KHẢO SÁT TÁC DỤNG TĂNG LỰC VÀ TÁC DỤNG KIỂU NỘI TIẾT TỐ SINH DỤC NAM CỦA CAO CHIẾT PHỐI HỢP SÂM VIỆT NAM VÀ BÁCH BỆNH

Mai Thành Chung, Trần Mỹ Tiên*, Nguyễn Thị Thu Hương*, Dương Thị Mộng Ngọc*, Trần Công Luận*, Trần Hảo***

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: *Sau lứa tuổi 40, nam giới có nguy cơ đối diện hội chứng mãn dục nam (PADAM) có liên quan đến sự suy giảm testosteron với triệu chứng là sự sa sút khả năng tình dục và sức khỏe toàn thân. Sâm Việt Nam (Panax vietnamensis), và Bách bệnh (Eurycoma longifolia) đã được chứng minh có tác dụng bổ, tăng lực và tăng cường hoạt động sinh dục theo hướng nội tiết tố sinh dục nam (tác dụng androgen). Nghiên cứu này được thực hiện để khảo sát tác dụng tăng lực và tác dụng androgen của cao phối hợp Sâm Việt Nam và Bách bệnh theo định hướng cho sản phẩm có tác dụng hỗ trợ hạn chế các triệu chứng của quá trình mãn dục nam, giảm lão hoá và duy trì chất lượng sống cho nam giới.*

Đối tượng nghiên cứu: *Cao phối hợp sâm Ngọc Linh và Bách bệnh (gọi tắt là cao Sâm BB) được tiêu chuẩn hóa theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam IV và theo tiêu chuẩn cơ sở bởi Bộ môn Hóa Chế phẩm, Trung tâm Sâm và Dược liệu TP.HCM.*

Phương pháp nghiên cứu: *Nghiên cứu thực nghiệm có so sánh, lựa chọn ngẫu nhiên, được thực hiện trên đối tượng là chuột nhắt trắng đực bình thường và chuột nhắt trắng đực bị giảm năng sinh dục bằng cách cắt bỏ 2 tinh hoàn. Tiến hành khảo sát tác dụng hướng nội tiết tố sinh dục nam qua các chỉ tiêu nồng độ testosteron trong huyết tương và trọng lượng các cơ quan sinh dục túi tinh - tuyến tiền liệt và cơ nâng hậu môn. Tác dụng tăng lực được đánh giá bằng nghiệm pháp chuột bơi kiệt sức của Brekhman.*

Kết quả: *Cao phối hợp Sâm và Bách bệnh (liều 1,55 g/kg và 3,1 g/kg) sau 14 ngày uống làm tăng thời gian bơi của chuột, thể hiện tác dụng tăng lực-hồi phục sức. Cao phối hợp thể hiện tác dụng androgen trên cơ địa giảm năng sinh dục như làm tăng hàm lượng testosteron trong huyết tương, làm tăng trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt và làm tăng hoạt tính đồng hóa protein. Đặc biệt là tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam của cao phối hợp Sâm và Bách bệnh cũng thể hiện khá điển hình qua việc tăng hàm lượng testosteron trong huyết tương trên cơ địa bình thường*

Kết luận. *Kết quả tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam của cao phối hợp Sâm Việt Nam và Bách bệnh gợi ý triển vọng ứng dụng cao phối hợp Sâm Việt Nam và Bách bệnh trong liệu pháp thay thế bổ sung trong các trường hợp sự sản sinh các androgen nội sinh dưới mức sinh lý bình thường.*

Từ khóa: *Sâm Việt Nam (Sâm Ngọc Linh, Panax vietnamensis), Bách bệnh (Eurycoma longifolia), tác dụng androgen, tác dụng tăng lực-hồi phục sức.*

ABSTRACT

STUDY ON INVIGORATION EFFECT AND ANDROGENIC-LIKE EFFECT OF EXTRACT COMBINED FROM PANAX VIETNAMENSIS HA ET GRUSHV. (VIETNAMESE GINSENG) AND EURYCOMA LONGIFOLIA JACK.

Mai Thanh Chung, Tran My Tien, Nguyen Thi Thu Huong, Duong Thi Mong Ngoc, Tran Cong Luan, Tran Hao * Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Supplement of Vol. 19 - No 5 - 2015: 149 - 156

* Trung Tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM - Viện Dược liệu ** Công ty Sâm Ngọc linh-Kontum
Tác giả liên lạc: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương *ĐT*: 38274377 *Email*: huongsam@hotmail.com

***Aims**: Production of testosterone (the principal male-determining sex steroid) falls gradually and progressively from the 40s onwards, relating to symptoms of PADAM (partial androgen deficiency of the aged male) which are composed of decreases in sex interest, muscle strength, and physical energy, etc. Vietnamese ginseng (Panax vietnamensis), and Eurycoma longifolia were reported to have tonic effect, enhancing physical strength and sexual activity like androgens. The experimental study was carried out to evaluate efficacy of extract combined from these medicinal plants for treatment of PADAM symptoms.*

***Objectives:** Ethanol extract combined from Vietnamese ginseng (Panax vietnamensis), and Eurycoma longifolia (abbreviated as Sam-BB extract) was standardized by The Research Center of Ginseng and Medicinal Materials according to Vietnamese Pharmacopeia IV and local criteria.*

***Study design**: Comparative experimental study was performed on non-castrated and castrated mice. Androgenic activity was evaluated via parameters as plasma testosterone levels, body weight, the wet weights of internal genital organs (seminal vesicles, prostate glands, levator ani muscle). Invigoration effect was evaluated by Brekhman's mouse swimming test.*

***Results**: Sam-BB extract at the doses 1.55 g/kg and 3.1 g/kg mouse body weight (oral treatment for 14 days) increased the mouse swimming time, determining enhancing effect on physical strength. The extract increased plasma testosterone levels and the weights of internal genital organs on both non-castrated and castrated mice, suggesting for androgenic and anabolic effects.*

***Conclusion**: Sam-BB extract might be useful to replace testosterone in treatment of PADAM symptoms.*

***Keywords**: Vietnamese ginseng (Panax vietnamensis), Eurycoma longifolia, Androgenic activity, Invigoration effect.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Testosteron được đánh giá là nội tiết tố quan trọng nhất ở nam giới, là chìa khóa cho nam giới có sức khỏe dẻo dai, cường tráng, một đời sống tình dục sung mãn và tràn đầy hạnh phúc. Theo quy luật của sự lão hóa tự nhiên, sau lứa tuổi 40 nam giới có nguy cơ đối diện hội chứng mãn dục nam (PADAM) với triệu chứng là sự sa sút khả năng tình dục và sức khỏe toàn thân. Sự suy giảm testosteron sẽ ảnh hưởng tới chuyển hóa lipid, qua trung gian chuyển hóa này tác động tới hệ thống mạch máu, làm tăng nguy cơ xơ vữa động mạch, mỡ máu cao, nhồi máu cơ tim, rối loạn nhịp tim, tăng huyết áp, thiếu máu não... Y học cổ truyền từng có những phương thuốc, bài thuốc dành cho nam giới như Minh Mạng thang, Ama Công[5] hoặc các dược liệu như dâm dương hoắc, bách bệnh, nhục thung dung, ba kích, lộc nhung, nhân sâm, kỷ tử…Việc sử dụng các sản phẩm có nguồn gốc thiên nhiên, được bào chế từ các dược liệu, có tác dụng kích thích cơ thể tổng hợp testosteron nội sinh, làm chậm quá trình mãn dục ở nam giới đang là xu hướng phổ biến hiện nay. Sâm Việt Nam[8] và Bách bệnh[1,4,6] đã được chứng minh có tác dụng bổ, tăng lực và tăng cường hoạt động sinh dục theo hướng nội tiết tố sinh dục nam (tác dụng androgen) Cao chiết phối hợp Sâm Việt Nam và Bách bệnh được khảo sát tác dụng hướng nội tiết tố sinh dục nam và tác dụng tăng lực trên chuột nhắt trắng nhằm chứng minh tác dụng của chế phẩm trong việc hỗ trợ hạn chế quá trình mãn dục nam, giảm lão hoá và duy trì chất lượng sống cho nam giới.

PHƯƠNG TIỆN – PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phương tiện nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Cao phối hợp sâm Ngọc Linh và Bách bệnh theo tỷ lệ phối hợp các cao chiết cồn 45% của các dược liệu là 2,353 : 1 (cao Sâm Ngọc Linh: Cao Bách bệnh, gọi tắt là cao Sâm BB) được tiêu chuẩn hóa bởi Bộ môn Hóa Chế phẩm, Trung tâm Sâm và Dược liệu TP.HCM.

Cao được hòa trong nước cất và được cho uống hàng ngày vào thời điểm 8-9h sáng. Liều cao thử nghiệm được chọn dựa trên liều tối đa có thể cho uống và không gây chết chuột thử nghiệm D_{max} = 31,05 g cao/kg thể trọng chuột. gồm: Liều thử 1 có giá trị bằng 1/10 D_{max} tương đương 3,1 g cao/kg thể trọng chuột và liều thử 2 có giá trị bằng 1/20 D_{max} tương đương 1,55 g cao/kg thể trọng chuột[7].

Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt trắng đực (chủng *Swiss albino*, trọng lượng trung bình 25 g ± 2 g) được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế Nha Trang, nuôi trong điều kiện ổn định về chế độ dinh dưỡng và được để ổn định 1 tuần trước thực nghiệm. Chuột bị gây giảm năng sinh dục bằng cách cắt bỏ 2 tinh hoàn và được để nghỉ 2 tuần trước thử nghiệm. Thể tích cho uống mẫu thử là 10 ml/kg thể trọng chuột.

Hóa chất

Bộ kit định lượng testosteron, protein toàn phần (hãng Human Co., Germany), dầu oliu.

Thuốc đối chiếu

Viên Testocaps (Organon Co.) chứa testosteron undecanoat 40 mg/viên.

Thiết bị

Máy phân tích sinh hóa bán tự động Screen Master 3000, máy đọc và máy rửa ELISA và một số dụng cụ thí nghiệm.

Phương pháp

Phương pháp khảo sát tác dụng androgen

Những thuốc có tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam (tác dụng androgen) được xem là liệu pháp thay thế trong các điều kiện sự sản sinh các androgen nội sinh dưới mức sinh lý bình thường[7]. Chỉ tiêu để xác định hoạt tính androgen là sự gia tăng hàm lượng testosteron trong huyết tương, tăng trọng lượng của túi tinh - tuyến tiền liệt[5,6] và tăng trọng lượng của cơ nâng hậu môn[1]. Việc nghiên cứu được xác định trên 2 cơ địa: Động vật bình thường và đông vật bị giảm năng sinh dục (cắt bỏ 2 tinh hoàn).

Chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô (Mỗi lô 10 con) như sau:

Chuột bình thường: Gồm lô chứng (Uống nước cất), lô thử 1 (Uống cao Sâm BB liều 1,55 g/kg), lô thử 2 (Uống cao Sâm BB liều 3,1 g/kg) và lô đối chiếu (Uống Testocaps liều 2 mg/kg).

Chuột gây giảm năng sinh dục: Gồm lô chứng (Uống nước cất), lô thử 1 (Uống cao Sâm BB liều 1,55 g/kg), lô thử 2 (Uống cao Sâm BB liều 3,1 g/kg) và lô đối chiếu (Uống Testocaps liều 2 mg/kg).

Thời gian cho uống ở các lô là 14 ngày, uống vào buổi sáng. Sau 14 ngày, xác định các chỉ tiêu sau:

Hàm lượng testosteron trong huyết tương được xác định theo quy trình của bộ kit được cung cấp bởi hãng Human, Đức *[Test ELISA for Determination Quantitative of Testosterone in serum or plasma human. Human Gesellschaft fiir Biochemical und Diagnostica mbH, Max-Planck-Ring 21-D-65205 Wiesbaden-Germany].*

Trọng lượng túi tinh - tuyến tiền liệt, cơ nâng hậu môn.

Hàm lượng protein toàn phần trong huyết tương được xác định theo quy trình của bộ kit được cung cấp bởi hãng Human, Đức *[Photometric Colorimetric Test for Total Proteins. Biuret Method. Human Gesellschaft fiir Biochemical und Diagnostica mbH Max-Planck-Ring 21-D-65205 Wiesbaden-Germany].*

Phương pháp khảo sát tác dụng tăng lực - Nghiệm pháp chuột bơi kiệt sức của Brekhman[2,7]

Chuột được mang vào đuôi gia trọng bằng 5% thể trọng, cho chuột bơi trong thùng nước có dung tích 20 lít, đường kính 30 cm; chiều cao cột nước 25 cm; nhiệt độ 29 ± 1^0C. Chuột được cho bơi lần 1, thời gian bơi tính từ khi chuột được thả vào thùng nước, bơi đến khi chìm khỏi mặt nước 20 giây và không trồi lên được nữa, lúc đó vớt

chuột ra lau khô (T_0). Cho chuột nghỉ 5 phút, chia ngẫu nhiên các lô thí nghiệm gồm lô chứng (Uống nước cất), lô thử 1 (Uống cao Sâm BB liều 1,55 g/kg), lô thử 2 (Uống cao Sâm BB liều 3,1 g/kg). Một giờ sau khi cho chuột uống ở các lô, ghi nhận thời gian bơi lần 2 (T_{60}).

Chuột được cho uống nước cất và cao Sâm BB liên tục (mỗi ngày vào một giờ nhất định) đến ngày thứ 7 và ngày thứ 14, sau khi uống thuốc thử 60 phút, tiến hành cho chuột bơi lần 3 ($T_{7\,ngày}$) và lần 4 ($T_{14\,ngày}$).

Nhận định kết quả

T_{60}/ T_0(%) của lô thử lớn hơn T_{60}/ T_0(%) của lô chứng: Cao Sâm BB có tác động tăng lực tức thời (hồi phục sức).

$T_{7\,ngày}$/ T_0 (%) của lô thử lớn hơn $T_{7\,ngày}$/ T_0 (%) của lô chứng: Cao Sâm BB có tác động tăng lực sau 7 ngày.

$T_{14\,ngày}$/ T_0 (%) của lô thử lớn hơn $T_{14\,ngày}$/ T_0 (%) của lô chứng: Cao Sâm BB có tác động tăng lực sau 14 ngày.

Phương pháp xử lý thống kê số liệu thực nghiệm

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình: M ± SEM (Standard error of the mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One–Way ANOVA và Dunnett test (phần mềm SigmaStat-3.5). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$ so với lô chứng tương ứng.

KẾT QUẢ

Tác dụng androgen của cao phối hợp Sâm và Bách bệnh

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, trên chuột bình thường hàm lượng testosteron ở lô uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh (cao Sâm BB) liều 1,55 g/kg và liều 3,1 g/kg và lô uống thuốc đối chiếu Testocaps tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng uống nước cất. Kết quả trên chứng tỏ cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống có tác dụng làm tăng hàm lượng testosteron trên cơ địa bình thường, tương đương với tác dụng của thuốc đối chiếu.

Hàm lượng testosteron trong huyết tương ở lô chứng giảm năng sinh dục giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bình thường. Hàm lượng testosteron ở lô bị gây giảm năng sinh dục và uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh liều 3,1 g/kg hay lô thuốc đối chiếu Testocaps đều tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng giảm năng sinh dục. Hàm lượng testosteron ở lô bị gây giảm năng sinh dục và uống Testocaps không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý, chứng tỏ Testocaps phục hồi sự suy giảm testosteron và đưa về giá trị bình thường. Tuy nhiên, hàm lượng testosteron ở lô bị gây giảm năng sinh dục và uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh chưa phục hồi về trị số testosteron bình thường. Kết quả trên chứng tỏ cao phối hợp sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống có tác dụng làm tăng hàm lượng testosteron trên cơ địa chuột giảm năng sinh dục nhưng tác dụng yếu hơn thuốc đối chiếu.

Bảng 1: *Tác dụng của cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống trên hàm lượng testosteron của chuột đực bình thường và chuột giảm năng sinh dục*

Lô thử nghiệm (n = 10)	Liều (g/kg)	Hàm lượng testosteron ở chuột bình thường (ng/ml)	Hàm lượng testosteron ở chuột giảm năng sinh dục (ng/ml)
Chứng	-	0,802 ± 0,109	0,105 ± 0,016$^{\#}$
Cao Sâm BB	1,55	1,570 ± 0,035*	0,135 ± 0,015$^{\#}$
	3,1	1,576 ± 0,052*	0,162 ± 0,018$^{\#}$*
Testocaps	0,002	1,591 ± 0,114*	0,821 ± 0,082*

*$p < 0,05$ so với chứng tương ứng $^{\#}p < 0,05$ so với chứng bình thường

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt của chuột bình thường ở lô uống thuốc đối chiếu Testocaps tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng uống nước cất. Trọng

lượng túi tinh-tuyến tiền liệt của chuột bình thường ở lô uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh liều 3,1 g/kg có chiều hướng tăng nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng uống nước cất. Kết quả trên chứng tỏ cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống chưa thể hiện tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam (tác dụng androgen) trên trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt của chuột bình thường.

Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt ở lô chứng cắt 2 tinh hoàn (giảm năng sinh dục) giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt ở lô bị gây giảm năng sinh dục và uống thuốc đối chiếu Testocaps tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng giảm năng sinh dục và phục hồi về trị số bình thường. Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt ở lô bị gây giảm năng sinh dục và uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh liều 3,1 g/kg tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng giảm năng sinh dục nhưng chưa phục hồi về trị số bình thường. Kết quả trên chứng tỏ cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống có tác dụng phục hồi sự giảm trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt trên cơ địa bị giảm năng sinh dục nhưng tác dụng yếu hơn thuốc đối chiếu.

Bảng 2: *Tác dụng của cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống trên trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt của chuột đực bình thường và chuột giảm năng sinh dục*

Lô thử nghiệm (n = 10)	Liều (g/kg)	Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt của chuột bình thường (mg%)	Trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt của chuột giảm năng sinh dục (mg%)
Chứng	-	253,77 ± 25,15	40,35 ± 3,42#
Cao Sâm BB	1,55	261,29 ± 41,8	32,51 ± 3,58#
	3,1	349,97 ± 45,87	80,15 ± 4,16#*
Testocaps	0,002	407,42 ± 45,85*	282,09 ± 29,84*

**p < 0,05 so với chứng tương ứng* *# p < 0,05 so với chứng bình thường*

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, trọng lượng cơ nâng hậu môn của chuột bình thường ở các lô uống thuốc đối chiếu Testocaps và uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng uống nước cất. Kết quả trên chứng tỏ cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống không thể hiện tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam theo hướng làm tăng hoạt tính đồng hóa trên cơ địa bình thường.

Trọng lượng cơ nâng hậu môn ở lô chứng giảm năng sinh dục giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Trọng lượng cơ nâng hậu môn ở lô bị gây giảm năng sinh dục và uống thuốc đối chiếu Testocaps tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng giảm năng sinh dục và phục hồi về trị số bình thường. Trọng lượng cơ nâng hậu môn ở các lô bị gây giảm năng sinh dục và uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng giảm năng sinh dục.

Bảng 3: *Tác dụng của cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống trên trọng lượng cơ nâng hậu môn của chuột đực bình thường và chuột giảm năng sinh dục*

Lô thử nghiệm (n = 10)	Liều (g/kg)	Trọng lượng cơ nâng hậu môn của chuột bình thường (mg%)	Trọng lượng cơ nâng hậu môn của chuột giảm năng sinh dục (mg%)
Chứng	-	216,81 ± 29,75	100,44 ± 6,71#
Cao Sâm BB	1,55	235,65 ± 18,9	118,12 ± 21,64#
	3,1	237,95 ± 19,28	114,51 ± 8,71#
Testocaps	0,002	295,07 ± 54,31	233,80 ± 26,96*

**p < 0,05 so với chứng tương ứng* *# p < 0,05 so với chứng bình thường*

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, hàm lượng protein toàn phần trong huyết tương của chuột bình thường ở các lô uống Testocaps hay cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày đều chưa có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng uống nước cất.

Hàm lượng protein toàn phần trong huyết tương ở lô chứng giảm năng sinh dục giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Các lô bị gây giảm năng sinh dục và uống Testocaps hay cao phối hợp Sâm và Bách bệnh liều 3,1 g/kg sau 14 ngày làm tăng hàm lượng protein toàn phần trong huyết tương đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bị gây giảm năng sinh dục. Kết quả trên chứng tỏ cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống làm tăng hoạt tính đồng hóa protein trên cơ địa bị giảm năng sinh dục, tương đương với tác dụng của thuốc đối chiếu. Phối hợp với kết quả ở bảng 3, cao phối hợp Sâm và Bách bệnh làm tăng hoạt tính đồng hóa protein theo hướng tác dụng bổ toàn thân hơn là theo hướng tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam.

Bảng 4: *Tác dụng của cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống trên hàm lượng protein toàn phần trong huyết tương của chuột đực bình thường và chuột giảm năng sinh dục*

Lô thử nghiệm (n = 10)	Liều (g/kg)	Hàm lượng protein toàn phần của chuột bình thường (g/dl)	Hàm lượng protein toàn phần của chuột giảm năng sinh dục (g/dl)
Chứng	-	4,78 ± 0,05	4,48 ± 0,09$^{\#}$
Cao Sâm BB	1,55	4,51 ± 0,12	4,70 ± 0,07
	3,1	4,56 ± 0,17	5,18 ± 0,14*
Testocaps	0,002	4,88 ± 0,16	5,05 ± 0,17*

**p < 0,05 so với chứng tương ứng* *$^{\#}$ p < 0,05 so với chứng bình thường*

Tác dụng tăng lực của cao phối hợp Sâm và Bách bệnh

Kết quả ở bảng 5 và bảng 6 cho thấy, thời gian bơi và tỷ lệ (%) thời gian bơi so với trước thử nghiệm của các lô uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 1 giờ không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Như vậy cao phối hợp Sâm và Bách bệnh không thể hiện tác dụng tăng lực tức thời. Thời gian bơi và tỷ lệ (%) thời gian bơi sau 7 ngày so với trước thử nghiệm ở các lô uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh có chiều hướng tăng nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Như vậy cao phối hợp Sâm và Bách bệnh chưa thể hiện tác dụng tăng lực sau 7 ngày uống. Tỷ lệ (%) thời gian bơi sau 14 ngày so với trước thử nghiệm ở các lô uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh có chiều hướng tăng nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Tuy nhiên, thời gian bơi sau 14 ngày so với trước thử nghiệm ở các lô uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh liều 1,553 g/kg và liều 3,105 g/kg tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Vậy cao phối hợp Sâm và Bách bệnh thể hiện tác dụng tăng lực sau 14 ngày uống.

Bảng 5: *Thời gian bơi của chuột sau 1 giờ (T_{60}) và sau 7, 14 ngày uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh*

Lô (n = 10)	Liều (g/kg)	T_0 (phút)	T_{60} (phút)	$T_{7\ ngày}$ (phút)	$T_{14\ ngày}$ (phút)
Chứng	-	28,90 ± 3,24	19,80 ± 1,68	36,10 ± 5,32	36,20 ± 4,46
Cao Sâm BB	1,55	34,17± 3,84	20,75 ± 2,44	54,08 ± 10,34	77,25 ± 16,48$^{\#*}$
	3,1	35,36 ± 4,17	24,73 ± 4,54	57,27 ± 14,35	80,09 ± 13,09$^{\#*}$

**p < 0,05 so với thời gian bơi của lô chứng tương ứng$^{\#}$ p < 0,05 so với thời gian bơi trước thử nghiệm T_0*

Bảng 6: *Tỷ lệ % thời gian bơi của chuột sau 1 giờ (T_{60}), sau 7 ngày ($T_{7\ ngày}$) và sau 14 ngày ($T_{14\ ngày}$) uống cao phối hợp Sâm và Bách bệnh so với thời gian bơi trước thử nghiệm (T_0)*

Lô (n = 10)	Liều (g/kg)	T_{60}/T_0 (%)	$T_{7\ ngày}/T_0$ (%)	$T_{14\ ngày}/T_0$ (%)
Chứng	-	74,60 ± 8,20	137,02 ± 24,21	140,93 ± 24,09
Cao Sâm BB	1,55	62,29 ± 4,70	159,04 ± 22,61	259,72 ± 69,76*
	3,1	74,40 ± 12,92	189,0 ± 61,05	257,0 ± 52,76*

**p < 0,05 so với thời gian bơi của lô chứng tương ứng*

BÀN LUẬN CHUNG

Y học hiện đại sử dụng liệu pháp hormon thay thế để điều trị hội chứng mãn dục nam và sự suy giảm testosteron ở nam giới, tuy nhiên liệu pháp này có nhiều tác dụng phụ[8]. Các bài thuốc, vị thuốc của y học cổ truyền có ưu điểm là an toàn, dược liệu lại có sẵn, vừa có tác dụng tăng cường sinh lực, vừa kích thích cơ thể tiết testosteron một cách tự nhiên, từ đó hạn chế quá trình mãn dục nam, giảm lão hoá, duy trì tuổi xuân và nâng cao chất lượng cuộc sống cho nam giới. Các thành phần hoạt chất trong Sâm Việt Nam như saponin, polyacetylen, acid amin, nguyên tố vi lượng đã được chứng minh có tác dụng bồi bổ sức khỏe, tăng cường miễn dịch, tăng cường sức khỏe toàn diện, chống lão hóa, bảo vệ tim mạch, phục hồi và tái tạo tế bào gan, tăng cường hoạt động chức năng của các cơ quan trong cơ thể, chống lại những tác nhân gây hại tế bào và nhất là khả năng phòng chống ung thư[8]. Nghiên cứu tại Trung tâm Sâm và Dược liệu cho thấy bột chiết từ Sâm Ngọc Linh thể hiện tác dụng androgen trên cơ địa chuột giảm năng sinh dục ở liều 90-120 mg/kg[8] Các thành phần eurycomanon, eurycomalacton và eurycomanol có trong rễ Bách bệnh được cho là những thành phần có tác dụng tăng cường sinh dục nam và làm tăng nồng độ testosteron trong máu [1]. Ở Việt Nam, nhiều tác giả đã công bố tác dụng androgen của những mẫu Bách Bệnh thu hái ở Tây nguyên, Đồng Nai, Quảng Nam [3,4,6]. Cao chiết cồn từ rễ Bách bệnh có tác dụng làm tăng hàm lượng testosteron và trọng lượng các cơ quan sinh dục như túi tinh-tuyến tiền liệt trên chuột giảm năng sinh dục ở liều 0,53-1,05 g/kg[4]. Nghiên cứu của Đại học Dược Hà Nội cho thấy dịch chiết nước Bách bệnh với liều 10 g/kg thể trọng chuột thể hiện hoạt tính androgen trên cơ địa chuột giảm năng sinh dục thông qua việc làm tăng trọng lượng túi tinh, tuyến cowper và cơ nâng hậu môn[3]. Việc phối hợp hai dược liệu này trong nghiên cứu dược lý thực nghiệm nhằm mục đích ứng dụng hai cây thuốc này theo hướng bổ trợ sức khỏe và nâng cao chất lượng cuộc sống cho nam giới.

Kết quả thực nghiệm cho thấy cao phối hợp Sâm và Bách bệnh có tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam (tác dụng androgen) thể hiện rất điển hình qua việc phục hồi về giá trị bình thường đối với sự suy giảm hàm lượng testosteron trong huyết tương, làm tăng trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt và làm tăng hoạt tính đồng hóa protein trên cơ địa bị giảm năng sinh dục. Trên cơ địa bình thường cao phối hợp Sâm và Bách bệnh cũng thể hiện tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam khá điển hình qua việc tăng hàm lượng testosteron trong huyết tương. Những kết quả của đề tài gợi ý triển vọng việc ứng dụng cao phối hợp Sâm và Bách bệnh trong liệu pháp thay thế bổ sung trong các điều kiện sản sinh các androgen nội sinh (nội tiết tố sinh dục nam) dưới mức sinh lý bình thường.

KẾT LUẬN

Cao phối hợp Sâm và Bách bệnh sau 14 ngày uống có tác dụng tăng lực-hồi phục sức và thể hiện tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam (tác dụng androgen) trên cơ địa giảm năng sinh dục như làm tăng hàm lượng testosteron trong huyết tương, làm tăng trọng lượng túi tinh-tuyến tiền liệt và làm tăng hoạt tính đồng hóa protein.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ang H. H., Cheang H. S. (2001). "Effects of Eurycoma longifolia Jack on levator ani muscle in both uncastrated and testosteron- stimulated castrated intact male rats". *Arch. Pharm. Res*, 24 (5): 437 - 440.
2. Brekhman I.I (1976). "Eleutherococcus senticosus", *The New medicinal herb of the Araliaceae Family*". Proceeding II-International Pharmacological Meeting, Prague, Vol. 7, 97 – 102.
3. Dương Thị Ly Hương, Vi Thị Hoài Phương, Lê Thị Hoa, Nguyễn Trần Giáng Hương (2011). "Hoạt tính Androgen của các giống Bá Bệnh ở Việt Nam". *Tạp chí Dược Liệu*, tập 16, số 4, 217-221.
4. Mai Đình Trị, Nguyễn Hoàng Minh, Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Thị Thu Hương (2014). "Khảo sát độc tính cấp đường uống và tác dụng androgen của dịch chiết cồn rễ cây bách bệnh thu mẫu tại tỉnh Quảng Nam". *Tạp chí Dược liệu*, tập 19, số 4, 241-247.
5. Nguyen Thi Thu Huong, Tran My Tien, Tran Cong Luan, Nguyen Minh Duc (2009). "Androgenic effect of AMA

KONG' remedy on castrated mice". *Journal of Medicinal Materials*, 14(2), 108-114.

6. Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Thanh Hồng Vân, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương (2012). "Khảo sát tác dụng hướng sinh dục nam từ dịch chiết cồn của rễ Bách bệnh Eurycoma longifolia Jack trên chuột nhắt trắng". *Y học TP. Hồ Chí Minh*, tập 16, số 1, 186-191.
7. Viện Dược liệu (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ Dược thảo*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 220-222, 295, 367.
8. Viện Dược Liệu (2007). *Sâm Việt Nam và một số cây thuốc họ Nhân sâm*. Nhà Xuất bản Khoa học-Kỹ thuật Hà Nội, 2007, 1-422.

Ngày nhận bài báo: *27/02/2015*
Ngày phản biện nhận xét bài báo: *18/05/2015*
Ngày bài báo được đăng: *08/09/2015*

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA *IN VITRO* CỦA SAPONIN TOÀN PHẦN TỪ SÂM VIỆT NAM TRỒNG (*PANAX VIETNAMENSIS* HA ET GRUSHV.)

Dương Hồng Tố Quyên, Nguyễn Thị Thu Hương**, Vũ Huỳnh Kim Long***, Nguyễn Minh Đức****

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: *Hoạt tính chống oxy hóa của cao toàn phần và saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam hoang dại đã được xác định trên các nghiên cứu in vitro và in vivo. Tuy nhiên, nguồn Sâm Việt Nam hoang dại ngày càng cạn kiệt và hiện nay trên thị trường chủ yếu là nguồn Sâm Việt Nam trồng nhưng chưa có nghiên cứu báo cáo một cách có hệ thống về tác dụng dược lý cũng như hoạt tính chống oxy hóa của saponin từ Sâm Việt Nam trồng. Do đó, mục tiêu của đề tài là chiết xuất saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng 6 tuổi và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa nội bào của saponin trên dòng tế bào gan Hep G2.*

Phương pháp nghiên cứu: *Chiết xuất saponin toàn phần từ cao toàn phần Sâm Việt Nam bằng cột Diaion HP-20 và định lượng một số saponin chính bằng phương pháp HPLC. Xác định khả năng chống oxy hóa của saponin Sâm Việt Nam trên dòng tế bào gan Hep G2 bằng phương pháp DCFH-DA (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetat) với mẫu đối chiếu là saponin toàn phần từ Nhân sâm 6 tuổi. Hoạt tính chống oxy hóa được xác định thông qua sự giảm gốc tự do oxy (ROS) trong tế bào.*

Kết quả: *Phần trăm hàm lượng của saponin chính trong saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng như sau: ginsenosid-Rb_1 (8,37%), -Rd (8,55%), -Rg_1 (14,79%), majonosid-R2 (23,76%). Saponin Sâm Việt Nam trồng và saponin Nhân sâm ở nồng độ 5mg/ml làm giảm ROS tương ứng 76,91 ± 3,85 % và 50,58 ± 7,47 %. Nồng độ có hoạt tính chống oxy hóa 50% của saponin Sâm Việt Nam là 2,24 mg/ml và saponin Nhân sâm là 4,85 mg/ml.*

Kết luận: *Saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa nội bào trên dòng tế bào gan Hep G2 cao hơn saponin toàn phần từ Nhân sâm.*

Từ khóa: *Sâm Việt Nam trồng, Saponin; tế bào gan Hep G2; hoạt tính chống oxy hóa nội bào*

ABSTRACT

IN VITRO STUDY ON ANTIOXIDANT ACTIVITY IN VITRO OF TOTAL SAPONIN FROM CULTIVATED VIETNAMESE GINSENG

Duong Hong To Quyen, Nguyen Thi Thu Huong, Vu Huynh Kim Long, Nguyen Minh Duc

* Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Supplement of Vol. 19 - No 5 - 2015: 157 - 164

Aims of the study: *In vitro and in vivo antioxidant activity of wild Vietnamese ginseng (total extract and total saponin) has been reported. However, because of the limited resource of wild Vietnamese ginseng, the cultivated one has been used in the market instead. But there have not been any systematic research carried out to identify the therapeutic value as well as antioxidant effects of saponin from cultivated Vietnamese ginseng. Therefore, the purpose of this study is to extract standardized total saponin of 6-year old cultivated Vietnamese ginseng and investigate the in vitro intracellular anti-oxidative activity in hepatic Hep G2 cell line.*

Experimental Methods: *Total saponin was extracted from crude extract of Vietnamese ginseng by column*

* Bệnh viện Y học cổ truyền TP.HCM ** Trung tâm Sâm và Dược liệu TP.HCM
*** Khoa Dược – Đại học Y Dược TP. HCM
Tác giả liên lạc: GS. Nguyễn Minh Đức *ĐT*: 0908988820 *Email*: ducng@hcm.vnn.vn

chromatography on Diaion HP-20. Some saponins were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The anti-oxidative activity of Vietnamese ginseng total saponin was determined by DCFH-DA method in hepatic Hep G2 cell line, compared to that of Panax ginseng total saponin. Antioxidant activity was measured through ability of compound to reduce reactive oxygen species (ROS) in HepG2 cells.

Results: *The percentage contents of main saponins in Vietnamese ginseng total saponin were revealed as below: Ginsenoside-Rb_1 (8.37%), -Rd (8.55%), -Rg_1 (14.79%), and majonoside-R2 (23.76%). Saponins of cultivated Vietnamese ginseng and Panax ginseng at the concentration of 5mg/ml exhibited the decrease of ROS as 76.91 ± 3.85 % and 50.58 ± 7.47 %, respectively. The concentration of 50% antioxidant activity was 2.24 mg/ml for Vietnamese ginseng saponin and 4.85mg/ml for Panax ginseng saponin.*

Conclusion: *Total saponin of cultivated Vietnamese ginseng showed antioxidant activity in HepG2 cell line higher than Panax ginseng saponin.*

Key words: *Cultivated Vietnamese ginseng; Saponin; Hep G2 cell line, intracellular antioxidant activity.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Việt Nam *(Panax Vietnamensis* Ha *et* Grushv.) là cây thuốc quý và đặc hữu của Việt Nam. Từ lâu, Sâm Việt Nam hoang dại được sử dụng với tác dụng tăng lực, chống mệt mỏi. Gần đây, có nhiều công trình nghiên cứu về hóa học cũng như một số tác dụng dược lý của Sâm Việt Nam hoang dại; cao toàn phần, saponin toàn phần được chứng minh có tác dụng tăng lực,chống stress tâm lý, chống oxy hóa và bảo vệ gan[1,5,6,8,7]. Hiện nay, nguồn Sâm Việt Nam hoang dại gần như cạn kiệt thay vào đó trên thị trường sử dụng nguồn Sâm Việt Nam từ trồng trọt. Do đó, để góp phần đánh giá tác dụng của Sâm Việt nam trồng cũng như vai trò của saponin toàn phần về tác dụng dược lý của Sâm Việt Nam; đặc biệt là tác dụng chống oxy hóa. Có nhiều phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa như: phương pháp sinh hóa như DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), ORAC (oxygen radical absorbance capacity), được sử dụng rộng rãi. Các phương pháp này có ưu điểm là ít tốn kém và dễ thực hiện, tuy nhiên chưa phản ánh chính xác điều kiện sinh lý tế bào. Các phương pháp thử trên súc vật khắc phục nhược điểm trên nhưng rất tốn kém. Do đó, mô hình thử kháng oxy hóa trên tế bào được chọn để thử tác dụng kháng oxy hóa của saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng. Thông qua việc xác định sự giảm ROS (reactive oxygen species) trong tế bào *hep G2*[2]. Mẫu saponin toàn phần được tiêu chuẩn hóa, để ổn định cho kết quả thử nghiệm sau này. Đồng thời, góp phần vào chứng minh tác dụng của Sâm Việt Nam – một cây thuốc quý của quốc gia, trong công tác chăm sóc sức khỏe.

NGUYÊN LIỆU - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu

Thân rễ và rễ củ Sâm Việt Nam trồng (SVN) 6 tuổi được thu mẫu vào tháng 10/2012 tại trại Dược liệu Trà Linh tỉnh Quảng Nam. Dùng phương pháp chiết ngấm kiệt với cồn 45%, cô thu hồi dung môi sau đó đông khô - 50^0 dưới áp suất giảm thu được cao toàn phần (thu suất 54,32%). Rễ Nhân sâm trồng (NS) 6 tuổi (Hiệp hội Nhân sâm Hàn Quốc cung cấp) được chiết bằng cồn 45% với phương pháp chiết tương tự SVN (thu suất 53,83%) được dùng để đối chiếu.

Hóa chất

E'MEM, L-glutamine, HEPES, amphotericin B, penicillin G, streptomycin, huyết thanh bào thai bò, và hóa chất dùng trong thử nghiệm kháng oxy hóa, như DCFH-DA, AAPH. Methanol, acetonitril (merck).

Thiết bị

Máy cô quay Buchi R300 (Thụy sĩ), máy siêu âm Sanorex RK510 H (Pháp), máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Merck Hitachi 7400 (Nhật bản), máy đo huỳnh quang Synergy HT (Biotek).