

KHẢO SÁT TÁC DỤNG HẠ LIPID MÁU CỦA MỘT SỐ DƯỢC LIỆU TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT GÂY TĂNG LIPID MÁU BẰNG TYLOXAPOL

Chung Thị Mỹ Duyên¹, Hà Quang Thanh¹, Nguyễn Hoàng Minh¹,
Nguyễn Mai Trúc Tiên¹, Mai Thành Chung^{2,*}

¹Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh - Viện Dược liệu;

²Đại học Quốc tế Hồng Bàng

*Email: thanhchung0408@gmail.com

(Nhận bài ngày 30 tháng 5 năm 2022)

Tóm tắt

Nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu đánh giá tác dụng hạ lipid máu của một số cao chiết còn 45% từ dược liệu như: lá nhật nguyệt, bao hoa thanh long, củ Yacon, lá vông cách và cúc hoa vàng trên mô hình chuột gây tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol. Dược liệu được xay nhỏ và chiết xuất theo phương pháp chiết ngấm kiệt với ethanol 45% theo tỉ lệ 1 : 15 (khối lượng : thể tích). Chuột được gây tăng lipid máu bằng cách tiêm tĩnh mạch đuôi Tyloxapol liều 250 mg/kg và được cho uống cao chiết ethanol 45% từ lá nhật nguyệt liều 0,42 và 0,84 g/kg; bao hoa thanh long liều 1,83 và 3,66 g/kg; củ Yacon liều 1,42 và 2,84 g/kg; lá vông cách liều 1,30 và 2,60 g/kg; cúc hoa vàng 2,15 và 4,30 g/kg và atorvastatin liều 0,064 g/kg. Tất cả các liều trên đều thể hiện tác dụng hạ triglycerid, cholesterol toàn phần trong huyết tương chuột. Cao còn 45% từ lá nhật nguyệt được chọn làm cao chiết tiềm năng trong thực nghiệm thử tác động ức chế HMG - CoA reductase theo hướng giống statin. Cao còn 45% từ lá nhật nguyệt ở liều 0,42 g/kg và 0,84 g/kg cho tác dụng ức chế HMG - CoA reductase trong tự thuốc đối chiếu atorvastatin.

Từ khóa: Nhặt nguyệt, Thanh long, Yacon, Vông cách, Cúc hoa vàng, Tác dụng hạ lipid máu.

Summary

Anti-Hyperlipidemic Effect of some Medicinal Plants on Tyloxapol - Induced Hyperlipidemia in Mice

The study aims to investigate the anti-hyperlipidemic effect of 45% ethanol extracts from five medicinal plants: *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk leaves, *Hylocereus undulatus* flowers, *Smallanthus sonchifolius* fruits, *Premna serratifolia* Linn leaves and *Chrysanthemum indicum* flowers on tyloxapol - induced hyperlipidemic model in Swiss mice. Medicinal plants (MP) were extracted using 45% ethanol as a solvent (MP : water = 1 : 15). Hyperlipidemia in mice was induced by a single intravenous tail injection of 250 mg/kg of tyloxapol. Extracts from *P. palatiferum* leaves (0.42 and 0.84 g/kg), *H. Undulatus* flowers (1.83 and 3.66 g/kg), *S. sonchifolius* fruits (1.42 and 2.84 g/kg), *P. serratifolia* leaves (1.30 and 2.60 g/kg), *C. Indicum* flowers (2.15 and 4.30 g/kg) or Atorvastatin (0.064 g/kg) were orally administered after tyloxapol injection. The results showed that treatment with all studied extracts were effective in reducing total cholesterol and triglyceride levels. Besides, the extracts of *P. palatiferum* was further used for lipid metabolism study by inhibition of HMG-CoA reductase activity. The present study explores the HMG - CoA reductase inhibitory effect of extracts from leaves of *P. palatiferum* (0.42 and 0.84 g/kg), such effect was similar to a reference drug Atorvastatin.

Keywords: *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk, *Hylocereus undulatus*, *Smallanthus sonchifolius*, *Premna serratifolia* Linn, *Chrysanthemum indicum*, Hyperlipidemic effect.

1. Đặt vấn đề

Theo thống kê của Bộ Y tế Việt Nam, bệnh tim mạch liên quan đến hơn 30% tổng ca tử vong toàn quốc (khoảng 200 nghìn người) - gấp đôi các bệnh ung thư [1]. Các nghiên cứu khoa học đã chứng minh mối liên hệ chặt chẽ giữa các bệnh lý tim mạch với rối loạn chuyển hoá lipid; là nguyên nhân trực tiếp dẫn đến xơ vữa động mạch, tai biến, nhồi máu cơ tim... [2]. Rối loạn lipid máu góp phần gây ra khoảng 56% bệnh thiếu máu tim cục bộ và 18% đột quỵ. Dự đoán đến năm 2030, hơn 22,2 triệu người sẽ tử vong do xơ vữa động mạch [3]. Rối loạn lipid máu là sự gia tăng nồng độ cholestetol toàn phần, triglycerid, lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL-C) và giảm nồng độ lipoprotein tỷ trọng cao (HDL-C) so với mức bình thường. Cân bằng nội môi cholesterol giữ vai trò quan trọng trong việc duy trì mức lipid trong máu nên

con đường hấp thu cholesterol được thừa nhận là một can thiệp dược lý trọng điểm cho mục tiêu điều trị rối loạn lipid máu [4],[5]. Các thuốc hạ lipid trong y học hiện nay mang lại hiệu quả tốt và tác dụng nhanh nhưng giá thành cao; thường có một số tác dụng phụ đến gan và cơ... và được chống chỉ định sử dụng lâu dài [6]. Do đó, xu hướng sử dụng dược liệu trong liệu pháp điều trị ngày càng được quan tâm rộng rãi. Việc nghiên cứu tìm ra các thuốc hỗ trợ điều trị hay dự phòng các bệnh về rối loạn lipid máu từ nguồn dược liệu trong nước là vấn đề có tính cấp thiết.

Nhật nguyệt (*Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk) có tác dụng điều trị huyết áp, tiêu chảy, viêm khớp, bệnh dạ dày, trĩ, ung thư ruột kết, tiểu đường, viêm thận... Cao lá chiết từ còn 80% ở liều 250 mg/kg có tác dụng hạ glucose huyết tốt hơn thuốc đối chiếu Glibenclamid, làm

tăng HDL, giảm cholesterol tổng, triglycerid, LDL, BUN và ALP ở chuột bị tiểu đường [7]. Một số thành phần của cây này được phát hiện là apigenin, flavonoid, kaempferol, saponin, triterpenoid, stigmasterol, β -sitosterol, phytol, acid salicylic và acid palmitic [8]. **Bao hoa thanh long** (*Hylocereus undulatus*) có tác dụng hạ đường huyết, lợi tiểu, giúp mau lành vết thương, kháng viêm phế quản, kháng viêm hạch bạch huyết thể lao, lao phổi và giải rượu [9]. Các phân tích hóa thực vật cho thấy hoa thanh long chứa ba loại glycosid mới (chất nguyên sinh A, B, C) và các hợp chất từ flavonoid [10],[11]. **Củ Yacon** (*Smallanthus sonchifolius*) chứa nhiều thành phần như: đường (fructose, glucose, và sucrose), inulin, phenolic, flavonoid... Cao nước từ rễ và củ chữa trị đái tháo đường gây ra bởi Streptozotocin liều 60mg/kg, làm giảm đường huyết, cholesterol tổng, giảm VLDL, LDL và triglycerid ở chuột bị tiểu đường, điều hòa rối loạn lipid máu, giảm ALT [12]. **Vọng cách** (*Premna serratifolia* Linn) có hàm lượng polyphenol và flavonoid cao, sử dụng làm thuốc trong Đông y, dùng sỏi ảm, nhuận tràng, thông khí, thiếu máu, sốt, làm se, ngọt nhiệt, viêm, thuốc bổ tim... [13]. Vỏ bột của cây Vọng cách có thể làm hạ cholesterol trong huyết tương và LDL do chế độ ăn gây ra ở mô hình thỏ tăng cholesterol tương đương Atorvastatin [14]. **Cúc hoa vàng** (*Chrysanthemum indicum*) là cây thuốc phổ biến trong y học cổ truyền, điều trị chóng mặt, các triệu chứng tăng huyết áp, viêm phổi, viêm đại tràng, nhiệt miệng, mụn nhọt và sốt. Các chất adenin, cholin, stachydrin, vitamin A và

tinh dầu được tìm thấy trong hoa. Cao chiết ethanol từ cúc hoa vàng được xử lý bằng enzym hỗ trợ giảm cân và nồng độ triglycerid, cholesterol toàn phần, LDL-C và leptin [15].

Từ đó, mục đích của nghiên cứu này nhằm sàng lọc được liệu tiềm năng có tác dụng hạ lipid máu, định hướng sản xuất chế phẩm trong hỗ trợ điều trị bệnh rối loạn chuyển hóa lipid.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá nhật nguyệt (*Pseuderanthemum palatiferrum* (Nees) Radlk), **bao hoa Thanh long** (*Hylocereus undulatus*), **củ Yacon** (*Smallanthus sonchifolius*), **lá vọng cách** (*Premna serratifolia* Linn) và **cúc hoa vàng** (*Chrysanthemum indicum*) được thu hoạch ở Đắk Lắk, Lào Cai vào tháng 3 - 4/2021, được Bộ môn Tài nguyên Dược liệu - Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh định danh và lưu mẫu. Nguyên liệu sau thu hoạch được rửa sạch, cắt lát phơi khô dưới điều kiện ánh nắng mặt trời và xay nhỏ thành bột có kích thước qua rây 2-3 mm để tiến hành chiết cao.

Các dược liệu đều đạt tiêu chuẩn về độ ẩm và tro toàn phần theo Dược điển Việt Nam V. Bột dược liệu được chiết ngâm kiệt với ethanol 45% (tỉ lệ 1:15) và được cô giảm áp hoặc cô cách thủy cho cao chiết còn với độ ẩm đạt thể chất của cao đặc (<20%). Liều thử *in vivo* của các cao chiết được quy theo lượng cao đã trừ ẩm.

Dựa vào kinh nghiệm dân gian và hiệu suất chiết xuất; liều thử nghiệm D_{max} và LD_0 của từng cao chiết, nghiên cứu chọn liều thử nghiệm của từng cao chiết tương đương 2,5 g, 5 g và 10 g dược liệu được trình bày như Bảng 1.

Bảng 1. Liều thử nghiệm an toàn dược lý của cao chiết

Mẫu cao chiết	D_{max} (g cao/kg)	LD_0 (g cao/kg)	Liều thử nghiệm an toàn (D_0) đã trừ ẩm		
			Tương đương 2,5 g dược liệu khô tuyệt đối	Tương đương 5 g dược liệu khô tuyệt đối	Tương đương 10 g dược liệu khô tuyệt đối
Nhật nguyệt	13,74		0,42	0,84	-
Thanh long		13,00	-	1,83	3,66
Yacon	37,19		1,42	2,84	-
Vọng cách	31,25		-	1,30	2,60
Cúc hoa vàng	29,94		-	2,15	4,30

2.2. Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng đực (chủng *Swiss albino*, trọng lượng trung bình 25 ± 2 g) được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang. Chuột được nuôi trong điều kiện ổn định về chế độ chiếu sáng (12 giờ sáng/tối), dinh dưỡng và được để ổn định 1 tuần trước thực nghiệm. Thể tích cho chuột uống hay tiêm phúc mạc là 10 mL/kg thể trọng chuột. Các thí nghiệm trên động vật nghiên cứu

được thực hiện theo “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu” của Bộ Y tế (ban hành kèm theo quyết định số 141/QĐ - K2ĐT ngày 27/10/2015).

2.3. Thuốc thử nghiệm

Tyloxapol (Triton WR-1339); Atorvastatin; β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate tetrasodium (NADPH, dạng khử); D,L-dithiothreitol; D,L-3-hydroxy-3-methylglutaryl-

Coenzym A sodium salt (HMG-CoA) (Sigma-Aldrich, Mỹ), các bộ kit định lượng triglycerid, cholesterol (Human Co. Ltd., Mỹ) và một số dung môi hóa chất được dùng trong phòng thí nghiệm.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Mô hình gây tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol

Phương pháp được thực hiện theo Goldfarb và cs. kết hợp với phác đồ dự phòng trong mô hình gây tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol [16],[17]. Chuột được chia lô theo Bảng 2 và uống dự phòng mẫu thử trong 7 ngày, cho nhịn đói 16 giờ trước khi gây tăng

lipid máu. Ngày 7, tiến hành tiêm tĩnh mạch đuôi (i.v) tyloxapol liều duy nhất 250 mg/kg thể trọng. Chuột được cho uống các cao chiết sau 1 giờ; 9 giờ và 23 giờ sau tiêm. Atorvastatin 0,064 g/kg được cho uống lúc 9 giờ và 23 giờ sau tiêm. Cho chuột nhịn đói qua đêm; 24 giờ sau khi tiêm tyloxapol, lấy mẫu định lượng triglycerid và cholesterol toàn phần bằng bộ Kit định lượng triglycerid, cholesterol toàn phần của Human Diagnostic Ltd.Co (Đức). Đối với cao chiết tiềm năng thì tiếp theo sau đó tiến hành tách gan định lượng hoạt tính HMG - CoA reductase.

Bảng 2. Thiết kế thí nghiệm gây tăng lipid máu nội sinh bằng tyloxapol

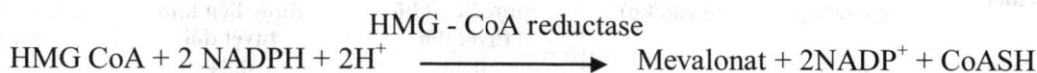
Nhóm bình thường	Lô (n = 10)	Nhóm bệnh lý	Lô (n = 10)
Tyloxapol (-)	Chứng sinh lý	Tyloxapol (+)	Chứng bệnh lý
	Cao nhật nguyệt 0,84 g/kg		Cao nhật nguyệt 0,42 g/kg
	Cao thanh long 3,66 g/kg		Cao nhật nguyệt 0,84 g/kg
	Cao Yacon 2,84 g/kg		Cao thanh long 1,83 g/kg
	Cao vọng cách 2,60 g/kg		Cao thanh long 3,66 g/kg
	Cao cúc hoa vàng 4,30 g/kg		Cao Yacon 1,42 g/kg
			Cao Yacon 2,84 g/kg
			Cao vọng cách 1,30 g/kg
			Cao vọng cách 2,60 g/kg
			Cao cúc hoa vàng 2,15 g/kg
			Cao cúc hoa vàng 4,30 g/kg
			Atorvastatin 0,064 g/kg

Tyloxapol (-): không tiêm tyloxapol; Tyloxapol (+): tiêm tyloxapol.

2.4.2. Phương pháp tạo hỗn dịch protein từ gan chuột nhắt và định lượng hoạt tính HMG-CoA reductase:

Phương pháp tạo dịch đồng thể được thực hiện dựa trên mô tả của Hirangi D. Patel và cs. với một số sự thay đổi cho phù hợp với điều kiện thí nghiệm theo Trương Đình Phước và cs. [18],[19].

Nguyên tắc: HMG - CoA và NADPH được chuyển thành mevalonat và NADP⁺ dưới sự xúc tác của HMG-CoA reductase. Lượng NADPH còn lại được xác định dựa vào phương pháp hấp thụ phân tử UV - Vis ở 340 nm sau 5 phút phản ứng. Sự ức chế HMG - CoA reductase làm giảm tốc độ oxy hóa NADPH [19].



Tiến hành: Chuột nhắt trắng đực, trọng lượng 30 ± 2 g được cho nhịn đói 24 giờ trước khi bắt đầu thí nghiệm. Sau đó, chuột được gây mê bằng đá CO₂, cố định trên bàn mổ, bơm rửa làm sạch máu và dịch trong gan bằng dung dịch NaCl 0,9%. Gan tách nhanh, cho vào dung dịch sucrose 0,25 M lạnh 0 - 4°C, rửa sạch máu. Đưa mô gan đã xác định khối lượng vào ống thủy tinh, bổ sung dung dịch sucrose 0,25 M lạnh (4 mL/1 g mô gan). Đồng thể hóa mẫu mô trong 1 phút (khoảng 20 giây 1 lần, sau đó ngưng 10 giây để tránh enzym bị mất hoạt tính bởi nhiệt, lặp lại 3 lần). Ly tâm dịch đồng thể lần 1 ở 0 °C trong 15 phút với lực ly tâm 5000 G /

phút, bỏ cặn, thu dịch. Bổ sung 0,1 mL dung dịch CaCl₂ 88 mM trên mỗi 1 mL dịch thu được, lắc đều, để ổn định trong 5 phút ở 0 - 4°C. Ly tâm lần 2 ở 0°C trong 35 phút với lực ly tâm 13.500 G/ phút, bỏ dịch thu cặn. Hòa tan cặn trong dung dịch bảo quản enzym dung dịch đệm pH 7,5 (Tris HCl 0,1M; EDTA 1 mM; NaCl 75 mM). Cặn được đồng thể hóa (20 giây), thu được dịch mô đồng thể, bảo quản ở 0 - 4°C.

Định lượng HMG - CoA reductase in vitro: Hỗn hợp phản ứng gồm 30 µl NADPH 5 mM, 30 µl HMG-CoA 1 mM, 10 µL dithiothreitol 1mM, 50 µL Atorvastatin hoặc cao chiết. Thêm dịch

đồng thể enzym và đệm Tris (pH 7,4) thành 1 ml. Ủ 37°C và đo độ hấp thu ở bước sóng 340 nm bằng máy đo quang UV - Vis Unicam (HE λ - 10 SY vision 32 Software, thermo Spectrorius) sau 5 phút phản ứng. Mỗi nồng độ mẫu được thực hiện lặp lại 3 lần.

Hoạt tính ức chế enzym được tính theo công thức:

$$\% \text{ ức chế} = [(\Delta OD \text{ chứng} - \Delta OD \text{ thử}) / \Delta OD \text{ chứng}] \times 100$$

Dựa vào % ức chế, xây dựng phương trình hồi quy và ước lượng giá trị IC₅₀ cao chiết tại nồng độ có hoạt độ HMR - CoA reductase bằng 50% so với chứng.

Định lượng HMG - CoA reductase *in vivo*: Hỗn hợp phản ứng gồm 30 μl NADPH 5 mM, 30 μl HMG-CoA 1 mM, 10 μl dithiothreitol 1mM. Thêm dịch đồng thể enzym tương ứng 1mg và đệm Tris (pH 7,4) thành 1 ml. Ủ 37°C

và đo độ hấp thu ở bước sóng 340 nm sau 5 phút phản ứng.

Hoạt tính ức chế enzym thể hiện thông qua độ giảm hàm lượng NADPH sau 5 phút, so sánh sự khác biệt đối với các lô chuột thử nghiệm.

$$\Delta OD = OD_{5 \text{ phút}} - OD_{0 \text{ phút}}$$

2.4.3. Phân tích thống kê:

Các kết quả trong các thử nghiệm được biểu thị bằng số trung bình M ± SEM (Standar Error of The Mean: sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý kết quả thống kê dựa vào phép kiểm t-test hay One-way ANOVA tiếp theo sau bằng phép kiểm Student-Newman-Keuls, với độ tin cậy 95% (p < 0,05) bằng phần mềm SigmaStat® ver. 4.0 (SYSTAT Software Inc., Richmond, CA, USA).

3. Kết quả

3.1. Hiệu suất chiết và mất khối lượng do làm khô của cao chiết từ dược liệu

Bảng 3. Kết quả mất khối lượng do làm khô của cao chiết

Mẫu chiết	Độ ẩm trung bình (%) của dược liệu	Độ ẩm trung bình (%) của cao chiết	Hiệu suất chiết (%) (Đã trừ ẩm)
Lá nhật nguyệt	6,24 ± 0,25	14,96 ± 0,39	16,78
Bao hoa thanh long	11,92 ± 0,51	14,72 ± 0,22	36,55
Củ Yacon	6,72 ± 0,01	18,27 ± 0,48	56,95
Lá vọng cách	7,88 ± 0,31	14,30 ± 0,11	25,89
Cúc hoa vàng	10,88 ± 0,46	14,86 ± 0,22	42,75

Từ kết quả Bảng 3 cho thấy độ ẩm của 5 loại dược liệu đạt yêu cầu theo Dược điển Việt Nam V không quá 13%. Độ ẩm của các cao chiết từ

dược liệu không quá 20% ở dạng cao đặc theo quy định (Dược điển Việt Nam V - PL 9.6).

3.2. Tác dụng hạ lipid máu của các cao chiết

Bảng 4. Hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần trong huyết tương chuột

Nhóm	Lô (n=10)	Liều thử nghiệm (g/kg)	Triglycerid (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)
Bình thường Tyloxapol (-)	Chứng sinh lý	Nước cất	118,6 ± 4,38	79,5 ± 4,30
	Cao nhật nguyệt	0,84	128,4 ± 8,98	78,2 ± 6,93
	Cao thanh long	3,66	120,1 ± 9,23	85,3 ± 2,85
	Cao Yacon	2,84	146,6 ± 13,75	89,4 ± 6,66
	Cao vọng cách	2,60	83,8 ± 2,27*	94,7 ± 2,59**
	Cao cúc hoa vàng	4,30	105,3 ± 3,55**	95,9 ± 5,17**
Bệnh lý Tyloxapol (+)	Chứng bệnh lý	Nước cất	940,1 ± 36,5*	394,1 ± 6,01*
	Cao nhật nguyệt	0,42	457,3 ± 11,38*#	234,3 ± 8,12*#
		0,84	428,8 ± 16,74*#	247,9 ± 11,39*#
	Cao thanh long	1,83	681,3 ± 25,67*#	293,9 ± 31,83*##
		3,66	736,3 ± 23,97*#	301,0 ± 18,13*#
	Cao Yacon	1,42	456,6 ± 24,83*#	248,0 ± 10,40*#
		2,84	445,4 ± 13,45*#	232,9 ± 10,91*#
	Cao vọng cách	1,30	663,5 ± 11,65*#	291,3 ± 15,15*#
		2,60	606,8 ± 15,01*#	288,7 ± 23,65*#
	Cao cúc hoa vàng	2,15	568,0 ± 9,92*#	241,8 ± 13,90*#
		4,30	565,3 ± 4,51*#	228,1 ± 11,41*#
	Atorvastatin	0,064	426,5 ± 15,25*#	194,9 ± 7,90*#

*: Khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý (p < 0,001); **: Khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý (p < 0,05); #: Khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý (p < 0,001); ##: Khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý (p < 0,05).

Kết quả Bảng 4 cho thấy hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần ở lô

chuột tiêm tyloxapol tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý (p < 0,001). Hàm

lượng triglycerid và cholesterol toàn phần ở lô chuột gây tăng lipid máu bằng tyloxapol và được điều trị bằng atorvastatin liều 0,064 g/kg giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng tiêm tyloxapol nhưng chưa hồi phục về giá trị sinh lý ($p < 0,001$).

Cao chiết ethanol từ nhật nguyệt liều 0,84 g/kg; Bao hoa thanh long liều 3,66 g/kg; Yacon liều 2,84 g/kg; vông cách liều 2,60 g/kg và cúc hoa vàng liều 4,30 g/kg không ảnh hưởng đến hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần trên lô chuột bình thường.

Nhật nguyệt: Lô bệnh lý uống cao chiết ethanol 45% từ nhật nguyệt liều 0,42 g/kg và liều 0,84 g/kg có hàm lượng triglycerid trong huyết tương chuột giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 51,36% và 54,39% và có hàm lượng cholesterol toàn phần giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 37,1% và 40,55% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$), tương đương thuốc đối chiếu Atorvastatin liều 0,064 g/kg nhưng chưa hồi phục về giá trị sinh lý ($p < 0,001$). Không ghi nhận sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê giữa các liều thử trong cùng loại cao.

Bao hoa thanh long: Lô bệnh lý uống cao chiết ethanol 45% từ bao hoa thanh long liều 1,83 g/kg và liều 3,66 g/kg có hàm lượng triglycerid trong huyết tương chuột giảm (21,68 - 27,53%) và có hàm lượng cholesterol toàn phần giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 25,43% và 23,62% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$) nhưng chưa hồi phục về giá trị sinh lý ($p < 0,001$). Không ghi nhận sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê giữa các liều thử trong cùng loại cao.

Củ Yacon: Lô bệnh lý uống cao chiết ethanol 45% từ củ Yacon liều 1,42 g/kg và liều 2,84 g/kg có hàm lượng triglycerid trong huyết tương chuột giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 51,43% và 52,62% và có hàm lượng cholesterol toàn phần giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 37,07% và 40,9% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$),

tương đương thuốc đối chiếu Atorvastatin liều 0,064 g/kg nhưng chưa hồi phục về giá trị sinh lý ($p < 0,001$). Không ghi nhận sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê giữa các liều thử trong cùng loại cao.

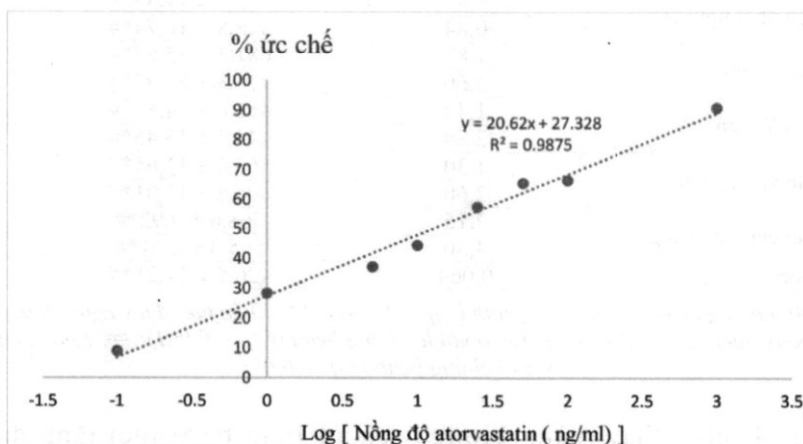
Vông cách: Lô bệnh lý uống cao chiết ethanol 45% từ vông cách liều 1,30 g/kg và liều 2,60 g/kg có hàm lượng triglycerid trong huyết tương chuột giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 29,42% và 35,45% và có hàm lượng cholesterol toàn phần giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 26,08% và 26,74% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$) nhưng chưa hồi phục về giá trị sinh lý ($p < 0,001$). Cao chiết ethanol 45% từ vông cách liều 2,60 g/kg cho tác dụng hạ triglycerid điển hình hơn và khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với liều 1,30 g/kg ($p = 0,01$, giảm 8,55%)

Cúc hoa vàng: Lô bệnh lý uống cao chiết ethanol 45% từ cúc hoa vàng liều 2,15 g/kg và liều 4,30 g/kg có hàm lượng triglycerid trong huyết tương chuột giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 39,58% và 39,87% và có hàm lượng cholesterol toàn phần giảm với tỷ lệ giảm lần lượt là 38,65% và 42,12% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$) nhưng chưa hồi phục về giá trị sinh lý ($p < 0,001$). Không ghi nhận sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê giữa các liều thử trong cùng loại cao.

Dựa vào kết quả thực nghiệm trên tác dụng hạ triglycerid và cholesterol toàn phần so với các được liệu thử nghiệm; kết hợp với trữ lượng và tính khả thi trong trồng trọt sản xuất, nhóm nghiên cứu định hướng cao cồn 45% từ lá **nhật nguyệt** làm cao chiết tiềm năng trong thực nghiệm thử tác động ức chế HMG - CoA reductases theo hướng giống statin.

3.2. Tác động ức chế *in vitro* HMG - CoA reductase của atorvastatin và cao chiết nhật nguyệt Atorvastatin

Đường hồi quy tuyến tính thể hiện sự phụ thuộc của % ức chế hoạt tính enzym HMG vào nồng độ atorvastatin được thể hiện ở Hình 1.



Hình 1. Đường hồi quy tuyến tính giữa % ức chế HMG- CoA reductase và log nồng độ atorvastatin

Từ phương trình hồi quy tuyến tính: $y=20,62x + 27,328$ với $R^2 = 0,9875$; ước lượng được IC_{50} tương ứng là **12,58 ng/mL**.

Nhật nguyệt

Bảng 5. Tác động ức chế HMG - CoA reductase *in vitro* của cao chiết nhật nguyệt

Nồng độ cao chiết (mg/mL)	ΔOD	% ức chế
Chứng	$0,048 \pm 0,002$	-
8	$0,026 \pm 0,001$	45,83
4	$0,030 \pm 0,003$	37,50
2	$0,031 \pm 0,002$	35,42
1	$0,036 \pm 0,005$	25,00

Sau 3 lần lặp lại thí nghiệm, cao chiết nhật nguyệt ở nồng độ cao nhất 8 mg/mL thể hiện tác dụng ức chế HMG - CoA reductase *in vitro* tương đương 45,83% (<50%) so với chứng

nên chưa xác định được giá trị IC_{50} của cao chiết này.

3.3. Tác dụng ức chế *in vivo* HMG - CoA reductase của cao chiết nhật nguyệt

Bảng 6. Tác dụng của cao chiết nhật nguyệt trên hoạt tính HMG - CoA reductase *in vivo*

Nhóm	Lô thử nghiệm (n=10)	ΔOD
Bình thường: Tyloxapol (-) sau 24 giờ	Chứng sinh lý	$0,034 \pm 0,005$
	nhật nguyệt 0,84 g/kg	$0,029 \pm 0,004$ (↓ 14,33 %)
Bệnh lý: Tyloxapol (+) sau 24 giờ	Chứng bệnh lý	$0,064 \pm 0,006$ ** (↑ 89,85 % ^a)
	nhật nguyệt 0,42 g/kg	$0,032 \pm 0,002$ ## (↓ 50,47% ^b)
	nhật nguyệt 0,84 g/kg	$0,031 \pm 0,005$ ## (↓ 51,57 % ^b)
	Atorvastatin 0,064 g/kg	$0,030 \pm 0,004$ ## (↓ 53,30 % ^b)

** : khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$); ##: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý ($p < 0,001$); ^a: % độ tăng giảm so với chứng sinh lý; ^b: % độ tăng giảm so với chứng bệnh lý.

Kết quả Bảng 6 cho thấy, sau 8 ngày sử dụng cao chiết còn 45% nhật nguyệt liều 0,84 g/kg có tác dụng làm giảm hoạt tính HMG- CoA reductase 14,33% nhưng không đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý không tiêm tyloxapol. Lô chứng bệnh lý làm tăng hoạt tính HMG- CoA reductase lên 89,85% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$). Ở liều 0,42 g/kg và 0,84 g/kg, nhật nguyệt đều thể hiện tác động ức chế hoạt tính HMG - CoA reductase và có khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô bệnh lý lần lượt là 50,47% và 51,57% tương tự như thuốc đối chiếu atorvastatin 0,064 g/kg, đưa giá trị HMG - CoA reductase trở về giá trị sinh lý bình thường và không khác biệt so với chứng sinh lý. Như vậy, cao chiết còn 45% từ nhật nguyệt có tác dụng ức chế HMG - CoA reductase theo hướng giống statin tương tự thuốc đối chiếu atorvastatin.

4. Bàn luận

Tyloxapol được sử dụng rộng rãi để gây tăng lipid máu cấp tính trên mô hình động vật nhằm sàng lọc các loại thuốc có tác dụng trong chuyển hóa triglycerid và cholesterol. Tyloxapol ức chế lipoprotein lipase làm ức chế sự oxy hóa VLDL,

ngăn chặn sự chuyển hóa lipid đến cơ quan; đồng thời thúc đẩy quá trình tổng hợp cholesterol ở gan, đặc biệt thông qua sự tăng cường hoạt tính HMG - CoA reductase (tăng 89,85% so với lô chứng sinh lý), do đó làm tăng nồng độ triglycerid và cholesterol trong huyết tương. Theo kết quả nghiên cứu của đề tài, sử dụng tyloxapol liều tiêm tĩnh mạch 250 mg/kg thể trọng chuột đã làm tăng điển hình các nồng độ triglycerid và cholesterol toàn phần trong huyết tương; và hoạt tính HMG - CoA reductase trong gan tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Đồng thời, atorvastatin liều 0,064 g/kg cũng có tác dụng làm giảm hàm lượng triglycerid và cholesterol toàn phần trong huyết tương; ức chế HMG - CoA reductase *in vivo* (giảm 53,30%) so với chứng bệnh lý nên có thể dùng làm thuốc đối chiếu để sàng lọc các thuốc, được liệu tác động theo hướng statin.

Tác động xúc tác của HMG-CoA reductase thể hiện ở việc xúc tác phản ứng chuyển HMG - CoA thành mevalonat đồng thời sử dụng 2 phân tử NADPH. Do đó, tiến hành đo nồng độ NADPH giảm trong phản ứng thể hiện hoạt tính

ức chế HMG - CoA reductase. Thông thường trong các tế bào động vật có vú, enzym này bị ức chế bởi cholesterol có nguồn gốc ngoại sinh và sản phẩm thoái hoá của LDL thông qua thụ thể LDL. Các chất ức chế cạnh tranh của enzym, điển hình như nhóm statin, làm giảm biểu hiện của thụ thể LDL ở gan, do đó làm tăng thoái hoá LDL huyết tương và làm giảm nồng độ cholesterol trong huyết tương, một yếu tố quan trọng của xơ vữa động mạch [19].

Từ kết quả nghiên cứu, cao chiết ethanol 45% từ nhật nguyệt thể hiện tác dụng ức chế *in vitro* HMG- CoA reductase tương đương 45,83% ở liều 8 mg/ml phản ứng, điều này có thể được giải thích là cao chiết toàn phần ethanol 45% chưa thể hiện tác động ức chế HMG - CoA reductase điển hình trong khảo sát *in vitro* so với chứng nên chưa xác định được giá trị IC_{50} của cao chiết này. Trong thực nghiệm *in vivo*, cao nhật nguyệt thể hiện tác dụng ức chế HMG - CoA reductase tương tự thuốc đối chiếu atorvastatin. Điều này có thể lý giải dựa vào các chất trong nhật nguyệt đã chuyển hóa thành các hợp chất thứ cấp có tác dụng sinh học trong cơ thể. Flavonoid chứng minh làm giảm sự tổng hợp cholesterol bằng cách ức chế hoạt động của enzym acyl-CoA cholesterol acyltransferase (ACAT) trong tế bào HepG2 có vai trò làm giảm quá trình ester hóa cholesterol trong ruột và gan. Quá trình chuyển hóa thứ cấp của alcaloid, flavonoid, tannin và saponin được chứng minh làm giảm cholesterol trong máu ở chuột bị tăng lipid máu từ cao chiết ethanol từ lá *Solanum blumei* 200 mg/kg thể trọng trong 14 ngày [20]. Theo Rahman và cs. (2017), quercetin and kaempferol có tác động ức chế hoạt tính HMGR cao hơn cả pravastatin và quercetin. Hai chất này ức chế con đường sinh tổng hợp cholesterol ở cấp độ mRNA [21]. Cao nhật nguyệt thử nghiệm tác dụng được lý ở 2 liều 0,42 g/kg và 0,84 g/kg tương đương 2,5 và 5 g dược liệu khô tuyệt đối ($< 1/10 D_{max} = 13,74$ g/kg). Thực nghiệm chứng minh cao chiết ethanol 45% từ nhật nguyệt thể hiện tác dụng hạ lipid máu và ức chế hoạt tính của HMG - CoA reductase ở liều 0,42 g/kg và 0,84 g/kg thể trọng chuột. Kết quả nghiên cứu có sự tương đồng với công bố của Padeea và cs., cao chiết ethanol 80% từ lá nhật nguyệt sau 14 ngày điều trị có tác dụng hạ đường huyết, hạ lipid máu, giảm các chỉ số triglycerid, cholesterol tổng và tăng HDL-cholesterol so với nhóm chứng mắc bệnh tiểu đường [7]. Dịch chiết lá nhật nguyệt có các glycosid và hợp chất phytosterol (stigmasterol và

β -sitosterol) [22], nhiều thành phần hóa học được phát hiện là flavonoid, saponin, triterpenoid, kaempferol, apigenin, phytol, acid palmitic và acid salicylic [8]. Padeea và cs. đã nghiên cứu tác dụng hạ lipid máu trên chuột bị đái tháo đường bởi streptozotocin, kaempferol có tác dụng làm giảm nồng độ glucose, cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL-cholesterol và phục hồi hàm lượng insulin; HDL-cholesterol trong huyết tương chuột [7]. Flavonoid được chứng minh là chất chống oxy hóa mạnh có tác dụng bảo vệ tế bào và ngăn ngừa sự oxy hóa các lipoprotein tỷ trọng thấp, giảm cholesterol trong máu bằng cách ức chế sự tổng hợp cholesterol và tăng biểu hiện thụ thể LDL, giúp phòng ngừa xơ vữa động mạch, ngăn chặn sự kết tụ huyết khối, điều hòa nhịp tim, ngăn ngừa bệnh động mạch vành và nhồi máu cơ tim. Các phytosterol trong thiên nhiên thường ở dạng ester hoặc glycosid (dễ hòa tan hơn), có cấu trúc tương tự cholesterol. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh phytosterol có thể giúp kiểm soát cholesterol bằng cách ức chế sự hấp thụ cholesterol của ruột, làm suy giảm độ tái hấp thu của cholesterol vào máu và làm hạ chỉ số lipid máu [23],[24]. Vì thế, cao chiết ethanol 45% từ Nhật nguyệt thể hiện tác dụng hạ lipid máu có thể dự đoán nhờ tác dụng của các hợp chất chính như flavonoid, phytosterol, kaempferol... có trong thành phần của lá. Kết quả nghiên cứu sẽ giúp định hướng sâu hơn cho các nghiên cứu tiếp theo của các hợp chất có tác dụng sinh học trên bệnh cảnh rối loạn chuyển hóa lipid của lá nhật nguyệt.

Yacon là một loại dược liệu có nhiều tác dụng sinh học quý giá. Theo kết quả nghiên cứu, cao chiết Yacon ở hai liều thử nghiệm 1,42 và 2,84 g/kg (tương đương 2,5 và 5 g dược liệu khô tuyệt đối ($< 1/10 D_{max} = 37,19$ g/kg) cho tác dụng hạ TG (giảm 51,43 - 52,62%), TC (giảm 37,07 - 40,9%) so với chứng bệnh lý trong mô hình tăng lipid máu ở chuột nhắt trắng bằng tyloxapol; tương đồng với nghiên cứu của Grethel T.C.D. và cs. [12]. Thành phần hóa học trong củ Yacon có sự hiện diện các hợp chất polyphenol gồm các flavonoid, acid phenolic, acid chlorogenic, acid caffeic, acid ferulic, α -pinen, caryophyllen, γ -cardinen, carotenoid, anthraglycosid, triterpenoid, hợp chất polyuronic và nhóm hợp chất polysaccharid chủ yếu là các oligo-fructan (FOS) [25]. PPAR γ là receptor được hoạt hoá bằng các chất kích thích tăng sinh peroxisom, giữ vai trò điều hòa các chuyển hóa lipid. Sự tích tụ các tế bào mỡ làm xuất hiện chất tăng sinh peroxisom, kích hoạt các yếu tố biệt hóa PPAR γ hoạt động

tăng số lượng tế bào mô mỡ. Honoré S.M. và cs. đã chứng minh Yacon có tác dụng giảm mỡ nội tạng và phục hồi thành phần lipid huyết tương ở những con chuột có chế độ ăn giàu chất béo, có tác dụng giảm trọng lượng cơ thể, nồng độ triglycerid, cholesterol toàn phần trong huyết tương chuột thông qua sự điều hòa biểu hiện PPAR γ của FOS [26]. Những kết quả này cho thấy FOS có tác dụng chống béo phì thông qua việc ức chế sự biệt hóa tế bào mỡ bằng cách ức chế biểu hiện PPAR γ , do đó tăng cường quá trình thoái hóa lipid và giảm quá trình tạo lipid.

Cúc hoa vàng là dược liệu lâu đời, gần bó với nhiều lĩnh vực trong cuộc sống, có nhiều thành phần hóa học có hoạt tính sinh học cao. Từ kết quả thực nghiệm, cao chiết ethanol 45% từ cúc hoa vàng liều 2,15 và 4,3 g/kg tương đương 5 và 10 g dược liệu khô tuyệt đối (theo kinh nghiệm dân gian) đều cho tác dụng hạ triglyceride, cholesterol tổng trong huyết tương chuột. Dựa theo nhiều nghiên cứu gần đây, có thể dự đoán tác dụng hạ lipid máu của các dược liệu trên dựa vào các flavonoid và hợp chất có trong chúng. Thành phần của màng tế bào có các chất lipid dễ xảy ra quá trình peroxid hoá, tạo ra những gốc tự do làm rối loạn sự trao đổi chất cũng dẫn đến sự huỷ hoại tế bào. Glutathion peroxidase (GSH-Px) là enzym xúc tác quá trình khử hydroperoxid lipid bằng glutathione, chống lại tác động gây hại của các hydroperoxid nội sinh; catalase (CAT) làm nhiệm vụ bảo vệ tế bào khỏi bị oxy hóa do các loại oxy phản ứng (ROS) gây ra. Yan và cs. đã báo cáo sự gia tăng hoạt động của GSH-Px và CAT trong máu chuột uống cao chiết nước từ cúc hoa vàng liều 2 g/kg liên tục trong 7 ngày. Các hợp chất quercetin, acid caffeic và acid chlorogenic được phân lập từ dịch chiết metanol của cúc hoa vàng. Một số nghiên cứu đã chứng minh quercetin ngăn ngừa peroxid hóa lipid và tổn thương màng bằng cách ức chế cyclooxygenase (COX) và lipooxygenase (LOX) [27],[28]. Do đó cơ chế điều hòa quá trình peroxid hóa lipid tế bào có thể được gợi ý cho tác dụng hạ lipid máu của cao ethanol 45% từ cúc hoa vàng.

Thanh long và **vọng cách** có nhiều hoạt chất sinh học tốt, điển hình là flavonoid và glycosid có tác dụng chống oxy hóa mạnh. Kết quả nghiên cứu ghi nhận tác dụng hạ lipid máu của cao chiết ethanol 45% từ bao hoa thanh long ở liều 1,83 g/kg và 3,66 g/kg (tương đương 5 và 10 g dược liệu khô tuyệt đối và tương ứng với 1/6 và 1/3 LD₀ = 13 g/kg), lá vọng cách liều 1,3 g/kg và 2,6

g/kg tương đương tương đương 5 và 10 g dược liệu khô tuyệt đối (tương ứng với 1/20 - 1/10 Dmax = 31,25 g/kg). Nghiên cứu của Mohd Adzim Khalili R. và cs. cho thấy phenolic tổng có trong dịch chiết trái Thanh long đỏ là 46,06 $\pm$ 1,77 mg GAE/100g (Gallic Acid Equivalent - đương lượng acid gallic) khối lượng tươi và hoạt tính chống oxy hoá là 76,10% và có tác dụng hạ cholesterol máu trên chuột. Sau 11 tuần, hàm lượng cholesterol máu giảm một cách đáng kể. Thanh long đỏ thể hiện khả năng chống oxy hoá cao và kiểm soát tốt lượng lipid trong máu [29]. Nghiên cứu của Prashant Y. Mali cho thấy bột vỏ vọ cách làm giảm cholesterol huyết thanh và LDL tăng trong chế độ ăn ở mô hình thỏ tăng cholesterol, mức độ giảm có thể so sánh với thuốc hạ lipid máu Atorvastatin [14]. Nghiên cứu khác trên mô hình tăng lipid máu do nicotin cho thấy cao chiết methanol từ rễ cây vọng cách liều 500 mg thể hiện tác dụng giảm các chỉ số cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL một cách đáng kể [30]. Flavonoid và các acid phenolic được xem là nguồn kháng oxy hóa và chống lão hóa tự nhiên, nhờ cấu trúc phân tử có chứa nhiều nhóm hydroxy (OH⁻) linh động, có khả năng trung hòa các gốc tự do nội ngoại sinh. Quercetin và acid chlorogenic có hoạt động chống lại các gốc tự do, acid caffeic là một chất chống oxy hóa phổ biến trong giới thực vật. Thử nghiệm *in vitro* trên hoạt động đánh bắt gốc tự do DPPH và khả năng oxy hóa khử sắt FRAP giữa 11 loại hợp chất flavonoid (cyanidin-3-O-glucosid, malvidin-3-O-glucosid, delphinidin-3-O-glucosid, peonidin-3-O-glucosid, pelargonidin-3-O-glucosid, catechin, epicatechin, kaempferol, myricetin, quercetin và quercetin-3- β -glucosid), kết quả phần lớn các cặp chất phát huy tác dụng cộng hưởng ở thử nghiệm FRAP [31]. Do đó, tác dụng hạ lipid máu của cao chiết ethanol 45% từ bao hoa thanh long và vọng cách có thể dựa vào khả năng chống oxy hóa cộng hưởng của các hợp chất flavonoid có trong dược liệu.

Theo các kết quả nghiên cứu được, đề tài đã sàng lọc và chọn cao chiết cồn 45% từ lá nhật nguyệt làm cao chiết tiềm năng do có tác dụng hạ triglycerid, cholesterol trong huyết tương và có tác động ức chế HMG- CoA reductase theo hướng giống statin tương tự atorvastatin.

5. Kết luận

Cao chiết ethanol 45% nhật nguyệt, củ Yacon, bao hoa thanh long, cúc hoa vàng và vọng cách ở cả 2 liều thử nghiệm đều cho thấy tác dụng giảm hàm lượng triglycerid,

cholesterol tổng trong huyết tương chuột trên mô hình gây tăng lipid máu nội sinh nhưng chưa phục hồi về mức bình thường so với chứng sinh lý.

Sử dụng cao chiết ethanol 45% từ nhột nguyệt làm cao chiết tiềm năng để thử nghiệm và cho tác dụng ức chế HMG - CoA reductase tương đương thuốc đối chiếu Atorvastatin từ dược liệu này.

Tài liệu tham khảo

1. World Health Organization (2017), *Cardiovascular Diseases (CVDs)*.
2. Pekkanen J., Linn S., Heiss G., Suchindran C. M., Leon A., Rifkind B. M., Tyroler H. A. (1990), Ten-Year Mortality from Cardiovascular Disease in Relation to Cholesterol Level among Men with and without Preexisting Cardiovascular Disease, *The new England Journal of Medicine*, 322, 1700-1707.
3. Tonkin A., Byrnes A. (2014), Treatment of dyslipidemia, *F1000 Prime Reports*, 6, 6-17.
4. Rudel L. L., Lee R. G., Parini P. (2015), ACAT2 is a target for treatment of coronary heart disease associated with hypercholesterolemia, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 25, 1112-1118.
5. Xiao C., Dash S., Morgantini C., Hegele R.A., Lewis G. F. (2016), Pharmacological targeting of the atherogenic dyslipidemia complex: the next frontier in CVD prevention beyond lowering LDL cholesterol, *Diabetes*, 65(7), 1767-1778.
6. Zhao L.Y., Huang W., Yuan Q. X., Cheng J., Huang Z. C., Ouyang L. J., Zeng F. H. (2012), Hypolipidaemic effects and mechanisms of the main component of *Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides in high-fat emulsion-induced hyperlipidaemic rats, *Food Chemistry*, 134 (2), 964-971.
7. Padeea P., Nualkaewa S., Talubmookb C., Sakuljaitrong S. (2010), Hypoglycemic effect of a leaf extract of *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 132(2), 491-496.
8. Nguyễn Văn Hùng, Lê Anh Tuấn, Nguyễn Quyết Chiến (2004), Nghiên cứu thành phần hóa học cây Xuân hoa (*Pseuderanthemum palatiferum* Nees Radlk), *Tạp chí Khoa học và Công Nghệ*, 42, 75-79.
9. Lý Kiều Hương, Trần Thị Vân Anh (2020), Nghiên cứu thành phần hóa học hoa Thanh long (*Hylocereus undulatus*) thu tại Bình Thuận, *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*, 24(2), 47-53.
10. Wu X., Wang Y., Huang X. J., Fan C. L., Wang G. C., Zang X. Q., Zhang Q. W., Ye W. C. (2011), Three new glycosides from *Hylocereus undatus*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 13(8), 728-733.
11. Yi Y., Wu X., Wang Y., Ye W. C., Zhang Q. W. (2011), Studies on the flavonoids from the flowers of *Hylocereus undatus*, *Journal of Chinese medicinal materials*, 34(5), 712-716.
12. Delgado G. T. C., Tamashiro W. M. D. S. C., Junior M. R. M., Pastore G. M. (2013), Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): A Functional Food", *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(3), 222-228.
13. Lalita S., Timalansa S., Duwadi P., Thapa R., Paudel A. and Parajuli K. (2014), Antioxidant activity and phenol and flavonoid contents of eight medicinal plants from Western Nepal, *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 34(5), 584-590.
14. Mali P. Y. (2016), Pharmacological potentials of *Premna integrifolia* L., *Ancient Science of life*, 35(3), 132-142.
15. Lee J. H., Moon J. M., Kim Y. H., Lee B., Choi S. Y., Song B. J., Kim D. K., Lee Y. M. (2019), Effect of enzymatic treatment of *Chrysanthemum indicum* Linné extracts on lipid accumulation and adipogenesis in high-fat-diet-induced obese male mice, *Nutrients*, 11(2), 269.
16. Chung Thị Mỹ Duyên, Nguyễn Thị Thu Hương (2017), Khảo sát tác dụng hạ lipid máu của cao chiết từ vỏ thân cây Sung (*Ficus racemosa*) trên thực nghiệm, *Y học thành phố Hồ Chí Minh*, 21(6), 68-72.
17. Goldfarb S. (1978), Rapid increase in hepatic HMG - CoA reductase activity and *in vivo* cholesterol synthesis after Triton 1339 injection, *Journal of lipid Research*, 19(4), 489-494.
18. Trương Đình Phước, Trần Thị Thiên Thanh, Huỳnh Ngọc Trinh, Trần Mạnh Hùng (2018), Mô phỏng mô hình thử tác động ức chế HMG - CoA reductase từ nguồn gan chuột nhắt, *Y học thành phố Hồ Chí Minh*, 22(1), 340-347.
19. Patel H. D., Shah G. B., Trivedi V. (2011), Investigation of HMG - CoA reductase inhibitory activity of antihyperlipidemic herbal drugs *in vitro* study, *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 2(1), 63-68.
20. Simorangkir M., Silaban S., Roza D. (2022), Anticholesterol activity of ethanol extract of Ranti Hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) Leaves: *In vivo* and *in silico* study, *Pharmacia*, 69(2): 485-492.
21. Rahman S., Sulistiyani, Lelono A. A (2017), Identification of HMG-CoA Reductase Inhibitor Active Compound in Medicinal Forest Plants, *Jurnal Kefarmsian Indonesia*, 7(2), 95-104.
22. Huỳnh Kim Diệu (2008), Khảo sát thành phần hóa học của lá Xuân hoa (*Pseuderanthemum palatiferum*), *Tạp chí Khoa học*, 9, 232-240.
23. Grundy S. M., Ahrens E. H. Jr., Davignon J. (1969), The interaction of cholesterol absorption and cholesterol synthesis in man, *Journal of Lipid Research*, 10(3), 304-315.
24. Normé L., Dutta P., Lia A., Andersson H. (2000), Soy sterol esters and beta-sitosterol ester as inhibitors of cholesterol absorption in small bowel, *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 908-913.
25. Lachman J., Fernández E.C., Orsák M. (2003), Yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use - a review, *Plant Soil Environ.*, 49(6), 283-290.
26. Honoré S. M., Grande M. V., Rojas J. G., Sánchez S. S. (2018), *Smallanthus sonchifolius* (Yacon) Flour Improves Visceral Adiposity and Metabolic Parameters in High-Fat-Diet Fed Rats, *Journal of Obesity*, 2018, 1-15.
27. Singh S., Singh S. K., Kumar M., Chandra K., Singh R. (2011), Ameliorative Potential of Quercetin Against Paracetamol-induced Oxidative Stress in Mice Blood, *Toxicology International*, 18(2), 140-145.
28. Yousef M. I., Omar S. A. M., El-Guendi M. I., Abdelmegid L. A. (2010), Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat, *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3246-3261.
29. Mohd Adzim Khalili R., Norhayati A. H., Rokiah M. Y., Asmah R., Siti Muskinah M., Abdul Manaf A. (2009), Hypocholesterolemic effect of red pitaya (*Hylocereus* sp.) on hypercholesterolemia induced rats, *International Food Research Journal*, 16(3), 431-440.
30. Patel M. J., Patel J. K. (2012), Evaluation of the anti-hyperlipidaemic activity of *Premna integrifolia* on nicotine induced hyperlipidaemia in rats, *International Journal of Pharma and Bio Science*, 3(2), 226-232.
31. Hidalgo M., Sánchez-Moreno C., Pascual-Teresa S. D. (2010), Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity, *Food Chemistry*, 121(3), 691-696.