

Tác dụng bảo vệ thận của cao chiết từ lá cây Húng quế (*Ocimum basilicum* L., Lamiaceae) trên chuột được gây đái tháo đường

Nguyễn Thị Thu Hương*, Trần Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Ngọc Yến và Trần Thị Đương
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Ở Việt Nam, Húng quế (*Ocimum basilicum* L.) thường được dùng như rau ăn, có ít công bố về hiệu quả kiểm soát bệnh đái tháo đường. **Mục tiêu:** Xác định cao chiết tiềm năng từ lá cây Húng quế có tác dụng cải thiện các chỉ số creatinine, BUN (Blood urea nitrogen) trong huyết tương và malondialdehyde (MDA, marker của peroxy hóa lipid), glutathione (GSH) trong thận chuột bị đái tháo đường. **Đối tượng và phương pháp:** Cao chiết cồn 45% hoặc 96% từ lá Húng quế được cho uống ở các liều tương đương với 1.25 g và 2.5 g dược liệu trên chuột được gây đái tháo đường bằng streptozotocin (STZ). Xác định nồng độ glucose, creatinine, BUN bằng các bộ kit thương mại. Hàm lượng malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) trong dịch đồng thể thận chuột được xác định bằng thử nghiệm acid thiobarbituric và thuốc thử Ellman. **Kết quả:** Ở chuột được tiêm STZ và cho uống cao chiết cồn 45% (360 mg/kg và 720 mg/kg) có nồng độ glucose, creatinine và BUN trong huyết tương giảm so với lô chứng bệnh. Cao chiết cồn 96% (230 mg/kg và 460 mg/kg) làm hạ glucose máu nhưng không làm thay đổi nồng độ creatinine và BUN. Cao chiết cồn 45% làm giảm MDA và tăng GSH trong thận chuột. **Kết luận:** Cao chiết cồn 45% từ lá cây Húng quế được chọn là cao tiềm năng, có tác dụng hạ đường huyết và bảo vệ thận chuột trước tổn thương oxy hóa.

Từ khóa: Lá cây Húng quế, streptozotocin, creatinine, BUN, stress oxy hóa

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thận đái tháo đường (Diabetic nephropathy) là một trong những biến chứng nguy hiểm mà bệnh nhân đái tháo đường có thể mắc phải và ảnh hưởng lớn đến chất lượng sống cùng tăng chi phí điều trị cho bệnh nhân. Sự tăng đường huyết không được kiểm soát sẽ sản sinh nhiều gốc tự do, dẫn đến tổn thương tế bào do stress oxy hóa và có vai trò quan trọng trong sự tiến triển của các biến chứng mạch máu trong bệnh lý đái tháo đường, bao gồm bệnh thận mạn [1]. Xu hướng tìm kiếm nguồn nguyên liệu tiềm năng có nguồn gốc từ tự nhiên với đặc điểm phổ biến, dễ trồng đang được quan tâm nhờ ưu điểm an toàn, ít tác dụng không mong muốn và hiệu quả đã được minh chứng qua kinh nghiệm dân gian hoặc tri thức y học bản địa. Húng quế (*Ocimum basilicum* L., sweet basil, húng giổi, húng chó, rau quế, é quế) là một loại rau thơm được trồng phổ biến ở nước ta. Ngoài việc được sử dụng làm gia vị trong thực phẩm, Húng quế còn được sử dụng trong y học cổ truyền làm thanh nhiệt, lợi tiểu, lương huyết, giảm đau [2]. Bột lá Húng quế (Basil) đi từ nguyên liệu tươi được sấy

khô, được sử dụng như dạng trà giúp kiểm soát đường huyết. Nghiên cứu thực nghiệm cho thấy thành phần tinh dầu (eugenol, chavicol, linalool, α -terpineol) từ Húng quế có khả năng chống oxy hóa mạnh [3]. Cao chiết và flavonoid (thành phần chính là quercetin, rutin, acid rosmarinic, acid ellagic) từ cây Húng quế đã được chứng minh có tác dụng hạ đường huyết và bảo vệ gan, thận ở chuột bị đái tháo đường [4 - 5]. Kế thừa các công bố tiền đề này, nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định cao chiết tiềm năng từ lá cây Húng quế có tác dụng cải thiện các chỉ số creatinine, BUN (Blood urea nitrogen) trong huyết tương và malondialdehyde (MDA, marker của peroxy hóa lipid), glutathione (GSH) trong thận chuột bị đái tháo đường.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá cây Húng quế (được thu hái vào tháng 3/2022, khi cây Húng quế cao khoảng 15-20 cm) tại Huyện Củ Chi TP. Hồ Chí Minh và được thẩm định tên khoa học bởi Trung tâm Sâm và Dược liệu TP.HCM. Độ ẩm

Tác giả liên hệ: PGS.TS Nguyễn Thị Thu Hương

Email: huongntt1@hiu.vn

dược liệu đạt quy định của Dược điển Việt Nam V (không quá 13%).

Bột dược liệu khô (độ mịn qua rây số 250-0.25 mm, cân khoảng 200 g) được chiết xuất bằng phương pháp ngâm kiệt bột dược liệu với ethanol 45% hoặc 96% theo tỷ lệ 1:15 (dược liệu: dung môi), thời gian ngâm 48 giờ, tốc độ rút dịch 0.5 mL/phút. Tập trung các dịch chiết và cô thu hồi còn dưới áp suất giảm để thu được cao chiết còn 45% với hiệu suất chiết là 29.6% và cao chiết còn 96% với hiệu suất chiết là 18.9% (tính trên cao đã trừ ẩm). Các cao chiết có độ ẩm không quá 20% (đạt quy định cao đặc của Dược điển Việt Nam V, Phụ lục 9.6), cụ thể cao chiết còn 45% có độ ẩm là 16.33% và cao chiết còn 96% có độ ẩm là 11.84%.

Chọn liều thử các cao chiết trên chuột nhắt trắng: Lá Húng quế thường được sử dụng trong y học dân gian dưới dạng thuốc sắc với liều dùng mỗi ngày khoảng 20 g lá tươi hoặc khoảng 10 g lá khô. Các liều thử nghiệm của cao chiết còn được chọn tương đương với 5 và 10 g dược liệu khô/người/ngày và được tính theo hệ số quy đổi liều sử dụng từ người sang chuột nhắt trắng là 11.76 [6]. Cụ thể cách tính như sau: [Liều dược liệu sử dụng trên người x 11.76]/thể trọng người 40-50 kg = Liều dược liệu thử nghiệm trên chuột (1.25 và 2.5 g dược liệu/kg trọng lượng chuột). Liều thử nghiệm của các cao chiết được tính toán thông qua hiệu suất chiết của cao chưa trừ ẩm. Liều tương đương với 1.25 g dược liệu và 2.5 g dược liệu của cao chiết còn 45% là 360 mg/kg và 720 mg/kg, và của cao chiết còn 96% là 230 mg/kg và 460 mg/kg.

2.2. Động vật thí nghiệm

Các thử nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng đực (*Swiss albino*), 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng 25 ± 2 g. Chuột được nuôi ổn định ít nhất một tuần trước khi thí nghiệm. Chuột được nuôi trong phòng chăn nuôi ở điều kiện duy trì nhiệt độ 25 ± 1 °C với độ ẩm $65 \pm 5\%$ và chu kỳ 12 giờ sáng –

tối (sáng từ 6:00 - 18:00). Chuột được nuôi trong các lồng nhựa, thực phẩm dạng viên (được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Tp. Nha Trang), nước uống đầy đủ. Thể tích cho uống là 0.1 mL/10g thể trọng chuột, thời gian cho uống ở các thử nghiệm khoảng 8 - 9 giờ sáng. Các thí nghiệm trên động vật nghiên cứu được thực hiện theo hướng dẫn của Bộ Y tế [6] và đảm bảo tuân thủ nguyên tắc 3R (Reduction-Replacement-Refinement).

2.3. Hóa chất

Hóa chất được cung cấp từ *Sigma-Aldrich, USA*: Streptozotocin, Glibenclamide (glyburide), 2-Thiobarbituric acid (TBA), Thuốc thử Ellman [5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)], Malondialdehyde (MDA), Glutathione (GSH) dạng khử.

Bovine serum albumin (BSA) từ Thermo Fisher Scientific Inc..

Kit định lượng: Bộ kit định lượng glucose (*Erba, Germany*). Kit creatinine Liquidcolor (*Human Diagnostic Ltd.Co., Germany*). Kit BUN ELISA (Cat.No MBS 3801103, *MyBioSource*).

Các thuốc thử, hóa chất khác đạt tiêu chuẩn phòng thí nghiệm.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thiết kế thí nghiệm

Chuột được gây tăng đường huyết bằng streptozotocin (pha trong đệm natri citrat pH 4.5) với liều 170 mg/kg thể trọng, tiêm phúc mạc. Sau 7 ngày tiêm, chuột được lấy máu tĩnh mạch đuôi để xác định nồng độ glucose trong huyết tương (đo lúc đói). Những chuột có trị số glucose huyết đo lúc đói (fasted blood glucose) ≥ 126 mg/dL được lựa chọn vào thí nghiệm [7].

Số lượng chuột đạt tiêu chí được chia ngẫu nhiên thành các lô ($n = 10$) theo Bảng 1. Thực hiện song song với các lô chứng/thử sinh lý (không tiêm streptozotocin).

Bảng 1. Bố trí lô thử nghiệm

Lô thử nghiệm (n=10)	Mẫu thử	Liều uống (mg/kg)
Chứng sinh lý	Tiêm NaCl 0.9% + Uống nước cất	-
Chứng bệnh lý	Tiêm streptozotocin (STZ) + Uống nước cất	
Đối chiếu	Tiêm STZ + Uống glibenclamide	5
Cao chiết còn 45%	Thử sinh lý: Tiêm NaCl 0.9% + Uống cao liều 2	720
	Thử bệnh lý: Tiêm STZ + Uống cao liều 1	360
	Thử bệnh lý: Tiêm STZ + Uống cao liều 2	720
Cao chiết còn 96%	Thử sinh lý: Tiêm NaCl 0.9% + Uống cao liều 2	460
	Thử bệnh lý: Tiêm STZ + Uống cao liều 1	230
	Thử bệnh lý: Tiêm STZ + Uống cao liều 2	460

Chuột ở các lô được cho uống hàng ngày nước cất, glibenclamide hay các mẫu cao Húng quế trong 7 ngày. Sau 1 giờ cho uống lần cuối (ngày 7), tiến hành lấy máu tĩnh mạch đuôi chuột ở các lô để xác định nồng độ glucose, creatinine, BUN (Blood ure nitrogen) trong huyết tương.

Chọn cao chiết tiềm năng (điều hòa ít nhất 2/3 các chỉ số sinh hóa máu) để tiến hành thử nghiệm tương tự đánh giá tác dụng bảo vệ thận theo hướng chống stress oxy hóa qua 2 chỉ tiêu hàm lượng MDA và GSH trong dịch đồng thể thận.

2.4.2. Xác định nồng độ glucose, creatinine và BUN trong huyết tương chuột

Định lượng glucose được thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit (Trinder glucose activity test): Enzyme glucose oxidase sẽ phản ứng với glucose, H₂O, oxygen tạo thành acid gluconic và hydrogen peroxide. Horseradish peroxidase xúc tác phản ứng của hydrogen peroxide với 4-aminoantipyrine và acid 4-hydroxy benzoic tạo thành quinoneimine (có màu hồng tím). Cường độ màu tỷ lệ thuận với nồng độ glucose trong mẫu thử và được đo quang ở λ_{max} = 500-540 nm.

Định lượng creatinine được thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit: Creatinine được chuyển hóa thành creatine bởi enzyme creatininase, creatine được chuyển hóa tiếp thành sarcosine sẽ phản ứng với acid picric tạo thành hợp chất có màu đỏ cam và được đo quang ở λ_{max} = 570 nm.

Định lượng BUN dựa vào quy trình hướng dẫn của bộ kit, được tóm tắt như sau: Mẫu thử hoặc chất chuẩn (dãy nồng độ 400,200,100,50,25,0 pg/mL) được cho vào giếng (đĩa 96 giếng) và ủ 60 phút ở nhiệt độ 37°C với thuốc thử HRP-Conjugate. Rửa các giếng bằng Wash Solution (5 lần). Tiếp theo ủ 15 phút ở nhiệt độ 37°C (tránh ánh sáng) với dung dịch Chromogen A và dung dịch Chromogen B (đồng lượng). Thêm Stop solution, màu sắc trong các giếng chuyển từ xanh biển sang vàng và được đo quang ở λ_{max} = 450 nm bằng máy đọc đĩa (microplate reader) trong vòng 15 phút.

2.4.3. Xác định hàm lượng MDA và GSH trong dịch đồng thể thận

Bảng 2. Kết quả khảo sát tác dụng của các cao chiết lá Húng quế sau 7 ngày uống trên nồng độ glucose trong huyết tương của chuột bình thường

Lô thử nghiệm (n=10)	Liều uống (mg/kg)	Glucose (mg/dL)	
		Trước uống mẫu	Sau 7 ngày uống mẫu
Chứng		83.54 ± 3.69	105.61 ± 5.93
Cao chiết cồn 45%	360	85.00 ± 6.34	107.60 ± 4.48
	720	83.15 ± 4.27	103.20 ± 5.48
Cao chiết cồn 96%	230	86.33 ± 7.73	100.27 ± 7.47
	460	80.61 ± 3.86	100.99 ± 6.05

Chuột được gây mê bằng đá CO₂, cố định trên bàn mổ, bơm rửa làm sạch máu và dịch trong thận bằng dung dịch NaCl 0.9%. Tách thận chuột và nghiền đồng thể trong dung dịch đệm phosphate (pH 7.4) theo tỉ lệ 1:2 (kl:tt) trong 2 phút ở 4°C. Ủ ở 37°C trong 1 giờ. Kết thúc phản ứng bằng acid trichloroacetic 15%, ly tâm 10,000 vòng trong 10 phút ở 4°C, lấy dịch trong để tiến hành định lượng MDA hay GSH [7].

- Xác định hàm lượng MDA

Lấy 50 µL dịch trong cho vào giếng, thêm 50 µL TBA 0.37%, ủ ở 90°C trong 40 phút, làm lạnh nhanh và đo mật độ quang ở bước sóng 532 nm. Hàm lượng MDA được tính theo đường chuẩn (y = 0.0058x + 0.0102; R² = 0.9956) trong đó, x là nồng độ MDA (µM); y là OD (mật độ quang). Hàm lượng MDA được biểu thị µM/mg protein [8].

- Xác định hàm lượng GSH

Lấy 10 µL dịch trong cho vào giếng, thêm 115 µL đệm PBS và 25 µl thuốc thử Ellman. Ủ trong tối 5 phút ở nhiệt độ phòng và sau đó tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng 412 nm. Hàm lượng được tính theo đường chuẩn (y = 0.1141x + 0.0717; R² = 0.991), x là nồng độ GSH (mM); y là OD. Hàm lượng GSH được biểu thị mM/mg protein [9].

- Phương pháp xác định hàm lượng protein

Nồng độ protein trong mẫu dịch đồng thể thận được xác định theo thử nghiệm Bradford. Phản ứng định lượng protein gồm: 1 ml Coomassie Brilliant Blue G + 96 µl H₂O + 4 µl dịch protein. Đo mật độ quang ở bước sóng 595 nm. Hàm lượng protein được tính dựa trên đường chuẩn BSA y = 40,247e^{4,653x}, trong đó x là OD; y là nồng độ BSA (µg/ml) [10].

2.5. Xử lý thống kê

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 hậu kiểm bằng Student Newman-Keuls test (phần mềm SigmaStat-3.5, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi p < 0.05.

3. KẾT QUẢ

3.1. Chọn cao chiết tiềm năng

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy các lô cho uống cao chiết còn lá Húng quế ở các liều tương đương với 1.25 g dược liệu và 2.5 g dược liệu sau 7 ngày có nồng độ glucose trong huyết tương các lô thử nghiệm có tăng so với trước khi uống mẫu ($p < 0.05$) tuy nhiên

không có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý tương ứng và vẫn nằm trong giới hạn bình thường, cho thấy cao chiết Húng quế không ảnh hưởng trên đường huyết lúc đói của chuột bình thường.

Bảng 3. Kết quả khảo sát tác dụng của các cao chiết lá Húng quế sau 7 ngày uống trên nồng độ glucose trong huyết tương của chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng streptozotocin

Lô thử nghiệm (n=10)	Liều uống (mg/kg)	Glucose (mg/dL)		Mức độ hạ glucose máu so với lô chứng bệnh lý (%)
		Trước uống mẫu	Sau 7 ngày uống mẫu	
Chứng sinh lý		87.40 ± 5.04	107.01 ± 5.42	-
Chứng bệnh lý	-	302.29 ± 10.82 ^{###} (245.88%)	286.78 ± 14.25 ^{###} (167.99%)	-
Glibenclamide	5	299.73 ± 11.50 ^{###} (242.96%)	116.49 ± 6.85 ^{***} (8.86%)	59.38
Cao chiết còn 45%	360	293.27 ± 6.24 ^{###} (235.57%)	210.39 ± 21.77 ^{**} (96.61%)	26.64
	720	298.96 ± 8.81 ^{###} (242.07%)	166.93 ± 8.79 ^{***} (55.99%)	41.79
Cao chiết còn 96%	230	296.48 ± 6.70 ^{###} (239.24%)	194.96 ± 11.59 ^{***} (82.19%)	32.02
	460	300.07 ± 17.51 ^{###} (243.35%)	218.82 ± 14.21 ^{***} (104.48%)	23.70

^{###} $p < 0.001$ so với lô chứng sinh lý; ^{*} $p < 0.05$ so với lô chứng bệnh lý, ^{***} $p < 0.001$ so với lô chứng bệnh lý; (...): Phần trăm tăng so với lô chứng sinh lý tương ứng.

Các chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng STZ (liều 170 mg/kg) có nồng độ glucose trong huyết tương sau 7 ngày tiêm đều tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý với mức tăng đạt trên 200% so với lô chứng sinh lý. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy nồng độ glucose trong huyết tương ở lô chứng bệnh lý sau 14 ngày tiêm STZ tăng 168% đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm. Ở chuột tiêm STZ và cho uống thuốc đối chiếu glibenclamide liều 5 mg/kg sau 7 ngày uống có nồng độ glucose trong huyết tương giảm 59.38%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và phục hồi về giá trị sinh lý. Ở

chuột tiêm STZ và cho uống cao chiết còn 45% (liều 360 mg/kg và 720 mg/kg) hoặc cao chiết còn 96% từ lá Húng quế (liều 230 mg/kg và 460 mg/kg) sau 7 ngày có nồng độ glucose trong huyết tương giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý, tuy nhiên chưa phục hồi về giá trị sinh lý. Tác dụng của các cao chiết từ lá Húng quế yếu hơn glibenclamide ($p < 0.001$). Nghiên cứu chưa ghi nhận có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê giữa 2 liều thử của các cao chiết cũng như giữa các cao chiết, tuy nhiên cao chiết còn 45% từ lá Húng quế ở liều thử 720 mg/kg thể hiện mức độ hạ đường huyết đạt 41.79%.

Bảng 4. Kết quả khảo sát tác dụng của các cao chiết lá Húng quế sau 7 ngày uống trên nồng độ creatinine trong huyết tương chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng streptozotocin

Nhóm	Lô thử nghiệm (n=10)	Liều uống (mg/kg)	Creatinine (mg/dL)	Mức độ hạ creatinin so với lô chứng bệnh lý (%)
Bình thường	Chứng sinh lý	-	0.301 ± 0.012	-
	Cao chiết còn 45%	720	0.353 ± 0.021	-
	Cao chiết còn 96%	460	0.303 ± 0.012	-
Tiêm STZ	Chứng bệnh lý	-	0.408 ± 0.029 [#]	-
	Glibenclamide	5	0.285 ± 0.013 [*]	30.06
	Cao chiết còn 45%	360	0.316 ± 0.022 [*]	22.39
		720	0.329 ± 0.014 [*]	19.33

Tiêm STZ	Cao chiết còn 96%	230	0.369 ± 0.030	9.51
		460	0.341 ± 0.031	16.38

#p <0.05 so với lô chứng sinh lý; *p <0.05 so với lô chứng bệnh lý

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy các lô cho uống cao chiết còn lá Húng quế sau 7 ngày có nồng độ creatinine trong huyết tương không khác biệt so với lô chứng sinh lý, chứng tỏ cao chiết Húng quế không ảnh hưởng trên chỉ số creatinine của chuột bình thường. Nồng độ creatinine trong huyết tương ở lô chứng bệnh lý sau 14 ngày tiêm STZ tăng 35.27%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Ở chuột tiêm STZ và cho uống glibenclamide liều 5 mg/kg sau 7 ngày uống có nồng độ creatinine trong huyết tương giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng

bệnh lý và phục hồi về giá trị sinh lý. Tương tự, chuột tiêm STZ và cho uống cao chiết còn 45% từ lá Húng quế ở 2 liều thử là 360 mg/kg và 720 mg/kg sau 7 ngày có nồng độ creatinine trong huyết tương giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và phục hồi về giá trị sinh lý. Tuy nhiên, lô chuột tiêm STZ và cho uống cao chiết còn 96% từ lá Húng quế ở 2 liều thử là 230 mg/kg và 460 mg/kg sau 7 ngày có nồng độ creatinine trong huyết tương không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý.

Bảng 5. Kết quả khảo sát tác dụng của các cao chiết lá Húng quế sau 7 ngày uống trên nồng độ BUN trong huyết tương chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng streptozotocin

Nhóm	Lô thử nghiệm (n=10)	Liều uống (mg/kg)	BUN (mg/dL)	Mức độ hạ BUN so với lô chứng bệnh lý (%)
Bình thường	Chứng sinh lý	-	22.64 ± 1.31	-
	Cao chiết còn 45%	720	23.72 ± 1.39	-
	Cao chiết còn 96%	460	20.74 ± 1.06	-
Tiêm STZ	Chứng bệnh lý	-	44.45 ± 3.14 [#]	-
	Glibenclamide	5	25.51 ± 1.21 [*]	42.61
	Cao chiết còn 45%	360	27.67 ± 3.33 [*]	37.75
		720	32.50 ± 4.71 [*]	26.88
	Cao chiết còn 96%	230	38.05 ± 4.41 [#]	14.39
		460	43.99 ± 8.71 [#]	1.02

#p <0.05 so với lô chứng sinh lý; *p <0.05 so với lô chứng bệnh lý

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy các lô cho uống cao chiết còn lá Húng quế sau 7 ngày có nồng độ BUN trong huyết tương không khác biệt so với lô chứng sinh lý, chứng tỏ cao chiết Húng quế không ảnh hưởng trên chỉ số BUN của chuột bình thường. Nồng độ BUN trong huyết tương ở lô chứng bệnh lý sau 14 ngày tiêm STZ tăng 96.29%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Ở chuột tiêm STZ và cho uống glibenclamide (liều 5 mg/kg) sau 7 ngày uống có nồng độ BUN trong huyết tương giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và phục hồi về giá trị sinh lý. Tương tự, chuột tiêm STZ và cho uống cao chiết còn 45% từ lá Húng quế ở 2 liều thử là 360 mg/kg và 720 mg/kg sau 7 ngày có nồng độ BUN trong huyết tương giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và phục hồi về giá trị sinh lý. Ở lô chuột tiêm STZ và cho uống cao chiết còn 96% từ lá Húng quế ở 2 liều thử là 230 mg/kg và 460 mg/kg sau 7 ngày có nồng độ BUN trong huyết tương không khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và vẫn tăng khác biệt đạt ý nghĩa

thống kê so với lô chứng sinh lý.

3.2. Tác dụng bảo vệ thận trước tổn thương oxy hóa của cao chiết tiềm năng

Từ các kết quả đánh giá trên các chỉ số sinh hóa máu, cao chiết còn 45% từ lá Húng quế thể hiện tác dụng hạ glucose máu, giảm nồng độ creatinine và BUN, được chọn là cao tiềm năng để thực hiện đánh giá tác dụng bảo vệ thận trước tổn thương oxy hóa ở chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng streptozotocin.

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy hàm lượng MDA trong thận ở lô chứng bệnh lý tăng 46.48%, đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý; chứng tỏ thận chuột bị tổn thương oxy hóa gây bởi streptozotocin. Hàm lượng MDA trong thận của chuột tiêm STZ và cho uống cao chiết còn 45% từ lá Húng quế (liều 360 mg/kg và 720 mg/kg) hoặc glibenclamide sau 7 ngày đều giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và không cho thấy sự khác biệt về mặt thống kê với lô chứng

sinh lý. Nghiên cứu chưa ghi nhận có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê giữa 2 liều thử của cao chiết cũng như giữa cao chiết với glibenclamide, tuy

nhiên cao chiết còn 45% từ lá Húng quế ở liều thử 720 mg/kg thể hiện mức độ giảm MDA điển hình hơn (26.23%).

Bảng 6. Kết quả khảo sát tác dụng của cao chiết còn 45% từ lá Húng quế sau 7 ngày uống trên hàm lượng MDA và GSH trong dịch đồng thể thận chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng streptozotocin

Nhóm	Lô thử nghiệm (n=6)	Liều uống (mg/kg)	Hàm lượng MDA ($\mu\text{M}/\text{mg protein}$)	Hàm lượng GSH (mM/mg protein)
Bình thường	Chứng sinh lý	-	4.05 \pm 0.31	1.88 \pm 0.19
Tiêm STZ	Chứng bệnh lý	-	5.93 \pm 0.37 [#]	1.52 \pm 0.23
	Glibenclamide	5	3.70 \pm 0.35 ^{**}	2.72 \pm 0.26 [*]
	Cao chiết còn 45%	360	3.93 \pm 0.50 ^{**}	2.92 \pm 0.41 [*]
		720	2.99 \pm 0.39 ^{***}	2.56 \pm 0.35 [*]

[#] $p < 0.05$ so với lô chứng sinh lý; ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$, ^{***} $p < 0.001$ so với lô chứng bệnh lý

Hàm lượng chất chống oxy hóa nội sinh GSH trong thận ở lô chứng bệnh lý giảm 19.12%, nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Hàm lượng GSH trong thận của lô chuột tiêm STZ và cho uống cao chiết còn 45% từ lá Húng quế (liều 360 mg/kg và 720 mg/kg) hoặc glibenclamide sau 7 ngày đều tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và không cho thấy sự khác biệt về mặt thống kê với lô chứng sinh lý.

4. BÀN LUẬN

Streptozotocin (STZ) là hợp chất glucosamine nitrosoarea, có cấu trúc tương tự như glucose và được vận chuyển vào tế bào beta tụy tạng bởi các protein vận chuyển glucose (GLUT2). Tại tế bào beta, STZ phá hủy tế bào bằng cách gây sự alkyl hóa DNA, protein, sản sinh nitric oxid quá độ dẫn đến sự tổn thương oxy hóa tế bào beta, làm giảm tiết insulin và gây tăng glucose máu [11]. STZ không chỉ gây tổn thương tế bào beta tụy tạng mà còn gây tổn thương oxy hóa các tế bào khác do gây sản sinh các gốc tự do oxy và gốc tự do nitơ, gây rối loạn chức năng ty thể (mitochondrial dysfunction) và gây peroxy hóa lipid màng tế bào [11]. Điều này giải thích độc tính tương đối của STZ đến tế bào gan, thận khi thuốc được chuyển hóa và đào thải. MDA là sản phẩm của quá trình peroxy hóa lipid tế bào, được xem như là một biomarker chính của tổn thương tế bào do stress oxy hóa [8]. Hàm lượng MDA trong gan hay thận càng cao chứng tỏ tế bào bị tổn thương peroxy hóa lipid càng nhiều. GSH là một chất chống oxy hóa nội sinh, một chất kháng độc và là một cofactor thiết yếu cho các enzym chống oxy hóa và được xem là một chất chỉ thị có độ nhạy cao để đánh giá chức năng và sự sống còn của tế bào trước stress oxy hóa. STZ gây

ức chế enzym glutathion reductase trong ty thể do đó làm giảm GSH [9]. Nồng độ creatinine và BUN là chỉ tiêu đánh giá mức độ tổn thương thận. Creatinine là sản phẩm của sự thoái hóa creatine trong các cơ, được đào thải qua thận và là chỉ số phản ánh chính xác chức năng của thận. Xét nghiệm BUN cung cấp những thông tin quan trọng nhằm hỗ trợ đánh giá tình trạng hoạt động của gan và thận trong cơ thể. Creatinine và BUN tăng là dấu hiệu cho thấy thận bị tổn thương và giảm chức năng. Kết quả nghiên cứu cho thấy cao chiết còn 45% từ lá Húng quế thể hiện tác dụng hạ glucose máu, giảm nồng độ creatinine và BUN trong huyết tương chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng streptozotocin. Việc cho uống cao chiết còn 45% từ lá Húng quế (liều 360 mg/kg và 720 mg/kg) hoặc glibenclamide sau 7 ngày còn thể hiện tác dụng bảo vệ thận trước tổn thương oxy hóa ở chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng streptozotocin, thông qua việc làm giảm MDA và tăng GSH trong dịch đồng thể thận.

Lá cây Húng quế thể hiện các hoạt tính điển hình hơn các bộ phận dùng khác của cây. Tổng quan nghiên cứu gần đây cho thấy hơn 200 hợp chất có hoạt tính sinh học được phân lập từ phần trên mặt đất của cây Húng quế, trong đó thành phần tinh dầu (eugenol, methyl chavicol, linalool, α -terpineol, *trans*-anethol, *cis*-anethol) từ Húng quế có hoạt tính chống oxy hóa, ức chế α -amylase, ức chế α -glucosidase và lipase điển hình [12]. Nadeem et al. (2022) chứng minh cao chiết ethanol từ lá cây Húng quế thể hiện hoạt tính chống oxy hóa điển hình qua các thử nghiệm DPPH, FRAP và H_2O_2 [13]. Phân tích LC-ESI-MS/MS cao chiết ethanol lá Húng quế đã xác định sự hiện diện các hợp chất có tác dụng kiểm soát đường huyết, ức chế α -glucosidase

và ngăn ngừa tổn thương do stress oxy hóa như: acid rosmarinic, acid chlorogenic, acid vanillic, epicatechin, catechin, rutin, acid cinnamic, acid ellagic, acid benzoic, liquiritigenin, umbelliferone, acid ferroyl-tartaric, acid stearic, salvigenin, medioresinol, apigenin, rutin, luteolin, kaempferol và gallo-catechin [13].

Tác dụng bảo vệ thận của cao chiết lá cây Húng quế cũng như tinh dầu Húng quế đã chứng minh trên chuột cống trắng bị đái tháo đường gây bởi STZ [5, 14]. Cao chiết flavonoid (thành phần chính là quercetin, rutin, acid rosmarinic, acid ellagic) từ cây Húng quế đã được chứng minh có tác dụng bảo vệ gan-thận ở chuột bị đái tháo đường [15]. Tác dụng bảo vệ thận của cao chiết lá cây Húng quế cũng như thành phần tinh dầu đã được chứng minh qua việc làm giảm sản phẩm cuối của glycate hóa (Advanced Glycation End Products) có liên quan đến biến chứng mạch máu trên chuột cống trắng bị đái tháo đường gây bởi STZ [4]. Điều này cho thấy tiềm năng dược dụng của lá Húng quế và gợi mở những nghiên cứu theo hướng ứng dụng.

Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu sâu hơn để làm sáng tỏ cơ chế sinh học và hợp chất quyết định tác dụng của cao chiết từ lá Húng quế.

5. KẾT LUẬN

Cao chiết cồn 45% từ lá Húng quế ở liều uống 360 mg/kg và 720 mg/kg có tác dụng hạ đường huyết và bảo vệ thận chuột bị gây đái tháo đường thực nghiệm bằng streptozotocin, thể hiện qua tác dụng làm giảm nồng độ glucose, creatinine và BUN trong huyết tương; giảm hàm lượng MDA (marker của tổn thương oxy hóa) và tăng hàm lượng chất chống oxy hóa nội sinh GSH trong dịch đồng thể thận. Kết quả nghiên cứu sẽ là tiền đề khoa học cho những nghiên cứu ứng dụng lá cây Húng quế.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng đã hỗ trợ kinh phí cho việc thực hiện nhiệm vụ nghiên cứu khoa học cấp Trường năm học 2022-2023 với mã số đề tài GVTC16.05.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N. Vodošek Hojs, S. Bevc, R. Ekart, R. Hojs, "Oxidative Stress Markers in Chronic Kidney Disease with Emphasis on Diabetic Nephropathy", *Antioxidants*, vol. 9, 925, 22 pages, 2020.
- [2] Viện Dược liệu, "Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 1". Hà Nội: NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, trang 1011, 2004.
- [3] B. Purushothaman, R.P. Srinivasan, P. Suganthi, B. Ranganathan, J. Gimbun, K. Shanmugam, "A comprehensive review on *Ocimum basilicum*", *Journal of Natural Remedies*, vol. 18, pp. 71–85, 2018.
- [4] S. S. Widjaja, Rusdiana, M. Savira, "Glucose Lowering Effect of Basil Leaves in Diabetic Rats", *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, vol. 7, no. 9, pp. 1415–1417, 2019.
- [5] M. S. Othman, A. M. Khaled, A. H. Al-Bagawi, M. A. Fareid, R. A. Ghany, O. A. Habotta, A. E. Abdel Moneim, "Hepatorenal protective efficacy of flavonoids from *Ocimum basilicum* extract in diabetic albino rats: A focus on hypoglycemic, antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic activities", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 144, 112287, 2021.
- [6] Bộ Y tế, "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu" theo

Quyết định 141/QĐ-K2ĐT, 27/10/2015.

- [7] Dao Tran Mong, Nguyen Thi Thu Huong, "Effects of Aqueous and Ethanol Extracts from *Vernonia amygdalina* Leaves on Blood Glucose Level and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice", *Journal of Medicinal Materials*, vol. 24, no. 3, pp. 168-174, 2019.
- [8] J. A. Buege & S. D. Aust, "Microsomal lipid peroxidation", *Methods in Enzymology*, vol. 52, pp. 302-310, 1978.
- [9] J. Sedlak & R. H. Lindsay, "Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent", *Analytical Biochemistry*, vol. 25, pp. 192–205, 1968.
- [10] C. L. Kielkopf, W. Bauer, I. L. Urbatsch, "Bradford Assay for Determining Protein Concentration", *Cold Spring Harbor Protocols*, vol. 2020, no. 4:102269, 2020.
- [11] H. Raza & A. John, "Streptozotocin-Induced Cytotoxicity, Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Human Hepatoma HepG2 Cells", *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 13, no. 5, pp. 5751-5767, 2012.
- [12] A. Qasem, H. Assaggaf, H. N. Mrabti, F. Minshawi, B. S. Rajab, A. A. Attar, R. A.

Alyamani, M. Hamed, N. N. Mrabti, A. El Baaboua, N. El Omari, M. M. Alshahrani, A. A. Al Awadh, R. A. Sheikh, L. C. Ming, K. W. Goh, A. Bouyahya, "Determination of Chemical Composition and Investigation of Biological Activities of *Ocimum basilicum* L.", *Molecules*, vol. 28, no. 2, p. 614, 2023.

[13] H. R. Nadeem, S. Akhtar, P. Sestili, T. Ismail, S. Neugart, M. Qamar, T. Esatbeyoglu, "Toxicity, Antioxidant Activity, and Phytochemicals of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves Cultivated in

Southern Punjab, Pakistan", *Foods*, vol.11, pp. 1239, 2022.

[14] D. A. Almalki, "Renoprotective Effect of *Ocimum basilicum* (Basil) Against Diabetes-induced Renal Affection in Albino Rats", *Materia Socio Medica*, vol. 3, no. 4, pp. 236-240, 2019.

[15] L. Al-Subhi, "Two cultivars of *Ocimum basilicum* leaves extracts attenuate streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats", *Pakistan Journal of Biological Sciences*, vol. 23, pp. 1010–1017, 2020.

Renal protective effect of *Ocimum basilicum* Leaf extract in diabetic mice

Nguyen Thi Thu Huong, Tran Thi Thu Hang,
Nguyen Thi Ngoc Yen and Tran Thi Duoc

ABSTRACT

Background: In Vietnam, *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) is used as an ornamental herb, a culinary herb (vegetable) but there is very little published research on its efficacy in diabetes management. **Objective:** Determining the potential extract which has ameliorating effect on plasma creatinine, BUN (Blood urea nitrogen) levels, and renal malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) contents in diabetic mice. **Methods:** *O. basilicum* leaf extracts (45% ethanol extract and 96% ethanol extract) were orally administered at the doses equivalent to 1.25g and 2.5 g raw materials/kg in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice. Plasma glucose, creatinine and BUN levels were determined by commercial kits. The contents of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in mouse kidney homogenates were measured by thiobarbituric acid assay and Ellman's reagent, respectively. **Results:** Seven-day oral administration of the 45% ethanol *O. basilicum* leaf extract (360 mg/kg and 720 mg/kg) significantly attenuated plasma glucose, creatinine, and BUN levels in STZ-injected mice. The 96% ethanol *O. basilicum* leaf extract (230 mg/kg and 460 mg/kg) decreased plasma glucose but did not change creatinine and BUN levels. The 45% ethanol *O. basilicum* leaf extract attenuated renal MDA content and elevated renal GSH content. **Conclusions:** The 45% ethanol *O. basilicum* leaf extract is selected as potential extract which significantly possessed hypoglycemic effect and renal protective effect against streptozotocin-induced oxidative stress.

Keywords: *Ocimum basilicum* L. leaves, streptozotocin, creatinine, BUN, oxidative stress

Received: 15/09/2023

Revised: 13/10/2023

Accepted for publication: 17/10/2023