

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG ĐIỀU TRỊ BỆNH TIỂU ĐƯỜNG CỦA CAO CHIẾT RỄ ĐÌNH LĂNG (*POLYSCIAS FRUTICOSA L. HARMS*)

● NGUYỄN NHƯ NGỌC - NGUYỄN QUỐC DUY

TÓM TẮT:

Đình lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) được biết đến là dược liệu sử dụng trong y học cổ truyền với nhiều công dụng chữa ho, kháng viêm. Trong nghiên cứu này, tiến hành khảo sát khả năng hạ đường huyết của cao chiết rễ đình lăng trên chuột nhắt trắng Swiss. Kết quả thử nghiệm độ an toàn của cao chiết cho thấy giá trị $LD_{50} > 5000$ mg/kg trọng lượng chuột, cao chiết không gây độc cấp tính, cùng với kết quả thử nghiệm độc tính bán trường diễn của cao chiết được sử dụng liên tục trong 14 ngày cho thấy cao chiết ở nồng độ 200 mg/kg thể trọng phù hợp cho thử nghiệm hạ đường huyết. Khả năng hạ nồng độ glucose trong máu của cao chiết nồng độ 200 mg/kg thể trọng ở nhóm chuột tiểu đường không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nồng độ glucose của chuột bình thường, trọng lượng của chuột không có sự khác biệt trong suốt quá trình sử dụng cao chiết ($p < 0,05$). Nhuộm mô tụy của chuột sử dụng cao chiết cho thấy cao ethanol có khả năng hồi phục tế bào đảo tụy.

Từ khóa: đình lăng lá nhỏ, chữa ho, kháng viêm, bệnh tiểu đường.

1. Đặt vấn đề

Bệnh tiểu đường là một bệnh mãn tính, trong đó cơ thể không sản xuất đủ insulin, hay không thể sử dụng insulin để khống chế hàm lượng glucose trong máu, về lâu dài gây nhiều biến chứng nguy hiểm đến tim mạch, mắt, thần kinh [1]. Ở Việt Nam, theo báo cáo của Hiệp hội Đái tháo đường thế giới IDF Diabetes Atlas, tính đến năm 2017 có 3,7 triệu người mắc bệnh và được dự đoán tăng lên 6,3 triệu người vào năm 2045. Tuy nhiên, việc điều trị hoàn toàn bệnh tiểu đường vẫn đang được nghiên cứu. Hiện nay, tiểu đường được kiểm soát bằng nhiều loại thuốc, như: Acarbose ức chế men α -glucosidase ngăn sự phân cắt đường đa thành đường đơn; Metformin ngăn không cho gan tạo thêm đường và giúp mô cơ dễ sử dụng glucose; Gliclazide và Glimepiride ngăn phá hủy nội tiết tố

GLP1 trong cơ thể; Pioglitazone ngăn không cho gan tạo ra thêm đường trong cơ thể, giúp kiểm soát đường huyết, thuốc ức chế kênh SGLT2 thải đường qua nước tiểu. Đối với các nhóm thuốc điều trị tiểu đường, phần lớn thường có thêm các tác dụng phụ như gây đầy hơi và tiêu chảy, hạ đường huyết quá mức, có thể làm nặng thêm tình trạng suy tim, thiếu máu hoặc làm người bệnh bị nhiễm khuẩn hoặc nhiễm nấm đường tiểu [2]. Vì vậy, nghiên cứu các loại thực vật có tác dụng hạ đường huyết được chú trọng nhằm tìm nguồn dược liệu mới hiệu quả và không gây tác dụng phụ.

Đình lăng lá nhỏ (*Polyscias fruticosa* L. Harms) từ lâu được ví như nhân sâm của người Việt Nam bởi có nhiều công dụng đối với sức khỏe. Một số báo cáo cho thấy thành phần hóa học của đình lăng có sự hiện diện của polyacetylene và saponin, tác

dụng ức chế enzyme α -amylase và α -glucosidase làm hạ đường huyết trong máu [3]. Nghiên cứu này tiến hành nhằm khảo sát khả năng hạ đường huyết của cao chiết từ rễ đinh lăng trên mô hình chuột tiểu đường gây ra bởi Streptozotocin, cũng như sự tác động của cao chiết lên khả năng hồi phục tế bào đảo tụy.

2. Vật liệu, phương pháp

2.1. Vật liệu

Nghiên cứu được thực hiện trên rễ cây đinh lăng lá nhỏ (4 năm tuổi) được thu hoạch ở Buôn Mê Thuột (tỉnh Đắk Lắk). Rễ sau khi thu hoạch được rửa sạch, cắt nhỏ, sấy khô ở 60°C và nghiền thành bột để phân tích thêm.

Các hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu là ethanol (Việt Nam), thuốc nhuộm Hematoxylin harris (Leica), thuốc nhuộm Eosin (Thermo Scientific), Streptozotocin - STZ (Sigma).

Chuột sử dụng cho thí nghiệm là giống chuột Swiss trưởng thành, 7 - 8 tuần tuổi, khối lượng 20 ± 2 g (Viện Pasteur, TP. Hồ Chí Minh).

2.2. Chuẩn bị cao chiết Ethanol

Để thu được cao chiết rễ *Polyscias fruticosa* L. Harms, bột đã xay khô được ngâm trong dung môi ethanol tinh khiết ở nhiệt độ phòng với tỷ lệ nguyên liệu: dung môi là 1:15 (w/v), thỉnh thoảng lắc. Dịch chiết được lọc qua giấy lọc Whatman số 1, cô quay ở 60°C. Sau đó, cao chiết được sử dụng để thực hiện các thử nghiệm khảo sát khả năng hạ glucose trong máu của chuột tiểu đường.

2.3. Xây dựng mô hình chuột tiểu đường bằng Streptozotocin

Toàn bộ chuột sử dụng cho thí nghiệm có nồng độ đường huyết nằm trong giới hạn chỉ số bình thường và được nuôi ổn định 3 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Chuột được chia làm 4 lô thí nghiệm, mỗi lô 10 con. Lô 1 được nuôi với chế độ ăn bình thường và tiêm nước cất làm lô đối chứng. Lô 2, 3, 4, chuột được tiến hành tiêm Streptozotocin ở liều lượng 40 mg/kg thể trọng cơ thể chuột, tiếp tục nuôi ổn định. Sau 72 giờ, các lô chuột được tiến hành kiểm tra đường huyết. Giá trị lượng đường huyết lớn hơn 200 mg/dl là thành công trong việc tạo mô hình chuột tiểu đường [4-5].

2.4. Khảo sát độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cao chiết ethanol rễ đinh lăng

Thử nghiệm khảo sát độc tính cấp của cao chiết rễ đinh lăng đối với chuột được thực hiện ở nồng độ cao chiết 2000 mg/kg và 5000 mg/kg trọng lượng cơ

thể chuột, sau 72 giờ xác định tỷ lệ sống chết của chuột. Thử nghiệm độc tính bán trường diễn sử dụng 2 nhóm chuột, mỗi nhóm 5 con. Nhóm chuột đối chứng cho uống nước cất, nhóm chuột thử nghiệm cho chuột sử dụng 0,1 ml/2 lần/ngày nồng độ cao chiết 200 mg/kg, trong 14 ngày. Xác định tỷ lệ sống chết và trọng lượng của các nhóm chuột sau 14 ngày [6].

2.5. Khảo sát khả năng hạ đường huyết của cao chiết ethanol rễ đinh lăng

Chuột thử nghiệm có hàm lượng glucose máu > 200 mg/dl được lựa chọn, chia thành 4 lô, mỗi lô 5 con. Lô 1 nuôi chế độ ăn bình thường làm đối chứng, lô 2 chuột tiểu đường cho uống nước cất. Lô 3 chuột tiểu đường cho uống cao rễ đinh lăng liều 100 mg/kg/ngày. Lô 4 chuột tiểu đường cho uống cao rễ đinh lăng liều 200 mg/kg/ngày. Sau 1 ngày cho uống cao chiết tiến hành lấy máu chuột xác định hàm lượng glucose trong máu, kể từ ngày uống đầu tiên sau 7 ngày, 14 ngày tiếp tục lấy máu xác định hàm lượng glucose ở mỗi lô chuột.

2.6. Nhuộm Hematoxylin - Eosin tuyến tụy

Tụy chuột lấy ra khỏi cơ thể chuột được đưa ngay vào dung dịch đệm formol, cố định 6 giờ. Sau khi cố định, tiến hành vùi parafin và đúc khối parafin. sau đó cắt và dán mảnh cắt. Tẩy parafin trong 3 bể xylene, mỗi bể 5 phút. Cho lần lượt qua 4 bể cồn 100°, 95°, 80°, 70°, mỗi bể nhúng 15 lần. Nhúng qua nước cất 15 lần để rửa sạch. Nhuộm nhân bằng Hematoxylin harris trong 3-5 phút. Rửa dưới vòi nước chảy 5-10 phút. Nhuộm Eosin 1% trong 1-2 phút, rửa dưới vòi nước chảy. Biệt hóa trong 2 bể cồn 95° và 100°, mỗi bể nhúng 15 lần. Tiếp tục cho qua 3 bể xylene, bể I và II nhúng 15 lần, bể III 5-10 phút [7]. Đọc kết quả ở vật kính 400x.

2.7. Phương pháp xử lý thống kê

Dữ liệu thử nghiệm được phân tích bằng phần mềm SPSS 26 (SPSS Inc. Chicago, U.S.A) sử dụng các kỹ thuật thống kê cơ bản. One-way ANOVA và Tukey's Multiple Range được sử dụng để xác định sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu ở mức ý nghĩa 5%.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả khảo sát độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cao chiết

Sau 72 giờ khảo sát độc tính cấp của cao chiết rễ đinh lăng ở nồng độ 2.000 mg/kg và 5.000 mg/kg cho thấy tỷ lệ chuột sống 100% ở cả 2 nồng độ, phát

triển bình thường và trọng lượng ổn định. Kết quả khảo sát độc tính cấp của cao chiết cho thấy cao chiết rễ Đinh lăng có giá trị $LD_{50} > 5000$ mg/kg, không gây độc cấp tính [8].

Kết quả khảo sát độc tính bán trường diễn của cao chiết ở nồng độ 200 mg/kg sau 14 ngày cho thấy tỷ lệ sống sót 100%, chuột phát triển bình thường, di chuyển nhanh. Trọng lượng của chuột ở 2 lô tăng đều trong thời gian thí nghiệm, lô 1 nhóm chuột đối chứng tăng từ $19,84 \pm 1,23$ g lên $23,14 \pm 1,02$ g, nhóm chuột sử dụng cao chiết có trọng lượng tăng lên $22,07 \pm 0,89$ g và không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa trọng lượng của 2 nhóm chuột thử nghiệm ($p < 0,05$). Từ kết quả thí nghiệm cho thấy cao chiết sử dụng ở hàm lượng 200 mg/kg liên tục trong 14 ngày an toàn cho chuột thí nghiệm, có thể sử dụng hàm lượng này để thực hiện thí nghiệm hạ đường huyết.

3.2. Kết quả khảo sát khả năng hạ đường huyết của cao chiết rễ đinh lăng

Kết quả thử nghiệm khả năng hạ đường huyết được thể hiện trong Bảng 1. Sau khi tiêm STZ 2 ngày lượng đường huyết của chuột dao động trong khoảng $389,16 \pm 22,2$ mg/dl đến $407,89 \pm 4,12$ mg/dl. Lô chuột đối chứng (Lô 1) đường huyết của chuột duy trì ổn định trong khoảng $115,27 \pm 1,59$ mg/dl đến $118,66 \pm 1,52$ mg/dl. Chuột tiểu đường sử dụng cho thử nghiệm có độ đồng đều về tình trạng mắc bệnh tiểu đường và nồng độ đường huyết ổn định, không có sự khác biệt có ý nghĩa. Sau 14 ngày cho chuột uống cao chiết ở cả 2 nồng độ thử nghiệm, đường huyết giảm, có ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng chuột tiểu đường (Lô 2).

Kết quả thử nghiệm cho thấy, ở nhóm chuột bình thường, đường huyết ổn định trong suốt quá trình thí nghiệm. Nhóm chuột tiểu đường, đường huyết tăng liên tục và xuất hiện chuột chết, đến ngày 14 thì chuột chết hoàn toàn. Đối với nhóm chuột uống cao chiết nồng độ 100 mg/kg thể trọng/ngày, ngày đầu tiên sau khi uống đường huyết chuột giảm, tuy nhiên không có khác biệt có ý nghĩa so với nồng độ đường huyết trước khi sử dụng cao chiết, sau 7 và 14 ngày sử dụng cao chiết,

lượng đường huyết vẫn duy trì ở mức cao > 200 mg/dl. Với nồng độ 200 mg/kg trọng lượng/ngày cho thấy nồng độ đường huyết của chuột giảm liên tục trong 14 ngày thử nghiệm từ $398,76$ mg/dl giảm còn $125,95$ mg/dl (đường huyết bình thường < 140 mg/dl), khác biệt có ý nghĩa so với nồng độ đường huyết của nhóm chuột tiểu đường và không có khác biệt so với nhóm chuột bình thường. (Bảng 1)

Bảng 1. Nồng độ đường huyết trung bình của chuột được điều trị bằng cao Ethanol

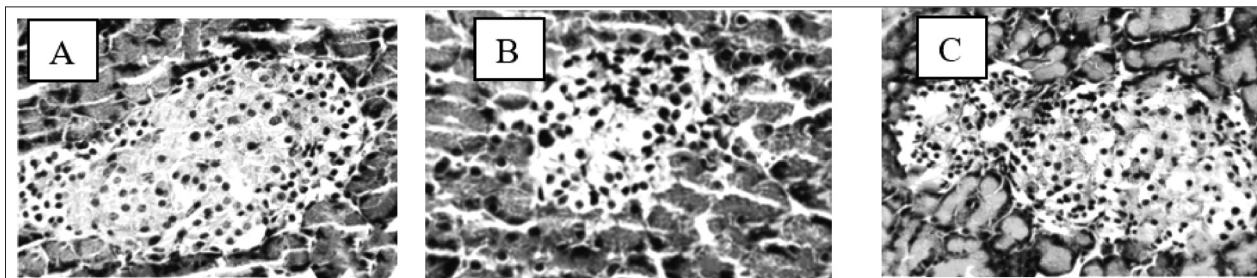
STT	Nồng độ đường huyết (mg/dl)			
	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 7	Ngày 14
Lô 1	$118,66^a \pm 1,52$	$117,34^a \pm 1,41$	$115,27^a \pm 1,59$	$116,89^a \pm 1,30$
Lô 2	$407,89^b \pm 4,12$	$515,70^d \pm 5,17$	$522,62^d \pm 0,69$	Chuột chết
Lô 3	$389,16^b \pm 22,2$	$252,70^{bc} \pm 5,72$	$235,66^{bc} \pm 0,53$	$200,15^c \pm 0,50$
Lô 4	$398,76^b \pm 6,15$	$235,78^c \pm 7,64$	$138,01^a \pm 0,30$	$125,95^a \pm 0,56$

Trọng lượng của nhóm chuột bình thường tăng liên tục trong 14 ngày thử nghiệm từ $19,67 \pm 1,15$ g lên $22,54 \pm 1,32$ g ở ngày thứ 14. Ngược lại, nhóm chuột tiểu đường có trọng lượng giảm nhanh trong 14 ngày thử nghiệm (trọng lượng ban đầu $20,16 \pm 1,01$ g). Sau 7 ngày, trọng lượng chuột giảm 3,12% và tiếp tục giảm 8,45% so với trọng lượng ban đầu vào ngày thứ 14. Nhóm chuột được cho uống cao với hàm lượng 200 mg/kg/ngày trọng lượng chuột giảm nhẹ vào ngày thứ 7 (giảm 1,25% so với trọng lượng ban đầu), tuy nhiên tăng trở lại và đạt trọng lượng trung bình $21,13 \pm 1,22$ g so với trọng lượng chuột ban đầu là $20,14 \pm 1,67$ g.

3.3. Kết quả nhuộm mô tụy bằng Hematoxylin - Eosin

Theo kết quả nhuộm mô học cho thấy, chuột sau khi nuôi 2 tuần và tiêm STZ cho thấy, các tế bào beta bị hoại tử, đảo Langerhans bị thu nhỏ, các tế bào beta hoại tử không sản xuất được insulin làm hàm lượng glucose tăng cao, điển hình của bệnh tiểu đường tuýp 1 [9]. Chuột bình thường đảo tụy của chuột phát triển bình thường, các tế bào phân bố đồng đều khắp đảo tụy (Hình 1A). Với chuột sử dụng cao chiết rễ Đinh lăng hàm lượng 200 mg/kg/ngày, sau 2 tuần nhận thấy có sự hồi phục của tế bào đảo tụy, kích thước của đảo tụy tăng lên rất nhiều so với đảo tụy của chuột bệnh tiểu đường

Hình 1: Kết quả nhuộm tế bào tụy bằng Hematoxylin - Eosin



A: Đảo tụy của chuột bình thường. B: Đảo tụy của chuột tiểu đường. C: Đảo tụy của chuột uống cao Ethanol hàm lượng 200 mg/kg/ngày.

(Hình 1B). Tế bào của chuột tiểu đường xuất hiện phù nề và xung huyết, các tế bào beta cũng được duy trì và hình thành thêm tập trung ở trung tâm đảo tụy (Hình 1C). Điều này cho thấy cao ethanol từ rễ đinh lăng có khả năng tái tạo, hình thành các tế bào beta mới trong đảo tụy, các tế bào beta sản sinh insulin làm giảm glucose trong máu của chuột tiểu đường.

4. Kết luận

Chuột sau khi nuôi ổn định, kết hợp tiêm STZ liều thấp, tạo mô hình chuột tiểu đường tương tự tuýp 1 ở người [10]. Hàm lượng thức ăn chứa nhiều chất béo và protein sẽ tích lũy trong gan theo quá

trình gluconeogenesis. Chuột khi bị bỏ đói, lượng glycogen dự trữ trong gan sẽ chuyển hóa thành glucose, làm cho lượng đường huyết tăng lên, không có sự kiểm soát của insulin do tác động của STZ sau khi tiêm vào cơ thể. Khi vào tế bào STZ tạo ra các gốc alkyl tự do, tác động lên phân tử DNA phá hủy tế bào beta và ngưng tiết insulin. Vì vậy, lượng glucose chuyển hóa từ glycogen tăng lên không kiểm soát, duy trì ở mức cao gây ra đái tháo đường. Cao Ethanol sau khi vào cơ thể, tác động chủ yếu lên tế bào beta, tái tạo và phát triển các tế bào beta, từ đó tiết insulin cũng giúp hạ glucose trong máu chuột ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. American Diabetes Association (2006). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 29, S43-S48.
2. P. R. Rehani et al. (2019). Safety and mode of action of diabetes medications in comparison with 5-aminolevulinic acid (5-ALA). *J. Diabetes Res.*, 2019, 1-10.
3. T. T. H. Hanh et al. (2016). α -Amylase and α -glucosidase inhibitory saponins from *Polyscias fruticosa* leaves. *J. Chem.*, 2016, 1-5.
4. B. L. Furman (2021). Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr. Protoc.*, 1(4), 1-5.
5. F. Rivera-Ramírez et al. (2011). Antiobesity and hypoglycaemic effects of aqueous extract of *Ibervillea sonora* in mice fed a high-fat diet with fructose. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2011, 1-6.
6. C. J. Ugwah-Oguejiofor et al. (2019). Acute and sub-acute toxicity of aqueous extract of aerial parts of *Caralluma dalzielii* NE Brown in mice and rats. *Heliyon*, 5(1), 1-20.
7. R. D. Cardiff et al. (2014). Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. *Cold Spring Harb. Protoc.*, 2014(6), 655-658.
8. A. Ramachandran et al. (2012). Trends in prevalence of diabetes in Asian countries. *World J. Diabetes*, 3(6), 110-117.

9. O. M. Akinlade et al. (2021). Streptozotocin-induced type 1 and 2 diabetes in rodents: a model for studying diabetic cardiac autonomic neuropathy. *Afr. Health Sci.*, 21(2), 719-727.

10. S. O. Adewole and J. A. O. Ojewole. (2007). Insulin-induced immunohistochemical and morphological changes in pancreatic b-cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 29(7), 447-456.

Ngày nhận bài: 2/11/2021

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 2/12/2021

Ngày chấp nhận đăng bài: 12/12/2021

Thông tin tác giả:

1. ThS. NGUYỄN NHƯ NGỌC

2. ThS. NGUYỄN QUỐC DUY

Khoa Kỹ thuật Thực phẩm và Môi trường

Đại học Nguyễn Tất Thành

A STUDY ON THE POTENTIAL OF *POLYSCIAS FRUTICOSA* (L.) HARMS ROOT EXTRACT TO REDUCE BLOOD GLUCOSE LEVELS

● Master. **NGUYEN NHU NGOC**¹

● Master. **NGUYEN QUOC DUY**¹

¹ Faculty of Environmental and Food Engineering
Nguyen Tat Thanh University

ABSTRACT:

Polyscias fruticosa (L.) Harms is known as a medicinal herb used in traditional medicine to prevent cough and reduce inflammatory. This study examines the potential of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms root extract to reduce blood glucose levels in Swiss mice. The study's experiments show that the aqueous extract of *P. fruticosa* caused no death in the mice (LD₅₀ > 5000 mg/kg). The results of sub-acute toxicity tests shows that all the treated mice at the doses of 200 mg/kg survived throughout the 14 days of treatment. The test of blood glucose reduction potential shows that the root extract with the concentration of 200 mg/kg had no statistically significant difference compared with the glucose level of normal mice, and the weight of tested mice had no difference throughout treatment progress ($p < 0.05$). Staining of pancreatic tissue of mice by hematoxylin - eosin showed that the high ethanol can restore pancreatic islet cells.

Keywords: *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, preventing cough, anti-inflammatory, diabetes.