KHẢO SÁT ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE HUYẾT THỰC NGHIỆM CỦA CAO HỖN HỢP MẮC CỠ, RÂU MÈO VÀ MƯỚP ĐẮNG

Dương Thị Mộng Ngọc, Nguyễn Thị Ngọc Đan*, Phạm Thị Nguyệt Hằng**, Phí Thị Xuyến**, Đỗ Thị Phương***

TÓM TẮT

***Mục tiêu nghiên cứu**: Khảo sát độc tính cấp và tác dụng hạ đường huyết thực nghiệm của cao nước chiết từ hỗn hợp 3 dược liệu (Mắc cỡ, Râu mèo, Mướp đắng).*

***Phương pháp nghiên cứu**: Nghiên cứu được thực hiện trên chuột nhắt trắng trưởng thành chủng Swiss albino, trọng lượng 20 ± 2 g, được cung cấp bởi Ban động vật – Học viện Quân y. Thử nghiệm độc tính cấp đường uống để xác định LD_{50} theo phương pháp Behrens và Karber. Khảo sát tác dụng hạ đường huyết trên mô hình gây tăng glucose huyết cho chuột bằng cách tiêm phúc mạc dung dịch streptozotocin (STZ).*

***Kết quả**: Ở liều 1,4 g/kg thể trọng chuột/ ngày, cao chiết này có tác dụng làm giảm 33,15 % nồng độ glucose trong huyết thanh chuột bị Đái tháo đường bằng streptozotocin, đạt ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng bệnh lý ($p < 0,05$). Khi khảo sát độc tính cấp đường uống, không có chuột tử vong ở liều 16,45 g/kg thể trọng.*

***Kết luận**: Từ những kết quả thu được, có thể kết luận rằng cao chiết hỗn hợp từ dược liệu Mướp đắng và Râu mèo, Mắc cỡ với liều 1,4 g/ kg thể trọng có tác dụng hạ glucose huyết trên mô hình bệnh cảnh chuột đái tháo đường gây bởi streptozocin, tương đương với tác dụng của gliclazid ở liều 200 mg/kg.*

***Từ khóa:** Mắc cỡ, Râu mèo, Mướp đắng, hạ đường huyết.*

ABSTRACT

STUDY ON ACUTE TOXICITY AND ANTI-HYPERGLYCEMIC EFFECTS OF A PLANT MIXTURE EXTRACT COMPRISING OF MIMOSA PUDICA L., ORTHOSIPHON STAMINEUS BENTH. AND MOMORDICA CHARANTIA L.

Duong Thi Mong Ngoc. Nguyen Thi Ngoc Dan, Pham Thi Nguyet Hang, Phi Thi Xuyen, Do Thi Phuong * Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Supplement of Vol. 19 - No 5 - 2015: 91 - 95

***Objective**: To evaluate acute toxicity and anti-hyperglycemic effects of a plant mixture extract comprising of Mimosa pudica L., Orthosiphon stamineus Benth. and Momordica charantia L. in Swiss albino mice following oral administration.*

***Methods**: In vivo acute toxicity test is conducted using Behrens and Karber method to determine LD_{50}. The study evaluates the antihyperglycemic effects of the plant mixture extract in streptozotocin induced diabetic Swiss albino mice.*

***Results:** At the dose of 1.4 g/kg body weight of mouse, the plant mixture extracts comprising of Mimosa pudica L., Orthosiphon stamineus Benth. and Momordica charantia L. was effective in reducing 33.15 % of blood glucose level in streptozotocin induced diabetic Swiss albino mice, comparing to the control group (statistically significant with $p < 0.05$). LD_0 of the plant mixture extract was 16.45 g /kg body weight of mouse.*

***Conclusion:** This study shows significant antihyperglycemic effects of the plant mixture extract comprising*

* Trung Tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh ** Viện Dược Liệu – Hà Nội
Tác giả liên lạc: ThS. Dương Thị Mộng Ngọc *ĐT*: 0987400043 *Email*: duong_mong_ngoc@yahoo.com

of Mimosa pudica L., Orthosiphon stamineus Benth. And Momordica charantia L. in streptozotocin induced diabetic mice, comparing to the standard drug gliclazid (200 mg/ kg b.w.).

Key words: *Mimosa pudica L., Orthosiphon stamineus Benth., Momordica charantia L., plant mixture extract, anti-hyperglycemic, acute toxicity.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo báo cáo của Tổ chức Y tế thế giới, toàn cầu hiện nay có trên 180 triệu người bị bệnh Đái tháo đường và dự báo con số này sẽ tăng lên 300 triệu người vào năm 2025 và 366 triệu người vào năm 2030. Chỉ tính riêng ở Việt Nam, tính đến nay có gần 5 triệu người mắc bệnh đái tháo đường. Với tỷ lệ tăng từ 8-20% mỗi năm, Việt Nam nằm trong nhóm nước có tỷ lệ bệnh Đái tháo đường tăng nhanh nhất trên thế giới. Đái tháo đường tạo một áp lực lớn lên nền kinh tế do những chi phí y tế ngày càng tăng cho bệnh nhân, giảm hiệu suất làm việc do sự suy giảm sức khỏe của bệnh nhân và tỉ lệ tử vong sớm của bệnh nhân Đái tháo đường.

Hiện đã có một số thuốc tân dược điều trị đái tháo đường nhưng hiệu quả còn nhiều hạn chế, các thuốc hầu như chưa có tác dụng hạ glucose huyết lâu dài kể cả khi đã dùng phối hợp, hiệu quả ngăn ngừa biến chứng thấp, còn nhiều tác dụng không mong muốn. Chính vì thế, việc nghiên cứu phát triển thuốc có nguồn gốc tự nhiên đang thu hút được sự quan tâm của rất nhiều nhà khoa học trên thế giới.

Một số dược liệu đã được chứng minh có tác dụng hạ glucose huyết trên các mô hình chuột bị tăng glucose huyết thực nghiệm bằng streptozotocin hoặc alloxan, như Râu mèo (*Orthosiphon stamineus* Benth[6], Mướp đắng (*Momordica charantia* L.)[2,4], và Mắc cỡ (*Mimosa pudica* L.)[7,8]. Hơn nữa, ở mỗi dược liệu riêng rẽ còn có những tác dụng khác có liên quan đến các các bệnh đi kèm trong bệnh nhân đái tháo đường như huyết áp, rối loạn chuyển hóa lipid, tổn thương gan, tổn thương thận, nhiễm khuẩn, tăng cường khả năng miễn dịch[1, 4,5,6].

Tuy nhiên, hiện nay, chưa có công trình nào nghiên cứu sự kết hợp giữa 3 dược liệu: Râu mèo, Mướp đắng, Mắc cỡ để phát huy hiệu quả tác dụng hiệp đồng của chúng nhằm tạo ra được một dược phẩm điều trị bệnh Đái tháo đường. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá độc tính cấp và tác dụng hạ glucose huyết của cao hỗn hợp chiết từ các dược liệu từ Râu mèo, Mướp đắng và Mắc cỡ.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Cao phối hợp 3 dược liệu Râu mèo, Mướp đắng, Mắc cỡ (ký hiệu là cao HHB) được cung cấp từ bộ môn Hóa – Chế phẩm của Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. HCM.

Mẫu cao được tiêu chuẩn hóa theo các qui định của Dược Điển Việt nam IV và tiêu chuẩn cơ sở.

Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino* trọng lượng 20 - 22g, được cung cấp bởi Ban động vật Học viện Quân y. Chuột được nuôi ổn định ít nhất 5 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

Hóa chất – Thuốc đối chiếu

Hóa chất được dùng trong nghiên cứu bao gồm streptozocin (Sigma-Aldrich Co., Ltd, USA), gliclazid STADA®, Công ty TNHH LD STADA – VN, bộ kít định lượng glucose của hãng Human, Đức.

Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát độc tính cấp đường uống[3]

Chuột được nuôi ổn định trong phòng thí nghiệm ít nhất 5 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Cho chuột nhịn đói 16 giờ và uống nước tự do theo nhu cầu. Chuột được uống các liều khác nhau của cao chiết cồn từ mắc cỡ với thể tích 0,2 ml/10 g thể trọng chuột bằng bơm tiêm có kim đầu tù. Tìm liều tối đa mà không có chuột nào của lô thí nghiệm chết (LD_0) và liều tối thiểu để 100% chuột của lô thí nghiệm chết (LD_{100}).

Thử thêm 3 liều trung gian giữa 2 liều nói trên để xác định LD_{50}. LD_{50} được tính theo phương pháp Behrens – Kabber.

Thời gian theo dõi: Chuột được nuôi ở phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn về nhiệt độ, ánh sáng như trên để đảm bảo để mọi hoạt động của chuột bình thường. Theo dõi và quan sát các biểu hiện về hành vi, hoạt động, ăn uống, bài tiết của chuột và số chuột sống chết trong 3 ngày. Chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể.

Khảo sát tác dụng hạ glucose huyết trên chuột cuả cao hỗn hợp dược liệu[9]

Gây tăng glucose huyết cho chuột bằng cách tiêm phúc mạc dung dịch streptozotocin (STZ) pha trong đệm Na-citrat pH 4,5 với liều 160 mg/kg. Sau 4 ngày tiêm STZ, lấy máu chuột lúc đói để định lượng glucose huyết. Những chuột có glucose huyết ≥ 15 mmol/l (tương đương ≥ 250 mg/dl) được đưa vào nghiên cứu tiếp theo. Chuột được chia thành 5 nhóm: 01 nhóm chứng sinh lý (n = 10): Chuột bình thường, uống nước cất; 01 nhóm chứng bệnh lý (n = 11): Chuột bị tăng glucose huyết, uống nước cất; 02 nhóm chuột bị tăng glucose huyết được uống cao HHB với 2 liều lần lượt là 0,7 g/kg thể trọng (n = 10) và 1,4 g/kg thể trọng (n = 12); 01 nhóm chứng dương (n = 8). Chuột bị tăng glucose huyết được uống gliclazid với liều 200 mg/kg thể trọng. Chuột được uống mẫu nghiên cứu hoặc nước trong 10 ngày liên tiếp. Đến ngày thứ 10, sau khi uống mẫu nghiên cứu 1 giờ, lấy máu chuột bằng cách giết đột ngột, ly tâm thu huyết thanh để định lượng glucose huyết.

Cách đánh giá kết quả: So sánh giá trị glucose huyết giữa các nhóm trước và sau khi uống mẫu cao hỗn hợp dược liệu (cao HHB) so với nhóm chứng bệnh lý. Các số liệu thực nghiệm được xử lý trên Microsoft Excel, thuật toán thống kê t' test, F' test và phương pháp phân tích phương sai (one way ANOVA).

KẾT QUẢ

Kết quả khảo sát độc tính cấp đường uống

Bảng 1. *Số liệu thử độc tính cấp của cao hỗn hợp dược liệu (Cao HHB)*

Nhóm nghiên cứu	Liều thử (g cao HHB/ kg)	Số chuột thử	Tỷ lệ chuột chết (%)
1	16,45	10	0
2	22,63	10	20
3	28,80	10	20
4	34,97	10	30
5	41,14	10	40

Kết quả bảng 1 cho thấy: Sau khi uống mẫu nghiên cứu, chuột ở nhóm 1 và 2 (uống cao chiết hỗn hợp 3 dược liệu với liều 16,45 g/kg và 22,63 g/kg) không có biểu hiện gì đặc biệt, chuột vẫn sống, ăn uống, hoạt động và bài tiết bình thường. Không có chuột nào chết sau 72 giờ uống mẫu nghiên cứu.

Khi tăng liều cho chuột lên đến 28,80 g/kg thể trọng (bắt đầu từ nhóm thứ 3), một số chuột có biểu hiện mệt, nằm im hoặc ít hoạt động. Chuột uống thuốc thử liều càng cao, mức độ biểu hiện triệu chứng ngày càng nặng. Sau khi uống thuốc thử 1 – 4 giờ, có một số chuột chết ở các nhóm (bảng 1), tuy nhiên, không có lô chuột nào chết 100% tổng số chuột nghiên cứu. Mổ quan sát đại thể những chuột chết trong vòng 2 giờ đầu sau uống thuốc, kết quả cho thấy: Phổi bình thường, màu hồng đều, nổi khi thả vào nước. Ổ bụng các chuột đều khô, có thuốc chứa trong dạ dày, chứng tỏ chuột chết không phải do đưa thuốc ra ngoài đường tiêu hoá. Ngày thứ 2 và thứ 3, không có chuột nào chết thêm ở tất cả các nhóm. Những chuột còn sống trở lại ăn uống, hoạt động, bài tiết bình thường. Liều 41,14 g/ kg thể trọng là liều tối đa mà chuột có thể uống được nhưng chỉ chết 40% số chuột. Do đó, dừng thí nghiệm, không xác định được LD_{50}.

Kết quả khảo sát tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết cồn từ hỗn hợp dược liệu (Cao HHB)

Bảng 2. *Sự thay đổi nồng độ glucose huyết (mmol/L) của các nhóm trước và sau thực nghiệm*

Nhóm	n	Trước TN Nồng độ glucose huyết (mmol/L)	Sau TN	% giảm so với nhóm chứng bệnh lý
Chứng sinh lý	10	5,68 ± 0,59	5,84 ± 0,81	
Chứng bệnh lý	11	18,63 ± 1,40	20,23 ± 1,51	
Cao hỗn hợp (HHB) 0,7 g/kg	10	20,68 ± 1,21	19,13 ± 1,65	5,42
Cao hỗn hợp (HHB) 1,4 g/kg	12	20,56 ± 1,15	13,53 ± 2,24	33,15
Gliclazid 200 mg/kg	8	20,26 ± 1,44	14,04 ± 0,99	30,59

Kết quả ở bảng 2 cho thấy nồng độ glucose huyết ở nhóm chứng bệnh lý cao hơn rõ rệt so với nhóm chứng sinh lý (tăng $p < 0,001$). Ở nhóm uống cao HHB với liều 0,7 g/kg trong 10 ngày liên tục không thể hiện tác dụng ức chế sự tăng glucose huyết trên chuột. Nhưng khi tăng mức liều lên 1,4 g/kg thể trọng, nồng độ glucose huyết đã giảm 33,15%, đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nhóm chứng bệnh lý. Nhóm chuột uống gliclazid nồng độ glucose huyết cũng giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý, mức độ giảm là 30,59 %.

Qua kết quả nghiên cứu, việc kết hợp 3 dược liệu Râu mèo, Mướp đắng và Mắc cỡ thành cao hỗn hợp với liều 1,4 g/kg thể trọng có tác dụng hạ glucose huyết ở chuột nhắt bị tăng glucose huyết thực nghiệm do streptozotocin.

BÀN LUẬN

Cao phối hợp 3 dược liệu Râu mèo, Mướp đắng, Mắc cỡ (ký hiệu là cao HHB) được nghiên cứu dựa trên công thức bài thuốc thang của lương y Đinh Bá Luyện, nhóm tác giả đã tuân thủ phối trộn theo thành phần giữa 3 dược liệu là: Râu mèo tươi (50 g), Mướp đắng tươi (50 g), Cây Mắc cỡ khô (06 g).

Bài thuốc thang của lương y Đinh Bá Luyện đã được sử dụng để điều trị bệnh Đái tháo đường trong nhân dân, tuy nhiên, cần phải chứng minh sự phối hợp 3 dược liệu này để là an toàn, hiệu quả, có tính thuyết phục hơn về giá trị khoa học, chính vì thế, kết quả của nghiên cứu này là một trong những nội dung cần làm để hiện đại hóa bài thuốc này thành một dược phẩm hoàn thiện.

KẾT LUẬN

Từ những kết quả thu được, cao chiết hỗn hợp từ dược liệu Mướp đắng và Râu mèo, Mắc cỡ với liều 1,4 g/ kg thể trọng có tác dụng hạ glucose huyết trên mô hình bệnh cảnh chuột Đái tháo đường gây bởi streptozocin tương đương với chứng gliclazid (200 mg/kg).

Theo nghiên cứu trên, nhóm tác giả chỉ mới thăm dò tác dụng hạ đường huyết, dựa trên kết quả khoa học đã chứng minh Mướp đắng, Râu mèo và Mắc cỡ ngoài tác dụng hạ đường huyết, ở mỗi dược liệu riêng rẽ còn có những tác dụng khác có liên quan đến các các bệnh đi kèm trong bệnh nhân Đái tháo đường như huyết áp, rối loạn chuyển hóa lipid, tổn thương gan, tổn thương thận, nhiễm khuẩn, tăng cường khả năng miễn dịch. Như vậy, nếu nghiên cứu được triển khai rộng hơn về tác dụng bảo vệ gan, kháng oxy hóa, tăng cường miễn dịch, kháng khuẩn… Và nếu việc kết hợp các tác dụng này có hiệu quả hiệp đồng, hy vọng có thể có một chế phẩm vừa phát huy hiệu quả hạ đường huyết, vừa có thể điều trị và ngăn ngừa các biến chứng của bệnh đái tháo đường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chowdhury SA, Islam J, Rahaman M, Rahman M, Rumzhum NN, Sultana R, et al. (2008). "Cytotoxic, anti-microbial and anti-oxidant activities of the different plant parts of *Mimosa pudica*". *S. J. Pharm Sci*; 1:80-84.
2. Đoàn Thị Nhu, Phạm Văn Thanh, Nguyễn Kim Phượng (2001). "Nghiên cứu tác dụng hạ đường máu và độc tính của chế phẩm Morantin". *Công trình nghiên cứu khoa học* (1987 - 2000). Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr.395–399
3. Đỗ Trung Đàm(1996). "*Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*". Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
4. Fernandes NP, Lagishetty CV, Panda VS, Naik SR. (2007). "An experimental evaluation of the antidiabetic and antilipidemic

properties of a standardized *Momordica charantia* fruit extract". *BMC Complement Altern Med*; 7:29-37.

5. Jagessar RC, Mohamed A, Gomes G, Jagessar RC, Mohamed A, Gomes G (2008). "An evaluation of the Antibacterial and Antifungal activity of leaf extracts of *Momordica charantia* against *Candida albicans, Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli"*. *Nature and Science*; 6.
6. Sriplang K, Adisakwattana S, Rungsipipat A, Yibchok-anun S (2007). "Effects of *Orthosiphonstamineus* aqueous extract on plasma glucose concentration and lipid profile in normal and streptozotocin-induced diabetic rats". *Journal of Ethnopharmacology*; 109:510-514.
7. Sutar NG, Sutar UN, Behera BC (2009). "Antidiabetic activity of the leaves of *Mimosa pudica* Linn in albino rats". *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*; 3:123-126.
8. Umamaheswari S, Mainzen Prince PS (2007). "Antihyperglycaemic effect of 'Ilogen-Excel', an ayurvedic herbal formulation in streptozotocin-induced diabetes mellitus". *Acta Pol Pharm*; 64: 53-61.
9. Viện Dược liệu (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý từ dược thảo.* Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, tr.200-201.

Ngày nhận bài báo: *27/02/2015*
Ngày phản biện nhận xét bài báo: *15/05/2015*
Ngày bài báo được đăng: *08/09/2015*