

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG DỰ PHÒNG RỐI LOẠN LIPID MÁU CỦA CAO SƠN TRÀ - MẠCH NHA TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

● Vương Ngọc Châu¹ ● Nguyễn Phương Dung^{*2}

¹Bệnh viện Y học cổ truyền tỉnh Bình Dương

² Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu này được thiết kế để đánh giá tác dụng phòng ngừa của chiết xuất nước từ Sơn trà và Mạch nha (SM) trên chuột nhắt rối loạn lipid máu. *Phương pháp:* Nghiên cứu tác dụng điều hòa lipid máu của cao chiết nước SM trên chuột rối loạn lipid máu nội sinh gây ra bởi tyloxapol (triton WR-1339) tiêm phúc mô liều 500 mg/kg và chuột rối loạn lipid máu ngoại sinh bởi cholesterol 25 mg/kg, uống 8 tuần. So sánh nồng độ cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL và HDL của chuột uống cao SM so với lô không điều trị. Atorvastatin (uống, 10 mg/kg) được sử dụng làm chứng dương. *Kết quả:* Liều tối đa có thể cho chuột nhắt uống mà không gây chết chuột (D_{max}) của cao SM là 11,62g dược liệu/kg. Ở liều tương đương 12 g dược liệu/kg, cao SM làm giảm cholesterol toàn phần 56.30%, triglycerid 69.90%, tăng HDL-C 25.69% trên chuột đã tiêm tyloxapol 500 mg/kg. Cao SM chỉ giảm LDL-C 59.93% trên chuột rối loạn lipid máu ngoại sinh (uống cholesterol 25 mg/kg 8 tuần). *Kết luận:* Cao chiết nước SM (Sơn trà - Mạch nha) liều tương đương 12 g dược liệu/kg có tác dụng phòng ngừa rối loạn lipid máu trên chuột nhắt rối loạn lipid máu nội sinh và ngoại sinh.

Từ khóa: hyperlipidemia, tyloxapol, cholesterol, *Fructus Mali doumeri*, *Fructus Hordei germinatus*

STUDY ON THE PREVENTIVE EFFECT OF AQUEOUS EXTRACT FROM HERBAL MEDICINE (*FRUCTUS CRATAEGI MALI DOUMERI* AND *FRUCTUS HORDEI GERMINATUS*) IN HYPERLIPIDEMIC MICE

● Vương Ngọc Châu ● Nguyễn Phương Dung*

ABSTRACT

Objectives: This research was designed to evaluate the preventive effect of aqueous extract from *Fructose Mali dourer* and *Fructus Hordei germinatus* (SM) in hyperlipidemic mice. *Method:* Study on the regulatory effects of aqueous extract in hyperlipidemic mice (*Mus musculus* var. albino) induced by tyloxapol (triton WR-1339), i.p., 500 mg/kg or by cholesterol 25 mg/kg, p.o., during 8 weeks. Comparison of total cholesterol, triglycerides, LDL and HDL levels of the groups intake SM extract with no-treatment group. Atorvastatin (oral, 10 mg/kg) was used as a positive control. *Results:* The maximum dose that can be given to mice without causing death (D_{max}) of the SM extract (*Fructus Crataegi pinnatifidae* and *Fructus Hordei germinatus*) was 11.62 g/kg. The dose of 12 g herbal medicine/kg showed significant reduction in serum cholesterol total level by 56.30% and triglycerides 69.90%, HDL-C level increased 25.69% in the mice used tyloxapol 500 mg/kg. The dose of 12 g/kg only reduced LDL-C level by 59.93% in the mice used cholesterol 25 mg/kg in 8

* Tác giả liên hệ: PGS.TS. Nguyễn Phương Dung, Email: dungnp@hiu.vn

(Ngày nhận bài: 16/10/2022; Ngày nhận bản sửa: 10/11/2022; Ngày duyệt đăng: 16/11/2022)

weeks. Conclusion: The SM water extract (*Fructus Crataegi Mali doumeri* and *Fructus Hordei germinatus*) with a dose equivalent to 12 g of herbal medicine/kg can prevent dyslipidemia in mice with internal and external disorders.

Keywords: hyperlipidemia, tyloxapol, cholesterol, *Fructus Mali doumeri*, *Fructus Hordei germinatus*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn lipid máu là một yếu tố nguy cơ chính của bệnh tim mạch do xơ vữa động mạch. Xơ vữa động mạch cùng với biến chứng của nó là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong và bệnh tật ở các nước phát triển [1]. Cho đến nay, đã có khá nhiều nhóm thuốc điều hòa rối loạn lipid máu. Bên cạnh các hóa dược các chế phẩm nguồn gốc thảo dược có tác dụng hỗ trợ phòng ngừa rối loạn lipid máu là vấn đề cần thiết. Sơn tra (*Fructus Crataegi Mali doumeri*) được người dân sử dụng rộng rãi dưới dạng nước sắc hoặc ngâm rượu với mong muốn giảm mỡ máu, giảm cân. Vị thuốc này có thể hữu ích trong kiểm soát rối loạn lipid máu, béo phì và xơ vữa động mạch [2]. Mạch nha (*Fructus Hordei germinatus*) có tác dụng chống peroxy hóa lipid bằng cách loại bỏ các gốc tự do trên chuột cống trắng tăng đường huyết bởi streptozotocin [3]. Một số lượng y đã sử dụng bài thuốc Mạch tra tán (Sơn tra, Mạch nha đồng lượng) cho người bệnh tăng cholesterol máu với liều dùng 60 g/ngày, chia làm 2 lần. Tuy nhiên, việc sử dụng này vẫn chủ yếu là dựa trên kinh nghiệm, chưa rõ công thức Sơn tra - Mạch nha có hiệu quả với rối loạn lipid máu không? Nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu chính là đánh giá tác dụng dự phòng rối loạn lipid máu của cao chiết nước Sơn tra – Mạch nha trên chuột nhắt trắng tăng lipida máu nội sinh và ngoại sinh.

2. PHƯƠNG TIỆN - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu – Hóa chất

Nguyên liệu: Cao chiết Sơn tra – Mạch nha (1 – 1), ký hiệu SM, được bào chế bằng cách sắc 2 lần với nước, lọc dịch chiết đem cô để được cao. Hiệu suất chiết 39,40%, độ ẩm 27,40%, độ tro 2,87%, định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng cho các vết có màu sắc và Rf tương tự với mẫu đối chiếu là Sơn tra, Mạch nha.

Thuốc đối chiếu: Atorvastatin 20 mg (Meyer Pharmaceuticals Ltd - Hồng Kông).

Hóa chất gây mô hình: Tyloxapol 5% (Sigma Aldrich); Cholesterol, A.R (Ấn Độ).

Hóa chất xét nghiệm: Cholesterol, HDL-C, LDL-C, triglycerid (Snibe diagnostics - Anh).

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng (*Mus musculus* var. *albino*) trưởng thành, khỏe mạnh, cả hai phái, trọng lượng trung bình 20 ± 2 g mua ở Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh. Trong suốt quá trình thử nghiệm, chuột được nuôi trong điều kiện ổn định về dinh dưỡng.

2.3. Phương pháp khảo sát độc tính cấp [4 - 5]

Chia ngẫu nhiên chuột nhắt trắng làm nhiều lô. Ở mỗi liều thăm dò với 6 chuột. Nếu kết quả chết cả 6 chuột thì tiến hành tiếp với 6 con khác với liều giảm một nửa. Nếu cả 6 chuột đều sống thì cũng thăm dò với 6 con khác nhưng với liều tăng gấp đôi. Tiến hành như vậy cho đến khi tìm được một liều làm chết 50% chuột thử nghiệm (dự kiến là LD₅₀), lấy liều đó làm liều cơ sở. Xác định liều chết 50% (LD₅₀) theo công thức Behrens- Kaber. Trong trường hợp sau khi cho uống, số chuột trong lô thử nghiệm vẫn bảo toàn, xác định liều cao nhất có thể bơm qua kim mà không làm chết chuột là liều tương đối an toàn, ký hiệu là Dmax. Theo dõi và ghi nhận các dấu hiệu bất thường của chuột thử nghiệm trong vòng 72 giờ đầu sau khi dùng thuốc và tiếp tục theo dõi tiếp tục trong 14 ngày.

2.4. Nghiên cứu tác dụng dự phòng điều hòa lipid máu trên mô hình tăng cholesterol nội sinh bằng tyloxapol (triton WR-1339) [4, 6 – 7]

Chuột thử nghiệm sau khi nuôi ổn định 1 tuần được chia ngẫu nhiên thành 5 lô (mỗi lô 10 chuột): Lô chứng uống nước cất; Lô bệnh uống nước cất; Lô đối chiếu uống atorvastatin 10 mg/kg; Lô thử 1 (SM1) uống cao Sơn tra – Mạch nha với liều tương đương 6 g dược liệu khô/kg thể trọng chuột; Lô thử 2 (SM2) uống cao Sơn tra – Mạch nha với liều tương đương 12 g dược liệu khô/kg thể trọng chuột. Trong 14 ngày đầu, chuột thử nghiệm được cho uống nước cất (lô gây bệnh và lô chứng), atorvastatin (lô đối chiếu) vào 3 - 4 giờ chiều. Cao thử nghiệm được cho uống ngày 2 lần vào lúc 8 – 9 giờ sáng và 3 – 4 giờ chiều. Thể tích cho uống 0,2 ml/10g thể trọng chuột. Đến ngày thứ 15, chuột trong lô chứng được tiêm phúc mô nước muối sinh lý, các lô còn lại được tiêm phúc mô với tyloxapol 500 mg/kg, nồng độ 5% trong nước muối sinh lý. Lấy máu tim sau khi tiêm tyloxapol 24 giờ, định lượng nồng độ cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL-C, HDL-C.

2.5. Nghiên cứu tác dụng dự phòng điều hòa lipid máu trên mô hình tăng cholesterol ngoại sinh [3],[5]

Chuột thử nghiệm sau khi nuôi ổn định 1 tuần được chia ngẫu nhiên thành 4 lô (mỗi lô 10 chuột): Lô chứng uống dầu đậu nành và nước cất; Lô bệnh uống cholesterol 25 mg/kg trong dầu đậu nành và nước cất; Lô đối chiếu uống cholesterol 25 mg/kg trong dầu đậu nành và atorvastatin 10 mg/kg; Lô thử SM2 uống cholesterol 25 mg/kg trong dầu đậu nành và cao Sơn tra – Mạch nha với liều tương đương 12 g dược liệu khô/kg thể trọng chuột.

Dung dịch cholesterol pha trong dầu đậu nành hoặc dầu đậu nành (đối với lô chứng) được cho uống vào 8 – 9 giờ sáng mỗi ngày. Atorvastatin được cho uống vào 3 - 4 giờ chiều mỗi ngày. Cao Sơn tra – Mạch nha được cho uống 2 lần/ngày vào lúc 8 – 9 giờ sáng và 3 – 4 giờ chiều. Thể tích cho uống 0,1 mL/10 g thể trọng chuột. Sau 8 tuần thử nghiệm, gây mê chuột và lấy máu trực tiếp từ tim để định lượng cholesterol toàn phần, triglycerid, HDL-C và LDL-C.

2.6. Phương pháp xử lý thống kê số liệu thực nghiệm

Số liệu thực nghiệm xử lý bằng thuật toán thống kê y sinh học trên phần mềm SPSS 16.0. Số liệu được biểu diễn dưới dạng Mean \pm SEM. Kiểm định các giá trị bằng t-test student, ANOVA. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$. Đồ thị được vẽ theo giá trị Mean \pm SEM bằng phần mềm MS. EXCEL 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Độc tính cấp

Trong 2 tuần quan sát, không ghi nhận được bất kỳ dấu hiệu bất thường nào xảy ra trên chuột thử nghiệm. Tất cả chuột đều ăn uống và hoạt động bình thường, không có chuột chết. Do đó không tìm được LD₅₀.

Liều tương đối an toàn (Dmax) của cao SM là 11,62 g cao khô/kg chuột tương đương 29,49 g dược liệu khô/ kg chuột (tương đương 147,43 g dược liệu khô /người 60 kg) để làm cơ sở tính liều cho các thử nghiệm dược lý tiếp theo.

3.2. Tác dụng dự phòng điều hòa lipid máu trên mô hình gây rối loạn lipid máu bằng tiêm tyloxapol 500 mg/kg 5% (Triton WR – 1339)

Tác dụng của cao SM1 (6 g/kg): So với lô bệnh (tyloxapol, uống nước cất), nồng độ cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL-C và HDL-C khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). So với lô đối chiếu (atorvastatin), nồng độ cholesterol toàn phần và triglycerid cao hơn (93.90% và 147.51%) có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$), HDL-C thấp hơn 50%, còn LDL-C khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, ở liều uống 6 g/kg, cao SM không thể hiện tác dụng điều hòa rối loạn lipid máu.

Bảng 1. Nồng độ cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL-C, HDL-C trong máu chuột nhắt sau tiêm tyloxapol (500 mg/kg, 5%)

Lô chuột (n = 10)	Cholesterol (mmol/L)	Triglycerid (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
Chúng	2,65 ± 0,19	0,82 ± 0,49	0,61 ± 0,12	1,09 ± 0,09
Nước cất + TYL (500 mg)	***8,17 ± 0,62	***14,55 ± 1,62	*0,97 ± 0,11	***0,32 ± 0,02
ATOR (10 mg) + TYL (500 mg)	*4,26 ± 0,50 ###	*5,62 ± 1,74##	0,86 ± 0,10	*0,70 ± 0,10##
SM1 (6 g) + TYL (500 mg)	***8,26 ± 0,93	***13,91 ± 1,85	0,88 ± 0,13	***0,35 ± 0,05
SM2 (12 g) + TYL (500 mg)	3,57 ± 0,61###	*4,38 ± 1,26###	0,96 ± 0,13	0,81 ± 0,15 [#]

Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chúng (: p < 0,05, **: p < 0,001)*

Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh (##: p < 0,01, ###: p < 0,001)

Tác dụng của SM2 (12 g/kg): So với lô bệnh (tyloxapol, uống nước cất), nồng độ cholesterol toàn phần và triglycerid giảm (56.30% và 69.90%), HDL-C tăng 25.69% có nghĩa thống kê, nồng độ LDL-C không thay đổi. So với lô đối chiếu (atorvastatin 10 mg/kg), nồng độ cholesterol toàn phần và triglycerid giảm (16.20% và 22.06%). Trong khi đó, HDL-C và LDL-C cao hơn (15.71% và 11.63%), khác biệt này không ý nghĩa thống kê. Như vậy, ở liều uống 12 g/kg, cao SM có tác dụng giảm cholesterol toàn phần, triglycerid, HDL-C, không thể hiện tác dụng trên LDL-C.

Kết quả thực nghiệm ở liều 12 g/kg cao SM có hiệu quả điều hòa rối loạn lipid và tương đương với atorvastatin 10mg/kg.

3.3. Tác dụng dự phòng điều hòa lipid máu trên mô hình gây rối loạn lipid máu bằng uống cholesterol 25 mg

Bảng 2. Nồng độ cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL-C, HDL-C của chuột nhắt tăng lipid máu ngoại sinh điều trị bằng cao Sơn tra – Mạch nha (12 g/kg)

Lô chuột (n = 10)	Cholesterol (mmol/L)	Triglycerid (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
Chúng	2,28 ± 0,07	1,29 ± 0,17	0,48 ± 0,11	2,13 ± 0,06
Nước cất + Cholesterol (25 mg)	*2,82 ± 0,12	1,6 ± 0,26	***1,16 ± 0,06	2,34 ± 0,08
ATOR (10 mg) + Cholesterol (25 mg)	*2,62 ± 0,11	1,41 ± 0,12	0,77 ± 0,10##	2,38 ± 0,22
SM (12g) + Cholesterol (25 mg)	*2,59 ± 0,08	1,30 ± 0,13	0,47 ± 0,07###	2,19 ± 0,13

Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chúng (: p < 0,05, **: p < 0,001)*

Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh (##: p < 0,01, ###: p < 0,001)

Tác dụng của cao Sơn tra – Mạch nha (12 g/kg): So với lô bệnh (cholesterol) nồng độ LDL-C thấp hơn 59.93% có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$), nồng độ cholesterol toàn phần, triglycerid, HDL-C thấp hơn nhưng không có ý nghĩa thống kê. So với lô đối chiếu (atorvastatin) nồng độ LDL-C, cholesterol toàn phần, triglycerid, HDL-C thấp hơn (lần lượt 0.95%, 8.09%, 39.24% và 7.82%) không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, cao SM có tác dụng giảm LDL-C, có xu hướng giảm cholesterol và triglycerid, không thể hiện tác dụng trên HDL-C.

Kết quả thực nghiệm cho thấy cao SM có tính an toàn, có triển vọng sử dụng được cho bệnh nhân kém dung nạp atorvastatin. Bài thuốc Mạch tra tán với thành phần Sơn tra – Mạch nha đã được một số lượng y ứng dụng trong lâm sàng. Kết quả thực nghiệm cũng cho thấy liều tác dụng tối ưu của thuốc cũng phù hợp với liều dùng trên lâm sàng.

Điều trị rối loạn lipid máu đòi hỏi thời gian lâu dài, vì thế bên cạnh hiệu quả điều trị thì vấn đề an toàn và hiệu quả kinh tế là những tiêu chí quan trọng trong khuyến cáo về dự phòng bệnh tim mạch của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) 2007. Nghiên cứu chế phẩm từ thảo dược có hiệu quả và ít tác dụng phụ là yêu cầu bức thiết. Nghiên cứu này tạo tiền đề cho các bước triển khai tiếp theo để cộng đồng có thêm một lựa chọn trong phòng chống các rối loạn lipid máu. Những nghiên cứu tiếp theo cần đánh giá ảnh hưởng cao SM khi sử dụng dài ngày, lựa chọn dạng bào chế phù hợp để tiện lợi hơn cho người dùng và nâng cao giá trị của chế phẩm. Bên cạnh đó, các tác dụng chống oxy hóa, hạ huyết áp, dẫn mạch vành, hỗ trợ tiêu hóa... cũng cần được đánh giá để làm rõ hơn vai trò phòng chống rối loạn lipid máu của cao SM.

4. KẾT LUẬN

Liều tương đối an toàn (Dmax) đường uống của cao Sơn tra – Mạch nha là 11,62 g cao khô/kg chuột (tương đương 147,43 g dược liệu khô /người 60 kg).

Cao chiết nước Sơn tra – Mạch nha ở liều uống 12 g/kg có tác dụng điều hòa lipid máu trên chuột nhắt trắng rối loạn lipid máu nội sinh và ngoại sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Phạm Nguyễn Vinh, *Dịch tễ, bệnh sinh và yếu tố nguy cơ của xơ vữa động mạch*, Bệnh học tim mạch, NXB Y học, pp. 68-76, 2008.
- [2] Dehghani S, Mehri S, Hosseinzadeh H., The effects of *Crataegus pinnatifida* (Chinese hawthorn) on metabolic syndrome: A review. Iran J Basic Med Sci.; 22(5):460-468, 2019. doi: 10.22038/IJBMS.2019.31964.7678. PMID: 31217924; PMCID: PMC6556496.
- [3] Hua Wei, Xing-huan Liang, Biao-liang Wu, Jie Zhang, Ying-fen Qin, Guiqing Luo and Zuo-jie Luo, “Antihyperglycemic and Antioxidant Activity of *Fructus hordei Germinatus* Extract on Streptozotocin-induced Diabetic Rats”, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(9), 1651-1657, 2015.
- [4] Bộ Y Tế. Viện Dược liệu, Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo, NXB Khoa học và Kỹ thuật, pp. 131-138, 355-386, 2006.
- [5] Đỗ Trung Đàm, *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*, NXB Y học Hà Nội, pp. 6-24, 50-57, 2014.
- [6] Vương Ngọc Châu, Lê Thị Lan Phương, Nguyễn Phương Dung, “Nghiên cứu tác dụng điều hòa rối loạn lipid máu của cao Sơn tra – Cốc nha (*Fructus Mali doumeri* - *Fructus Oryzae sativae*) trên mô hình thực nghiệm”, Y học TP. Hồ Chí Minh, 5(19), pp. 105-109, 2015.
- [7] Korolenko T. A., Cherkanova M. S., Tuzikov F. V., Johnston T. P., Tuzikova N. A., et al., “Influence of atorvastatin on fractional and subfractional composition of serum lipoproteins and MMP activity in mice with Triton WR 1339-induced lipaemia”, *J Pharm Pharmacol*, 63(6), pp. 833-9, 2011.