vào dụng cụ cốc định</i> | (D) <i>Đâm thủng đuôi</i> |
| (B) <i>Xoay đuôi tìm vị trí tĩnh mạch</i> | (E) <i>Áp trực tiếp đầu kít vào mao máu</i> |
| (C) <i>Sát khuẩn đuôi và làm rõ tĩnh mạch</i> | (F) <i>Sát khuẩn và cầm máu sau đo</i> |

Hình 3.8. Quy trình đo đường huyết

3.6.2.2. Khối lượng nội tạng

Khối lượng của các nội tạng quan trọng (gan, thận, mỡ bụng) được đo ngay sau khi thực hiện giải phẫu chuột ([Kim và cộng sự, 2017](#)).

3.6.2.3. Các chỉ số sinh hóa khác trong máu

Máu tim được lấy từ động mạch chủ tim của chuột để đo các chỉ số trong máu như triglyceride (TG), cholesterol total (TC), HDL cholesterol, LDL cholesterol ([Ojewale và cộng sự, 2020](#)). Mẫu máu đựng trong ống nghiệm chuyên dụng chứa chất chống đông máu. Sau đó, mẫu máu được chuyển đến bệnh viện Y khoa Phạm Ngọc Thạch để đo đạt các chỉ số như trên. Trong quá trình vận chuyển mẫu máu được bảo quản lạnh để hạn chế các tác động của môi trường bên ngoài.

3.7. Các phương pháp thực hiện trên mẫu thực vật

3.7.1. Xác định khả năng kháng α -glucosidase trong thử nghiệm *in vitro*

Mẫu CED (50g) đựng trong lọ thủy tinh kín, đậy nắp được vận chuyển đến phòng thí nghiệm Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn, để đo khả năng kháng α -glucosidase. Phương pháp đo dựa trên nguyên tắc của [Hakamata và cộng sự \(2009\)](#); [Nga Vo Thi và cộng sự \(2019\)](#) với một vài chỉnh sửa: Enzyme α -glucosidase thủy phân cơ chất 1-nitro-4-hydroxybenzene α -D-glucopyranoside (pNPG) thành α -D-glucose and *p*-nitrophenol (pNP). Hoạt tính ức chế α -glucosidase được xác định dựa trên độ hấp thụ của *p*-nitrophenol (pNP) tạo thành.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \quad (3.6)$$

$A_{control}$: độ hấp thụ của mẫu chuẩn (không có tác nhân ức chế)

A_{sample} : độ hấp thụ của mẫu thử nghiệm

Cách thực hiện như sau: Hỗn hợp phản ứng gồm 60 μ L dung dịch đệm phosphate (100 mM, pH 6.8), 20 μ L mẫu thử nghiệm ở các nồng độ khác nhau và 20 μ L of α -glucosidase (0.3 IU/mL) được bơm vào đĩa 96 giếng và được ủ ở 37 °C trong 10 phút. Sau đó, thêm vào hỗn này 100 μ L dung dịch *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (200 μ M) pha trong đệm phosphate. Tiếp theo ủ hỗn hợp phản ứng ở 37 °C trong 30 phút. Cuối cùng, thêm vào hỗn hợp này 50 μ L

NaOH solution (50 mM). Độ hấp thụ của *p*-nitrophenol (pNP) được đo ở bước sóng 405 nm máy ELX800 (BIOTEX). Acarbose được sử dụng như mẫu đối chứng dương.

3.7.2. Xác định dư lượng ethanol

Dư lượng ethanol trong mẫu cao chiết được phân tích bằng phương pháp Ref. AOAC.968.09 bởi trung tâm phân tích kỹ thuật cao Sài Gòn thuộc công ty TNHH Khoa Học và Công Nghệ Sài Gòn.

3.8. Phương pháp xác định liều gây độc

Trước khi tiến hành thí nghiệm, bốn nhóm chuột trưởng thành với khối lượng 30 ± 1 g được sử dụng để nghiên cứu về liều gây độc. Môi trường nuôi chuột có độ ẩm từ 45 – 50%, nhiệt độ phòng duy trì $30\pm2^{\circ}\text{C}$, với chu kỳ 12 giờ sáng/tối và cung cấp đủ nước khoáng Lavie trong suốt thời gian thử nghiệm. Chuột được cho sử dụng cao chiết với liều 500, 1000, 1500, 2000 mg/kg thể trọng/ngày trong khoảng thời gian 3 tháng. Chuột được theo dõi hành vi, các dấu hiệu ngộ độc và cân nặng mỗi ngày. Liều thử tối đa được lựa chọn là 2000 mg/kg/ngày tương tự với nghiên cứu của [Taher và cộng sự \(2016\)](#), về hoạt động hạ đường huyết của chiết xuất ethanol của *Garcinia mangostana Linn* ở chuột mắc bệnh đái tháo đường.

3.9. Phương pháp thống kê

Kết quả của thí nghiệm được biểu diễn bằng giá trị trung bình \pm sai số chuẩn (SE). Kết quả được tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel 2010. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Statistical Product and Services Solutions (SPSS) 16.0. Giá trị trung bình được phân tích ANOVA theo phép thử D'Agostino, giá trị $p < 0,05$ chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê. Đồ thị được biểu diễn bằng phần mềm GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Inc.). Diện tích dưới đường cong của đường huyết được tính bởi phần mềm OriginLab 2019a (OriginLab Corporation, Northampton, USA).

CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ BÀN LUẬN

4.1. Dư lượng ethanol trong cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu (CED)

Theo [FDA \(2011\)](#), ethanol được xếp vào nhóm dung môi độc hại thấp được sử dụng với liều lượng ≤ 50 mg/ngày hoặc dư lượng dung môi $\leq 0.5\%$ (w/w) so với cao chiết. Hàm lượng ethanol trong CED là 63.8 mg/kg chiếm 0.00638% (w/w). Trong nghiên cứu này, liều thử cao nhất trong thử nghiệm này là 1400 mg/kg/ngày tương ứng với lượng ethanol dung nạp là 0.089 mg/ngày nên nằm trong giới hạn cho phép và không gây độc cho động vật.

4.2. Liều gây độc cấp tính trong cao chiết (CED)

Chuột trưởng thành với khối lượng 30 ± 1 g được cho sử dụng CED với liều 500, 1000, 1500, 2000 mg/kg thể trọng/ngày trong khoảng thời gian 3 tháng để xác định liều gây độc cấp tính (LD_{50}). Trong quá trình thử CED không có con vật nào bị chết, không có dấu hiệu độc tính nào được quan sát thấy trong hành vi, của chuột ở các liều. Do đó, LD_{50} của CED ước tính là cao hơn 2000 mg/kg/ngày. Liều gây độc cấp tính xác định trước khi tiến hành thử nghiệm để lựa chọn các liều thử trên động vật cho phù hợp. Trong 2 thử nghiệm của chúng tôi, chuột sử dụng CED với liều 200, 600, 1000, 1400 mg/kg/ngày đều thấp hơn LD_{50} nên hoàn toàn

Khả năng kháng α -glucosidase của CED trong thử nghiệm *in vitro*

Mẫu cao chiết CED (50g) được đựng trong lọ thủy tinh, đậy kín được chuyển đến phòng thí nghiệm của Trường đại học Công nghệ Sài Gòn, để đo khả năng kháng α -glucosidase. Kết quả đánh giá khả năng kháng α -glucosidase của CED được trình bày ở [Bảng 4.1](#):

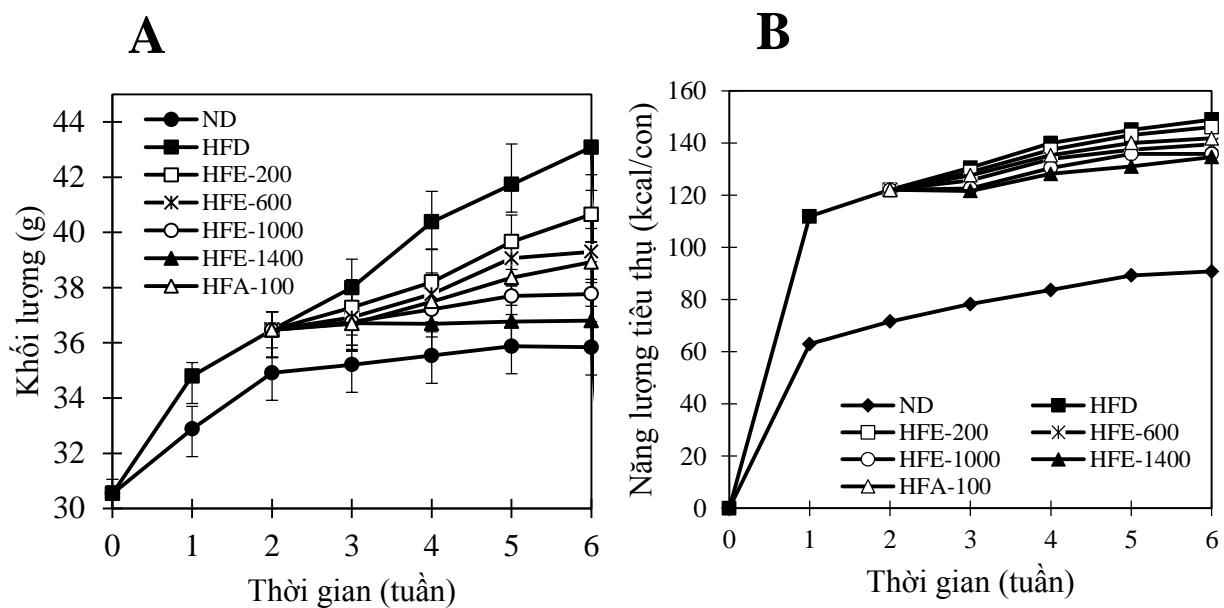
Bảng 4. 1. Khả năng kháng α -glucosidase của CED *in vitro*

Mẫu thử	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)					IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	25	50	100	150	200	
Cao CED	25.3 ± 0.5	34.5 ± 0.2	43.0 ± 0.3	56.2 ± 0.4	60.1 ± 0.2	132.8 ± 0.2
Acarbose	35.5 ± 0.4	41.0 ± 0.6	47.2 ± 0.2	51.6 ± 0.4	56.9 ± 0.2	135.4 ± 0.2

CED: Cao chiết ethanol từ cây Dương đầu; IC₅₀: nồng độ ức chế 50 % đối tượng thử

Khả năng kháng α -glucosidase của CED đạt giá trị $IC_{50} = 132.8 \pm 0.2$ ($\mu\text{g/mL}$). Acarbose là hợp chất có khả năng kháng α -glucosidase (thường dùng để điều trị bệnh đái tháo đường) được lựa chọn làm đối chứng. Theo [Bảng 4.1](#), khả năng ức chế α -glucosidase của acarbose với giá trị $IC_{50} = 135.4 \pm 0.2$ ($\mu\text{g/mL}$). Từ kết quả trên cho thấy CED có khả năng ức chế α -glucosidase tốt hơn acarbose trên thử nghiệm *in vitro*. Kết quả trên cũng tương đồng với nghiên cứu của về khả năng kháng α -glucosidase của cao chiết từ cây thực vật hiệu quả hơn so với đối chứng acarbose ([Mohamed và cộng sự, 2011](#)).

4.4. Thể trọng của các nhóm chuột thử nghiệm



Chú thích: (A), (B): *lần lượt là đồ thị thể trọng và năng lượng tiêu thụ của các nhóm chuột; ND: nhóm sử dụng khẩu phần ăn tiêu chuẩn; HFD: nhóm sử dụng khẩu phần giàu chất béo; HFE-200, HFE-600, HFE-1000, HFE-1400: nhóm sử dụng khẩu phần giàu béo kết hợp sử dụng cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu với liều lượng lần lượt là 200; 600; 1000; 1400 mg/kg thể trọng/ngày (chia 2 lần/ngày); HFA-100: nhóm sử dụng khẩu phần giàu béo kết hợp sử dụng acarbose với liều lượng 100 mg/kg thể trọng/ngày (chia 2 lần/ngày). Các giá trị trong đồ thị biểu thị giá trị trung bình \pm sai số chuẩn (SE) ($n=5$).*

Hình 4. 1. Thể trọng và năng lượng thu được từ bữa ăn (kcal/con/ngày) của các nhóm trong 6 thử nghiệm

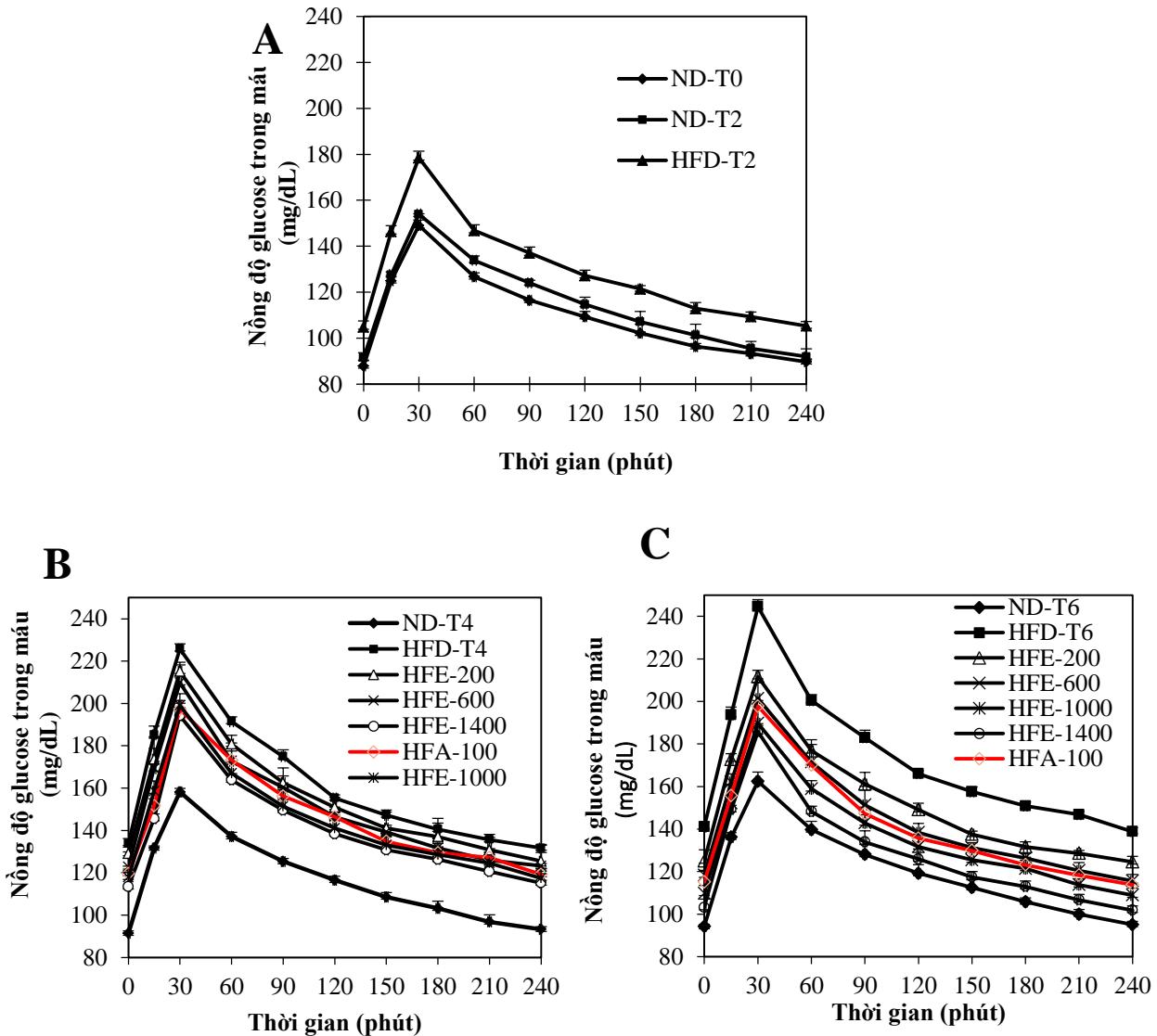
Những thay đổi về khối lượng cơ thể (BW) của các nhóm động vật thử nghiệm được thể hiện trong [Hình 4.1](#). Theo [phụ lục 1](#), ở tuần 1 và tuần 2, có sự khác biệt rõ rệt về cân nặng của nhóm ăn khẩu phần giàu béo và tiêu chuẩn. Tuần 3, những con chuột ăn khẩu phần HF được phân thành các nhóm nhỏ để thử nghiệm ([Hình 3.2, thử nghiệm 1](#)). Vào tuần 4 và tuần 5, BW các nhóm chuột đã có khác biệt; tuy nhiên, tại tuần 6 sự khác biệt này là rõ ràng nhất. Ở tuần 6, các giá trị về BW được sắp xếp theo thứ tự sau: ND < HFE-1400 < HFE-1000 < HFA-100 < HFE-600 < HFE-200 < HFD. Ở các nhóm sử dụng CED, giá trị BW không có sự khác biệt đáng kể so với nhóm HFA-100 nhưng thấp hơn đáng kể so với nhóm HFD ($p<0.05$). Nhóm HFE-1400 có BW thấp nhất (36.80 ± 1.38 g) và không có sự thay đổi nhiều so với tuần 2 (lúc mới bắt đầu sử dụng CED). Theo các nghiên cứu trước, nếu trọng lượng cơ thể của nhóm chuột thử nghiệm lớn hơn 10–25% so với nhóm chuột đối chứng thì nhóm thử nghiệm đã bị béo phì ở mức trung bình ([Schwarz và cộng sự, 2002](#)). Trong nghiên cứu này, khối lượng trung bình của nhóm HFD, HFE-200, HFE-600, HFE-1000, HFE-1400, A-100 cao hơn nhóm ND lần lượt là 20.20%, 13.42%, 9.65%, 5.38%, 2.68%, 8.61%. Từ kết quả trên cho thấy, các nhóm HFD, HFE-200 đã bị béo phì ở mức độ trung bình. Như vậy, nhóm HFE-200 cũng nằm trong nhóm bị béo phì vì chỉ sử dụng CED ở mức thấp. Ngoài ra, nhóm HFE-1000, HFE-1400 có cân nặng ổn định, không có sự khác biệt quá lớn so với nhóm ND.

Trong nghiên cứu này, các nhóm chuột được cho ăn theo nhu cầu sử dụng (khối lượng thức ăn không bị giới hạn). Nhóm HFD và các nhóm sử dụng CED được cho ăn khẩu phần HF có năng lượng 4.8 kcal/g thức ăn. Nhóm ND ăn khẩu phần tiêu chuẩn có năng lượng 3.1 kcal/g thức ăn. Hầu hết các nhóm đều có BW tăng tương ứng với mức năng lượng ăn vào ([Hình 4.1A và Hình 4.1B](#)). Mức độ tiêu thụ năng lượng của các nhóm sử dụng CED có sự khác biệt không đáng kể so với HFD. Tuy nhiên, giá trị BW của các nhóm sử dụng CED thấp hơn đáng kể so với nhóm HFD. Từ đó, có thể thấy mối tương quan giữa BW và nồng độ CED được sử dụng như sau: khi sử dụng nồng độ cao chiết càng cao thì thể trọng trung bình càng giảm. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của [Nammi và cộng sự \(2009\)](#).

Rõ ràng, nhóm HFD bị thừa cân béo phì là do tiêu thụ một chế độ ăn dư thừa năng với một lượng lớn (30%) chất béo bão hòa (mỡ bò). Từ đó, nguồn năng lượng dư thừa sẽ được chuyển hóa để dự trữ trong mô mỡ và các bộ phận các trong cơ thể. Kết quả là số lượng tế bào

mỡ và kích thước của chúng tăng lên một cách đáng kể, lượng chất béo tăng lên gây tăng cân trên động vật thử nghiệm ([Schwarz và cộng sự, 2002](#)). Nhóm ND ăn khẩu phần tiêu chuẩn có mức năng lượng và hàm lượng chất béo cân đối (thấp so với nhóm HFD) nên thể trọng và mức độ tăng cân thấp hơn nhóm HFD. Các nhóm sử dụng cao chiết (HF) có thể trọng thấp hơn so với nhóm HFD. Trong cao chiết từ rễ cây Dương đầu có chứa các hợp chất như OI3, OLAX2, OLAX5 có khả năng ức chế enzyme α -glucosidase ([Nga Vo Thi và cộng sự, 2019](#)). Enzyme đóng vai trò quan trọng trong quá trình tiêu hóa carbohydrate để cung cấp năng lượng (dưới dạng glucose) cho cơ thể. Khi sử dụng khẩu phần ăn HF (khẩu phần ăn giàu chất béo bão hòa) kết hợp với sử dụng cao chiết CED (với các hàm lượng khác nhau) thì hoạt động của enzyme α -glucosidase bị ức chế (ở các mức độ khác nhau) làm giảm khả năng tiêu hóa carbohydrate ([Kumar và cộng sự, 2011](#)). Do đó, mặc dù cùng sử dụng khẩu phần HF nhưng năng lượng thực tế thu nhận được từ khẩu phần ăn của các nhóm sử dụng CED thấp hơn so với nhóm HFD dẫn tới giảm phần năng lượng dư thừa, giảm khối lượng cơ thể và hạn chế tích tụ mỡ trong cơ thể. Kết quả trong nghiên cứu này đã cho thấy, khi sử dụng cao chiết CED với liều càng cao thì cân nặng sẽ thấp dần. Điều này tương tự với báo cáo của [Nammi và cộng sự \(2009\)](#) về ảnh hưởng của chiết xuất ethanol từ thân rễ Zingiber officinale đến khả năng kháng α - glucosidase trên mô hình chuột sử dụng khẩu phần ăn giàu béo.

4.5. Khả năng dung nạp glucose qua đường miệng (OGTT)



Chú thích: Nồng độ glucose trong máu tuần 0 và tuần 2 (A), tuần 4 (B) và tuần 6 (C); ND: nhóm sử dụng khẩu phần ăn chuẩn; HFD: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu chất béo; HFE-200, HFE-600, HFE-1000, HFE-1400: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng CED với liều lượng lần lượt là 200; 600; 1000; 1400 mg/kg thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày); HFA-100 nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng acarbose 100 mg/kg thể trọng/ngày) (chia làm 2 lần/ngày). Các giá trị trong đồ thị biểu thị giá trị trung bình ± sai số chuẩn ($n=5$);

Hình 4. 2. Đồ thị khả năng dung nạp glucose qua đường miệng của các nhóm chuột

Bảng 4.2. So sánh diện tích dưới đường cong (AUC) của quá trình dung nạp glucose

Nhóm	Diện tích dưới đường cong AUC (dvdt)		
	Tuần 2	Tuần 4	Tuần 6
S _{HFD}	6032.92 ± 14.14 ^a	7333.43 ± 14.68 ^b	8134.09 ± 17.27 ^c
S _{HFE-200}	6032.92 ± 14.14 ^a	6899.48 ± 16.43 ^b	6844.95 ± 24.70 ^b
S _{HFE-600}	6032.92 ± 14.14 ^a	6795.30 ± 23.15 ^b	6770.94 ± 29.35 ^b
S _{HFE-1000}	6032.92 ± 14.14 ^a	6631.72 ± 20.28 ^c	6548.92 ± 10.89 ^b
S _{HFE-1400}	6032.92 ± 14.14 ^a	6556.15 ± 12.70 ^c	6506.76 ± 15.80 ^b
S _{HFA-100}	6032.92 ± 14.14 ^a	6650.57 ± 14.51 ^b	6627.94 ± 6.11 ^b

Chú thích: S: diện tích; HFD: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu chất béo; HFE-200, HFE-600, HFE-1000, HFE-1400: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng CED với liều lượng lần lượt là 200; 600; 1000; 1400 mg/kg thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày); HFA-100 nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng acarbose 100 mg/kg thể trọng/ngày) (chia làm 2 lần/ngày). Các giá trị trong đồ thị biểu thị giá trị trung bình ± sai số chuẩn ($n=5$); Các giá trị (a, b, c) khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p<0.05$)

[Hình 4.2](#) cho thấy, tất cả các nhóm chuột sau khi sử dụng dung dịch 7.5% glucose (0.5ml) thì mức glucose trong máu (BGL) tăng nhanh và đạt cực đại sau 30 phút. Sau đó, BGL giảm dần ở tất cả các nhóm thử nghiệm ([Lee và cộng sự, 2012](#)). Theo [hình 4.2A](#), ở tuần 2, BGL của nhóm ND thấp hơn đáng kể so với nhóm HFD ở các thời điểm đo ($p<0.05$). Tuy nhiên, mức glucose trong máu lúc đói và sau khi ăn của nhóm HFD chưa đủ cao để kết luận nhóm chuột này mắc bệnh đái tháo đường ([WHO, 1980](#)). Tại tuần 4, BGL của nhóm HFD cao nhất, nhóm ND thấp nhất, nhóm HFA-100 ~ HFE-1000 nằm ở giữa. Nhóm HFD không được sử dụng cao chiết nên BGL ở các thời điểm đo đều cao hơn so với nhóm ND, HFE và HFA một cách đáng kể. Theo [hình 4.2B](#), giá trị BGL của nhóm được xếp theo thứ tự HFE-200 > HFE-600 > HFE-1000 > HFE-1400. Nhóm sử dụng acarbose có giá trị BGL tương đương với nhóm HFE-1000 ($p<0.05$). Ở [hình 4.2C](#), tại tuần 6, mức glucose trong máu của các nhóm được sắp theo thứ tự HFE-200 > HFE-600 > HFE-1000 > HFE-1400, tương tự như tuần 4. Tuy nhiên ở tuần 6, BGL của nhóm sử dụng acarbose có sự tương đồng với nhóm HFE-600 ($p<0.05$). Từ các kết quả trên có thể kết luận rằng sử dụng liều lượng cao chiết càng cao thì

BGL càng thấp ([Kang et al., 2012](#)). Như vậy, qua 4 tuần thử nghiệm cao chiết, việc sử dụng cao chiết ethanol ở liều lượng 600 mg/kg thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày) có tác dụng hạ glucose trong máu tương đương với nhóm sử dụng acarbose 100 mg/kg.thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày).

Mức đường huyết của nhóm ND từ tuần đầu tiên đến tuần thứ 6 không có sự khác biệt ($p < 0.01$), chứng tỏ nhóm này không phát sinh tình trạng bệnh lý ([Y. Wang và cộng sự, 2019](#)). Ngược lại BGL của nhóm HFD từ tuần 2 đến tuần 6 tăng lên rõ rệt ($p < 0.05$). Tại tuần 6, BGL lúc đói của nhóm HFD > 125 mg/dl, chứng tỏ nhóm HFD đã mắc bệnh đái tháo đường loại 2 ([WHO, 1980](#)). Mức glucose trong máu nhóm HFE-200, HFE-600 và HFA-100 không có sự khác biệt giữa tuần 4 và tuần 6; nhưng cao hơn so với tuần 2. Tuy nhiên, ở tuần 6, BGL ở nhóm HFE-1000 và HFE-1400 giảm so với tuần 4. Qua nhận xét trên có thể kết luận rằng, sử dụng cao chiết ở liều càng cao và thời gian càng dài sẽ giúp giảm BGL trên động vật thử nghiệm (trên nền đái tháo đường loại 2 và thừa cân béo phì).

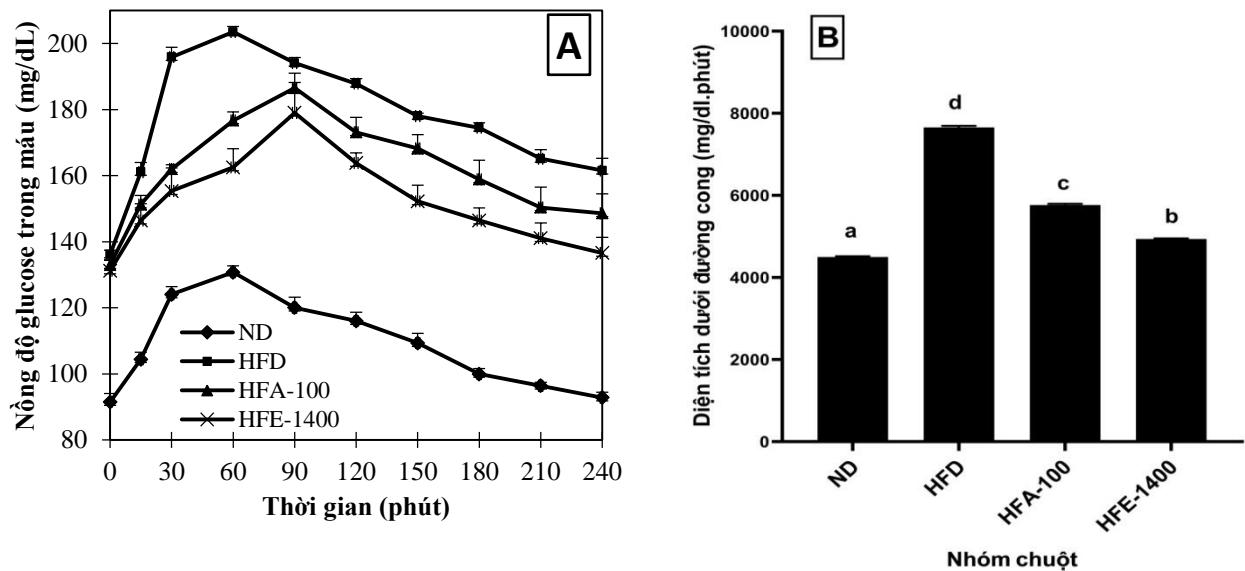
Theo [phụ lục 6](#), ở tuần 2, tuần 4 và tuần 6, AUC của nhóm HFD cao hơn đáng kể so với nhóm ND ($p < 0.05$). Ở tuần 4, giá trị AUC giữa tất cả nhóm thí nghiệm có sự khác biệt ($p < 0.05$). Tuy nhiên, AUC của nhóm HFE-1000 và HFA-100 là không có sự khác biệt. Ngoài ra, ở tuần 6, AUC của HFE-1000 \approx HFE-1400 và thấp hơn đáng kể so với HFA-100. Những kết quả trên chứng tỏ, liều dùng cao chiết càng lớn thì giá trị AUC (mức năng lượng mà cơ thể hấp thu được càng thấp). Nói cách khác, tổng năng lượng mà cơ thể hấp thu được từ thức ăn giảm tương ứng với liều cao chiết được sử dụng. Dựa theo [Bảng 4.2](#), AUC của nhóm HFD từ tuần 2 đến tuần 6 tăng đáng kể ($p < 0.05$) so với tuần 0 và tuần 2. AUC các nhóm HFE-200, HFE-600 và HFA-100 thì không có sự khác biệt giữa tuần 4 và tuần 6; nhưng có sự khác biệt đáng kể so với tuần 2. Tuy nhiên, AUC của HFE-1000 và HFE-1400 ở tuần 6 thấp hơn đáng kể so với tuần 4. Từ kết quả này chúng tôi có thể nhận xét rằng, sử dụng cao chiết giúp duy trì BGL ở những nhóm chuột ăn khẩu phần giàu béo.

Cao chiết ethanol CED đã ức chế được α -glucosidase ở các mức độ khác nhau từ đó làm giảm BGL. Năng lượng cơ thể hấp thu được (tính theo glucose máu) ở các nhóm HFE lấy từ khẩu phần ăn thấp hơn so với nhóm HFD. Điều này cũng đồng nghĩa với việc năng lượng dư thừa và sự hình thành tế bào mỡ ở các nhóm HFE là thấp hơn so với HFD. Vì vậy, mức độ béo phì ở các nhóm HFE sẽ thấp hơn nhóm HFD, nên tình trạng kháng insulin ở nhóm HFE cũng sẽ

thấp hơn so với HFD. Bên cạnh đó, cao chiết ethanol còn giúp tăng kích thích tiết insulin cải thiện việc tăng mức glucose trong máu ở các nhóm HFE (Petersen & Shulman, 2006).

Trong cao chiết ethanol từ cây Dương dầu có chứa gốc acetylenic acid. Theo nghiên cứu của Zeng và cộng sự (2017), thì gốc acetylenic acid giúp cải thiện tình trạng kháng insulin ở chuột ăn nhiều chất béo. Từ đó, có thể kết luận rằng, khi sử dụng CED ở liều lượng 1000; 1400 mg/kg thể trọng/ngày sẽ hạn chế đáng kể quá trình hấp thu chất béo, giảm hấp thu năng lượng, ổn định thể trọng. Ngoài ra, trong cao chiết ethanol có chứa dẫn xuất của oleanolic acid. Đây là hợp chất có khả năng ức chế α -glucosidase (AIGs) đã được xác định trên thử nghiệm *in vitro* (Nga Vo Thi và cộng sự, 2019). Các nghiên cứu tương tự cũng đã xác nhận rằng acid oleanolic và các dẫn xuất của nó đạt được sự kiểm soát đường huyết bằng cách ức chế hoạt tính α -glucosidase (Zhong và cộng sự, 2019). Bên cạnh đó, trong nghiên cứu này, các nhóm chuột sử dụng chế độ HF kết hợp sử dụng CED thì có sự cải thiện đáng kể việc tăng glucose máu. Kết quả thu được từ nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với nghiên cứu của (Shen và cộng sự, 2015). Điểm đặc biệt của hợp chất AIGs này là nó có thể hỗ trợ kích thích tiết ra glucagon like peptide-1 (GLP1), giúp giảm đường huyết sau ăn nhờ vào quá trình kích thích tiết insulin và ức chế tiết glucagon (Drucker & Nauck, 2006). GLP-1 sẽ được tiết ra ở tế bào L của hồi tràng khi có chất dinh dưỡng đi vào, GLP-1 đóng vai trò như một hormone ức chế nhu động ruột, từ đó là chậm quá trình hấp thu chất dinh dưỡng vào cơ thể (Flint và cộng sự, 1998).

4.6. Đường huyết sau khi sử dụng tinh bột



Chú thích: (A),(B): lần lượt là đồ thị đường huyết và biểu đồ diện tích dưới đường cong của quá trình dung nạp tinh bột; Các giá trị trong đồ thị 4.3 biểu thị giá trị trung bình \pm sai số chuẩn (SE) ($n=4$); ND: nhóm sử dụng khẩu phần ăn chuẩn; HFD: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu chất béo; HFE-1400: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng CED với liều lượng 1400 mg/kg thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày); HFA-100 nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng acarbose 100 mg/kg thể trọng/ngày) (chia làm 2 lần/ngày). Các giá trị chữ (a, b, c, d) khác nhau trong biểu đồ biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p<0.05$)

Hình 4.3. Đường huyết sau khi sử dụng tinh bột của các nhóm

Hình 4.3 cho thấy mức đường huyết của nhóm được xếp theo thứ tự ND < HFE-1400 < HFE-100 < HFD. Nhóm HFD, HFE-1000 và HFA-100 có giá trị BGL lúc đói giống nhau ($p<0.05$) (phụ lục 7), điều này chứng tỏ rằng những con chuột sử dụng cho thí nghiệm dung nạp tinh bột (0.5 ml; 7.5%) có mức sinh trưởng đồng đều nhau sau 6 tuần ăn khẩu phần giàu béo. Sau khi dung nạp tinh bột thì mức đường huyết của nhóm HFD và ND đạt đỉnh tại thời điểm 60 phút (Sakamoto và cộng sự, 2012; Wan và cộng sự, 2013). Trong khi đó thì nhóm HFE-1400 và HFA-100 lại đạt đỉnh ở thời điểm 90 phút, tương tự như nghiên cứu của Lee và cộng sự (2007).

Giá trị AUC sau khi dung nạp tinh bột có sự khác biệt đáng kể ($p<0.05$) giữa các nhóm ([Hình 4.3B](#)). Giá trị AUC của nhóm được xếp theo thứ tự ND $<$ HFE-1400 $<$ HFE-100 $<$ HFD ($p<0.05$). Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, việc sử dụng cao chiết CED và acarbose là có tác dụng trong việc ức chế hoạt động của enzyme α -glucosidase, từ đó làm chậm quá trình tăng glucose máu sau ăn ([Si và cộng sự, 2010](#)).

Các hợp chất AIGs có trong cao chiết có cấu trúc giống với disaccharide hoặc oligosaccharide, cho nên nó có thể liên kết với vị trí hoạt động của enzyme α -glucosidase tạo thành phức hợp có lực mạnh hơn phức hợp của carbohydrate- α -glucosidase ([Hossain và cộng sự, 2020](#)). Điều này, cho thấy các hợp chất AIGs của cao chiết có khả năng ức chế hoặc hoạt động của enzyme α -glucosidase thông qua ức chế cạnh tranh. Khi α -glucosidase bị ức chế sẽ làm chậm quá trình phân giải carbohydrate và hấp thu glucose ở niêm mạc ruột non ([Hossain và cộng sự, 2020](#)). Cho nên, khi sử dụng cao chiết hoặc acarbose sẽ giúp giảm mức đường huyết sau ăn đáng kể so với nhóm HFD. Một nghiên cứu tương tự, cho thấy chiết xuất ethanol của *Encephalartos humilis* có tác dụng ức chế α -glucosidase thông qua con đường ức chế cạnh tranh. Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng thành phần hoạt tính trong cao chiết có cấu trúc giống như cấu trúc cơ chất của α -glucosidase, có thể liên kết với vị trí hoạt động của enzyme thay vì cơ chất bình thường ([Kazeem & Ashafa, 2017](#)).

4.7. Chỉ số lipid máu

Bảng 4.3. Các chỉ số lipid máu của các nhóm chuột thí nghiệm

Tuần	Nhóm	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)	TC/ HDL	TG/ HDL	LDL/ HDL
0	ND	2.36 ^a	1.05 ^b	1.39 ^a	0.8 ^a	1.7 ^b	0.76 ^e	0.58 ^a
	ND	2.83 ^b	1.15 ^d	1.66 ^d	0.9 ^{ab}	1.7 ^b	0.69 ^d	0.54 ^a
	HFD	3.97 ^f	1.77 ^g	1.52 ^b	1.8 ^c	2.61 ^e	1.16 ^f	1.18 ^b
	HFE-200	2.8 ^b	1.19 ^e	1.57 ^c	1.0 ^{ab}	1.78 ^d	0.76 ^e	0.64 ^a
	HFE-600	3.31 ^c	1.15 ^d	1.87 ^e	1.1 ^{ab}	1.77 ^{cd}	0.61 ^c	0.59 ^a
	HFE-1000	3.36 ^c	1.09 ^c	1.93 ^f	1.1 ^{ab}	1.74 ^{bcd}	0.56 ^b	0.57 ^a
	HFE-1400	3.47 ^d	0.97 ^a	2.13 ^g	1.1 ^{ab}	1.63 ^a	0.46 ^a	0.52 ^a
	HFA-100	3.63 ^e	1.59 ^f	2.12 ^g	1.2 ^b	1.71 ^{bc}	0.75 ^e	0.57 ^a

Chú thích: TC: tổng Cholesterol; TG: Triglyceride; HDL: Lipoprotein Cholesterol tỷ trọng cao; LDL: Lipoprotein Cholesterol tỷ trọng thấp; ND: nhóm sử dụng khẩu phần ăn chuẩn; HFD: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu chất béo; HFE-200, HFE-600, HFE-1000, HFE-1400: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng CED với liều lượng lần lượt là 200; 600; 1000; 1400 mg/kg thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày); HFA-100 nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng acarbose 100 mg/kg thể trọng/ngày) (chia làm 2 lần/ngày); Các giá trị chữ (a, b, c, d, e, f, g) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p<0.05$)

Các chỉ số sinh lí trong máu gồm: TG, TC, LDL, HDL của các nhóm chuột thí nghiệm được thể hiện trong [Bảng 4.3](#). Trước khi thử nghiệm (tuần 0), nồng độ TG, TC, HDL, LDL không có sự khác biệt giữa các nhóm thí nghiệm ($p<0.05$). Tại tuần 6, những nhóm chuột ăn khẩu phần HF có sự phân hóa rõ về TG, TC, HDL, TC/ HDL, LDL/ HDL trong máu ($p<0.05$).

Tại tuần 6, nồng độ TG của các nhóm được sắp xếp như theo thứ tự sau: HFE-1400<HFE-1000<ND≈HFE-600<HFE-200<HFA-100<HFD. Rõ ràng, việc sử dụng cao chiết CED làm giảm đáng kể TG và nồng độ cao chiết sử dụng vào sẽ tách lệ nghịch với lượng TG trong máu.

Tương tự, nồng độ HDL, LDL, TC của các nhóm tại tuần 6 được sắp xếp theo thứ tự như sau:

- (1) HDL: HFD<HFE-200<ND<HFE-600<HFE-1000<HFA-100<HFE-1400.
- (2) TC: ND<HFE-200<HFE-600< HFE-1000<HFE-1400<HFA-100<HFD.
- (3) LDL: ND≈HFE-1400≈HFE-1000≈HFE-600≈HFE-200≈HFE-100<HFD

Như vậy, chỉ số HDL của các nhóm sử dụng cao chiết tỉ lệ thuận lượng với lượng CED sử dụng (Taher và cộng sự, 2016). Các nhóm chuột sử dụng khẩu phần HF đều có LDL tăng so với ND. Trong đó, nhóm HFD có lượng LDL trong máu cao nhất. Tuy nhiên, các nhóm sử dụng CED có mức LDL thấp hơn HFA-100 và thấp hơn đáng kể so với HFD. Tuy nhiên, chỉ số LDL giữa các nhóm sử dụng CED không có sự khác biệt đáng kể ($p<0.05$).

HDL và LDL là hai thành phần của TC. Các nghiên cứu cho thấy rằng, HDL cao tăng khả năng bảo vệ gan. Trong khi đó, LDL cao gây làm tăng nguy cơ mắc chứng xơ vữa động mạch (Lemieux và cộng sự, 2001). Trong các nhóm thí nghiệm, HFD có tỉ số TC/ HDL, LDL/ HDL cao nhất. Các nhóm sử dụng CED thì tỉ số TC/ HDL, LDL/ HDL giảm dần theo nồng độ nạp vào. Chỉ số LDL/ HDL của nhóm HFE200 và HFA-100 không có sự khác biệt đáng kể ($p<0.05$). Mặc dù, ND ăn khẩu phần TC tuy nhiên tỉ số TC/ HDL, LDL/ HDL vẫn cao hơn HFE-1400.

Tóm lại, trong nghiên cứu của chúng tôi đã cho thấy mối liên hệ giữa hàm lượng cao chiết đưa vào cơ thể đến các chỉ số sinh lí trong máu như sau: (i) nồng độ cao chiết tăng lên thì làm tăng HDL; (ii) giảm các chỉ số TG, TC/ HDL, LDL/ HDL và LDL không có sự thay đổi đáng kể. Kết quả này, có sự tương đồng với nghiên cứu của tác giả Lemieux và cộng sự (2001); Megalli và cộng sự (2006).

Nhóm HFD khi ăn khẩu phần HF làm chỉ số TG, TC, LDL tăng nhưng HDL lại giảm so với nhóm ND; kết quả này tương tự với nghiên cứu của (Bin-Jumah, 2019). Khi sử dụng khẩu phần ăn chứa hàm lượng chất béo cao trong thời gian dài sẽ gây rối loạn chuyển hóa lipid và làm tăng lượng acid béo hấp thụ vào trong cơ thể. Mỗi quan hệ giữa acid béo và TC, TG khá密切. Các acid béo không thể tự vận chuyển đến các mô cần thiết mà nó cần phải qua trung gian triacylglycerol. Triacylglycerol kết hợp với cholesterol tự do, phospholipid và apoprotein để tạo thành hạt chylomicrons. Chylomicrons thông qua hệ bạch huyết và máu để vận chuyển acid béo đến các mô bào (Hussain và cộng sự, 1996). Ngoài ra, cholesterol được tổng hợp tại gan từ acid béo. Vì vậy, khi tăng lượng acid béo từ thức ăn sẽ tăng quá trình tổng hợp chylomicrons và tăng TG, TC trong máu. Bên cạnh đó, LDL là chất vận chuyển TC nội sinh nên khi lượng TC tăng cũng thúc đẩy LDL tăng (Kapourchali và cộng sự, 2015).

Mặc dù, cùng ăn khẩu phần HF, tuy nhiên năng lượng cung cấp của nhóm sử dụng CED thấp hơn so với HFD. Do các chất úc chế enzyme α -glucosidase sẽ là chậm quá trình tiêu hóa

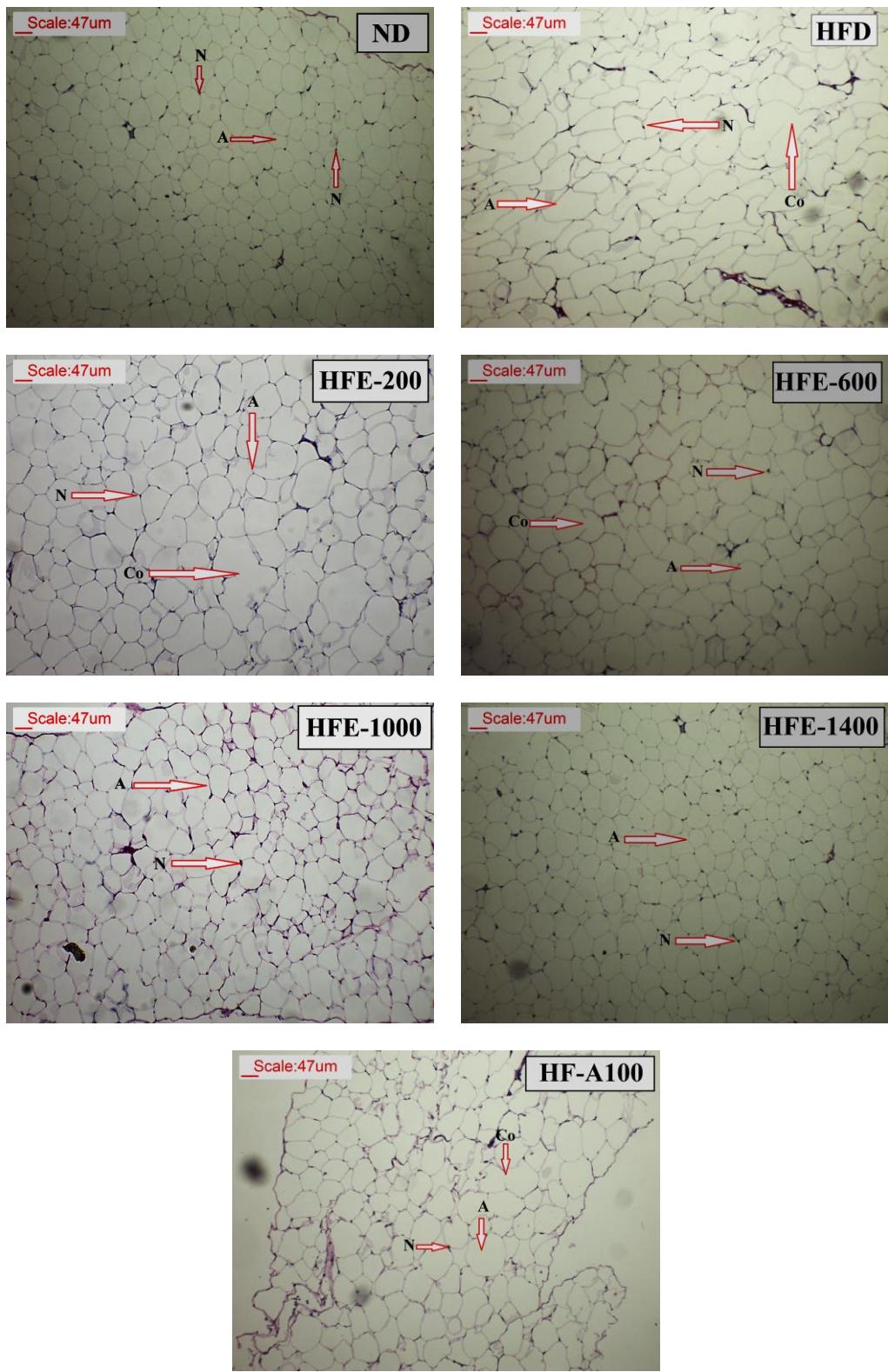
carbohydrate nên giảm lượng glucose máu (Kumar và cộng sự, 2011). Khi carbohydrate được cung cấp thấp, hoặc quá trình tiêu hóa carbohydrate không hoàn toàn, chất béo sẽ trở thành nguồn năng lượng ưu tiên (Nammi và cộng sự, 2009). Lúc này, chất béo sẽ vận chuyển đến các mô để chuyển hóa tạo thành năng lượng cung cấp cho các hoạt động sống nên làm giảm đáng kể lượng TG, TC tạo thành trong máu so với HFD. Hiện nay, sự gia tăng HDL được đánh giá liên quan đến việc giảm nguy cơ bệnh mạch vành. Các chỉ số TC/ HDL, LDL/ HDL dùng để đánh giá về nguy cơ mắc bệnh tim mạch (Lemieux và cộng sự, 2001). Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ số HDL tăng và TC/ HDL, LDL/ HDL giảm khi tăng nồng độ CED sử dụng vào. Từ đó, cho thấy CED có tác dụng tốt trong việc giảm lượng lipid trong máu và giảm nguy cơ mắc các bệnh về tim mạch trên mô hình chuột bị đái tháo đường và béo phì thừa cân.

4.8. Khối lượng và hình thái giải phẫu mô gan, thận, mõ

Bảng 4.4. Khối lượng nội tạng của các nhóm chuột thử nghiệm

Nhóm	Khối lượng gan (g)	Khối lượng gan/ Khối lượng cơ thể (%)	Khối lượng thận (g)	Khối lượng thận/ Khối lượng cơ thể (%)	Khối lượng mõ (g)	Khối lượng mõ/ Khối lượng cơ thể (%)
ND	1.28 ± 0.02^a	3.45 ± 0.07^a	0.32 ± 0.01^a	0.85 ± 0.01^a	0.66 ± 0.1^a	1.80 ± 0.3^a
HFD	1.58 ± 0.04^c	3.68 ± 0.03^b	0.43 ± 0.02^b	1.0 ± 0.04^a	2.0 ± 0.13^e	4.64 ± 0.26^e
HFE-200	1.44 ± 0.06^b	3.58 ± 0.07^{ab}	0.38 ± 0.03^{ab}	0.96 ± 0.04^a	1.55 ± 0.12^d	3.88 ± 0.3^{de}
HFE-600	1.40 ± 0.05^{ab}	3.54 ± 0.09^{ab}	0.37 ± 0.02^{ab}	0.94 ± 0.05^a	1.39 ± 0.05^{cd}	3.53 ± 0.13^{cd}
HFE-1000	1.33 ± 0.04^{ab}	3.51 ± 0.02^{ab}	0.36 ± 0.03^{ab}	0.95 ± 0.06^a	1.09 ± 0.05^{bc}	2.90 ± 0.21^{bc}
HFE-1400	1.29 ± 0.03^a	3.50 ± 0.08^{ab}	0.38 ± 0.05^{ab}	1.04 ± 0.11^a	0.92 ± 0.03^{ab}	2.50 ± 0.1^{ab}
HFA-100	1.37 ± 0.05^{ab}	3.52 ± 0.02^{ab}	0.37 ± 0.02^{ab}	0.95 ± 0.04^a	1.49 ± 0.18^d	3.83 ± 0.46^{de}

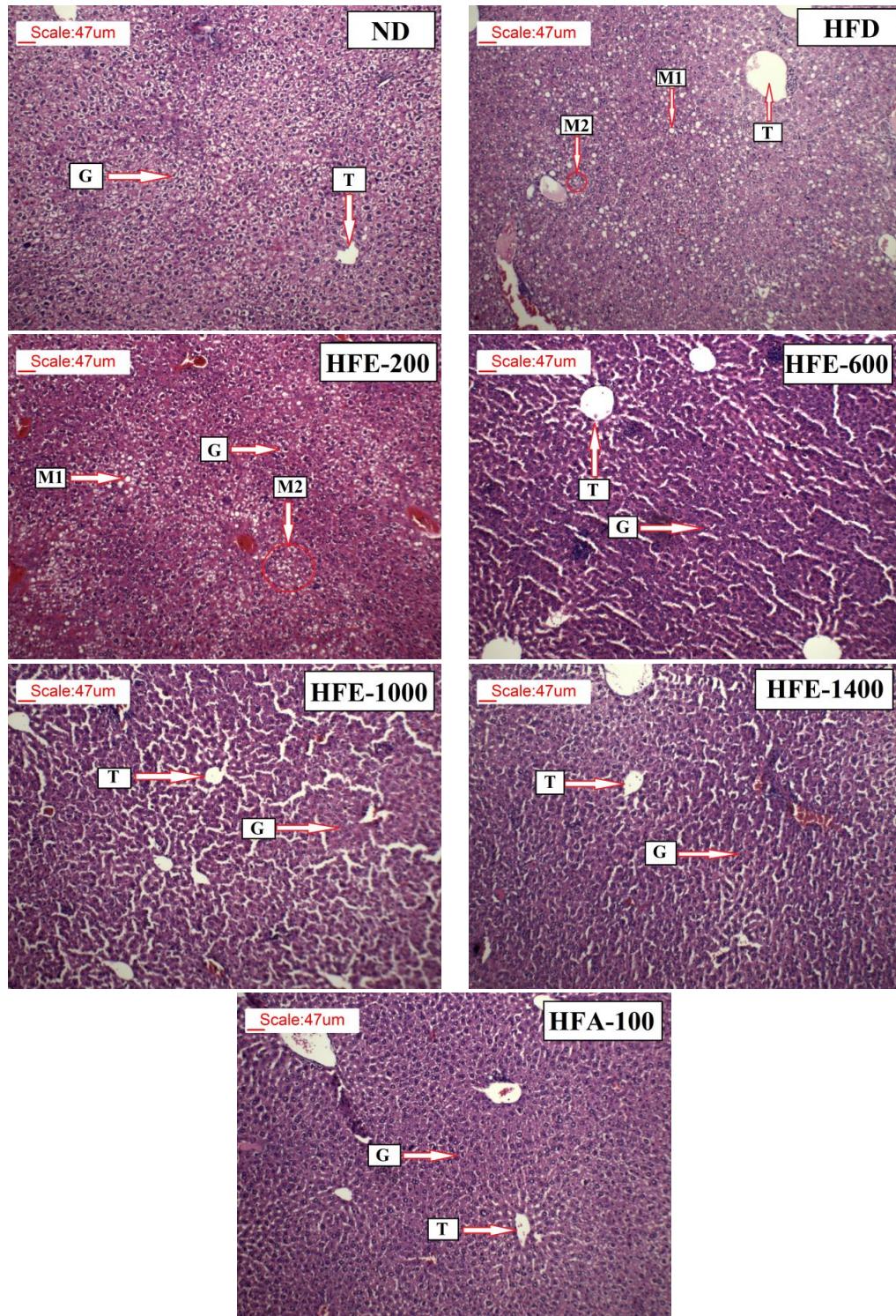
Chú thích: ND: nhóm sử dụng khẩu phần ăn chuẩn; HFD: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu chất béo; HFE-200, HFE-600, HFE-1000, HFE-1400: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng CED với liều lượng lần lượt là 200; 600; 1000; 1400 mg/kg thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày); HFA-100 nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng acarbose 100 mg/kg thể trọng/ngày) (chia làm 2 lần/ngày); Các giá trị chữ (a, b, c, d, e) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p < 0.05$)



Chú thích: A: té bào mô mỡ; N: là nhân té bào; Co: là té bào mỡ bị mất thành té bào.

Hình 4.4. Vi phẫu mő ở các nhóm chuột thí nghiệm nhuộm Hematoxylin và Eosin được quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại $\times 100$ lần.

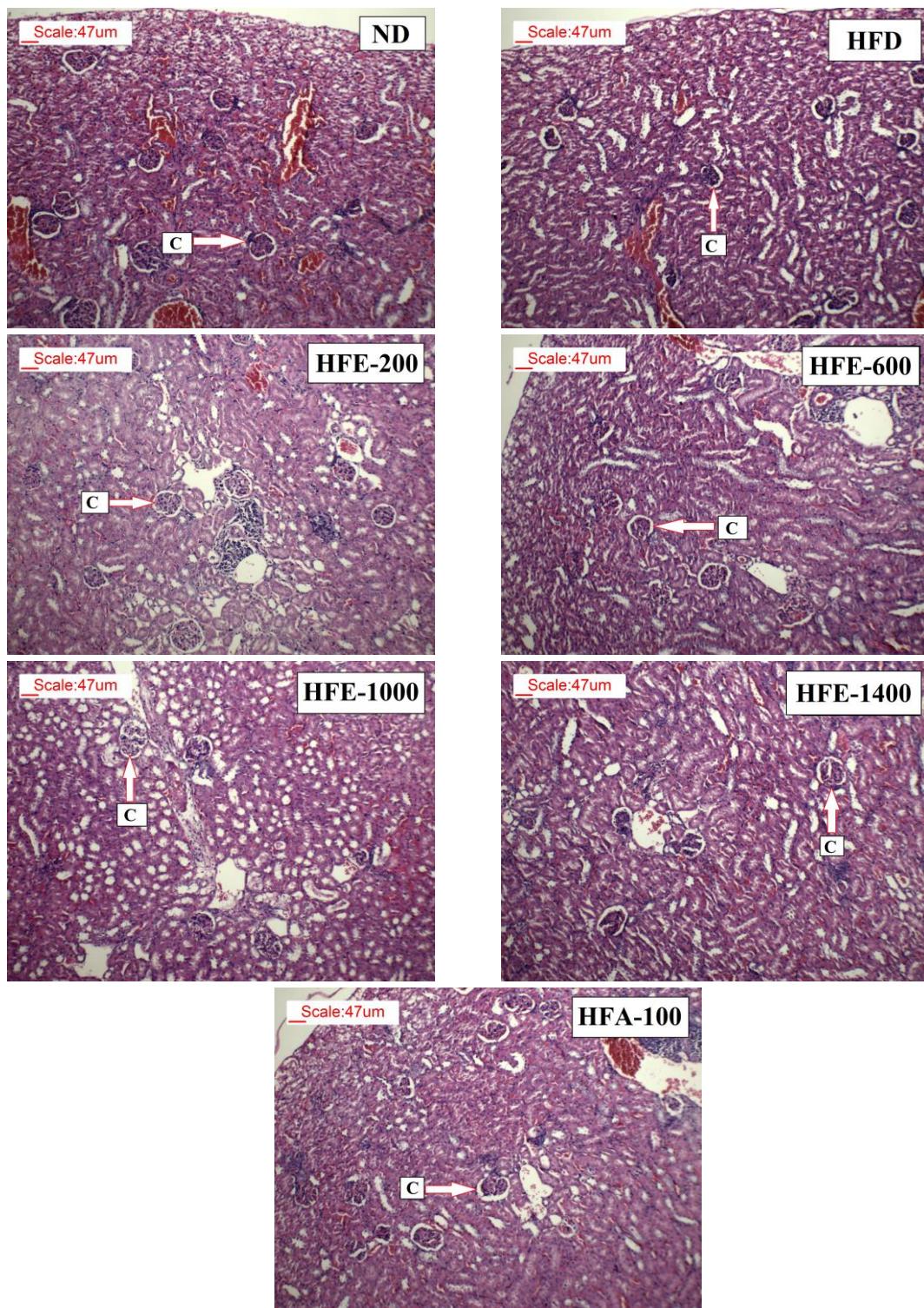
Các thông số về khối lượng mô gan, thận, mỡ của các nhóm động vật thử nghiệm được thể hiện trong [Bảng 4.4](#). Khối lượng mô mỡ của các nhóm động vật thử nghiệm được sắp xếp theo thứ tự như sau: ND < HFE-1400 < HFE-1000 < HFE-600 < HFA-100 < HFE-200 < HFD. Khối lượng mỡ của HFD tăng đáng kể so với ND và có sự khác biệt rõ rệt so với những nhóm còn lại ($p<0.05$) ([Lim và cộng sự, 2016](#)). Cụ thể, khối lượng mỡ của HFD (2.0 ± 0.13 g) gấp 3.03 lần ND, gấp 2.17 lần so với HFE-1400. Tuy nhiên, khi xét về tỉ lệ khối lượng mỡ so với khối lượng cơ thể thì không có sự khác biệt rõ rệt khác biệt giữa HFE-200, HFA-100 và HFD ($p<0.05$). Trong các nhóm sử dụng CED, khối lượng của các mô mỡ giảm dần khi tăng nồng độ cao chiết sử dụng. Kết quả tương tự cũng được các nghiên cứu trước ghi nhận ([Yamane và cộng sự, 2016](#)). Mô mỡ trắng của các nhóm thử nghiệm được thể hiện trong [Hình 4.4](#), kích thước mô mỡ của nhóm HFD lớn hơn đáng kể so với nhóm ND. Kết quả quan sát cho thấy, các tế bào mỡ của nhóm HFD có kích thước lớn dần đến tình trạng chèn ép lẫn nhau, làm biến dạng, thành tế bào bị vỡ và tiêu biến, làm mất đi liên kết giữa các tế bào (Co). Mô mỡ của các nhóm HFE-200, HFE-600 cũng xuất hiện tình trạng mất vách giữa các tế bào nhưng với mức độ ít hơn so với nhóm HFD và các tế bào hầu như không bị biến dạng. Các nhóm HFA-100, HFE-1000 và HFE-1400 chứa các tế bào mỡ kích thước nhỏ, không bị chèn ép, không bị mất vách. Từ đó cho thấy, việc sử dụng CED có khả năng làm giảm thiểu đáng kể tình trạng phát triển mô mỡ xấu. Khi sử dụng CED với nồng độ càng cao sẽ làm giảm khối lượng mỡ, giảm kích thước tế bào mỡ và hạn chế phát triển mỡ xấu bên trong cơ thể của các nhóm động vật ăn khẩu phần giàu chất béo ([Y. S. Lee và cộng sự, 2011](#)).



Chú thích: *T: Tĩnh mạch trung tâm; G: Các tế bào gan bình thường; M1: Các hạt mỡ to; M2: Các hạt mỡ nhỏ xung quanh nhân tế bào.*

Hình 4.5. Vi phẫu gan ở các nhóm chuột thí nghiệm nhuộm Hematoxylin và Eosin được quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại $\times 100$.

Khối lượng mô gan của các nhóm được sắp xếp theo thứ tự như sau: ND < HFE-1400 < HFE-1000 < HFA-100 < HFE-600 < HFE-200 < HFD. Khối lượng gan của HFD cao nhất và tăng đáng kể so với ND và các nhóm sử dụng CED, acarbose ($p<0.05$). Trong các nhóm uống CED, khối lượng gan của nhóm HFE-200 lớn nhất và có sự khác biệt so với các nhóm còn lại ($p<0.05$). Khi so sánh giữa nhóm sử dụng acarbose và các nhóm sử dụng CED thì cho thấy tỉ lệ phần trăm về khối lượng gan so với khối lượng cơ thể không có sự khác biệt đáng kể ($p<0.05$). Khối lượng gan của nhóm ND (ăn khẩu phần tiêu chuẩn) và HFE-1400 (ăn khẩu phần giàu béo) nhỏ nhất và không có sự khác biệt rõ rệt giữa 2 nhóm ($p<0.05$). Theo [Hình 4.5](#), gan của những con chuột thuộc nhóm HFD có dấu hiệu điển hình của chứng gan nhiễm mỡ do tích tụ nhiều giọt lipid với số lượng nhiều và kích thước lớn. Nhóm HFE-200 cũng xuất hiện các giọt lipid trong mô gan tuy nhiên với số lượng ít và kích thước nhỏ hơn nhóm HFD. Các nhóm HFE-600, HFE-1000, HFE-1400, HFA-100 không xuất hiện các giọt lipid trong gan. Từ kết quả trên cho thấy, khi nồng độ CED sử dụng tăng sẽ làm giảm khối lượng gan và giảm tình trạng gan nhiễm mỡ ở các nhóm ăn khẩu phần giàu béo ([Megalli và cộng sự, 2006](#)).



Chú thích: C: cầu thận

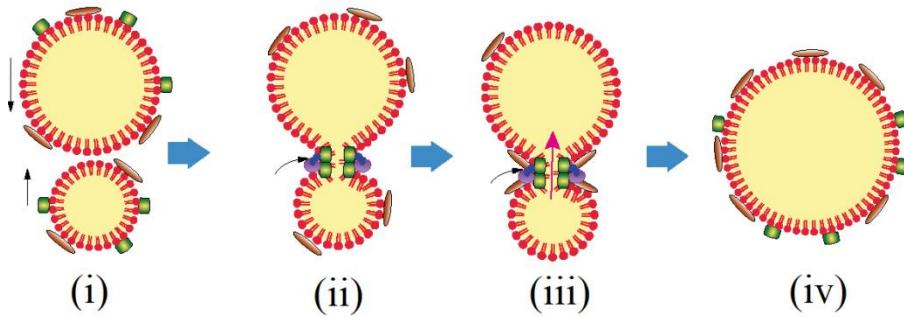
Hình 4.6. Vi phẫu gan ở các nhóm chuột thí nghiệm nhuộm Hematoxylin và Eosin
được quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại $\times 100$.

Khối lượng mô thận của các nhóm động vật thử nghiệm được sắp xếp theo thứ tự như sau: ND < HFE-1000 < HFE-600, HFA-100 < HFE-1400, HFE-200 < HFD. Khối lượng thận của nhóm HFD cao nhất và có sự khác biệt rõ rệt so với ND ($p<0.05$) (Lim và cộng sự, 2016). Khối lượng thận giữa các nhóm sử dụng CED và acarbose không có sự khác biệt rõ rệt, cùng thấp hơn HFD và cao hơn ND. Tuy nhiên, khi so sánh tỉ lệ giữa khối lượng thận so với khối lượng cơ thể của các nhóm thử nghiệm với nhau đều không có sự khác biệt rõ rệt ($p<0.05$). Vì phẫu mô thận của các nhóm động vật thử nghiệm được thể hiện trong [Hình 4.6](#). Qua phân tích mô học cho thấy, mô thận và cầu thận của các nhóm động vật thí nghiệm đều không có sự khác biệt đáng kể. Tóm lại, việc sử dụng CED với nồng độ càng cao sẽ càng làm giảm khối lượng mô gan, mỡ, giảm lượng lipid trong mô gan, giảm kích thước tế bào mỡ. Từ đó, có thể ngăn chặn hiệu quả bệnh gan nhiễm mỡ và béo phì thừa cân ở các nhóm động vật thử nghiệm..

Nhiều nghiên cứu trước đây đã cho thấy các acid béo tự do trong máu là nguồn nguyên liệu chính để tổng hợp lipid trong các bộ phận của cơ thể (Sharma và cộng sự, 2017). Theo kết quả [mục 4.6](#), chỉ số TG trong máu của nhóm HFD lớn nhất, các nhóm uống cao chiết có lượng TG thấp hơn và giảm dần khi nồng độ sử dụng tăng lên. Cho nên, nhóm HFD có lượng lipid trong máu cao nhất làm tăng khối lượng của mô gan, mỡ, làm trầm trọng thêm tình trạng gan nhiễm mỡ. Các nhóm sử dụng CED (với nồng độ khác nhau) có chỉ số lipid trong máu giảm dần nên làm giảm khối lượng của mô gan, mỡ, giảm tình trạng gan nhiễm mỡ (từng mức khác nhau) so với nhóm HFD (Sharma và cộng sự, 2017).

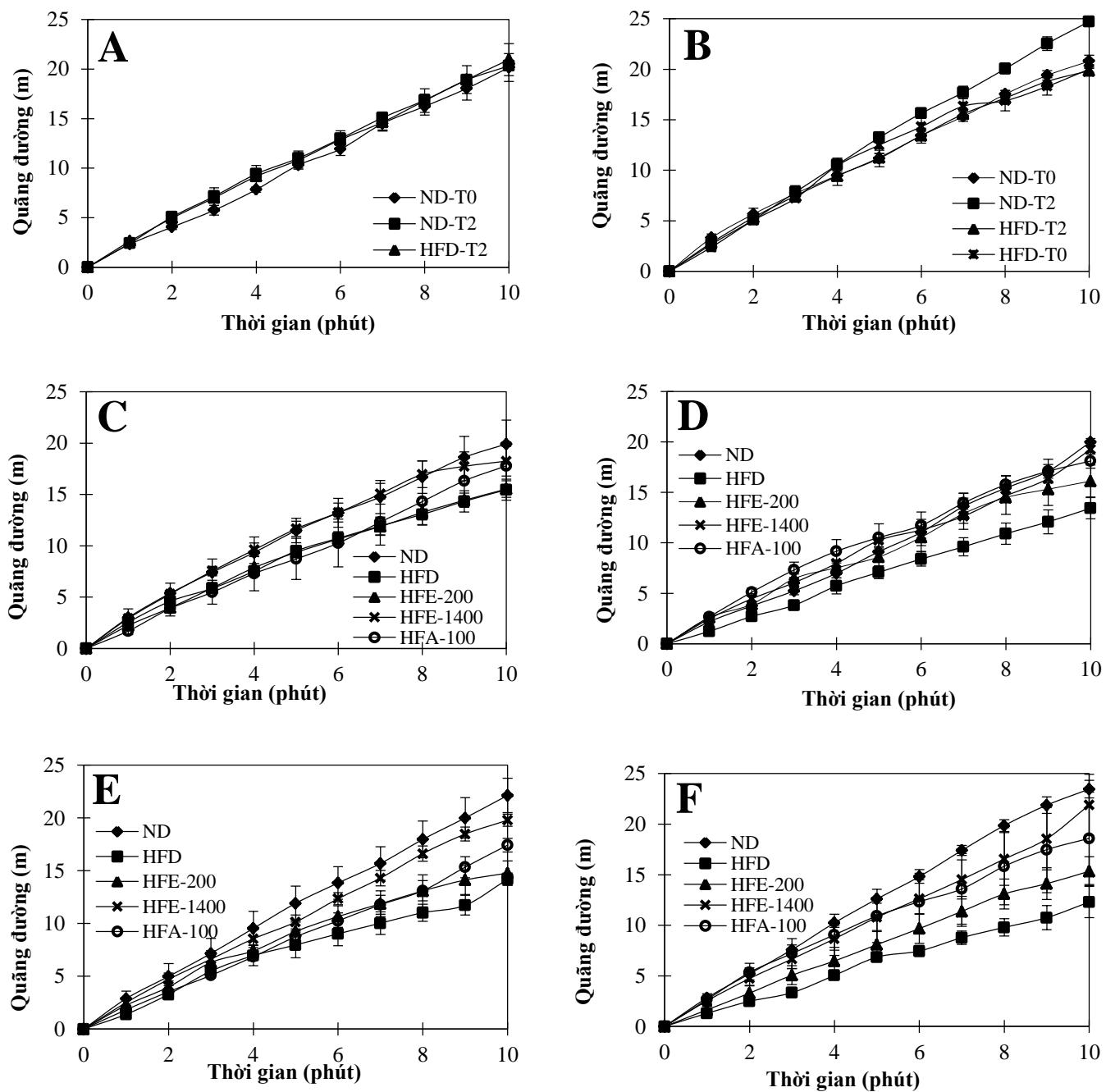
Mô mỡ được biết đến với khả năng lưu trữ năng lượng dư thừa của chế độ ăn uống dưới dạng chất béo trung tính trong các giọt lipid của tế bào mỡ. Béo phì được đặc trưng bởi khối lượng mô mỡ tăng lên do số lượng tế bào mỡ tăng lên (tăng sản) và tăng kích thước tế bào mỡ (phì đại) (Yu & Li, 2017). Lượng chất béo trong tế bào quá nhiều dẫn đến tình trạng hạt nhân bị ép chặt ra ngoại biên và làm mỏng đi vách tế bào kết quả là không lưu trữ đủ chất béo trong mô mỡ (Cinti & Vettor, 2009). Dẫn đến, các tế bào mỡ rất lớn bị vỡ vách tế bào chất của chúng và kết hợp lại với nhau tạo thành những giọt lipid rất lớn. Ngoài ra, các tế bào lớn có khả năng lưu trữ lipid tốt hơn so với các tế bào có kích thước nhỏ. Do đó, các tế bào mỡ thường có xu hướng dung nạp và sát nhập với nhau theo các bước như sau: (i) Các tế bào dịch chuyển gần nhau, (ii) hình thành liên kết chặt giữa 2 tế bào, vách tế bào bị tiêu biến, (iv)

chuyển chất béo từ tế bào nhỏ sang tế bào lớn, (v) ổn định cấu trúc và phân phõi lại lượng chất béo trong tế bào mới được hình thành (Yu & Li, 2017).



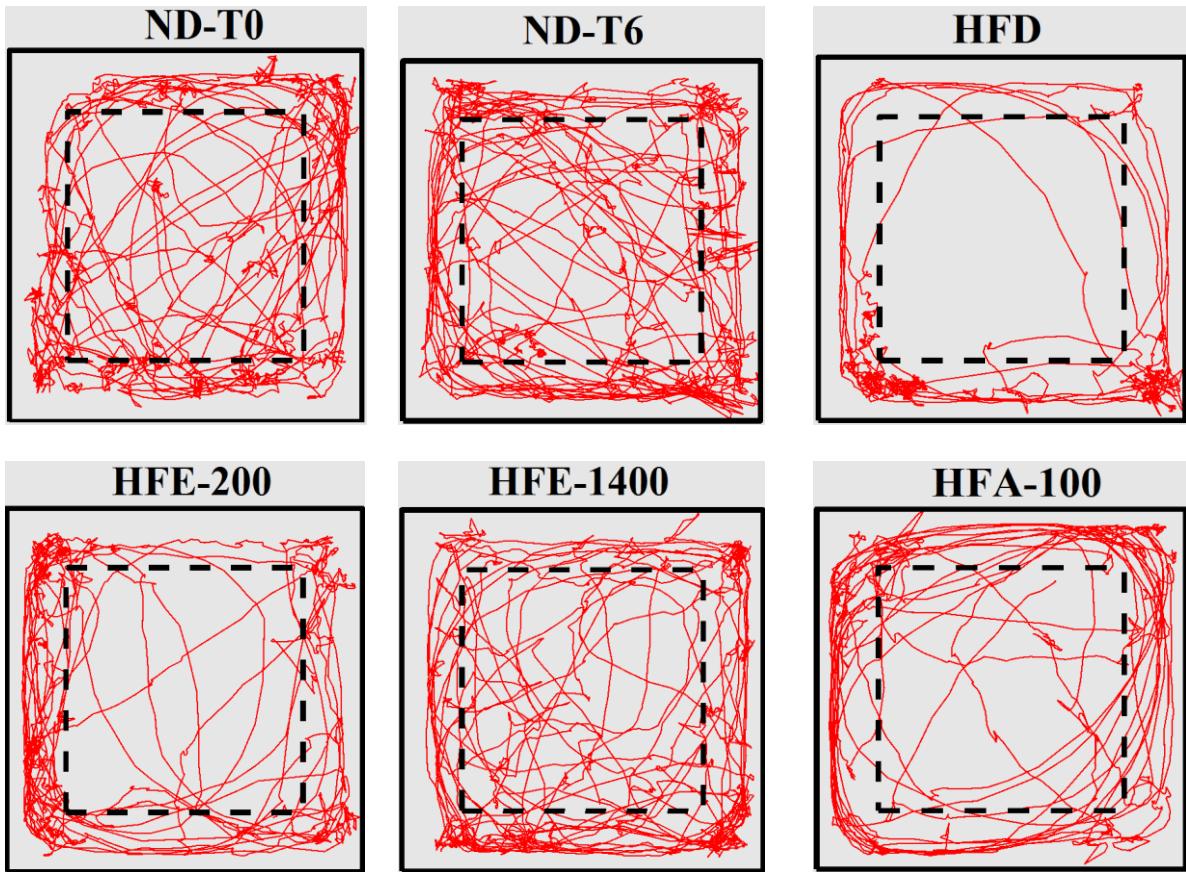
Hình 4.7. Quá trình sát nhập của các tế bào mỡ (Yu & Li, 2017)

4.9. Hành vi của chuột thử nghiệm



Chú thích: Quãng đường di chuyển trước khi ăn tuần 0 (T0) và tuần 2 (T2)(A), tuần 4 (C) và tuần 6 (E);
Quãng đường di chuyển sau khi ăn tuần 0 và tuần 2 (B), tuần 4 (D) và tuần 6 (F)

Hình 4.8. Đồ thị quãng đường di chuyển theo thời gian của các nhóm chuột



Chú thích: ND: là nhóm sử dụng khẩu phần ăn tiêu chuẩn, tuần 0 (T0) và tuần 6 (T6); HFD: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu chất béo; HFE-200, HFE-1400: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng CED với liều lượng lần lượt là 200;1400 mg/kg thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày); HFA-100 nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng acarbose 100 mg/kg thể trọng/ngày) (chia làm 2 lần/ngày)

Hình 4.9. Ghi lại quá trình di chuyển trong khu vực quan sát của các nhóm chuột

Hình 4.8 thể hiện quãng đường di chuyển theo thời gian của các nhóm chuột (trước và sau khi ăn). Nhìn chung, nhóm ND có tổng quãng đường di chuyển trong 10 phút là cao nhất, nhóm HFD là thấp nhất. Tại tuần 0, quãng đường di chuyển trước ăn cũng như sau khi ăn của nhóm ND và nhóm HFD là tương tự nhau, chúng tỏ những con chuột dùng cho nghiên cứu này, có mức vận động ban đầu tương đương nhau. Tại tuần 2, nhóm HFD có tổng quãng

đường di chuyển sau khi ăn thấp hơn so với trước và sau khi ăn của nhóm ND. Ở tuần 4 và tuần 6, nhóm ND có tổng quãng đường di chuyển là cao nhất, thấp hơn là các nhóm sử dụng cao chiết CED và nhóm sử dụng acarbose, còn nhóm HFD là thấp nhất. Theo [phụ lục 10](#), từ tuần 0 đến tuần 6, nhóm ND có tổng quãng đường di chuyển sau ăn luôn cao hơn so với trước khi ăn. Trong khi đó, tổng quãng đường di chuyển sau khi ăn của nhóm HFD lại thấp hơn so với trước khi ăn. Qua những nhận xét trên, cho thấy khả năng vận động của nhóm HFD giảm dần sau thời gian dài sử dụng khẩu phần ăn giàu béo. Theo nghiên cứu của [Bădescu và cộng sự \(2016\)](#), bệnh đái tháo đường loại 2, dẫn đến sự thay đổi hành vi và chức năng của hệ thần kinh trung ương, giảm khả năng vận động của cơ thể. Từ những kết quả phân tích về dung nạp glucose, thể trọng, và chỉ số sinh hoá máu thì kết quả theo dõi hành vi của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với những biến chứng do bệnh đái tháo đường loại 2 gây ra ở nhóm HFD.

Theo [phụ lục 10](#), ở tuần 4 và tuần 6, tổng quãng đường di chuyển của tất cả các nhóm sử dụng CED và acarbose đều cao hơn so với nhóm HFD. Điều này cho thấy rằng, việc sử dụng CED và acarbose giúp cải thiện khả năng vận động ở chuột ăn khẩu phần giàu béo. Ở tuần 4, sau khi ăn nhóm HFE-1000, HFE-1400 và HFA-100 có tổng quãng đường di chuyển cao hơn đáng kể ($p<0.05$) so với nhóm HFD. Bên cạnh đó, các nhóm HFE-200, HFE-600, mặc dù tổng quãng đường di chuyển là cao hơn nhóm HFD, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê ($p<0.05$). Ở tuần 6, tổng quãng đường di chuyển của nhóm HFE-1400 \approx ND và cao hơn so với nhóm HFD ($p<0.05$). Qua các kết quả trên, chúng tôi cho rằng, việc sử dụng cao chiết CED và acarbose giúp cải thiện hành vi, sự vận động ở chuột mắc bệnh thừa cân béo phì và bệnh đái tháo đường loại 2. Một kết quả nghiên cứu trước đây cũng cho thấy kết quả tương tự khi cho thấy sự hiệu quả của chiết xuất ethanol từ rễ cây *Salacia reticulate*, *Clitoria tematea* giúp cải thiện hành vi ở chuột mắc bệnh đái tháo đường ([Rajashree và cộng sự, 2017](#)).

[Hình 4.9](#) thể hiện lại quá trình di chuyển của các nhóm chuột trong khu vực quan sát. Trong đó, khu vực ngoại biên là phần diện tích nằm giữa đường nét đứt và đường nét liền. Khu vực trung tâm là phần diện tích bên trong đường nét đứt. Nhìn chung, tỷ lệ di chuyển qua vùng trung tâm của nhóm ND là cao nhất, nhóm HFD là thấp nhất. Các nhóm sử dụng CED có tỷ lệ đi qua khu vực trung tâm tăng dần theo liều lượng sử dụng cao chiết. Tỷ lệ di chuyển qua vùng trung tâm của nhóm HFA-100 ~ HFE-200, còn nhóm HFE-1400 ~ ND. Theo [Leppänen và cộng sự \(2006\)](#), những con chuột có cảm giác lo lắng sẽ có xu hướng di chuyển ở khu vực

ngoại biên, còn những con chuột thích mạo hiềm sẽ di chuyển nhiều ở khu vực trung tâm. Một kết quả nghiên cứu khác, cho rằng những con chuột mắc bệnh đái tháo đường loại 2 xuất hiện các triệu chứng giống như trầm cảm ([Haider và cộng sự, 2012](#)). Từ kết quả trên cho thấy những con chuột nhóm HFD có cảm giác lo lắng trong khu vực quan sát. Ngược lại, so với nhóm HFD, các nhóm sử dụng CED và acarbose đã có sự cải thiện vận động và cảm giác của động vật thử nghiệm.

CHƯƠNG 5: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Thông qua thử nghiệm *in vitro*, cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu (CED) có khả năng kháng α -glucosidase khá tốt so với acarbose (loại thuốc thường dùng để chữa đái tháo đường loại 2). Trong thử nghiệm *in vivo*, trên khỉ khau phần ăn giàu béo kích ứng gây bệnh, các nhóm chuột sử dụng CED đã chứng tỏ có hiệu quả tốt trong việc cải thiện tình trạng thừa cân béo phì và đái tháo đường loại 2 so với nhóm không sử dụng CED và nhóm sử dụng acarbose như sau:

- (i) Giảm đáng kể các chỉ số đường huyết, thể trọng chuột.
- (ii) Giảm chỉ số TG, TC/HDL, LDL/HDL, tăng lượng HDL trong máu, hạn chế nguy cơ mắc bệnh về tim mạch.
- (iii) Chuẩn đoán mô bệnh học, khảo sát hành vi - chuyển động đều cho kết quả khả quan và xác nhận sự cải thiện tình trạng thừa cân béo phì và đái tháo đường loại 2

Thông qua nghiên cứu này, cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu đã chứng minh là hoạt tính sinh học mạnh trong việc ngăn ngừa, hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến thừa cân béo phì và đái tháo đường loại 2. Ngoài ra, cao chiết cũng chứng minh được tính an toàn khi sử dụng.

Trong tương lai, chúng tôi đề xuất nghiên cứu tách cao chiết thành các phân đoạn khác nhau để tiếp tục đánh giá *in vivo* trên từng phân đoạn thu nhận được. Đồng thời, từng bước tiến hành bào chế và đưa cao chiết ethanol từ rễ cây Dương đầu vào sản xuất thành sản phẩm thương mại dưới dạng thực phẩm chức năng hoặc thuốc có nguồn gốc từ dược liệu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahren, B. (2005a). Type 2 Diabetes, Insulin Secretion and -Cell Mass. *Current Molecular Medicine*, 5(3), 275–286. <https://doi.org/10.2174/1566524053766004>
2. Allison, J. B., Bird, J. W. C., Christensen, H. N., & Mcfarlane, A. S. (1991). Contributors to Volume 1. *Current Opinion on Therapeutic Patents*, 2(12), 37–66. <https://doi.org/10.1517/13543776.1.12.1894>
3. Andrikopoulos, S., Blair, A. R., Deluca, N., Fam, B. C., & Proietto, J. (2008). Evaluating the glucose tolerance test in mice. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 295(6), 1323–1332. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90617.2008>
4. Arifin, W. N., & Zahiruddin, W. M. (2017). Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 24(5), 101–105. <https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.5.11>
5. Astrup, A., & Finer, N. (2000). Redefining type 2 diabetes: “Diabesity” or “obesity dependent diabetes mellitus”? *Obesity Reviews*, 1(2), 57–59. <https://doi.org/10.1046/j.1467-789x.2000.00013.x>
6. Ayala, J. E., Samuel, V. T., Morton, G. J., Obici, S., Croniger, C. M., Shulman, G. I., Wasserman, D. H., & McGuinness, O. P. (2010). Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 3(9–10), 525–534. <https://doi.org/10.1242/dmm.006239>
7. Ayandele, A. A., & Adebiyi, A. O. (2007). The phytochemical analysis and antimicrobial screening of extracts of Olax subscorpioidea. *African Journal of Biotechnology*, 6(7), 868–870. <https://doi.org/10.4314/ajb.v6i7.56922>
8. Bădescu, S. V., Tătaru, C. P., Kobylinska, L., Georgescu, E. L., Zahiu, D. M., Zăgrean, A. M., & Zăgrean, L. (2016). Effects of caffeine on locomotor activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicine and Life*, 9(3), 275–279.
9. Baron, A. D. (1998). Postprandial hyperglycaemia and α-glucosidase inhibitors. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 40(SUPPL.), 51–55. [https://doi.org/10.1016/s0168-8227\(98\)00043-6](https://doi.org/10.1016/s0168-8227(98)00043-6)
10. Batal, M., & Hunter, E. (2007). Traditional Lebanese recipes based on wild plants: An answer to diet simplification? *Food and Nutrition Bulletin*, 28(2 SUPPL.), 303–311. <https://doi.org/10.1177/15648265070282s209>
11. Beck, J. A., Lloyd, S., Hafezparast, M., Lennon-Pierce, M., Eppig, J. T., Festing, M. F. W., & Fisher, E. M. C. (2000). Genealogies of mouse inbred strains. *Nature Genetics*, 24(1), 23–25. <https://doi.org/10.1038/71641>
12. Bellentani, S., Scaglioni, F., Marino, M., & Bedogni, G. (2010). Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive Diseases*, 28(1), 155–161. <https://doi.org/10.1159/000282080>
13. Bin-Jumah, M. N. (2019). Antidiabetic Effect of Monolluma quadrangula is Mediated via Modulation of Glucose Metabolizing Enzymes, Antioxidant Defenses, and Adiponectin in Type 2 Diabetic Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*,

2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6290143>
14. Bray, G. A., & Ryan, D. H. (2011). Drug treatment of obesity. *Psychiatric Clinics of North America*, 34(4), 871–880. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2011.08.013>
 15. Brindley, D. . (1984). Digestion, absorption and transport of fats: general principles. In *Upgrading Waste for Feeds and Food*. In Wiseman, J. Fats in Animal Nutrition. <https://doi.org/10.1016/b978-0-408-10837-9.50001-3>
 16. Bucan, M. (2013). Mouse Genetics. In *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition* (Vol. 4). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00980-3>
 17. Buettner, R., Schölmerich, J., & Bollheimer, L. C. (2007). High-fat diets: Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*, 15(4), 798–808. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.608>
 18. Camel, V. (2001). Recent extraction techniques for solid matrices - Supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: Their potential and pitfalls. *Analyst*, 126(7), 1182–1193. <https://doi.org/10.1039/b008243k>
 19. Castellano, J. M., Guinda, A., Delgado, T., Rada, M., & Cayuela, J. A. (2013). Biochemical basis of the antidiabetic activity of oleanolic acid and related pentacyclic triterpenes. *Diabetes*, 62(6), 1791–1799. <https://doi.org/10.2337/db12-1215>
 20. Charan, J., & Kantharia, N. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 4(4), 303–306. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>
 21. Chau Pham Thi Tran, & Ang, T. T. (2008). *Hoá Sinh Học*. NXB Giáo Dục Việt Nam.
 22. Choi, H., Eo, H., Park, K., Jin, M., Park, E. J., Kim, S. H., Park, J. E., & Kim, S. (2007). A water-soluble extract from Cucurbita moschata shows anti-obesity effects by controlling lipid metabolism in a high fat diet-induced obesity mouse model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 359(3), 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.05.107>
 23. Cinti, S., & Vettor, R. (2009). The adipose organ. *Adipose Tissue and Inflammation*, 1–21. <https://doi.org/10.1201/9781420091311.ch1>
 24. Clark, D., Baldwin, R. L., Bayne, K. A., & Brown, M. J. (1996). “National Research Council” Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. In *National Institutes of Health*.
 25. Collins, S., Martin, T. L., Surwit, R. S., & Robidoux, J. (2004). Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: Physiological and molecular characteristics. *Physiology and Behavior*, 81(2), 243–248. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.006>
 26. Danneman, P. J., Suckow, M. A., & Brayton, C. (2000). *The Laboratory Mouse*. CRC Press.
 27. Dashty, M. (2013). A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. *Clinical Biochemistry*, 46(15), 1339–1352. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027>
 28. Delfanian, M., Kenari, R. E., & Sahari, M. A. (2015). Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit (*eriobotrya japonica* lindl.) skin and pulp extracts. *Food Science and Nutrition*, 3(3), 179–187. <https://doi.org/10.1002/fsn3.201>
 29. Deuel, H. J., Meserve, E. R., Straub, E., Hendrick, C., & Scheer, B. T. (1947). The Effect of Fat Level of the Diet on General Nutrition. *The Journal of Nutrition*, 33(5),

- 569–582. <https://doi.org/doi:10.1093/jn/33.5.569>
30. Devlin, M. J., Yanovski, S. Z., Wilson, G. T., & Ph, D. (2000). Reviews and Overviews Obesity: What Mental Health Professionals Need to Know. *Psychiatry: Interpersonal and Biological Processes, June*, 854–866.
 31. Diehl, K., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., Vidal, J., & Vorstenbosch, C. Van De. (2001). *A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes*. 23(September 2000), 15–23.
 32. Ding, H., Hu, X., Xu, X., Zhang, G., & Gong, D. (2018). Inhibitory mechanism of two allosteric inhibitors, oleanolic acid and ursolic acid on α -glucosidase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1844–1855. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.040>
 33. Donnelly, K. L., Smith, C. I., Schwarzenberg, S. J., Jessurun, J., Boldt, M. D., & Parks, E. J. (2005). Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Clinical Investigation*, 115(5), 1343–1351. <https://doi.org/10.1172/JCI23621>
 34. Drackley, J. K. (2000). *Farm Animal Metabolism and Nutrition. "Lipid Metabolism."* <https://doi.org/10.1079/9780851993782.0065>
 35. Drucker, D. J., & Nauck, M. A. (2006). The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet*, 368(9548), 1696–1705. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69705-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69705-5)
 36. Du, H., Van Der A, D. L., & Feskens, E. J. M. (2006). Dietary glycaemic index: A review of the physiological mechanisms and observed health impacts. *Acta Cardiologica*, 61(4), 383–397. <https://doi.org/10.2143/AC.61.4.2017298>
 37. Flint, A., Raben, A., Astrup, A., & Holst, J. J. (1998). Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *Journal of Clinical Investigation*, 101(3), 515–520. <https://doi.org/10.1172/JCI990>
 38. Fox, J. G., Barthold, S., Davisson, M., Newcomer, C. E., Quimby, F. W., & Smith, A. (2006). The mouse in biomedical research: normative biology, husbandry, and models (Vol. 3): In Academic Press (Vol. 2). <https://doi.org/10.1016/B978-012369454-6/50054-6>
 39. Frynta, D., Slábová, M., Váchová, H., Volfová, R., & Munclinger, P. (2005). Aggression and commensalism in house mouse: A comparative study across europe and the near east. *Aggressive Behavior*, 31(3), 283–293. <https://doi.org/10.1002/ab.15555>
 40. Garber, J. C., Barbee, R. W., Bielitzki, J. T., Clayton, L. A., Donovan, J. C., & Hendriksen, C. F. M. (1985). National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. In *Fenmo Yejin Cailiao Kexue yu Gongcheng/Materials Science and Engineering of Powder Metallurgy* (Vol. 21, Issue 3). Washington DC: National Academies Press.
 41. Gargouri, Y., Moreau, H., & Verger, R. (1989). Gastric lipases: Biochemical and physiological studies. *Biochimica et Biophysica Acta* 1006, 1042(3), 255–271. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(90\)90175-W](https://doi.org/10.1016/0005-2760(90)90175-W)
 42. George, K. j. (2000). *The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals)*. Academic Press.

43. Ghani, U. (2015). Re-exploring promising α -glucosidase inhibitors for potential development into oral anti-diabetic drugs: Finding needle in the haystack. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 103, 133–162. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.08.043>
44. Gray, G. M. (1970). Carbohydrate Digestion and Absorption. *Gastroenterology*, 58(1), 96–107. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(70\)80098-1](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(70)80098-1)
45. Gray, S., & Hurst, J. L. (1997). Behavioural mechanisms underlying the spatial dispersion of commensal *Mus domesticus* and grassland *Mus spretus*. *Animal Behaviour*, 53(3), 511–524. <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0301>
46. Haider, S., Ahmed, S., Tabassum, S., Memon, Z., Ikram, M., & Haleem, D. J. (2012). Streptozotocin-induced insulin deficiency leads to development of behavioral deficits in rats. *Acta Neurologica Belgica*, 113(1), 35–41. <https://doi.org/10.1007/s13760-012-0121-2>
47. Hakamata, W., Kurihara, M., Okuda, H., Nishio, T., & Oku, T. (2009). Design and Screening Strategies for β -Glucosidase Inhibitors Based on Enzymological Information. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(1), 3–12. <https://doi.org/10.2174/156802609787354306>
48. Han Nguyen The, Ngan, N. T. K., & Minh, N. Van. (2018). Đánh Giá Hoạt Tính Úc Ché Enzyme A-Glucosidase Của Dịch Chiết Từ Một Số Loài Rong Biển. *Tạp Chí Khoa Học - Công Nghệ Thủy Sản*, 1/2018, 24–33.
49. Hariri, N., & Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews*, 23(2), 270–299. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000168>
50. Hedrich, H. (2004). *The Laboratory Mouse (Handbook of Experimental Animals)* (pp. 1–15). papers3://publication/uuid/9E3D2290-01A3-4F8D-8D06-AB303C6D3F54
51. Heikkinen, S., Argmann, C. A., Champy, M. F., & Auwerx, J. (2007). Evaluation of Glucose Homeostasis. *Current Protocols in Molecular Biology*, 27(1), 29B.3.3. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb29b03s77>
52. Heo, S. J., Hwang, J. Y., Choi, J. I., Han, J. S., Kim, H. J., & Jeon, Y. J. (2009). Diphlorethohydroxycarmalol isolated from Ishige okamurae, a brown algae, a potent α -glucosidase and α -amylase inhibitor, alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *European Journal of Pharmacology*, 615(1–3), 252–256. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.05.017>
53. Heydemann, A. (2016). An Overview of Murine High Fat Diet as a Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes Research*, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2016/2902351>
54. Holmes, R. (1971). Carbohydrate digestion and absorption. *Journal of Clinical Pathology*, S3-5(1), 10–13. <https://doi.org/10.1136/jcp.s3-5.1.10>
55. Holy, T. E., & Guo, Z. (2005). Ultrasonic songs of male mice. *PLoS Biology*, 3(12), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030386>
56. Hossain, U., Das, A. K., Ghosh, S., & Sil, P. C. (2020a). An overview on the role of bioactive α -glucosidase inhibitors in ameliorating diabetic complications. *Food and Chemical Toxicology*, 145(August), 111738. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111738>
57. Hossain, U., Das, A. K., Ghosh, S., & Sil, P. C. (2020b). An overview on the role of bioactive α -glucosidase inhibitors in ameliorating diabetic complications. *Food and*

- Chemical Toxicology*, 145(September), 111738.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111738>
58. Hou, W., Li, Y., Zhang, Q., Wei, X., Peng, A., Chen, L., & Wei, Y. (2009). Triterpene Acids Isolated from Lagerstroemia speciosa Leaves as α -Glucosidase Inhibitors. *Phytotherapy Research*, 23(5), 614–618. <https://doi.org/10.1002/ptr.2661>
 59. Hussain, M. M., Kancha, R. K., Zhou, Z., Luchoomun, J., Zu, H., & Bakillah, A. (1996). *Chylomicron assembly and catabolism: role of apolipoproteins and receptors.* 1(215).
 60. Ikarashi, N., Toda, T., Okaniwa, T., Ito, K., Ochiai, W., & Sugiyama, K. (2011). Anti-obesity and anti-diabetic effects of acacia polyphenol in obese diabetic KKAY mice fed high-fat diet. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep241>
 61. Itoh, T., Kita, N., Kurokawa, Y., Kobayashi, M., Horio, F., & Furuichi, Y. (2004). Suppressive effect of a hot water extract of adzuki beans (*Vigna angularis*) on hyperglycemia after sucrose loading in mice and diabetic rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68(12), 2421–2426. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.2421>
 62. Jürgens, H. S., Neschen, S., Ortmann, S., Scherneck, S., Schmolz, K., Schüler, G., Schmidt, S., Blüher, M., Klaus, S., Perez-Tilve, D., Tschöp, M. H., Schürmann, A., & Joost, H. G. (2007). Development of diabetes in obese, insulin-resistant mice: Essential role of dietary carbohydrate in beta cell destruction. *Diabetologia*, 50(7), 1481–1489. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0662-8>
 63. Kang, Y.-R., Lee, H.-Y., Kim, J.-H., Moon, D.-I., Seo, M.-Y., Park, S.-H., Choi, K.-H., Kim, C.-R., Kim, S.-H., Oh, J.-H., Cho, S.-W., Kim, S.-Y., Kim, M.-G., Chae, S.-W., Kim, O., & Oh, H.-G. (2012). Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet . *Laboratory Animal Research*, 28(1), 23. <https://doi.org/10.5625/lar.2012.28.1.23>
 64. Kapourchali, F. R., Surendiran, G., Goulet, A., & Moghadasian, M. H. (2015). The Role of Dietary Cholesterol in Lipoprotein Metabolism and Related Metabolic Abnormalities: A Mini-review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(14), 2408–2415. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.842887>
 65. Kawano, Y., & Cohen, D. E. (2013). Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastroenterology*, 48(4), 434–441. <https://doi.org/10.1007/s00535-013-0758-5>
 66. Kazeem, M. I., & Ashafa, A. O. T. (2017). Kinetics of inhibition of carbohydrate-metabolizing enzymes and mitigation of oxidative stress by Eucomis humilis Baker bulb. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(1), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.01.002>
 67. Ketema, E. B., & Kibret, K. T. (2015). Correlation of fasting and postprandial plasma glucose with HbA1c in assessing glycemic control; systematic review and meta-analysis. *Archives of Public Health*, 73(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13690-015-0088-6>
 68. Kim, M. R., Kim, J. W., Park, J. B., Hong, Y. K., Ku, S. K., & Choi, J. S. (2017). Anti-obesity effects of yellow catfish protein hydrolysate on mice fed a 45% kcal high-fat diet. *International Journal of Molecular Medicine*, 40(3), 784–800.

- https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3063
69. Kislik, V. S. (2012). Solvent extraction: classical and novel approaches. In *ענין עליון* (Vol. 66). Elsevier.
 70. Klein, H. J., Barthold, S. W., Hendriksen, C. F. M., Morton, W., Nelson, R. J., Rissman, E. F., & Stokes, W. S. (2003). *The Development Of Science-based Guidelines For Laboratory Animal Care*. <http://library1.nida.ac.th/termppaper6/sd/2554/19755.pdf>
 71. Kolar, R. (2006). Animal Experimentation. *Science and Engineering Ethics*, 12(1), 111–122. <https://doi.org/10.1093/oxfordhdb/9780199562411.003.0028>
 72. Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., & Prakash, O. (2011). α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 19–29. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79096>
 73. Langford, D. J., Bailey, A. L., Chanda, M. L., Clarke, S. E., Drummond, T. E., Echols, S., Glick, S., Ingrao, J., Klassen-Ross, T., Lacroix-Fralish, M. L., Matsumiya, L., Sorge, R. E., Sotocinal, S. G., Tabaka, J. M., Wong, D., Van Den Maagdenberg, A. M. J. M., Ferrari, M. D., Craig, K. D., & Mogil, J. S. (2010). Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods*, 7(6), 447–449. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1455>
 74. Lee, C. J., Kim, Y., Choi, S. J., & Moon, T. W. (2012). Slowly digestible starch from heat-moisture treated waxy potato starch: Preparation, structural characteristics, and glucose response in mice. *Food Chemistry*, 133(4), 1222–1229. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.098>
 75. Lee, S. K., Hwang, J.-Y., Song, J.-H., Jo, J.-R., Kim, M.-J., Kim, M.-E., & Kim, J.-I. (2007). Inhibitory activity of Euonymus alatus against alpha-glucosidase in vitro and in vivo. *Nutrition Research and Practice*, 1(3), 184. <https://doi.org/10.4162/nrp.2007.1.3.184>
 76. Lee, Y. S., Cha, B. Y., Saito, K., Choi, S. S., Wang, X. X., Choi, B. K., Yonezawa, T., Teruya, T., Nagai, K., & Woo, J. T. (2011). Effects of a Citrus depressa Hayata (shiikuwasa) extract on obesity in high-fat diet-induced obese mice. *Phytomedicine*, 18(8–9), 648–654. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.11.005>
 77. Lemieux, I., Lamarche, B., Couillard, C., Pascot, A., Cantin, B., Bergeron, J., Dagenais, G. R., & Després, J. P. (2001). Total cholesterol/HDL cholesterol ratio vs LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio as indices of ischemic heart disease risk in men. *Archives of Internal Medicine*, 161(22), 2685–2692. <https://doi.org/10.1001/archinte.161.22.2685>
 78. Leppänen, P. K., Ravaja, N., & Ewalds-Kvist, S. B. M. (2006). Twenty-three generations of mice bidirectionally selected for open-field thigmotaxis: Selection response and repeated exposure to the open field. *Behavioural Processes*, 72(1), 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2005.11.010>
 79. Lewis, J. R., & Mohanty, S. R. (2010). Nonalcoholic fatty liver disease: A review and update. *Digestive Diseases and Sciences*, 55(3), 560–578. <https://doi.org/10.1007/s10620-009-1081-0>
 80. Li, K., Yao, F., Du, J., Deng, X., & Li, C. (2018). Persimmon Tannin Decreased the Glycemic Response through Decreasing the Digestibility of Starch and Inhibiting α -Amylase, α -Glucosidase, and Intestinal Glucose Uptake. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(7), 1629–1637. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05833>

81. Lichtenstein, A. H. (2013). Fats and Oils. *Encyclopedia of Human Nutrition*, 201–208. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00097-0>
82. Lim, S. M., Goh, Y. M., Mohtarrudin, N., & Loh, S. P. (2016). Germinated brown rice ameliorates obesity in high-fat diet induced obese rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1116-y>
83. Ludwig, J., Viggiano, T.R., McGill, D.B. and Oh, B.J. (1980) Nonalcoholic Steatohepatitis: Mayo Clinic Experiences with a Hitherto Unnamed Disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 55, 434-438.
84. Luechtfeld, T., Marsh, D., Rowlands, C., & Hartung, T. (2018). Machine learning of toxicological big data enables read-across structure activity relationships (RASAR) outperforming animal test reproducibility. *Toxicological Sciences*, 165(1), 198–212. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy152>
85. MacArthur, C., A., J., & Zurlo, J. (2012). Laws, Guidelines and Policies Governing the Use of Mice in Research. In *The Laboratory Mouse*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382008-2.00035-0>
86. Mahmood Hussain, M., Kancha, R. K., Zhou, Z., Luchoomun, J., Zu, H., Bakillah, A., Zu, H., & Bakillah, A. (1996). Chylomicron assembly and catabolism: role of apolipoproteins and receptors. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1300(3), 151–170.
87. Mai Nguyen Thi Thanh, Trang, P. N. H., Hai, N. X., & Nhan, N. T. (2011). Hoạt tính úc ché enzym α -glucosidase và thành phần hóa học của cây huyết rồng hoa nhỏ, *Satholobus parviflorus* (Roxb.). *Tạp Chí Phát Triển Khoa Học và Công Nghệ*, 14(2), 43–49.
88. Markom, M., Hasan, M., Daud, W. R. W., Singh, H., & Jahim, J. M. (2007). Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. *Separation and Purification Technology*, 52(3), 487–496. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.06.003>
89. Marrelli, M., Statti, G., & Conforti, F. (2020). *A Review of Biologically Active Natural Products from Mediterranean Wild Edible Plants : Benefits in*.
90. McDonnell, C., & Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound: A Clean, Green Extraction Technology for Bioactives and Contaminants. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 76). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2017.03.005>
91. Megalli, S., Davies, N. M., & Roufogalis, B. D. (2006). Anti-hyperlipidemic and hypoglycemic effects of *Gynostemma pentaphyllum* in the Zucker fatty rat. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(3), 281–291.
92. Mitchel W, Breger – Brandiwik MG. 1960. The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa, 2nd edition. London: E & S Livingstone Ltd.. 803 – 805 p.
93. Mohamed, S. S. H., Hansi Priscilla, D., & Thirumurugan, K. (2011). Cinnamon extract inhibits α -glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats. *Nutrition and Metabolism*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-46>
94. Mohamed Sham Shihabudeen, H., Priscilla, D. H., & Thirumurugan, K. (2011). Cinnamon extract inhibits α -glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats. *Functional Foods: The Connection Between Nutrition, Health, and Food Science, Shihabudee*, 289–314. <https://doi.org/10.1201/b16307>
95. Mukhopadhyay, M. (2000). *Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*.

- CRC press. <https://doi.org/10.1201/9781420041699.ch11>
96. Muniyappa, R., Lee, S., Chen, H., & Quon, M. J. (2008). Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: Advantages, limitations, and appropriate usage. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 294(1). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00645.2007>
 97. Nammi, S., Sreemantula, S., & Roufogalis, B. D. (2009). Protective effects of ethanolic extract of zingiber officinale rhizome on the development of metabolic syndrome in high-fat diet-fed rats. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 104(5), 366–373. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2008.00362.x>
 98. Neuschwander-Tetri, B. A., & Caldwell, S. H. (2003). *Nonalcoholic Steatohepatitis: Summary of an AASLD Single Topic Conference*. 37(5), 1202–1219. <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50193>
 99. Nga Vo Thi, Huong, N. T. M., & Phung, N. K. P. (2018). Fatty Compounds from Olax Imbricata. *Proceedings 2018 4th International Conference on Green Technology and Sustainable Development, GTSD 2018*, 2, 538–540. <https://doi.org/10.1109/GTSD.2018.8595666>
 100. Nga Vo Thi, Huong, N. T. M., Phung, N. K. P., Suong, H. T. M., Hieu, N. T. N., & Nhan, P. T. (2019). Xác định thành phần hóa học và thử nghiệm một số hoạt chất sinh học có khả năng ức chế tế bào ung thư và ức chế α -glucosidase của cây dương đài, olax imbricata roxb, olacaceae. *Công Trình Nghiên Cứu Khoa Học Cấp Bộ, B2017.SPK.04*.
 101. Nga Vo Thi, Suong, H. T. M., Nguyen, H. T. M., Duong, H. T., & Nguyen, P. K. P. (2019). Triterpenoid Glycosides from Olax imbricata. *Science and Technology Development Journal*, 22(3), 324–334. <https://doi.org/10.32508/stdj.v22i3.1660>
 102. Ning, Z. W., Zhai, L. X., Huang, T., Peng, J., Hu, D., Xiao, H. T., Wen, B., Lin, C. Y., Zhao, L., & Bian, Z. X. (2019). Identification of α -glucosidase inhibitors from: Cyclocarya paliurus tea leaves using UF-UPLC-Q/TOF-MS/MS and molecular docking. *Food and Function*, 10(4), 1893–1902. <https://doi.org/10.1039/c8fo01845f>
 103. Nwaigwe, C. U., Madubunyi, I. I., Udem, S. C., & Nwaigwe, C. O. (2012). *Methanolic Root Extract of Olax viridis Protects the Liver against Acetaminophen-induced Liver Damage* (pp. 395–405). <https://doi.org/10.3923/rjmp.2012.395.405>
 104. Ohkawa, R., Low, H., Mukhamedova, N., Fu, Y., Lai, S.-J., Sasaoka, M., Hara, A., Yamazaki, A., Kameda, T., Horiuchi, Y., Meikle, P. J., Pernes, G., Lancaster, G., Ditiatkovski, M., Nestel, P., Vaisman, B., Sviridov, D., Murphy, A., Remaley, A. T., ... Tozuka, M. (2020). Cholesterol transport between red blood cells and lipoproteins contributes to cholesterol metabolism in blood. *Journal of Lipid Research*, 61(12), 1577–1588. <https://doi.org/10.1194/jlr.ra120000635>
 105. Ohta, T., Sasaki, S., Oohori, T., Yoshikawa, S., & Kurihara, H. (2002). A-Glucosidase Inhibitory Activity of a 70% Methanol Extract From Ezoishige (*Pelvetia Babingtonii De Toni*) and Its Effect on the Elevation of Blood Glucose Level in Rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66(7), 1552–1554. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.1552>
 106. Ojewale, A. O., Akpan, H. B., Faduyile, F. A., Shallie, P. D., Akande, A. A., & Adefule, A. K. (2020). Hepatoprotective activities of ethanolic roots extract of

- ageratum conyzoides on alloxan-induced hepatic damage in diabetic Wistar rats. *Journal of Morphological Sciences*, 36(1), 39–45. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1669423>
107. Oroian, M., & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>
 108. Padwal, R. S., & Majumdar, S. R. (2007). Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet*, 369(9555), 71–77. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60033-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60033-6)
 109. Panyaphu, K., Sirisa-ard, P., Ubol, P. N., & Nathakarnkitkul, S. (2012). Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of medicinal plants in Thailand as post partum herbal bath. *Phytopharmacology*, 2(1), 92–105.
 110. Patil, P., Mandal, S., Tomar, S. K., & Anand, S. (2015). Food protein-derived bioactive peptides in management of type 2 diabetes. *European Journal of Nutrition*, 54(6), 863–880. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-0974-2>
 111. Paul Angulo, M. D. (2002). *Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. 346(16), 1221–1231. www.nejm.org
 112. Pavia, D. L., Kriz, G. S., Lampman, G. M., & Engel, R. G. (2012). A microscale approach to organic laboratory techniques. In *Cengage Learning* (Vol. 7, Issue 2).
 113. Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2006). Etiology of insulin resistance. *American Journal of Medicine*, 119(5 SUPPL. 1), S10–S16. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.01.009>
 114. Pham Hoang Ho. (2003). *Cay co Viet Nam* (Vol. 2). NXB Trẻ TP.Hồ Chí Minh.
 115. Pyner, A., Nyambe-Silavwe, H., & Williamson, G. (2017). Inhibition of human and rat sucrase and maltase activities to assess antglycemic potential: Optimization of the assay using acarbose and polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(39), 8643–8651. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03678>
 116. Rajashree, R., Patil, R., Khlokute, S. D., & Goudar, S. S. (2017). Effect of Salacia reticulata W. and Clitoria ternatea L. on the cognitive and behavioral changes in the streptozotocin-induced young diabetic rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 28(2), 107–114. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2016-0024>
 117. Rengasamy, K. R. R., Aderogba, M. A., Amoo, S. O., Stirk, W. A., & Van Staden, J. (2013). Potential antiradical and alpha-glucosidase inhibitors from Ecklonia maxima (Osbeck) Papenfuss. *Food Chemistry*, 141(2), 1412–1415. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.019>
 118. Rivellese, A. A., & Lilli, S. (2003). Quality of dietary fatty acids, insulin sensitivity and type 2 diabetes. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 57(2), 84–87. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(03\)00003-9](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(03)00003-9)
 119. Roxburgh, W. (1820). Flora Indica. In *Oxford University* (Vol. 1).
 120. Ruderman, N. B., Williamson, J. R., & Brownlee, M. (1992). *Glucose and diabetic vascular disease*. 6(11), 2905–2914.
 121. Russell, W. M. S., & Burch, R. L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. Methuen.
 122. Rydberg, J., Cox, M., Musikas, C., & Choppin, G. R. (2004). Solvent Extraction Principles and Practice, Revised and Expanded. In *Solvent Extraction Principles and*

- Practice, Revised and Expanded.* <https://doi.org/10.1201/9780203021460>
123. Sakamoto, E., Seino, Y., Fukami, A., Mizutani, N., Tsunekawa, S., Ishikawa, K., Ogata, H., Uenishi, E., Kamiya, H., Hamada, Y., Sato, H., Harada, N., Toyoda, Y., Miwa, I., Nakamura, J., Inagaki, N., Oiso, Y., & Ozaki, N. (2012). Ingestion of a moderate high-sucrose diet results in glucose intolerance with reduced liver glucokinase activity and impaired glucagon-like peptide-1 secretion. *Journal of Diabetes Investigation*, 3(5), 432–440. <https://doi.org/10.1111/j.2040-1124.2012.00208.x>
 124. Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(2), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
 125. Sbraccia, P., & Finer, N. (2019). Obesity (Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment). *The Adipose Organ*, 5(1), 51–74. <https://doi.org/10.1201/9781420091311.ch1>
 126. Schwarz, S., Hofmann, M. H., Gutzen, C., Schlax, S., & Von Der Emde, G. (2002). VIEWER: A program for visualising, recording, and analysing animal behaviour. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 67(1), 55–66. [https://doi.org/10.1016/S0169-2607\(00\)00150-4](https://doi.org/10.1016/S0169-2607(00)00150-4)
 127. Sharma, B. R., Kim, H. J., Kim, M. S., Park, C. M., & Rhyu, D. Y. (2017). Caulerpa okamurae extract inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and prevents high-fat diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Nutrition Research*, 47, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2017.09.002>
 128. Shen, K. P., Su, C. H., Lu, T. M., Lai, M. N., & Ng, L. T. (2015). Effects of Grifola frondosa non-polar bioactive components on high-fat diet fed and streptozotocin-induced hyperglycemic mice. *Pharmaceutical Biology*, 53(5), 705–709. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.939290>
 129. Shihabudeen, H. M. S., Priscilla, D. H., & Thirumurugan, K. (2011). Cinnamon extract inhibits α -glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats. *Functional Foods: The Connection Between Nutrition, Health, and Food Science, Shihabudee*, 289–314. <https://doi.org/10.1201/b16307>
 130. Shin, S. I., Lee, C. J., Kim, D. I., Lee, H. A., Cheong, J. J., Chung, K. M., Baik, M. Y., Park, C. S., Kim, C. H., & Moon, T. W. (2007). Formation, characterization, and glucose response in mice to rice starch with low digestibility produced by citric acid treatment. *Journal of Cereal Science*, 45(1), 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.05.001>
 131. Si, M. mei, Lou, J. shu, Zhou, C. X., Shen, J. N., Wu, H. H., Yang, B., He, Q. J., & Wu, H. S. (2010). Insulin releasing and alpha-glucosidase inhibitory activity of ethyl acetate fraction of Acorus calamus in vitro and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(1), 154–159. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.12.044>
 132. Siddiqui, M. W., Bansal, V., & Prasad, K. (2016). *Chapter 4 Carrot : Secondary Metabolites and their Prospective Health Benefits : Stimulation , Extraction , and Utilization* (Issue July 2019). <https://doi.org/10.1201/9781315366319-5>
 133. Solubilized, C. (1994). Oral drug administration. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, 12(C), 59–115. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-81871-3.50011-4>
 134. Song, K. H., Lee, S. H., Kim, B. Y., Park, A. Y., & Kim, J. Y. (2012). Extracts of scutellaria baicalensis reduced body weight and blood triglyceride in db/db mice. *Phytotherapy Research*, 27(2), 244–250. <https://doi.org/10.1002/ptr.4691>

135. Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C. L., & Ramarao, P. (2005). Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological Research*, 52(4), 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2005.05.004>
136. Subramanian, R., Asmawi, M. Z., & Sadikun, A. (2008). In vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of Andrographis paniculata extract and andrographolide. *Acta Biochimica Polonica*, 55(2), 391–398. https://doi.org/10.18388/abp.2008_3087
137. Sung, Y. Y., Yoon, T., & Yang, W. O. N. K. (2012). Anti - obesity effects of *Actinidia polygama* extract in mice with high - fat diet - induced obesity. 396–400. <https://doi.org/10.3892/mmr.2012.1239>
138. Surwit, R. S., Kuhn, C. M., Cochrane, C., McCubbin, J. A., & Feinglos, M. N. (1988). Diet-Induced Type II Diabetes in C57BL/6J Mice. *Journal of Tianjin Polytechnic University*, 37(4), 1163–1167. <https://doi.org/10.2337/diab.37.9.1163>
139. Taher, M., Tg Zakaria, T. M. F. S., Susanti, D., & Zakaria, Z. A. (2016). Hypoglycaemic activity of ethanolic extract of Garcinia mangostana Linn. in normoglycaemic and streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1118-9>
140. Takahashi, H., Hirata, S., Minami, H., & Fukuyama, Y. (2001). Triterpene and flavanone glycoside from Rhododendron simsii. *Phytochemistry*, 56(8), 875–879. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00493-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00493-3)
141. Tannenbaum, J., & Bennett, B. T. (2015). Russell and Burch's 3Rs then and now: The need for clarity in definition and purpose. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 54(2), 120–132.
142. Trang Dai Thi Xuan, Lan, A. P. T., Men, T. T., & Anh, B. T. (2012). Khảo sát khả năng điều trị bệnh tiểu đường của cao chiết lá ổi (*Psidium guajava* L.). *Tạp Chí Khoa Học*, 22b, 163–171. <https://tailieu.vn/doc/bao-cao-khao-at-kha-nang-dieu-tri-benh-tieu-duong-cua-cao-chiet-la-oi-psidium-guajava-l--1522303.html%0Ahttp://sj.ctu.edu.vn/ql/docgia/tacgia-1252/baibao-5744.html>
143. Trang Dai Thi Xuan, Phuong, N. T. M., Diem, V. T. N., & Hue, Q. T. (2014). Khảo sát hiệu quả hạ đường huyết và chống oxy hóa của cao chiết cây nhài (*Morinda citrifolia* L.) ở chuột bệnh tiểu đường. *Tạp Chí Khoa Học Trường Đại Học Cần Thơ*, 23b, 115–124. <https://sj.ctu.edu.vn/ql/docgia/tacgia-1252/baibao-4786.html>
144. Treede, R.-D. (2018). The International Association for the Study of Pain definition of pain: as valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. *Pain Reports*, 3, e643. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29756089%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29756089>
145. Treuting, P. M., Dintzis, S. M., & Montine, K. S. (2017). Comparative Anatomy and Histology: A Mouse, Rat, and Human Atlas. In *Pathology Exam Review*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802900-8.00019-1>
146. Treuting, P. M., & Snyder, J. M. (2015). Mouse Necropsy. *Current Protocols in Mouse Biology*, 5(3), 223–233. <https://doi.org/10.1002/9780470942390.mo140296>
147. Triplitt and C. A. Reasner, “Diabetes mellitus,” in *Pharmacotherapy: A*

- Pathophysiologic Approach*, J. T. DiPiro, R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, and L. M. Posey, Eds., p. 1256, McGraw-Hill, New York, NY, USA, 8th edition, 2011.
148. U.S. Food and Drug. (2011). *Guidance for Industry IMPURITIES: RESIDUAL SOLVENTS VICH GL18 DRAFT GUIDANCE*. 147, 1–19. <https://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/994071gd.pdf>
 149. Vo Nga Thi, Thi My Nguyen, H., Thi Anh Nguyen, T., & Minh Hoang, H. (2020). Olax Imbricata-Derived Compounds with α -Glucosidase Activity: In Vitro Combined Molecular Docking. *Oriental Journal of Chemistry*, 36(02), 262–267. <https://doi.org/10.13005/ojc/360207>
 150. Von Eckardstein, A., Nofer, J. R., & Assmann, G. (2001). High density lipoproteins and arteriosclerosis role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21(1), 13–27. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.21.1.13>
 151. Wan, L. S., Chen, C. P., Xiao, Z. Q., Wang, Y. L., Min, Q. X., Yue, Y., & Chen, J. (2013). In vitro and in vivo anti-diabetic activity of Swertia kouitchensis extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 147(3), 622–630. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.052>
 152. Wang, Y., Gagnon, J., Nair, S., & Sha, S. (2019). Herring Milt protein hydrolysate improves insulin resistance in high-fat-diet-induced obese Male C57BL/6J mice. *Marine Drugs*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/md17080456>
 153. Wang, Y. X., Lee, C. H., Tiep, S., Yu, R. T., Ham, J., Kang, H., & Evans, R. M. (2003). Peroxisome-proliferator-activated receptor δ activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell*, 113(2), 159–170. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00269-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00269-1)
 154. Wehmeier, U. F., & Piepersberg, W. (2004). Biotechnology and molecular biology of the α -glucosidase inhibitor acarbose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(6), 613–625. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1477-2>
 155. WHO. (1980). *WHO expert committee on diabetes mellitus*. World Health Organization.
 156. WHO. (2006). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. *World Health Organization*, 1, 1–3. [https://doi.org/10.1016/S0167-7306\(09\)60009-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7306(09)60009-0)
 157. WHO. (2016). GLOBAL REPORT ON DIABETES. *World Health Organization*, 10–42.
 158. Yamane, T., Kozuka, M., Konda, D., Nakano, Y., Nakagaki, T., Ohkubo, I., & Ariga, H. (2016). Improvement of blood glucose levels and obesity in mice given aronia juice by inhibition of dipeptidyl peptidase IV and α -glucosidase. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 31, 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.02.004>
 159. Yee, H. S., Pharm, D., Fong, N. T., & Pharm, D. (1996). *Yee and Fong. A review of the safety and efficacy of acarbose in Diabetes Mellitus*. 119.
 160. Yu, J., & Li, P. (2017). The size matters: regulation of lipid storage by lipid droplet dynamics. *Science China Life Sciences*, 60(1), 46–56. <https://doi.org/10.1007/s11427-016-0322-x>
 161. Zeng, J., Deng, S., Wang, Y., Li, P., Tang, L., & Pang, Y. (2017). Specific inhibition

- of acyl-CoA oxidase-1 by an acetylenic acid improves hepatic lipid and Reactive Oxygen Species (ROS) metabolism in rats fed a high fat diet. *Journal of Biological Chemistry*, 292(9), 3800–3809. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.763532>
162. Zhang, C., Li, H., & Han, R. (2020). An open-source video tracking system for mouse locomotor activity analysis. *BMC Research Notes*, 13(1), 6–11. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-4916-6>
163. Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
164. Zhang, Z. S., Li, D., Wang, L. J., Ozkan, N., Chen, X. D., Mao, Z. H., & Yang, H. Z. (2007). Optimization of ethanol-water extraction of lignans from flaxseed. *Separation and Purification Technology*, 57(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.03.006>
165. Zhong, Y. Y., Chen, H. S., Wu, P. P., Zhang, B. J., Yang, Y., Zhu, Q. Y., Zhang, C. G., & Zhao, S. Q. (2019). Synthesis and biological evaluation of novel oleanolic acid analogues as potential α -glucosidase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 164, 706–716. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.12.046>

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA cân nặng của các nhóm chuột

Tuần	ND (g)	HFD (g)	HFE-200 (g)	HFE-600 (g)	HFE-1000 (g)	HFE-1400 (g)	HFA-100 (g)
0	30.54 ± 0.291	-	-	-	-	-	-
1	32.88 ± 0.82	34.80 ± 0.49	-	-	-	-	-
2	34.92 ± 0.91	36.47 ± 0.66	-	-	-	-	-
3	35.21 ± 0.70^a	38.0 ± 1.04^a	37.28 ± 1.01^a	36.92 ± 0.13^a	36.76 ± 1.25^a	36.71 ± 1.23^a	36.69 ± 0.83^a
4	35.54 ± 0.86^a	40.38 ± 1.11^b	38.20 ± 1.21^{ab}	37.76 ± 0.17^{ab}	37.21 ± 1.33^{ab}	36.69 ± 0.99^a	37.49 ± 0.84^{ab}
5	35.88 ± 1.19^a	41.73 ± 1.47^c	39.66 ± 0.97^{bc}	39.06 ± 0.23^{abc}	37.70 ± 1.14^{ab}	36.77 ± 1.32^{ab}	38.36 ± 1.23^{abc}
6	35.84 ± 1.49^a	43.09 ± 1.14^c	40.65 ± 0.88^{bc}	39.40 ± 0.36^{ab}	37.77 ± 1.17^{ab}	36.80 ± 1.38^a	38.93 ± 1.22^{ab}

Phụ lục 2. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA đường huyết dung nạp tinh bột thử nghiệm 2

Thời gian (phút)	ND (mg/dl)	HFD (mg/dl)	HFE-1400 (mg/dl)	HFA-100 (mg/dl)
0	91.52 ± 2.56 ^a	136.16 ± 1.34 ^b	131.25 ± 1.55 ^b	133.04 ± 1.55 ^b
15	104.46 ± 2.13 ^a	161.16 ± 2.95 ^c	146.43 ± 2.53 ^b	151.34 ± 2.76 ^b
30	124.11 ± 2.36 ^a	195.98 ± 2.95 ^c	155.36 ± 3.50 ^b	162.05 ± 1.34 ^b
60	130.80 ± 1.98 ^a	203.57 ± 1.63 ^d	162.5 ± 2.82 ^b	176.79 ± 2.63 ^c
90	120.09 ± 3.21 ^a	194.20 ± 1.69 ^c	179.02 ± 4.57 ^b	186.61 ± 4.52 ^{bc}
120	116.07 ± 2.63 ^a	187.95 ± 1.52 ^d	163.84 ± 1.52 ^b	173.21 ± 4.55 ^c
150	109.38 ± 2.95 ^a	178.13 ± 0.85 ^d	152.23 ± 2.46 ^b	168.30 ± 4.15 ^c
180	100.0 ± 1.63 ^a	174.55 ± 1.52 ^d	146.43 ± 1.93 ^b	158.93 ± 5.79 ^c
210	96.43 ± 1.03 ^a	165.18 ± 2.78 ^c	141.07 ± 2.31 ^b	150.45 ± 6.16 ^b
240	92.86 ± 1.63 ^a	161.61 ± 3.68 ^d	136.61 ± 2.36 ^b	148.66 ± 5.89 ^c

Phụ lục 3. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA đường huyết của nhóm chuẩn (ND) và béo (HFD)

Thời gian (phút)	ND-T0 (mg/dl)	ND-T2 (mg/dl)	ND-T4 (mg/dl)	ND-T6 (mg/dl)	HFD-T2 (mg/dl)	HFD-T4 (mg/dl)	HFD-T6 (mg/dl)
0	87.95 ± 2.23 ^a	91.52 ± 2.23 ^a	91.43 ± 1.18 ^a	94.20 ± 1.12 ^a	104.91 ± 2.67 ^b	133.93 ± 2.31 ^c	141.07 ± 2.31 ^d
15	125.0 ± 2.31 ^a	127.68 ± 1.15 ^a	131.79 ± 1.04 ^a	136.16 ± 2.23 ^b	146.43 ± 2.53 ^c	185.27 ± 4.08 ^d	193.75 ± 3.61 ^e
30	149.11 ± 2.36 ^a	154.02 ± 2.76 ^{ab}	158.21 ± 1.66 ^b	162.50 ± 4.31 ^b	178.57 ± 2.82 ^c	225.89 ± 2.36 ^d	244.64 ± 3.34 ^e
60	126.79 ± 1.63 ^a	133.93 ± 1.93 ^{ab}	137.14 ± 2.07 ^b	139.73 ± 3.95 ^{bc}	146.88 ± 2.46 ^c	191.52 ± 2.23 ^d	200.45 ± 2.76 ^e
90	116.52 ± 3.21 ^a	124.11 ± 1.15 ^{ab}	125.36 ± 1.43 ^{ab}	128.13 ± 4.75 ^b	137.05 ± 2.67 ^c	175.0 ± 3.18 ^d	183.04 ± 3.46 ^d
120	109.38 ± 2.23 ^a	114.73 ± 3.13 ^{ab}	115.36 ± 1.84 ^{ab}	119.20 ± 4.15 ^b	127.23 ± 2.35 ^c	155.36 ± 1.46 ^d	166.07 ± 1.46 ^e
150	102.23 ± 0.45 ^a	107.14 ± 4.49 ^{ab}	108.57 ± 2.14 ^{ab}	112.50 ± 3.65 ^b	121.43 ± 1.46 ^c	147.32 ± 2.36 ^d	157.59 ± 2.35 ^e
180	96.43 ± 1.26 ^a	102.23 ± 4.80 ^{ab}	103.21 ± 3.36 ^{ab}	105.80 ± 1.98 ^{bc}	112.95 ± 2.56 ^c	140.63 ± 2.86 ^d	152.68 ± 1.15 ^e
210	93.30 ± 1.34 ^a	95.54 ± 3.05 ^a	95.71 ± 3.32 ^a	100.0 ± 2.19 ^a	109.38 ± 1.98 ^b	135.71 ± 2.53 ^c	146.88 ± 1.52 ^d
240	89.73 ± 0.85 ^a	91.96 ± 3.46 ^a	92.50 ± 1.31 ^a	95.09 ± 1.52 ^a	105.36 ± 1.93 ^b	131.70 ± 1.69 ^c	138.84 ± 1.98 ^d

Phụ lục 4. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA đường huyết của các nhóm chuột tuần 4

Thời gian (phút)	ND (mg/dl)	HFD (mg/dl)	HFE-200 (mg/dl)	HFE-600 (mg/dl)	HFE-1000 (mg/dl)	HFE-1400 (mg/dl)	HFA-100 (mg/dl)
0	91.43 ± 1.18 ^a	133.93 ± 2.31 ^e	129.02 ± 1.52 ^{de}	122.77 ± 3.52 ^{cde}	117.86 ± 2.63 ^{bc}	113.39 ± 3.46 ^b	119.64 ± 1.46 ^{bc}
15	131.79 ± 1.04 ^a	185.27 ± 4.08 ^e	173.66 ± 4.96 ^d	169.20 ± 4.80 ^d	158.48 ± 2.46 ^c	145.54 ± 1.15 ^b	151.79 ± 3.18 ^{bc}
30	158.21 ± 1.66 ^a	225.89 ± 2.36 ^d	215.18 ± 2.13 ^c	209.82 ± 4.16 ^c	199.11 ± 2.78 ^b	194.20 ± 2.95 ^b	197.32 ± 4.16 ^b
60	137.14 ± 2.07 ^a	191.52 ± 2.23 ^e	180.80 ± 2.11 ^d	172.77 ± 4.27 ^{bcd}	166.96 ± 2.78 ^{bc}	163.84 ± 1.52 ^b	173.21 ± 4.43 ^{cd}
90	125.36 ± 1.43 ^a	175.0 ± 3.18 ^e	162.50 ± 1.63 ^d	160.27 ± 4.63 ^{cde}	151.34 ± 4.34 ^{bc}	149.55 ± 2.46 ^b	156.25 ± 4.28 ^{bcd}
120	115.36 ± 1.84 ^a	155.36 ± 1.46 ^e	150.89 ± 2.36 ^{de}	146.43 ± 2.31 ^{cd}	141.07 ± 1.93 ^{bc}	138.39 ± 4.40 ^b	146.43 ± 1.93 ^{cd}
150	108.57 ± 2.14 ^a	147.32 ± 2.36 ^d	141.07 ± 3.79 ^{cd}	139.29 ± 1.63 ^{cd}	133.04 ± 2.13 ^{bc}	130.80 ± 3.52 ^b	134.82 ± 2.25 ^{bc}
180	103.21 ± 3.36 ^a	140.63 ± 2.86 ^d	137.05 ± 4.34 ^{cd}	131.70 ± 2.35 ^{bcd}	128.57 ± 1.63 ^{bc}	126.34 ± 3.81 ^b	129.46 ± 2.78 ^{bc}
210	95.71 ± 3.32 ^a	135.71 ± 2.53 ^d	130.80 ± 2.95 ^{cd}	125.89 ± 1.71 ^{bc}	124.55 ± 1.52 ^{bc}	120.54 ± 3.61 ^b	123.21 ± 4.25 ^{bc}
240	92.50 ± 1.31 ^a	131.70 ± 1.69 ^e	125.45 ± 3.74 ^{de}	123.21 ± 3.18 ^{cde}	117.41 ± 1.12 ^{bc}	115.18 ± 2.78 ^b	119.20 ± 2.67 ^{bcd}

Phụ lục 5. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA đường huyết của các nhóm chuột tuần 6

Thời gian (phút)	ND (mg/dl)	HFD (mg/dl)	HFE-200 (mg/dl)	HFE-600 (mg/dl)	HFE-1000 (mg/dl)	HFE-1400 (mg/dl)	HFA-100 (mg/dl)
0	94.20 ± 1.12 ^a	141.07 ± 2.31 ^f	125.0 ± 2.63 ^e	118.30 ± 1.12 ^d	109.82 ± 1.86 ^c	103.13 ± 1.98 ^b	114.73 ± 1.12 ^{cd}
15	136.16 ± 2.23 ^a	193.75 ± 3.61 ^e	172.77 ± 1.34 ^d	162.05 ± 1.98 ^c	152.23 ± 4.21 ^b	149.11 ± 2.36 ^b	155.80 ± 1.98 ^{bc}
30	162.50 ± 4.31 ^a	244.64 ± 3.34 ^f	211.61 ± 1.55 ^e	201.34 ± 3.81 ^d	189.73 ± 2.95 ^{bc}	185.71 ± 1.93 ^b	197.77 ± 3.60 ^{cd}
60	139.73 ± 3.95 ^a	200.45 ± 2.76 ^d	176.79 ± 2.63 ^c	171.43 ± 4.19 ^c	158.93 ± 1.93 ^b	148.21 ± 1.26 ^a	170.09 ± 2.46 ^c
90	128.13 ± 4.75 ^a	183.04 ± 3.46 ^e	161.16 ± 2.76 ^d	151.34 ± 3.45 ^c	142.86 ± 1.93 ^{bc}	133.93 ± 2.63 ^{ab}	147.32 ± 2.13 ^c
120	119.20 ± 4.15 ^a	166.07 ± 1.46 ^e	149.11 ± 1.55 ^d	138.39 ± 2.13 ^c	131.70 ± 2.95 ^{bc}	125.89 ± 1.55 ^{ab}	135.71 ± 1.93 ^c
150	112.50 ± 3.65 ^a	157.59 ± 2.35 ^d	137.50 ± 0.73 ^c	131.25 ± 1.15 ^{bc}	125.45 ± 2.95 ^b	117.41 ± 1.34 ^a	129.91 ± 2.35 ^b
180	105.80 ± 1.98 ^a	152.68 ± 1.15 ^e	131.70 ± 1.12 ^d	126.34 ± 1.12 ^c	121.43 ± 2.63 ^c	112.95 ± 1.34 ^b	123.21 ± 1.63 ^c
210	100.0 ± 2.19 ^a	146.88 ± 1.52 ^f	128.57 ± 0.73 ^e	120.54 ± 1.86 ^d	113.84 ± 1.34 ^c	106.70 ± 1.34 ^b	118.30 ± 1.52 ^{cd}
240	95.09 ± 1.52 ^a	138.84 ± 1.98 ^f	124.55 ± 1.34 ^e	115.63 ± 1.52 ^d	108.93 ± 1.63 ^c	101.79 ± 1.03 ^b	115.18 ± 1.15 ^d

Phụ lục 6. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA diện tích dưới đường cong (AUC) của đường huyết ở mỗi nhóm chuột

Tuần	S _{ND} (dvdt)	S _{HFD} (dvdt)	S _{HFE-200} (dvdt)	S _{HFE-600} (dvdt)	S _{HFE-1000} (dvdt)	S _{HFE-1400} (dvdt)	S _{HFA-100} (dvdt)
0	5270.96 ± 14.18	-	-	-	-	-	-
2	5577.54 ± 5.87 ^a	6032.92 ± 14.14 ^b	-	-	-	-	-
4	6110.30 ± 14.47 ^a	7333.43 ± 14.68 ^f	6899.48 ± 16.43 ^e	6795.30 ± 23.15 ^d	6631.72 ± 20.28 ^c	6556.15 ± 12.70 ^b	6650.57 ± 14.51 ^c
6	6124.88 ± 16.16 ^a	8134.09 ± 17.27 ^f	6844.95 ± 24.70 ^e	6770.94 ± 29.35 ^d	6548.92 ± 10.89 ^b	6506.76 ± 15.80 ^b	6627.94 ± 6.11 ^c

Phụ lục 7. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA diện tích dưới đường cong (AUC) của đường huyết ở mỗi nhóm chuột điều tiệt tinh bột

Nhóm	Nồng độ đường huyết (mg/dl)	
	FBGL	PBGL-30 phút
ND	91.52 ± 2.56 ^a	124.11 ± 2.36 ^a
HFD	136.16 ± 1.34 ^b	195.98 ± 2.95 ^c
HFE-1400	131.25 ± 1.55 ^b	155.36 ± 3.50 ^b
HFA-100	133.04 ± 1.55 ^b	162.05 ± 1.34 ^b

Các giá trị trong phụ lục 7 biểu thị giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SE) (n=5)

Các giá trị có ký hiệu chữ (a, b, c) khác nhau trong cùng một hàng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê lần lượt là ($p<0.05$)

Phụ lục 8. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA chỉ số sinh hoá máu của các nhóm chuột

Tuần	Nhóm	Mã hoá	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)	TC/ HDL	TG/ HDL	LDL/ HDL
0	C	273	2.36 ^a	1.05 ^b	1.39 ^a	0.8 ^a	1.7 ^b	0.76 ^e	0.58 ^a
6	ND	815	2.83 ^b	1.15 ^d	1.66 ^d	0.9 ^{ab}	1.7 ^b	0.69 ^d	0.54 ^a
	HFD	971	3.97 ^f	1.77 ^g	1.52 ^b	1.8 ^c	2.61 ^e	1.16 ^f	1.18 ^b
	HFE-200	732	2.8 ^b	1.19 ^e	1.57 ^c	1.0 ^{ab}	1.78 ^d	0.76 ^e	0.64 ^a
	HFE-600	736	3.31 ^c	1.15 ^d	1.87 ^e	1.1 ^{ab}	1.77 ^{cd}	0.61 ^c	0.59 ^a
	HFE-1000	372	3.36 ^c	1.09 ^c	1.93 ^f	1.1 ^{ab}	1.74 ^{bcd}	0.56 ^b	0.57 ^a
	HFE-1400	385	3.47 ^d	0.97 ^a	2.13 ^g	1.1 ^{ab}	1.63 ^a	0.46 ^a	0.52 ^a
	HFA-100	254	3.63 ^e	1.59 ^f	2.12 ^g	1.2 ^b	1.71 ^{bc}	0.75 ^e	0.57 ^a

Triglyceride (TG) (mmol/L)

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
HFE-1400	3	.9700						
ND-T0	3		1.0500					
HFE-1000	3			1.0900				
ND-T6	3				1.1500			
HFE-600	3				1.1500			
HFE-200	3					1.1900		
HFA-100	3						1.5900	
HFD	3							1.7700
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Cholesterol total (TC) (mmol/L)

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
ND-T0	3	2.3600					
HFE-200	3		2.8000				
ND-T6	3			2.8300			
HFE-600	3				3.3100		
HFE-1000	3				3.3600		
HFE-1400	3					3.4700	
HFA-100	3						3.6300
HFD	3						3.9700
Sig.		1.000	.425	.191	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

HDL (mmol/L)

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
ND-T0	3	1.3900						
HFD	3		1.5200					
HFE-200	3			1.5700				
ND-T6	3				1.6600			
HFE-600	3					1.8700		
HFE-1000	3						1.9300	
HFA-100	3							2.1200
HFE-1400	3							2.1300
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.582

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

LDL (mmol/L)

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ND-T0	3	.8000		
ND-T6	3	.9000	.9000	
HFE-200	3	1.0000	1.0000	
HFE-600	3	1.1000	1.1000	
HFE-1000	3	1.1000	1.1000	
HFE-1400	3	1.1000	1.1000	
HFA-100	3		1.2000	
HFD	3			1.8000
Sig.		.070	.070	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

TC/HDL

Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
HFE-1400	3	1.6300				
ND-T0	3		1.6967			
ND-T6	3		1.7067			
HFA-100	3		1.7133	1.7133		
HFE-1000	3		1.7400	1.7400	1.7400	
HFE-600	3			1.7700	1.7700	
HFE-200	3				1.7800	
HFD	3					2.6133
Sig.		1.000	.137	.050	.156	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

TG/HDL

Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
HFE-1400	3	.4567					
HFE-1000	3		.5633				
HFE-600	3			.6133			
ND-T6	3				.6933		
HFA-100	3					.7500	
ND-T0	3					.7567	
HFE-200	3					.7600	
HFD	3						1.1633
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.410	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

LDL/HDL

Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
HFE-1400	3	.5167	
ND-T6	3	.5400	
HFA-100	3	.5633	
HFE-1000	3	.5700	
ND-T0	3	.5767	
HFE-600	3	.5900	
HFE-200	3	.6367	
HFD	3		1.1833
Sig.		.182	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Phụ lục 9. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA khối lượng nội tạng của các nhóm chuột

Nhóm	Khối lượng gan (g)	Khối lượng gan/ Khối lượng cơ thể (%)	Khối lượng thận (g)	Khối lượng thận/ Khối lượng cơ thể (%)	Khối lượng mõ (g)	Khối lượng mõ/ Khối lượng cơ thể (%)
ND	1.28 ± 0.02 ^a	3.45 ± 0.07 ^a	0.32 ± 0.01 ^a	0.85 ± 0.01 ^a	0.66 ± 0.1 ^a	1.80 ± 0.3 ^a
HFD	1.58 ± 0.04 ^c	3.68 ± 0.03 ^b	0.43 ± 0.02 ^b	1.0 ± 0.04 ^a	2.0 ± 0.13 ^e	4.64 ± 0.26 ^e
HFE-200	1.44 ± 0.06 ^b	3.58 ± 0.07 ^{ab}	0.38 ± 0.03 ^{ab}	0.96 ± 0.04 ^a	1.55 ± 0.12 ^d	3.88 ± 0.3 ^{de}
HFE-600	1.40 ± 0.05 ^{ab}	3.54 ± 0.09 ^{ab}	0.37 ± 0.02 ^{ab}	0.94 ± 0.05 ^a	1.39 ± 0.05 ^{cd}	3.53 ± 0.13 ^{cd}
HFE-1000	1.33 ± 0.04 ^{ab}	3.51 ± 0.02 ^{ab}	0.36 ± 0.03 ^{ab}	0.95 ± 0.06 ^a	1.09 ± 0.05 ^{bc}	2.90 ± 0.21 ^{bc}
HFE-1400	1.29 ± 0.03 ^a	3.50 ± 0.08 ^{ab}	0.38 ± 0.05 ^{ab}	1.04 ± 0.11 ^a	0.92 ± 0.03 ^{ab}	2.50 ± 0.1 ^{ab}
HFA-100	1.37 ± 0.05 ^{ab}	3.52 ± 0.02 ^{ab}	0.37 ± 0.02 ^{ab}	0.95 ± 0.04 ^a	1.49 ± 0.18 ^d	3.83 ± 0.46 ^{de}

Phụ lục 10. Kết quả phân tích ONE – WAY ANOVA hành vi (Locomotion) của các nhóm chuột

Quãng đường di chuyển trung bình trong 10 phút (m)								
Nhóm	Tuần 0		Tuần 2		Tuần 4		Tuần 6	
	BF	AF	BF	AF	BF	AF	BF	AF
ND	20.16 ± 1.40	20.80 ± 0.61	20.32 ± 0.45	24.72 ± 0.42	19.91 ± 2.34 ^a	20.01 ± 0.34 ^c	22.14 ± 1.62 ^d	23.47 ± 0.86 ^c
HFD	20.16 ± 1.40	20.00 ± 0.47	20.95 ± 1.63	19.85 ± 0.25	15.46 ± 1.02 ^a	13.43 ± 1.06 ^a	14.20 ± 0.59 ^a	12.30 ± 1.55 ^a
HFE-200	-	-	-	-	15.52 ± 0.81 ^a	16.12 ± 1.59 ^{ab}	14.78 ± 1.15 ^{ab}	15.34 ± 1.42 ^{ab}
HFE-600	-	-	-	-	15.78 ± 1.72 ^a	16.25 ± 0.98 ^{ab}	15.14 ± 1.29 ^{ab}	16.83 ± 1.16 ^{abc}
HFE-1000	-	-	-	-	17.03 ± 0.91 ^a	18.71 ± 1.97 ^{bc}	18.30 ± 0.22 ^c	19.13 ± 1.80 ^{bc}
HFE-1400	-	-	-	-	18.24 ± 1.44 ^a	19.28 ± 0.28 ^{bc}	19.79 ± 0.57 ^{cd}	21.91 ± 3.02 ^{bc}
HFA-100	-	-	-	-	17.78 ± 2.34 ^a	18.12 ± 0.71 ^{bc}	17.43 ± 0.65 ^{bc}	18.60 ± 4.65 ^{bc}

Chú thích: Chú thích: Chú thích: Quãng đường di chuyển trước khi ăn (BF) tuần 0 (T0) và tuần 2 (T2)(A), tuần 4 (C) và tuần 6 (E); Quãng đường di chuyển sau khi ăn (AF) tuần 0 và tuần 2 (B), tuần 4 (D) và tuần 6 (F); HFD: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu chất béo; HFE-200, HFE-600, HFE-1000, HFE-1400: nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng CED với liều lượng lần lượt là 200; 600; 1000; 1400; 100 ml/kg thể trọng/ngày (chia làm 2 lần/ngày); HFA-100 nhóm sử dụng khẩu phần ăn giàu béo kết hợp với sử dụng acarbose 100 mg/kg thể trọng/ngày) (chia làm 2 lần/ngày). Các giá trị trong đồ thị biểu thị giá trị trung bình ± sai số chuẩn ($n=4$); Các giá trị (a, b, c, d) khác nhau trên các cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p<0.05$)

Phụ lục 11. Chứng nhận số IRB-A-2002



Hội đồng Đạo đức của Viện Nghiên cứu Y học Đinh Tiên Hoàng được Bộ Y tế Việt Nam cấp mã số hoạt động IRB-VN02010 ngày 15/10/2015

CHỨNG NHẬN

Số: IRB-A-2002

Đề tài:

“Nghiên cứu giá trị dinh dưỡng của một số loại thực phẩm trên động vật thực nghiệm”

Chủ nhiệm đề tài: PGS. TS. Trịnh Khánh Sơn

Đơn vị chủ quản: Trường đại học sư phạm kỹ thuật TP. Hồ Chí Minh

Thời gian triển khai nghiên cứu y sinh học: 10/2020 – 10/2022

ĐÃ ĐƯỢC THÔNG QUA BỞI
HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC
VIỆN NGHIÊN CỨU Y HỌC ĐINH TIỀN HOÀNG

Ngày 26 tháng 09 năm 2020

Chứng nhận có giá trị từ ngày 26/09/2020 đến hết ngày 31/10/2022



BSCKII. Hà Việt Trung
Phó Viện Trưởng
Viện Nghiên cứu Y học Đinh Tiên Hoàng



TS. BS. Nguyễn Khánh Hòa
Chủ tịch Hội đồng đạo đức
Trên động vật thực nghiệm



NỘI DUNG CHỨNG NHẬN

Số: IRB-A-2002

Chủ nhiệm đề tài và các thành viên nghiên cứu tuân thủ các quy định sau:

- Tiến hành nghiên cứu đúng theo đề cương, các nguyên tắc đạo đức trong nghiên cứu y sinh học và các quy định, luật pháp hiện hành.
- Có được sự chấp thuận trước từ Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Viện Nghiên cứu Y học Đinh Tiên Hoàng cho những thay đổi trong nghiên cứu.
Gồm có:
 - Kéo dài thời gian nghiên cứu
 - Thay đổi số lượng đối tượng nghiên cứu
 - Thay đổi tiêu chuẩn lựa chọn, loại trừ của đối tượng nghiên cứu
 - Thay đổi hoặc bổ sung phương pháp nghiên cứu
- Nhanh chóng báo cáo cho Hội đồng đạo đức tất cả các vấn đề phát sinh ngoài ý muốn (các biến cố bất lợi không được dự đoán trước, các trường hợp gây chết bất thường, gây ra các tình trạng khó chịu cho động vật nghiên cứu, gây đau đớn kéo dài, gây mất khả năng ăn uống của động vật) và đề xuất phương án xử lý hoặc thay thế
- Báo cáo tiến độ nghiên cứu khi có yêu cầu từ Hội đồng đạo đức (thông thường 6 tháng/1 lần, hoặc 12 tháng/lần, hoặc đột xuất khi có vấn đề liên quan đến an toàn hoặc chăm sóc đặc biệt cho động vật nghiên cứu)
- Đảm bảo trước khi thực hiện các nhiệm vụ nghiên cứu, mỗi thành viên tham gia đề tài đã được tập huấn về cách thức triển khai nghiên cứu đảm bảo quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học.
- Ba cáo cuối cùng về số lượng đối tượng nghiên cứu, các protocol nghiên cứu đã thực hiện ngay sau khi kết thúc nghiên cứu.

Phụ lục 12. Kết quả phân tích dư lượng ethanol



Công ty TNHH Khoa Học và Công Nghệ SÀI GÒN
TRUNG TÂM PHÂN TÍCH KỸ THUẬT CAO SÀI GÒN
Phân tích kiểm tra chất lượng hàng hóa, nông thủy sản, thực phẩm, môi trường
Địa chỉ : 743/32 Hồng Bàng, F6, Q6, TP.HCM. MST: 0313500385
ĐT : 39600708, 39600709, Fax : 39600067

BN: 201130-006/TTSG

KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM MFC-MRA Analytical Results



Mã số mẫu / Sample ID : 2011755

Tên mẫu / Sample name : Mẫu cao chiết Ethanol

Khách hàng / Client : Trịnh Khánh Sơn - Đại học Sư Phạm Kỹ Thuật TP.HCM

Địa chỉ / Address : Số 5, đường số 7, Phường Linh Chiểu, Quận Thủ Đức, TP.HCM

Mô tả mẫu / Sample description : Mẫu cao dạng sệt đựng trong hũ kín

Nền mẫu / Matrix : Mẫu cao chiết Ethanol

Số lượng mẫu / Number of sample : 01

Ngày nhận mẫu / Date of sample received : 30/11/2020

Ngày hẹn trả kết quả / Date of results delivery: 07/12/2020

Mã số mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Kết quả	LOD	Đơn vị	Phương pháp
2011755	Dư lượng Ethanol	63.8	-	mg/Kg	Ref. AOAC 968.09

Ghi chú/Note : Các kết quả phân tích chỉ có giá trị đối với mẫu thử đã được mã hóa như trên/ The results only valid for the sample encoded as above

- Không được trích sao một phần kết quả phân tích nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của công ty / The results shall not be reproduced except in full, without the written approval of the director
- (*) Phương pháp được Vilas công nhận / The method is accredited by Bureau of Accreditation (VILAS)
- (a) Kết quả do nhà thầu phụ thực hiện / The parameters tested by subcontractor
- (b) Phòng thử nghiệm được chỉ định bởi Bộ Y Tế / Lab approved by Ministry of Health
- LOD: Giới hạn phát hiện/ Limit of detection. KPH : không phát hiện/ Not detected

Phụ trách phòng thí nghiệm
Officer in charge of laboratory

ThS. Nguyễn Thành Tân



TS. Phạm Kim Phương

Phụ lục 13. Kết quả phân tích mẫu thức ăn cho chuột



Công ty TNHH Khoa Học và Công Nghệ SÀI GÒN
TRUNG TÂM PHÂN TÍCH KỸ THUẬT CAO SÀI GÒN
Phân tích kiểm tra chất lượng hàng hóa, nông thủy sản, thực phẩm, môi trường
Địa chỉ : 743/32 Hồng Bàng, F6, Q6, TP.HCM. MST: 0313500385
ĐT : 39600708, 39600709, Fax : 39600067

BN: 201130-006/TTSG

KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM Analytical Results



Mã số mẫu / Sample ID : 2011756 - 01

Tên mẫu / Sample name : MẪU THỨC ĂN CHO CHUỘT

Khách hàng / Client : TRỊNH KHÁNH SƠN - ĐẠI HỌC SƯ PHẠM KỸ THUẬT TP.HCM

Địa chỉ / Address : Số 5, đường số 7, Phường Linh Chiểu, Quận Thủ Đức, TP.HCM

Mô tả mẫu / Sample description : Mẫu thành phẩm đựng trong bao bì kín

Nền mẫu / Matrix : MẪU THỨC ĂN CHO CHUỘT

Số lượng mẫu / Number of sample : 01

Ngày nhận mẫu / Date of sample received : 30/11/2020

Ngày hẹn trả kết quả / Date of results delivery: 07/12/2020

Mã số mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Kết quả	LOD	Đơn vị	Phương pháp
2011756-01	Carbohydrate	70.8	-	g/100g	FAO, Food & Nutrition, P.77, 2000
	Protein (*)	15.5	-	g/100g	FAO, Food & Nutrition, 14/7, 1986
	Lipid	3.26	-	g/100g	Ref. AOAC 996.06
	Xơ thô	16.0	-	g/100g	TCVN 4329 : 2007

Ghi chú/Note : Các kết quả phân tích chỉ có giá trị đối với mẫu thử đã được mã hóa như trên/ The results only valid for the sample encoded as above

- Không được trích sao một phần kết quả phân tích nếu không có sự đồng ý bằng văn bản của công ty / The results shall not be reproduced except in full, without the written approval of the director

- (*) Phương pháp được Vilas công nhận / The method is accredited by Bureau of Accreditation (VILAS)

- (a) Kết quả do nhà thầu phụ thực hiện / The parameters tested by subcontractor

- (b) Phòng thử nghiệm được chỉ định bởi Bộ Y Tế / Lab approved by Ministry of Health

- LOD: Giới hạn phát hiện/ Limit of detection. KPH : không phát hiện/ Not detected

Phụ trách phòng thí nghiệm
Officer in charge of laboratory

Giám đốc

Director



ThS. Nguyễn Thanh Tân

TS. Phạm Kim Phương

Phụ lục 14. Kết quả phân tích chỉ số sinh hoá máu của các nhóm chuột



PHÒNG KHÁM ĐA KHOA TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y KHOA PHẠM NGỌC THẠCH

D/C : 461 Sư Vạn Hạnh, Phường 12, Quận 10, TP.HCM
Điện thoại : 028.38 620 120 - Fax: 028.38 620 150



21000236

SID: 2730

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Họ và tên: TRỊNH KHÁNH SƠN 273 Năm sinh: 1970 Giới tính: Nam
Địa chỉ: SỐ 1, VÕ VĂN NGÂN, LINH TRUNG, THỦ ĐỨC Số BHYT:
Điện Thoại: 0395187261
Bác sĩ điều trị:
Chẩn đoán: MÀU GỬI

Thời gian lấy mẫu: 01/13/2021 09:08:41 AM
Thời gian in KQ : 01/13/2021 09:32:33 AM

TÊN XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ	CHỈ SỐ BÌNH THƯỜNG	ĐƠN VỊ
Sinh Hoá			
Triglycerides	1.05		mmol/L
Cholesterol total	2.36		mmol/L
HDL Cholesterol	1.39		mmol/L
LDL Cholesterol	0.8		mmol/L

Ngày 13 tháng 01 năm 2021
TRƯỜNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

ThS. Võ Văn Cảnh



PHÒNG KHÁM ĐA KHOA
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y KHOA PHẠM NGỌC THẠCH

D/C : 461 Sư Vạn Hạnh, Phường 12, Quận 10, TP.HCM
Điện thoại : 028.38 620 120 - Fax: 028.38 620 150



21000258

SID: 1815

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Họ và tên: TRỊNH KHÁNH SƠN 815 Năm sinh: 1970 Giới tính: Nam
Địa chỉ: SỐ 1, VÕ VĂN NGÂN, LINH CHIỀU, THỦ ĐỨC, HỒ SỐ BHYT:
CHÍ MINH
Điện Thoại: 0385263482
Bác sĩ điều trị:
Chẩn đoán:

Thời gian lấy mẫu: 13/01/2021 2:58:19 PM
Thời gian in KQ : 13/01/2021 3:20:07 PM

TÊN XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ	CHỈ SỐ BÌNH THƯỜNG	ĐƠN VỊ
Sinh Hoá			
Cholesterol total	2.83		mmol/L
HDL Cholesterol	1.66		mmol/L
LDL Cholesterol	0.9		mmol/L
Triglycerides	1.15		mmol/L

Ngày 13 tháng 01 năm 2021
TRƯỜNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

ThS. Võ Văn Tính



PHÒNG KHÁM ĐA KHOA
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y KHOA PHẠM NGỌC THẠCH

Đ/c : 461 Sư Vạn Hạnh, Phường 12, Quận 10, TP.HCM
Điện thoại : 028.38 620 120 - Fax: 028.38 620 150



21000257

SID: 1971

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Họ và tên: TRỊNH KHÁNH SƠN 971 Năm sinh: 1970 Giới tính: Nam
Địa chỉ: SỐ 1, VÕ VĂN NGÂN, LINH CHIỀU, THỦ ĐỨC Số BHYT:
Điện Thoại: 0385263482
Bác sĩ điều trị:
Chẩn đoán:

Thời gian lấy mẫu: 13/01/2021 2:58:26 PM
Thời gian in KQ : 13/01/2021 3:20:35 PM

TÊN XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ	CHỈ SỐ BÌNH THƯỜNG	ĐƠN VỊ
Sinh Hoá			
Cholesterol total	3.97		mmol/L
Triglycerides	1.77		mmol/L
HDL Cholesterol	1.52		mmol/L
LDL Cholesterol	1.8		mmol/L

Ngày 13 tháng 01 năm 2021
TRƯỜNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

ThS. Võ Văn Tính



PHÒNG KHÁM ĐA KHOA
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y KHOA PHẠM NGỌC THẠCH

B/C : 461 Sư Vạn Hạnh, Phường 12, Quận 10, TP.HCM
Điện thoại : 028.38 620 120 - Fax: 028.38 620 150



21000237

SID: 7320

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Họ và tên: TRỊNH KHÁNH SƠN 732 Năm sinh: 1970 Giới tính: Nam
Địa chỉ: SỐ 1, VÕ VĂN NGÂN, LINH TRUNG, THỦ DỨC Số BHYT:
Điện Thoại: 0395187261
Bác sĩ điều trị:
Chẩn đoán: MẪU GỬI Thời gian lấy mẫu: 01/13/2021 09:08:36 AM
Thời gian in KQ: 01/13/2021 09:31:43 AM

TÊN XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ	CHỈ SỐ BÌNH THƯỜNG	ĐƠN VỊ
Sinh Hoá			
Triglycerides	1.19		mmol/L
Cholesterol total	2.80		mmol/L
HDL Cholesterol	1.57		mmol/L
LDL Cholesterol	1.0		mmol/L

Ngày 13 tháng 01 năm 2021
TRƯỜNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

ThS. Vũ Văn Tình



PHÒNG KHÁM ĐA KHOA
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y KHOA PHẠM NGỌC THẠCH

D/C : 461 Số Vạn Hạnh, Phường 12, Quận 10, TP.HCM

Điện thoại : 028.38 620 120 - Fax: 028.38 620 150



21000090

SID: 7360

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Họ và tên: TRỊNH KHÁNH SƠN 736 Năm sinh: 1980 Giới tính: Nam
Địa chỉ: SỐ 1, VÔ VĂN NGÂN, LINH CHIỀU, THỦ ĐỨC, Số BHYT:
HCM
Điện Thoại: 0395187161
Bác sĩ điều trị:
Chẩn đoán: MẪU GỬI Thời gian lấy mẫu: 01/07/2021 10:07:04 AM
Thời gian in KQ : 01/07/2021 10:37:11 AM

TÊN XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ	CHỈ SỐ BÌNH THƯỜNG	ĐƠN VỊ
Sinh Hoá			
Triglycerides	1.15		mmol/L
Cholesterol total	3.31		mmol/L
HDL Cholesterol	1.87		mmol/L
LDL Cholesterol	1.10		mmol/L

Ngày 07 tháng 01 năm 2021
KT TRƯỜNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

ThS. Trịnh Thị Ngọc Ái



PHÒNG KHÁM ĐA KHOA
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y KHOA PHẠM NGỌC THẠCH

Đ/C : 461 Sư Vạn Hạnh, Phường 12, Quận 10, TP.HCM
Điện thoại : 028.38 620 120 - Fax: 028.38 620 150



21000061

SID: 3720

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Họ và tên: TRỊNH KHÁNH SƠN 372 Năm sinh: 1980 Giới tính: Nam
Địa chỉ: SỐ 1 VÕ VĂN NGÂN, LINH CHIỀU, THỦ ĐỨC, Số BHYT:
Điện Thoại: 0395187261
Bác sĩ điều trị:
Chẩn đoán: MẪU GỬI Thời gian lấy mẫu: 01/06/2021 10:20:42 AM
Thời gian in KQ : 01/06/2021 10:39:11 AM

TÊN XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ	CHỈ SỐ BÌNH THƯỜNG	ĐƠN VỊ
Sinh Hoá			
Triglycerides	1.09		mmol/L
Cholesterol total	3.36		mmol/L
HDL Cholesterol	1.93		mmol/L
LDL Cholesterol	1.1		mmol/L

Ngày 06 tháng 01 năm 2021
TRƯỜNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

ThS. Vũ Văn Tình



PHÒNG KHÁM ĐA KHOA
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y KHOA PHẠM NGỌC THẠCH

Đ/C : 461 Số Vạn Hạnh, Phường 12, Quận 10, TP.HCM.
Điện thoại : 028.38 620 120 - Fax: 028.38 620 150



21000064

SID: 3850

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Họ và tên: TRỊNH KHÁNH SƠN 385 Năm sinh: 1980 Giới tính: Nam

Địa chỉ: SỐ 1, VÕ VĂN NGÂN, LINH CHIỀU, THỦ ĐỨC, HCM Sổ BHYT:

Điện Thoại: 0395187261

Bác sĩ điều trị:

Chẩn đoán: Thời gian lấy mẫu: 06/01/2021 3:27:27 PM

Thời gian in KQ : 06/01/2021 3:32:16 PM

TÊN XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ	CHỈ SỐ BÌNH THƯỜNG	ĐƠN VỊ
Sinh Hoá			
Triglycerides	0.97		mmol/L
Cholesterol total	3.47		mmol/L
HDL Cholesterol	2.13		mmol/L
LDL Cholesterol	1.10		mmol/L

Ngày 06 tháng 01 năm 2021
TRƯỜNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

ThS. Vũ Văn Thành



PHÒNG KHÁM ĐA KHOA
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y KHOA PHẠM NGỌC THẠCH

Đ/C : 461 Sư Vạn Hạnh, Phường 12, Quận 10, TP.HCM
Điện thoại : 028.38 620 120 - Fax: 028.38 620 150



21000127

SID: 1254

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Họ và tên: TRỊNH KHÁNH SƠN 254 Năm sinh: 1980 Giới tính: Nam
Địa chỉ: SỐ 1, VÕ VĂN NGÂN, LINH CHIỀU, THỦ ĐỨC Số BHYT:
Điện Thoại: 0395187261
Bác sĩ điều trị:
Chẩn đoán: MẪU GỬI Thời gian lấy mẫu: 08/01/2021 10:07:39 AM
Thời gian in KQ : 08/01/2021 10:23:06 AM

TÊN XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ	CHỈ SỐ BÌNH THƯỜNG	ĐƠN VỊ
Sinh Hóa			
Triglycerides	1.59		mmol/L
Cholesterol total	3.63		mmol/L
HDL Cholesterol	2.12		mmol/L
LDL Cholesterol	1.2		mmol/L

Ngày 08 tháng 01 năm 2021
TRƯỜNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

ThS. Vũ Văn Tình



Lê Hồng Phương

MSSV: 16116166

Sđt: 0364997101

Gmail: lehongphuong15898@gmail.com

Trần Lê Tri

MSSV: 16116186

Sđt: 0336804009

Gmail: tranletri250497@gmail.com

