

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG
CHỐNG ĐÁI THÁO ĐƯỜNG CỦA
LÁ CÂY XẤU HỔ (*Mimosa Pudica* L.)
TRÊN THỰC NGHIỆM**

Chuyên ngành: Dược lý – Dược lâm sàng

Mã số: 9720205

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

HÀ NỘI - 2024

CÔNG TRÌNH HOÀN THÀNH TẠI:

- Viện Dược liệu
- Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc Gia Hà Nội
- Đại học Gachon (College of Pharmacy, Gachon University)

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS TS. Bùi Thanh Tùng
2. PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng

Phản biện 1:.....

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Viện tổ chức tại Viện Dược liệu, vào hồi ...giờ, ngày ... tháng ... năm 2023.

Có thể tìm đọc Luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Hà Nội.
- Thư viện Viện Dược liệu.

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Tính cấp thiết của luận án

Cây Xấu hổ là một dược liệu mọc hoang ở nhiều vùng của nước ta và đã được chứng minh sơ bộ là có khả năng làm giảm đường huyết, và có tác dụng trong điều trị bệnh đái tháo đường. Tuy nhiên, đến nay chưa có nghiên cứu toàn diện về tác dụng và cơ chế tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường của cây Xấu hổ. Các kết quả nghiên cứu của luận án sẽ góp phần vào việc phát triển nguồn dược liệu Việt và cung cấp cơ sở dữ liệu khoa học về tác dụng dược lý của cây Xấu hổ có tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường, từ đó đề xuất khả năng ứng dụng theo hướng làm thuốc điều trị bệnh đái tháo đường của cây Xấu hổ.

Với mong muốn nghiên cứu làm sáng tỏ tác dụng và cơ chế tác dụng hạ đường huyết của phân đoạn và các hợp chất của cây Xấu hổ (*Mimosa pudica* Linn.) trên bệnh lý đái tháo đường, đề tài “Nghiên cứu tác dụng chống đái tháo đường của lá cây Xấu hổ (*Mimosa pudica* L.) trên thực nghiệm.” đã được thực hiện.

2. Mục tiêu và nội dung của Luận án

2.1. Mục tiêu của Luận án

1. Đánh giá tác dụng hạ đường huyết và một số tác dụng liên quan đến đái tháo đường của cao chiết lá cây Xấu hổ trên thực nghiệm.

2. Đánh giá cơ chế tác dụng chống đái tháo đường của cao chiết và hai hợp chất chiết xuất từ lá cây Xấu hổ *in vitro* và *in silico*.

2.2. Nội dung của Luận án

a. Nghiên cứu về tác dụng hạ đường huyết của cao chiết và một số hợp chất chiết xuất từ lá cây Xấu hổ trên thực nghiệm

- Nghiên cứu khả năng hạ glucose huyết của cao toàn phần và các phân đoạn cao chiết của cây Xấu hổ bằng phương pháp dung nạp glucose đường uống (OGTT) trên chuột bình thường, từ đó làm cơ sở lựa chọn phân đoạn cho tác dụng tốt nhất để tiến hành phân lập hợp chất chính của phân đoạn này.

- Nghiên cứu tác dụng hạ glucose huyết và cải thiện chức năng thận của cao chiết lá cây Xấu hổ phân đoạn ethyl acetat trên mô hình chuột bị gây ĐTĐ kiểu típ 2 do chế độ ăn giàu chất béo và streptozotocin: Đánh giá các chỉ số: glucose huyết; xác định các nồng độ triglycerid; cholesterol toàn phần, LDL, HDL trong máu và creatin huyết thanh.

b. Nghiên cứu về cơ chế tác dụng hạ đường huyết và cải thiện tổn thương thận của cao chiết và hai hoạt chất trên thực nghiệm

- Nghiên cứu cơ chế hạ đường huyết của phân đoạn ethyl acetat trên mô hình chuột bị gây ĐTĐ kiểu típ 2 do chế độ ăn giàu chất béo và streptozotocin

+ Đánh giá tác dụng cải thiện biến chứng thận trên chuột bị ĐTĐ típ 2

+ Định lượng creatinin niệu, microalbumin niệu, hệ số thanh thải creatinin

- Đánh giá tác dụng ức chế enzym α -glucosidase và PTP 1B *in vitro*; *in silico* của hợp chất chính phân lập được.

- Nghiên cứu cơ chế tác dụng của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất trong việc bảo vệ tế bào khi nồng độ glucose tăng cao: *in vitro* : Đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào lên tỷ lệ tăng sinh của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất trên mô hình gây độc tế bào bằng MGO theo phương pháp MTT; Đánh giá tác dụng ức chế sự hình thành AGEs do MGO gây ra; Đánh giá tác dụng phá vỡ liên kết MGO-AGEs;

3. Những đóng góp mới của Luận án

3.1. Về tác dụng dược lý: tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết lá cây Xấu hổ

- Cao chiết lá cây Xấu hổ phân đoạn EtOAc (MP-E, với mức liều 50 và 100 mg/kg) có tác dụng hạ glucose huyết trên mô hình OGTT.

- Về tác dụng của phân đoạn EtOAc của cây Xấu hổ lên chuột bị gây ĐTĐ típ 2 bởi chế độ ăn giàu béo và STZ. Sau 60 ngày điều trị, liều 50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày phân đoạn EtOAc của cây Xấu hổ có tác dụng: làm giảm nồng độ glucose huyết đáng kể, cải thiện các chỉ số lipid máu, giúp cải thiện các chỉ số liên quan chức năng thận, giảm tình trạng viêm, giảm stress oxy hóa, và cải thiện đáng kể cấu trúc mô bệnh học thận trên mô hình chuột bị gây ĐTĐ típ 2 bởi STZ và chế độ ăn giàu béo.

3.2. Về cơ chế tác dụng hạ glucose huyết, ngăn ngừa biến chứng thận của cao chiết lá cây Xấu hổ

- Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá tác dụng ức chế các enzym liên quan đến cơ chế bệnh đái tháo đường của các hợp chất acid protocatechuic và acid syringic từ cây Xấu hổ. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả hai hợp chất có hoạt tính ức chế mạnh α -glucosidase và PTP-1B, là đích quan trọng trong điều trị bệnh đái tháo đường.

- Tác dụng bảo vệ tế bào tránh tác động của MGO khi glucose tăng cao, tác dụng ức chế hình thành các AGE từ MGO và tác dụng phá vỡ MGO-AGEs (*MGO-AGEs breaker*) của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất cũng được làm sáng tỏ thông qua các thử nghiệm *in vitro*.

- Đề xuất cơ chế tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết lá cây Xấu hổ và phân đoạn EtOAc có thể thông qua cơ chế ức chế enzym α -glucosidase, ức chế PTP-1B; giảm stress oxy hóa: giảm nồng độ MDA và tăng nồng độ một số các marker chống oxy hóa (tại mô thận chuột thí nghiệm) như SOD; CAT; GPx; ngăn ngừa biến chứng thận của chuột mắc ĐTĐ típ 2 thực nghiệm; giảm tình trạng viêm trên mô thận chuột cũng được cải thiện và biểu hiện rõ bằng các số liệu giảm của các chất đánh dấu dấu hiệu viêm như TNF- α và IL-1 β .

3.3. Về phương pháp

Đóng góp thêm về mô hình nghiên cứu *in silico*, *in vitro* và *in vivo* để đánh giá tác dụng dược lý theo hướng điều trị bệnh đái tháo đường:

Nghiên cứu triển khai được mô hình docking phân tử ức chế enzym α -glucosidase và PTP-1B;

Nghiên cứu triển khai được các mô hình *in vitro* liên quan đến MGO gây độc tế bào HUVECs gây hình thành AGEs

Nghiên cứu triển khai được mô hình chuột bị gây đái tháo đường típ 2 bằng STZ liều thấp kết hợp chế độ ăn giàu chất béo theo protocol của các tài liệu tham khảo.

4. Ý nghĩa của Luận án

4.1. Ý nghĩa khoa học:

- Tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết lá cây Xấu hổ phân đoạn EtOAc (MP-E) đã được khẳng định trên mô hình *in vivo*. Ngoài ra, tác dụng ngăn ngừa biến chứng suy thận, ngăn ngừa stress oxy hóa của cao chiết MP-E cũng được chứng minh thông qua các chỉ số (tại mô thận chuột thí nghiệm): giảm nồng độ MDA; creatinin niệu, microalbumin niệu, tăng hệ số thanh thải creatinin; tăng nồng độ một số các marker chống oxy hóa như SOD; CAT; GPx; giảm nồng độ của các chất đánh dấu dấu hiệu viêm như TNF- α và IL-1 β .

- Nghiên cứu đã chứng minh được cơ chế hạ đường huyết của cao chiết lá cây Xấu hổ và phân đoạn EtOAc có thể thông qua cơ chế ức chế enzym α -glucosidase, ức chế PTP-1B; các thử nghiệm *in vivo* và thử nghiệm *in silico* trên hai hoạt chất xuất được từ phân đoạn EtOAc (MP-E) là acid procatechuic (AP) và acid syringic (AS) về tác dụng ức chế enzym α -glucosidase, ức chế PTP-1B góp phần giải thích cơ chế này.

- Nghiên cứu đã chứng minh được tác dụng bảo vệ tế bào khi nồng độ đường tăng cao; tác dụng ngăn hình thành các AGE từ MGO; tác dụng phá vỡ MGO-AGEs của phân đoạn EtOAc (MP-E) và acid procatechuic (AP) và acid syringic (AS) ở các mức nồng độ 25 và 50 μ g/mL qua thử nghiệm *in vitro*.

4.2. Ý nghĩa thực tiễn:

Gợi ý hướng phát triển sản phẩm thuốc điều trị ĐTĐ típ 2 từ các hợp chất tách chiết được từ phân đoạn cao có tác dụng hạ glucose huyết tốt nhất-phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ (*Mimosa pudica* L.).

5. Cấu trúc của luận án

Luận án có 121 trang, gồm 4 chương, 13 bảng, 31 hình, 205 tài liệu tham khảo và 4 phụ lục. Các phần chính trong luận án: Đặt vấn đề (2 trang), Chương 1. Tổng quan (36 trang); Chương 2: Nguyên vật liệu, trang thiết bị và phương pháp nghiên

cứu (27 trang), Chương 3: Kết quả nghiên cứu (31 trang); Chương 4: Bàn luận (21 trang); Kết luận (3 trang). Kiến nghị (1 trang).

B. NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN:

Chương 1: TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về bệnh đái tháo đường

Trình bày về định nghĩa, phân loại, cơ chế bệnh sinh bệnh đái tháo đường. Một số đích phân tử trong điều trị đái tháo đường típ 2; Các biên chứng của bệnh ĐTĐ; Các nhóm thuốc dùng trong điều trị ĐTĐ; Một số mô hình gây ĐTĐ típ 2 thực nghiệm trên động vật; Tổng quan về pp nghiên cứu *in silico*.

1.2. Tổng quan về cây Xấu hổ (*Mimosa Pudica* L.)

Đã tổng hợp và trình bày một cách hệ thống các kết quả nghiên cứu từ trước đến nay về vị trí phân loại; đặc điểm thực vật và phân bố; thành phần hóa học và tác dụng dược lý của cây Xấu hổ (*Mimosa Pudica* L.). Cách sử dụng theo kinh nghiệm dân gian và các nghiên cứu về tác dụng dược lý của cây Xấu hổ, đặc biệt là các nghiên cứu về tác dụng hạ glucose huyết của của cây Xấu hổ trên thế giới và ở Việt Nam.

Chương 2: NGUYÊN VẬT LIỆU, TRANG THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên, vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu nghiên cứu

- Dược liệu nghiên cứu là lá của cây Xấu hổ (*Mimosa pudica* L.) được thu hái tại Nam Định, Việt Nam vào tháng 12/2019 và được xác định tên khoa học bởi **PGS.TS Phạm Thanh Huyền** (Khoa Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu), sau đó sấy khô và đo độ ẩm. Lưu mẫu tại Khoa Tài nguyên, Viện dược liệu (số tiêu bản: DL-251219)

- Cao chiết ethanol 80% (MP);
- Phân đoạn cao chiết EtOAc (**MP-E**); n- Hexan (**MP-H**); Butanol (**MP-B**).
- Hai hợp chất chiết tách được từ phân đoạn MP-E: **HC1**; **HC2**.
- **HC 1** (acid protocatechuic)- **AP**.
- **HC 2** (acid syringic)- **AS**.

Các cao chiết, phân đoạn cao chiết, các hợp chất dùng cho thử nghiệm được chiết xuất phân lập tại Khoa Hóa Thực vật Viện Dược liệu.

2.1.2. Thuốc thử, hóa chất, dung môi

2.2. Máy móc, trang thiết bị

Dược nêu chi tiết trong luận án

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Luận án sử dụng các phương pháp nghiên cứu *in vivo*; *in vitro*; *in silico*, là những phương pháp nghiên cứu thường quy phổ biến hiện nay và tiên tiến trên thế giới, có độ tin cậy cao.

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của cao toàn phần (MP) và các cao phân đoạn theo phương pháp dung nạp glucose đường uống (OGTT) trên chuột bình thường

Bảng 3.1. Kết quả thử nghiệm dung nạp glucose đường uống với cao toàn phần và các phân đoạn cao chiết lá cây Xấu hổ

Lô chuột	Nồng độ glucose máu (mmol/L)		
	0 phút	60 phút	120 phút
Chứng trắng	7,78±0,95	8,98± 0,95	9,04±0,56
Gliclazid 5 mg/kg	7,77±0,59	10,36±0,93	7,76±0,45 **
Cao Ethanol 100 mg/kg	7,54±2,12	11,46±1,64	7,50±1,16 **
Cao n-hexan 100 mg/kg	7,50±2,87	11,76±1,23	8,70±1,73
Cao EtOAc 100 mg/kg	7,43±0,97	11,21±1,71	6,90±0,97 **
Cao BuOH 100 mg/kg	7,96±3,11	11,54±1,42	7,70±1,64

**Ghi chú*: nồng độ glucose máu được biểu thị dưới dạng TB±SD, *: $p < 0,05$, **: $p < 0,001$ khi so với nhóm chứng trắng tại cùng thời điểm.

Kết quả cho thấy phân đoạn EtOAc có tiềm năng hạ glucose máu tốt hơn so với các phân đoạn khác, nên được lựa chọn để tiến hành các thử nghiệm tiếp theo.

Nghiệm pháp dung nạp glucose đường uống với phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ

Tiến hành thử nghiệm OGTT với phân đoạn EtOAc liều lần lượt là 50 mg/kg, 100 mg/kg để khẳng định tác dụng hạ glucose huyết của phân đoạn cao chiết EtOAc được kết quả như bảng 3.2 sau:

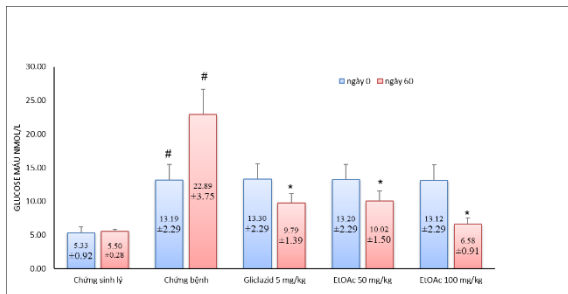
Bảng 3.2. Kết quả thử nghiệm dung nạp glucose đường uống đối với phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ

Lô chuột	Nồng độ glucose máu (mmol/L)		
	0 phút	60 phút	120 phút
Chứng trắng	7,84±0,88	10,88±0,88	9,17±0,57
Gliclazid 5mg/kg	7,74±0,49	10,45±1,01	8,40±0,68*
Cao EtOAc 50 mg/kg	8,72±3,01	10,67±1,66	7,30±1,34**
Cao EtOAc 100mg/kg	7,43±0,97	11,20±1,71	6,90±0,97**

**Ghi chú:* nồng độ glucose máu được biểu thị dưới dạng TB±SD, *: p<0,05; **: p<0,001 khi so sánh với nhóm chứng trắng ở cùng thời điểm

Kết quả đánh giá tác dụng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ trên mô hình chuột bị gây ĐTD típ 2 do chế độ ăn giàu chất béo và streptozotocin.

3.1.1. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ glucose máu



Hình 3.1. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ glucose máu ở chuột

**Ghi chú:* nồng độ glucose máu được biểu thị dưới dạng TB±SD, #: khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với nhóm chứng sinh lý (p<0,05), *: khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với nhóm chứng bệnh (p < 0,05).

Nồng độ glucose máu của nhóm chuột được điều trị với phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ liều 50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày thấp hơn đáng kể với tỉ lệ lần lượt là 56,3% và 71,3% (p<0,05) so với nhóm chứng bệnh lý.

3.1.2. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ lipid máu

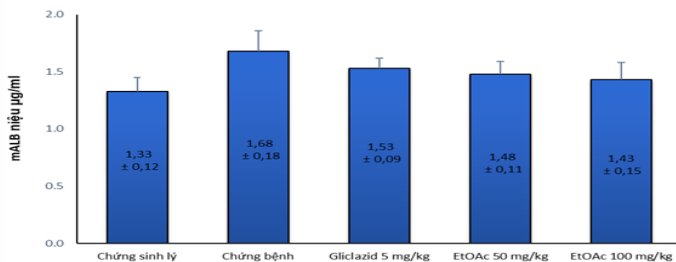
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ lipid máu ngày thứ 60

Lô chuột	Cholesterol TP	TG	HDL – C	LDL – C
	mmol/ L			
Chứng sinh lý	3,90 ± 0,26	1,21 ± 0,30	3,05±0,34	1,10±0,23
Chứng bệnh	4,65±0,72#	1,55±0,29#	2,20 ±0,35#	1,38±0,87#
Gliclazid 5 mg/kg	4,42±1,01*	1,36±0,56*	2,70±0,59*	0,96±0,21*
Cao EtOAc 50mg/kg	4,63±0,56	1,53±0,39	2,43±0,53*	1,33±0,19
Cao EtOAc 100mg/kg	4,36±1,51*	1,40±0,84*	2,67±0,29*	0,89±0,15*

**Ghi chú:* Các nồng độ được biểu thị dưới dạng TB±SD, #: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý (p<0,05), *: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh (p< 0,05).

Kết quả chỉ ra phân đoạn EtOAc của cây Xấu hổ với liều 100 mg/kg/ ngày có tác dụng làm giảm nồng độ cholesterol máu toàn phần, triglycerid máu, LDL-C và tăng nồng độ HDL-C trên chuột nhất trắng được gây ĐTĐ típ 2 do STZ.

3.1.2.1. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ lên microalbumin niệu ngày thứ 60 được thể hiện qua đồ thị dưới đây:



Hình 3.2 Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ lên microalbumin niệu ngày thứ 60

3.1.2.2. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ creatinin máu ngày thứ 60

3.1.2.3. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ creatinin nước tiểu ngày thứ 60

3.1.2.4. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên hệ số thanh thải creatinin ngày thứ 60

Các thông số cho mục 3.1.2.2; 3.1.2.3; 3.1.2.4. được thể hiện ở bảng sau:

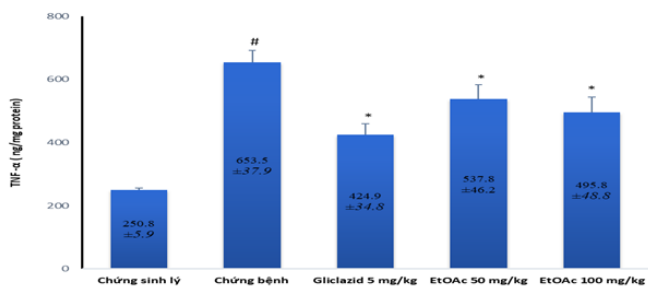
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ creatinin máu, creatinin nước tiểu và hệ số thanh thải creatinin ngày thứ 60.

Lô chuột	Creatinin máu	Creatinin nước tiểu	Hệ số thanh thải creatinin
	µmol/ L	µmol/ L	ml/phút
Chứng sinh lý	30,71 ± 2,55	827,50 ± 34,80	87,25 ± 5,70
Chứng bệnh	38,83 ± 4,54 #	486,40 ± 41,70 #	31,14 ± 4,60 #
Gliclazid 5 mg/kg	33,61 ± 3,29 *	786,80 ± 54,60 *	57,38 ± 5,20 *
Cao EtOAc 50 mg/kg	31,00 ± 1,42 *	537,80 ± 46,20 *	46,90 ± 4,20 *
Cao EtOAc 100 mg/kg	31,69 ± 2,76 *	601,70 ± 38,80 *	53,60 ± 3,80 *

Phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ liều 50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày có tác dụng cải thiện biến chứng thận do ĐTĐ típ 2 trên chuột sau 60 ngày điều trị. Cụ thể: giảm microalbumin niệu; giảm creatinin máu; tăng creatinin

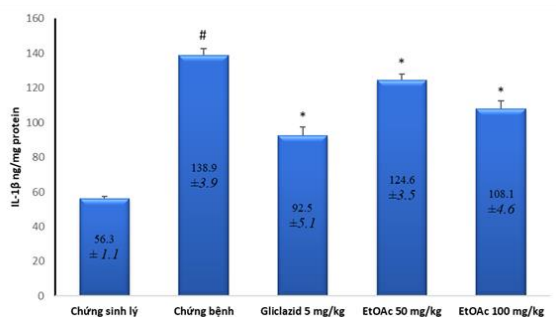
nước tiểu và tăng hệ số thanh thải creatinin ở chuột bị gây ĐTĐ típ 2 do STZ và chế độ ăn giàu béo.

3.1.2.5. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên tình trạng viêm ở mô thận chuột ngày thứ 60



Hình 3.3. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ TNF- α trên mô thận chuột ngày thứ 60

**Ghi chú:* Kết quả được trình bày dưới dạng TB \pm SD, n=10, #: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý (p<0,05), *: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh (p<0,05).

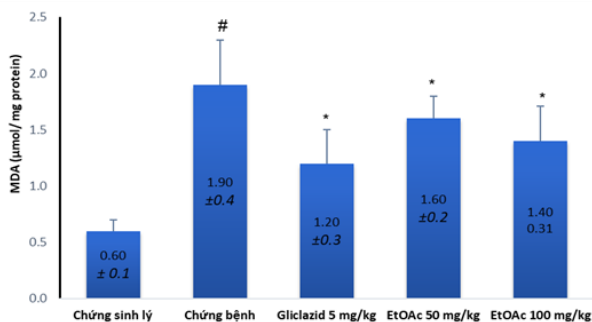


Hình 3.4. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ IL-1 β trên mô thận chuột ngày thứ 60

**Ghi chú:* Kết quả được trình bày dưới dạng TB \pm SD, n=10, #: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý (p<0,05), *: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh (p<0,05).

Như vậy phân đoạn EtOAc cao chiết lá của cây Xấu hổ 50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày có tác dụng giảm nồng độ TNF- α và IL-1 β (các marker viêm) giảm tình trạng viêm ở mô thận chuột bị gây ĐTĐ típ 2 do STZ.

3.1.2.6. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên quá trình stress oxy hóa ở chuột ngày thứ 60

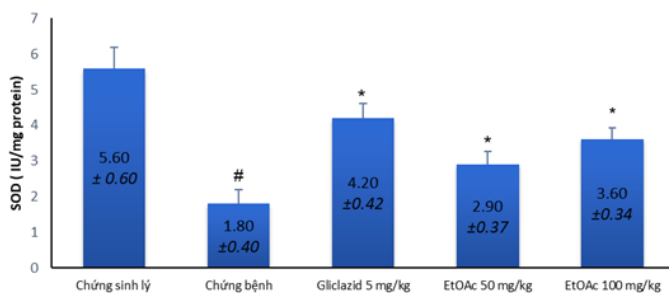


Hình 3.5. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên quá trình peroxy hóa lipid ngày thứ 60

**Ghi chú:* Kết quả được trình bày dưới dạng TB±SD, n=10, #: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý (p<0,05), *: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh (p<0,05).

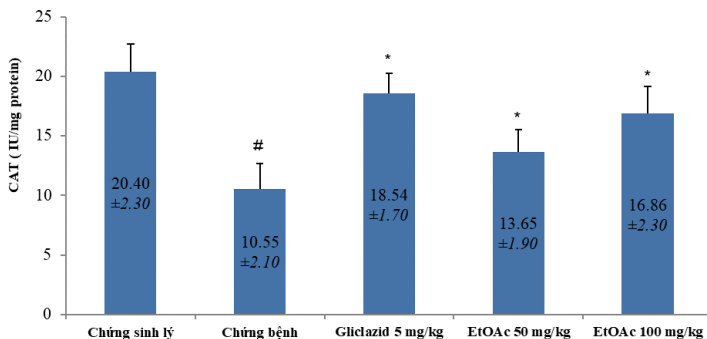
Như vậy phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ liều 50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày có tác dụng giảm nồng độ MDA- giảm stress oxy hóa trên mô thận ở chuột bị gây ĐTĐ típ 2 bởi STZ.

Sau 60 ngày điều trị với cao chiết lá cây Xấu hổ phân đoạn EtOAc nồng độ các enzym chống oxy hóa tìm thấy trong mô thận chuột: SOD; CAT và GPx đã tăng đáng kể khi so sánh với nhóm chuột bệnh lý. Được thể hiện ở hình 3.6; 3.7 và 3.8.



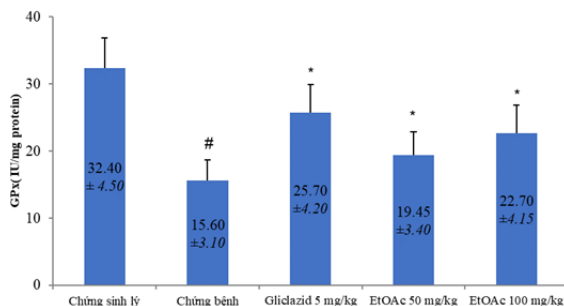
Hình 3.6. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ SOD ngày thứ 60

**Ghi chú:* Kết quả được trình bày dưới dạng TB±SD, n=10, #: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý (p<0,05), *: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh (p<0,05).



Hình 3.7. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ CAT ngày thứ 60

**Ghi chú:* Kết quả được trình bày dưới dạng TB±SD, n=10, #: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý ($p < 0,05$), *: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh ($p < 0,05$).



Hình 3.8. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ lên nồng độ GPx ngày thứ 60

**Ghi chú:* Kết quả được trình bày dưới dạng TB±SD, n=10, #: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý ($p < 0,05$), *: khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng bệnh ($p < 0,05$).

3.1.2.7. Ảnh hưởng của phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ lên mô bệnh học thận của chuột ngày thứ 60

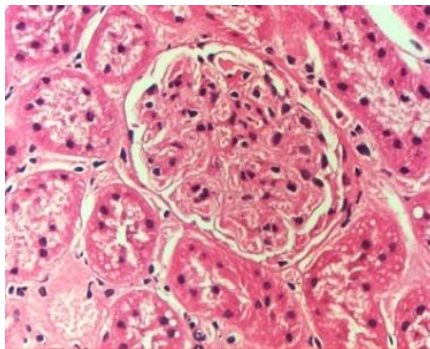
Những thay đổi mô học của thận được quan sát dưới kính hiển vi. Quan sát mô học thận của chuột chứng sinh lý bằng cách nhuộm hematoxylin-eosin (HE) cho thấy độ dày và kết cấu thành mao mạch cầu thận bình thường. Ngoài ra, không quan sát thấy hiện tượng giãn nở trung bì, tăng tế bào trung mô, thoái hóa kính hoặc xuất hiện các tế bào viêm.

So với nhóm đối chứng sinh lý, các mô thận của chuột bị bệnh thận do đái tháo đường cho thấy tổn thương thận đáng kể, bao gồm thoái hóa kính ở cầu thận,

màng đáy dày, thoái hóa mỡ ở ống thận, suy giảm các tế bào nội mô và thâm nhiễm tế bào viêm. Tuy nhiên, các nhóm chuột được điều trị bằng phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ liều 50 mg/kg/ ngày và 100 mg/kg/ ngày đã cải thiện các tổn thương mô bệnh học thận: các tế bào nội mô phát triển gần bình thường, các thâm nhiễm tế bào viêm ít hơn, cầu thận giảm thoái hóa kính, ống thận ít thoái hóa mỡ hơn. Những kết quả trên chỉ ra rằng phân đoạn cao chiết EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ liều 50 mg/kg/ ngày và 100 mg/kg/ ngày đã ngăn ngừa tổn thương thận một cách hiệu quả và cải thiện chức năng thận. Kết quả được thể hiện ở các hình 3.9 đến hình 3.13.

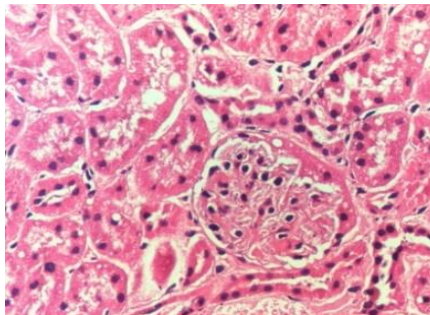
Hình 3.9. Hình ảnh đại diện vi thể thận chuột nhóm thường (HE x 400)

Cấu trúc thận bình thường. Cầu thận, ống thận, khoảng kẽ bình thường.



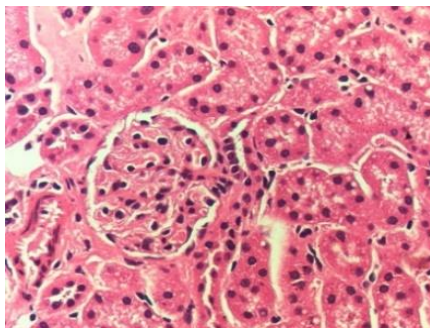
Hình 3.10. Hình ảnh đại diện vi thể thận chuột nhóm chứng bệnh (HE x 400)

Cầu thận có vùng bị thoái hóa kính, màng đáy dày. Các tế bào nội mô trong cầu thận già. Ống thận có nhiều vùng thoái hóa mỡ. Tổ chức kẽ xâm nhập nhiều tế bào viêm.

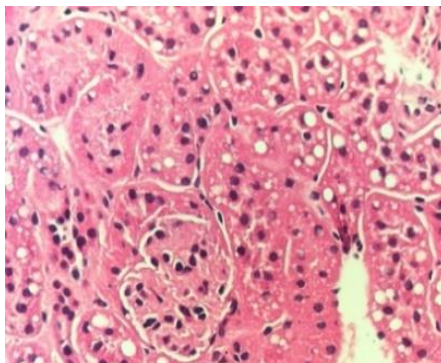


Hình 3.11. Hình ảnh đại diện vi thể thận chuột nhóm được điều trị với glyclazid 5 mg/kg (HE x 400) ngày thứ 60

Cầu thận: Có ít cầu thận thoái hóa kính. Nhiều cầu thận có tăng sinh tế bào nội mô. Ống thận có rất ít các hạt mỡ. Tổ chức kẽ có ít tế bào viêm.

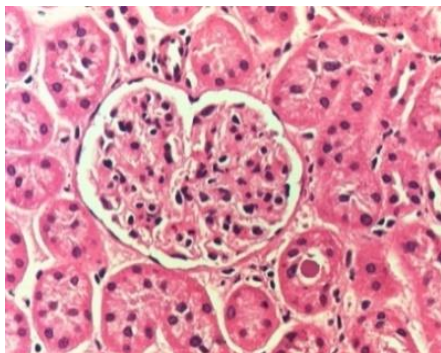


Hình 3.12. Hình ảnh đại diện vi thể thận chuột nhóm được điều trị với cao chiết MP- E liều 50 mg/kg (HE x 400) ngày thứ 60



Cầu thận: Rải rác có cầu thận thoái hóa kính. Ít tế bào nội mô trong cầu thận. Ống thận: có vùng bị thoái hóa mỡ. Tổ chức kẽ có ít tế bào viêm.

Hình 3.13. Hình ảnh đại diện vi thể thận chuột nhóm được điều trị với cao chiết MP- E liều 100 mg/kg (HE x 400) ngày thứ 60



Cầu thận: Có nhiều vùng tế bào nội mô phát triển tốt. Có cái gần bình thường. Ống thận không thoái hóa. Tổ chức kẽ có tế bào viêm.

3.2. Kết quả đánh giá cơ chế tác dụng chống đái tháo đường của cao chiết và hai hợp chất chiết xuất từ lá cây Xấu hổ *in vitro* và *in silico*.

3.2.1. Kết quả *in vitro* thử tác dụng ức chế α -glucosidase và PTP-1B của các hợp chất phân lập được.

Bảng 3.5. Tác dụng ức chế enzym α -glucosidase và PTP-1B của các hợp chất phân lập được

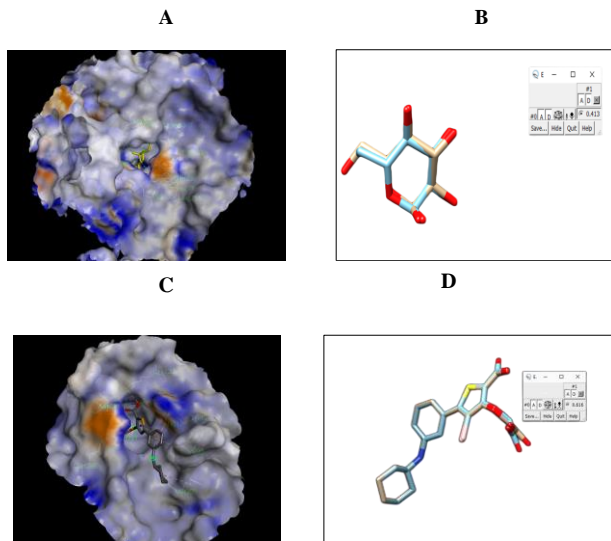
Hợp chất	α -Glucosidase	PTP-1B
	IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ M)
Acid protocatechuic	416,17 \pm 9,41	248,83 \pm 7,66
Acid syringic	490,78 \pm 9,28	450,31 \pm 7,77
Acarbose	241,76 \pm 2,66	-
Acid Ursolic	-	46,97 \pm 2,89

Hai hợp chất acid protocatechuic và acid syringic có tác dụng ức chế đáng kể enzym α -glucosidase enzym với giá trị IC₅₀ lần lượt là 416,17 \pm 9,41 μ M và 490,78 \pm 9,28 μ M, so với chứng dương acarbose có giá trị IC₅₀ là 241,76 \pm 2,66 μ M. Ngoài ra, acid protocatechuic và acid syringic cũng cho thấy tác dụng ức chế enzym PTP-1B đáng kể với giá trị IC₅₀ lần lượt là 248,83 \pm 7,66 μ M và 450,31 \pm 7,77 μ M, so

với chứng dương acid ursolic có giá trị IC_{50} là $46,97 \pm 2,89 \mu M$. Acid protocatechuic và acid syringic có khả năng sẽ trở thành các hợp chất tiềm năng trong điều trị ĐTĐ típ 2.

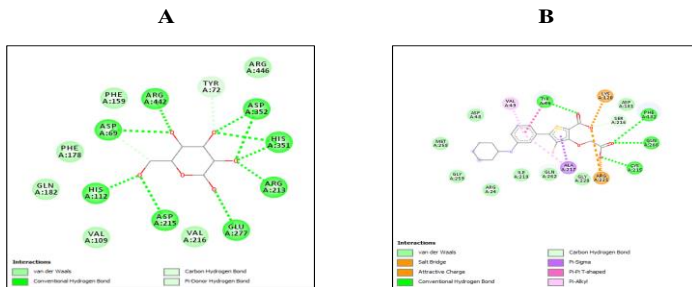
3.2.2. *Kết quả in silico thử tác dụng ức chế α -glucosidase và PTP-1B của các hợp chất phân lập được.*

3.2.2.1. *Đánh giá mô hình docking*



Hình 3.14. Vùng hoạt động và kết quả redock của hai mục tiêu

**Ghi chú:* A) Vùng hoạt động của isomaltase; B) Kết quả redock của phối tử đồng kết tinh isomaltase; C) Vị trí hoạt động của PTP-1B; D) Kết quả redock của phối tử đồng kết tinh PTP-1B.



Hình 3.15. Minh họa 2D tương tác giữa hai phối tử đồng kết tinh thể và protein của chúng

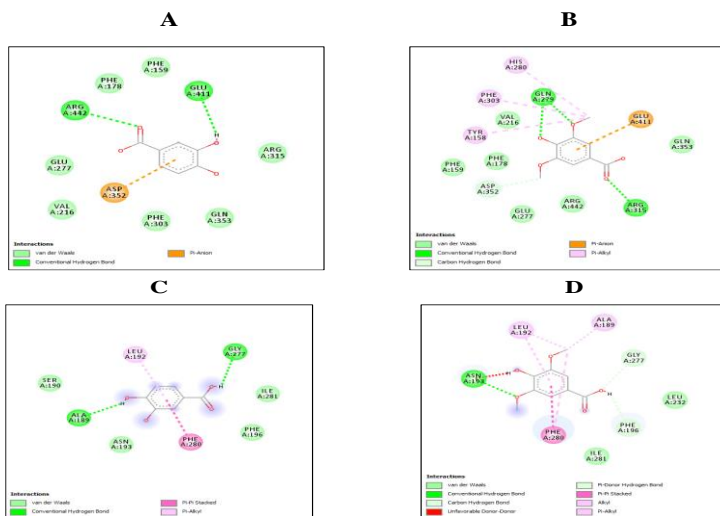
**Ghi chú:* A) Minh họa 2D về tương tác giữa alpha-D-glucopyranose và isomaltase; B) Minh họa 2D về sự tương tác giữa acid 4-brom-3-(carboxymethoxy)-5-[3-(cyclohexylamin)phenyl] thiophen-2-carboxylic và PTP-1B.

3.2.2.2. Kết quả docking

Bảng 3.6. Kết quả docking các hợp chất

Tên hợp chất	Năng lượng liên kết của isomaltase (kcal/mol)	Năng lượng liên kết của PTP-1B (kcal/mol)
Acid protocatechuic	-5,9	-5,7
Acid syringic	-5,9	-5,6
Acarbose	-8,3	-
Acid ursolic	-	-7,5

Kết quả bảng 3.6 cho thấy cả acid protocatechuic và acid syringic đều có năng lượng liên kết với hai protein mục tiêu cao hơn so với các hợp chất đối chứng dương. Xét về enzym α -glucosidase, hai hợp chất phân lập được có cùng năng lượng tương tác -5,9 kcal/mol, cao hơn năng lượng liên kết của acarbose (-8,3 kcal/mol). Trong khi acid protocatechuic và acid syringic liên kết với enzym PTP-1B với các giá trị năng lượng liên kết lần lượt là -5,7 kcal/mol, -5,6 kcal/mol. Giá trị này cũng cao hơn năng lượng liên kết của acid ursolic (-7,5 kcal/mol).



Hình 3.16. Minh họa 2D tương tác giữa hai hợp chất và mục tiêu* *Ghi chú:* A) Tương tác giữa acid protocatechuic và isomaltase; B) Tương tác giữa acid syringic và isomaltase; C) Tương tác giữa acid protocatechuic và PTP-1B; D) Tương tác giữa acid syringic và PTP-1B.

Với protein isomaltase, acid protocatechuic tương tác với một số acid amin tại vị trí hoạt động thể hiện qua liên kết hydro với các acid amin: ARG 442, π -anion với ASP 352 (Hình 3.16). Bên cạnh đó, acid syringic tạo liên kết hydro với acid amin GLN 197, ARG 315; π -alkyl với TYR 158, PHE 303, HIS 280.

Với protein PTP-1B, acid protocatechuic tạo liên kết với một số acid amin trong vị trí hoạt động thông qua các liên kết hydro với GLY 277, ALA 189 và π -alkyl với LEU 192 (Hình 3.19.). Ngoài ra, acid syringic là đã chứng minh sự tương tác với liên kết hydro với các acid amin ASN 193, π -alkyl với LEU 192, ALA 189 và một số acid amin khác như GLY 277, PHE 196.

3.2.2.3. Đánh giá khả năng giống thuốc theo quy tắc Lipinski

Bảng 3.7. Kết quả phân tích quy tắc Lipinski 5 của 2 hợp chất

Tên hợp chất	Phân tử khối (MW)	Số nhóm cho liên kết hydrogen (HBD)	Số nhóm nhận liên kết hydrogen (HBA)	LogP	Độ khúc xạ mol (MR)	Tính giống thuốc
Acid protocatechuic	154	3	4	0,7960	36,73	Có
acid syringic	198	2	5	1,1076	48,17	Có

Kết quả bảng 3.7 cho thấy cả hai hợp chất đều có đặc tính giống thuốc khi thỏa mãn nhiều hơn 2 trong 5 tiêu chí của quy tắc Lipinski 5.

3.2.2.4. Phân tích các thông số dược động học (ADMET) của hai hợp chất

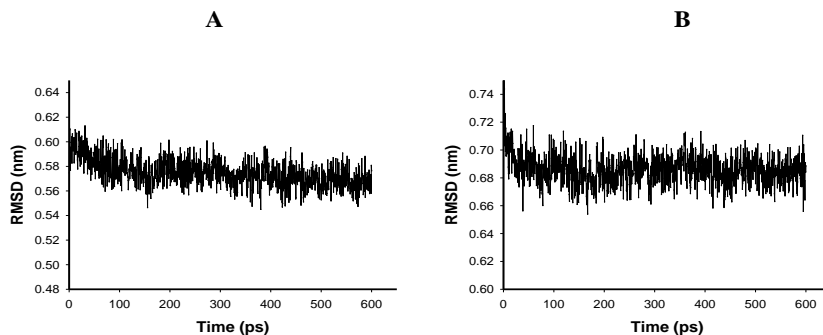
Để phân tích đặc tính hóa lý của các hợp chất, chúng tôi đã sử dụng công cụ trực tuyến pkCSM để dự đoán các thông số dược động học và độc tính (ADMET). Đây là cơ sở để chứng minh khả năng thành công của một thuốc. Các dự đoán ADMET được thể hiện ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Kết quả dự đoán ADMET

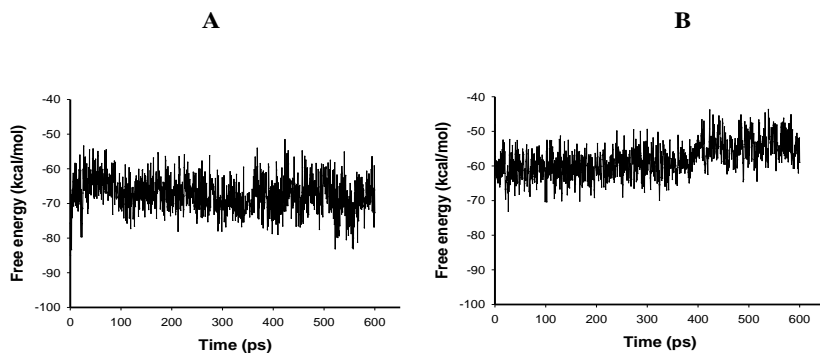
Thông số	acid protocatechuic	acid syringic
Hấp thu		
Độ tan trong nước (log mol/L)	-2,069	-2,223
Tính thấm màng Caco-2 (log P _{app} trong 10 ⁻⁶ cm/s)	0,490	0,495
Hấp thu ở ruột (người) (%)	71,174	73,076
Phân bố		
Thể tích phân bố VDss (người) (log L/kg)	-1,298	-1,443
Tính thấm hàng rào máu não (log BB)	-0,683	-0,191
Chuyển hóa		
Cơ chất CYP2D6	Không	Không
Cơ chất CYP3A4	Không	Không
Ức chế CYP2D6	Không	Không
Ức chế CYP3A4	Không	Không

Thải trừ		
Độ thanh thải toàn phần (log ml/min/kg)	0,551	0,646
Độc tính		
Độc tính AMES	Không	Không
Độc tính gan	Không	Không
Kích ứng da	Không	Không

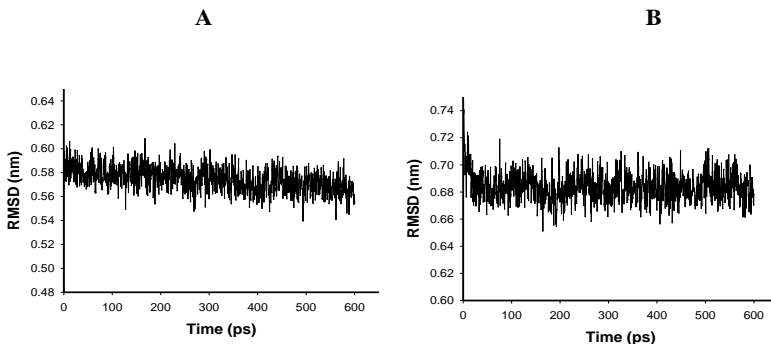
3.2.3. *Kết quả động lực học phân tử*: Để nghiên cứu tính ổn định về tư thế lắp ghép của hai hợp chất, chúng tôi đã thực hiện mô phỏng động lực học phân tử của các phức hợp enzym và phối tử. Kết quả được trình bày hình 3.17; 3.18; 3.19 và 3.20.



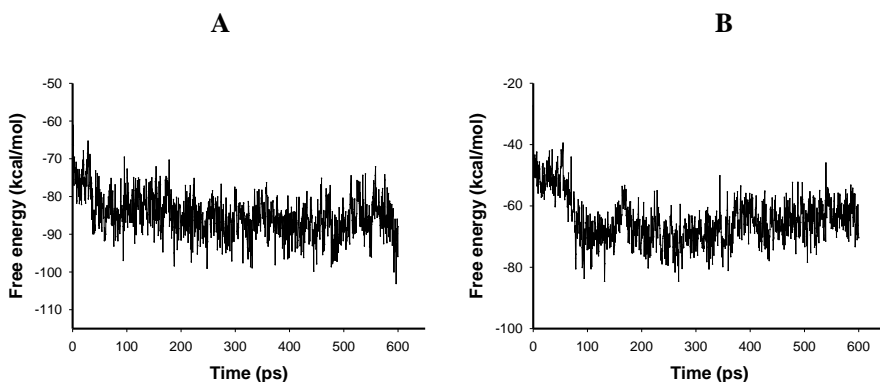
Hình 3.17. RMSD của phức hợp isomaltase- acid protocatechuic (A) phức hợp PTP-1B- acid protocatechuic (B) trong 600ps mô phỏng động lực học phân tử



Hình 3.18. Năng lượng tự do của phức hợp isomaltase- acid protocatechuic (A) phức hợp PTP-1B- acid protocatechuic (B) trong 600ps mô phỏng động lực học phân tử



Hình 3.19. RMSD của phức hợp isomaltase- acid syringic phức hợp PTP-1B- acid syringic (B) trong 600ps mô phỏng động lực học phân tử



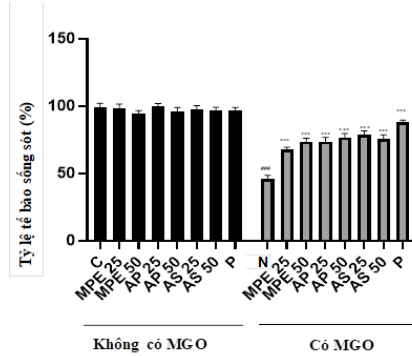
Hình 3.20. Năng lượng tự do của phức hợp isomaltase- acid syringic (A) phức hợp PTP-1B- acid syringic (B) trong 600ps mô phỏng động lực học phân tử

Kết quả động học phân tử của tất cả các phức chất cho thấy mô hình ổn định với năng lượng tự do đạt đến trạng thái cân bằng sau khoảng 100ps. Tuy nhiên, có một dao động nhỏ giữa 100-300ps đối với phức hợp PTP-1B- acid syringic. Ngoài ra, kết quả đã chỉ ra rằng năng lượng tự do của phức hợp PTP-1B- acid protocatechuic có xu hướng âm hơn ở khoảng 400-600ps. Nhìn chung, năng lượng tự do của phức hợp acid protocatechuic-protein ổn định hơn so với phức hợp acid syringic-protein. Các giá trị RMSD thu được của tất cả các phức chất đều nhỏ và tương đối ổn định, cho thấy hầu như không có sự khác biệt đáng kể về vị trí nguyên tử của phức hợp sau 600ps mô phỏng động lực học phân tử.

3.2.4. Kết quả đánh giá tác dụng bảo vệ của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất đối với độc tính methylglyoxal (MGO)

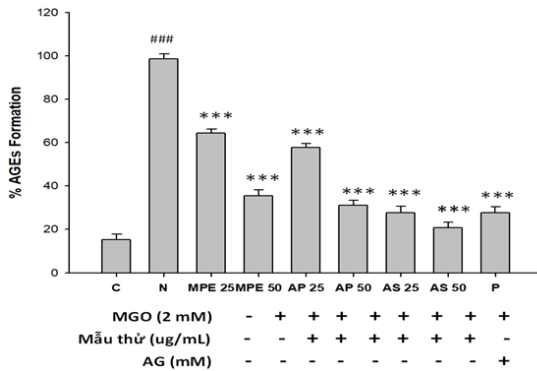
Thông qua phương pháp MTT, việc sử dụng phân đoạn EtOAc và hai hợp chất acid syringic và acid protocatechuic ở các nồng độ khác nhau cho thấy những hiệu quả đáng kể trong cải thiện tình trạng gây độc cho tế bào của MGO, tác nhân chính

xuất hiện ở các quá trình sản sinh AGEs khi nồng độ đường tăng trong một thời gian dài (Hình 3.21).



Hình 3.20. Tỷ lệ sống sót của tế bào HUVECs sau khi được điều trị với phân đoạn EtOAc và hai hợp chất và aminoguanidin trong hai trường hợp có và không có MGO

Ghi chú: (C) Đối chứng sinh lý; (MPE 25) Phân đoạn EtOAc (25 µg/mL); (MPE 50) Phân đoạn EtOAc (50 µg/mL); (AP 25) Hợp chất acid protocatechuic (25 µg/mL); (AP 50) Hợp chất acid protocatechuic (50 µg/mL); (AS 25) Hợp chất acid syringic (25 µg/mL); (AS 50) Hợp chất acid syringic (50 µg/mL); (P) Aminoguanidin (1mM); (N) MGO (400µM); Kết quả tỷ lệ phần trăm sống sót của tế bào được trình bày dưới dạng trung bình ± SD của ba thí nghiệm độc lập. (### p < .001 so với nhóm C, *** p < .001 so với nhóm N).



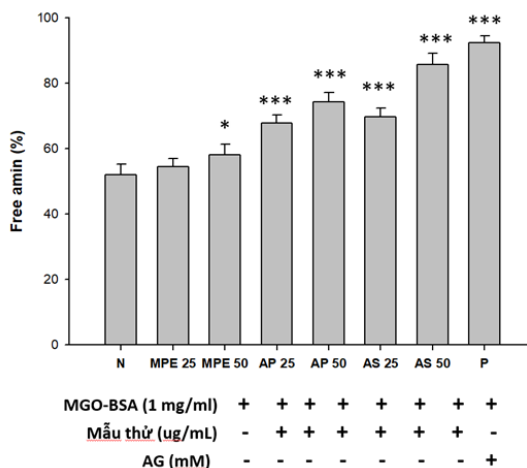
Hình 3.22. Tỷ lệ sống sót của tế bào HUVECs sau khi được điều trị với phân đoạn EtOAc và hai hợp chất và aminoguanidin trong hai trường hợp có và không có MGO

Ghi chú: (C) Đối chứng sinh lý; (MPE 25) Phân đoạn EtOAc (25 µg/mL); (MPE 50) Phân đoạn EtOAc (50 µg/mL); (AP 25) Hợp chất acid protocatechuic (25 µg/mL); (AP 50) Hợp chất acid protocatechuic (50 µg/mL); (AS 25) Hợp chất acid syringic (25 µg/mL); (AS 50) Hợp chất acid syringic (50 µg/mL); (P) Aminoguanidin (1mM); (N) MGO (400µM); Kết quả tỷ lệ phần trăm sống sót của

tế bào được trình bày dưới dạng trung bình \pm SD của ba thí nghiệm độc lập. (### p < .001 so với nhóm C, *** p < .001 so với nhóm N).

Sự hình thành AGEs do MGO đã giảm đáng kể do tác dụng của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất mẫu thử theo cách phụ thuộc vào nồng độ. Hợp chất acid syringic thể hiện tác dụng ức chế hình thành AGEs tương đương với chứng dương AG (Hình 3.22).

Trong bệnh đái tháo đường và các biến chứng, sự ly giải của AGEs có vai trò quan trọng trong quá trình điều trị. Phép thử TNBSA được sử dụng để kiểm tra khả năng phá vỡ liên kết của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất acid syringic và acid protocatechuic đối với các AGEs đã hình thành thông qua việc đo lường lượng glycation còn lại. Mẫu thử hoặc chứng dương được trộn với AG dung dịch MGO-BSA (1 mg/mL) và ủ trong 24 giờ. Sự giảm đáng kể của amine tự do đã được quan sát sau quá trình ủ MGO và BSA (Hình 3.23)



Hình 3.23. Khả năng phá vỡ AGEs của các mẫu thử được nghiên cứu thông qua số lượng amine tự do sinh ra sau phản ứng MGO-BSA

Ghi chú: (N) MGO-BSA (1 mg/ml); (MPE 25) Phân đoạn EtOAc (25 μ g/mL); (MPE 50) Phân đoạn EtOAc (50 μ g/mL); (AP 25) Hợp chất acid protocatechuic (25 μ g/mL); (AP 50) Hợp chất acid protocatechuic (50 μ g/mL); (AS 25) Hợp chất acid syringic (25 μ g/mL); (AS 50) Hợp chất acid syringic (50 μ g/mL); (P) Aminoguanidin (1mM). Giá trị được trình bày dưới dạng trung bình \pm SD của ba thí nghiệm độc lập. (*** p < 0,001 so với nhóm N và ** p < 0,05 so với nhóm N).

Chương 4: BÀN LUẬN

4.1. Về đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết toàn phần và các phân đoạn của cao chiết lá cây Xấu hổ theo phương pháp dung nạp glucose đường uống (OGTT)

Phương pháp dung nạp glucose đường uống (OGTT) để đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của các phân đoạn cao chiết, bao gồm cao chiết toàn phần ethanol: n- hexan, ethyl acetat, butanol; tìm ra phân đoạn cao có tác dụng hạ đường huyết tốt nhất là phân đoạn cao chiết ethyl acetat tiếp tục tiến hành thử nghiệm OGTT với phân đoạn cao này ở hai mức liều 50 mg/kg và 100 mg/kg.

Từ kết quả của thử nghiệm OGTT trên chuột, lựa chọn hai mức liều 50 mg/kg và 100 mg/kg của phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ để tiến hành thử nghiệm trên mô hình chuột bị gây ĐĐT típ 2 do STZ và chế độ ăn giàu béo.

4.2. Về kết quả tác dụng và cơ chế tác dụng của phân đoạn EtOAc trên mô hình gây bệnh ĐĐT típ 2 trên chuột

Trong nghiên cứu này chúng tôi lựa chọn mô hình dinh dưỡng giàu chất béo kết hợp với tiêm streptozotocin liều 50 mg/kg để gây ĐĐT típ 2 ở chuột. Sau 60 ngày thí nghiệm, nồng độ glucose máu, TC, TG và LDL-C máu đều tăng đáng kể so với nhóm chứng sinh lý. Sau 60 ngày điều trị bởi phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ với liều 50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm nồng độ glucose máu so với nhóm chuột không được điều trị.

Liên quan đến kết quả lipid máu:

Sau 60 ngày điều trị, phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ với liều 50 mg/kg/ngày; 100 mg/kg/ngày, ngoài làm tăng HDL-C, phân đoạn EtOAc cao chiết lá cây Xấu hổ còn có khả năng giảm CT, TG và LDL-C khi so sánh với nhóm bệnh lý. Kết quả của nhóm nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu trước đây: khi điều trị bằng cao chiết ethanol của cây Xấu hổ liều 500mg/kg, kết quả là tăng HDL-C và giảm TC, TG và LDL-C; liều 25 mg/kg và 50 mg/kg, myoinositol (chất tách chiết được từ cây Xấu hổ) có khả năng làm giảm đáng kể TC, TG, LDL-C và tăng HDL-C.

Về kết quả liên quan đến các chỉ số chức năng thận, bao gồm microalbumin niệu, creatinin máu, creatinin niệu, hệ số thanh thải creatinin

Sau 60 ngày, chuột bị gây ĐĐT típ 2 có nồng độ microalbumin niệu cao hơn chuột sinh lý. Nhóm được điều trị bằng phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ với liều 50 mg/kg/ngày và 100ng/kg/ngày, nồng độ microalbumin niệu giảm đáng kể so với nhóm chuột bệnh lý nên có thể góp phần vào cải thiện biến chứng thận do ĐĐT típ 2 trên chuột cũng như cho thấy rằng chuột đang được kiểm soát đường huyết tốt.

Về kết quả liên quan đến chống viêm và các cytokin viêm

Sau 60 ngày điều trị bằng phân đoạn EtOAc cây Xấu hổ cho thấy nồng độ TNF- α và nồng độ IL-1 β đã giảm hẳn khi điều trị ở hai mức liều 50 mg/kg/ ngày và 100 mg/kg/ ngày khi so sánh với nhóm chuột bệnh lý.

Về kết quả liên quan đến tác động lên quá trình stress oxy hóa:

Sau 60 ngày điều trị bằng phân đoạn EtOAc cao chiết lá của cây Xấu hổ liều 50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ ngày, nồng độ peroxy hóa lipid (sản phẩm là MDA) ở chuột đã giảm đáng kể so với nhóm chuột bệnh lý, nồng độ SOD nồng độ CAT và GPx đã tăng đáng kể khi so sánh với nhóm chuột bệnh lý. Như vậy, phân đoạn EtOAc của cây Xấu hổ với liều 50 mg/kg/ ngày và 100 mg/kg/ ngày có khả năng cải thiện tình trạng stress oxy hóa ở chuột bị gây ĐTĐ típ 2 bởi STZ và chế độ ăn giàu béo.

Về kết quả liên quan đến giải phẫu mô bệnh học thận: Hình ảnh vi thể thận chuột trong nghiên cứu cho thấy, phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ với liều 50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày có khả năng cải thiện tổn thương thận ở chuột bị gây ĐTĐ típ 2 do STZ và chế độ ăn giàu béo.

4.3. Về cơ chế tác dụng ức chế hai enzym α -glucosidase và PTP-1B của hai hợp chất acid protocatechuic và acid syringic

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá hai hợp chất acid syringic và acid protocatechuic từ phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ về khả năng hạ glucose huyết trên mô hình *in vitro* và *in vivo*. Kết quả thử nghiệm *in vitro* và trên mô hình *in silico* cho thấy cả hai hợp chất đều có hoạt tính ức chế α -glucosidase và PTP-1B. Cả hai hợp chất có thể được coi là hợp chất đầy hứa hẹn trở thành thuốc ngăn ngừa điều trị đái tháo đường típ 2.

Nghiên cứu trên mô hình *in silico* đã cho thấy rằng chúng có hoạt tính ức chế mạnh α -glucosidase và PTP-1B. Acid protocatechuic cho thấy khả năng giống thuốc điều trị ĐTĐ cao hơn acid syringic. Ngoài ra, phương pháp docking phân tử đã dự đoán các tương tác có thể xảy ra trong các vị trí hoạt động của α -glucosidase và PTP-1B của hai hợp chất. Quy tắc 5 tiêu chí của Lipinski cho thấy cả 2 hợp chất đều có đặc tính giống thuốc. Dự đoán ADMET và kết quả mô phỏng động lực học phân tử cho biết acid protocatechuic và acid syringic có khả năng trở thành thuốc với ổn định tương đối.

4.4. Về tác dụng và cơ chế tác dụng bảo vệ tế bào khi nồng độ đường huyết tăng cao của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất theo cơ chế giảm tác dụng độc tính của MGO

Thông qua phương pháp MTT, việc sử dụng phân đoạn EtOAc và hai hợp chất acid syringic, acid protocatechuic ở các nồng độ khác nhau cho thấy những hiệu quả đáng kể trong cải thiện tình trạng gây độc cho tế bào của MGO, tác nhân chính xuất hiện ở các quá trình sản sinh AGEs khi nồng độ đường tăng trong một thời gian dài. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, việc điều trị bằng phân đoạn EtOAc

và hai hợp chất acid syringic, acid protocatechuic đã ức chế sự hình thành cũng như thể hiện khả năng phá vỡ AGE-MGO. Glycation gây ra bởi MGO dẫn đến giảm các amin tự do, nhưng phân đoạn EtOAc và hai hợp chất acid syringic, acid protocatechuic có thể phá vỡ AGEs và do đó, làm sự gia tăng đáng kể của các amin tự do

4.5. Bàn luận chung về tác dụng dược lý theo hướng điều trị bệnh đái tháo đường của cây Xấu hổ

Theo một số nghiên cứu cây Xấu hổ được sử dụng để hỗ trợ điều trị hoặc ngăn ngừa một số rối loạn như ung thư, viêm gan, nhiễm trùng tiết niệu, béo phì và đái tháo đường. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân lập được acid syringic và acid protocatechuic từ cao chiết lá cây Xấu hổ, phân đoạn EtOAc. Kết quả thử nghiệm *in vitro* cho thấy cả hai hợp chất đều có hoạt tính ức chế α -glucosidase và PTP-1B. Cả hai hợp chất có thể được coi là hợp chất đầy hứa hẹn trở thành thuốc ngăn ngừa, điều trị đái tháo đường típ 2.

KẾT LUẬN

Với những kết quả đạt được của luận án, chúng tôi đưa ra một số kết luận như sau:

1. Kết quả đánh giá tác dụng hạ đường huyết và một số tác dụng liên quan đến đái tháo đường của cao chiết lá cây Xấu hổ trên thực nghiệm:

- Đã xác định được phân đoạn cao chiết EtOAc có tác dụng hạ đường huyết tốt nhất so với cao chiết toàn phần và các phân đoạn khác trên mô hình OGTT ở chuột bình thường.

- Đã nghiên cứu được tác dụng hạ glucose máu của cao chiết lá cây Xấu hổ phân đoạn EtOAc (50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày) trên mô hình chuột ĐTĐ típ 2 gây bởi chế độ ăn giàu béo và tiêm STZ liều thấp. Mức giảm glucose máu lần lượt là 56,3% và 71,3% ở mức liều 50 mg/kg/ngày; 100 mg/kg/ngày so với nhóm chứng bệnh lý với $p < 0,05$.

- Về một số tác dụng liên quan đến đái tháo đường, luận án cũng đã nghiên cứu được tác dụng của phân đoạn cao chiết EtOAc (50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày) có các tác dụng cải thiện các chỉ số lipid máu; các chỉ số liên quan đến chức năng thận; các chỉ số về mức độ stress oxy hóa; chỉ số enzym chống oxy hóa và chỉ số về tình trạng viêm cũng như cải thiện đáng kể cấu trúc mô bệnh học thận trên mô hình chuột bị gây ĐTĐ típ 2 bởi chế độ ăn giàu béo và tiêm STZ liều thấp. Cụ thể là:

+ **Về tác dụng trên các chỉ số lipid máu:** Giảm các chỉ số TC, TG và LDL-C tăng chỉ số HDL-C, với tỉ lệ tăng là 10,5% ($p < 0,05$) ở mức liều 50 mg/kg/ngày; Còn ở mức liều 100 mg/kg/ngày giảm cholesterol toàn phần 6,2%, triglycerid máu

9,7% và LDL-C 35,5% và tăng HDL-C 21,4 % khi so sánh với nhóm chuột bệnh lý ($p < 0,05$).

+ **Về tác dụng cải thiện các chỉ số liên quan đến chức năng thận:** phân đoạn cao chiết EtOAc (50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày) có tác dụng giảm nồng độ creatinin máu với tỉ lệ giảm lần lượt là 20,2% và 18,4% ($p < 0,05$) khi so với nhóm chứng bệnh lý; giảm nồng độ microalbumin niệu, tỉ lệ giảm lần lượt là 11,9% và 14,9%; ngoài ra phân đoạn cao chiết EtOAc có tác dụng tăng creatinin niệu và tăng hệ số thanh thải creatinin với tỉ lệ tăng lần lượt 10,6 % và 23,7%; 50,6% và 72,1% khi so với nhóm chứng bệnh lý ($p < 0,05$).

+ **Về tác dụng cải thiện tình trạng viêm và giảm quá trình stress oxy hóa trên mô thận chuột:** Luận án cũng đã đánh giá được tác dụng trên của phân đoạn cao chiết EtOAc (50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày) có các tác dụng cải thiện các chỉ số liên quan như sau: Làm giảm nồng độ TNF- α lần lượt là 17,7% và 24,1% và nồng độ IL-1 β lần lượt là 10,3% và 22,2% khi so sánh với nhóm chứng bệnh lý ($p < 0,05$); giảm nồng độ marker peroxy hóa lipid (MDA): mức giảm lần lượt là 15,8% và 26,3%; tăng nồng độ các chất chống oxy hóa: SOD; CAT; GPx: mức tăng lần lượt là: 61,1% và 100%; 29,4% và 59,8%; 24,7% và 45,6% khi so với nhóm chứng bệnh lý ($p < 0,05$).

+ **Về tác dụng trên mô bệnh học thận:** phân đoạn cao chiết EtOAc (50 mg/kg/ngày và 100 mg/kg/ngày) đã ngăn ngừa tổn thương thận một cách hiệu quả; cải thiện đáng kể cấu trúc mô bệnh học thận trên mô hình chuột bị gây ĐĐT típ 2.

2. Kết quả đánh giá cơ chế tác dụng chống ĐĐT của phân đoạn cao chiết EtOAc và hai hợp chất chiết xuất từ phân đoạn EtOAc của cao chiết lá cây Xấu hổ *in vitro* và *in silico*.

- Phân đoạn cao chiết EtOAc và hai hợp chất có thể làm giảm độc tính glucose và rối loạn chức năng chuyển hóa do MGO gây ra liên quan đến các đích AGEs trên dòng tế bào HUVEC. Cơ chế tác dụng hạ đường huyết của phân đoạn EtOAc của cây Xấu hổ lên chuột bị gây ĐĐT típ 2 bởi chế độ ăn giàu chất béo và STZ thông qua cơ chế giảm tình trạng viêm, tăng khả năng chống oxy hóa để có thể cải thiện các biến chứng của bệnh thận đái tháo đường.

- Hai hợp chất acid protocatechuic và acid syringic thể hiện tác dụng ức chế cả hai đích khác nhau bao gồm PTP-1B và α -glucosidase, cụ thể: acid protocatechuic và acid syringic có hoạt tính ức chế mạnh PTP-1B với giá trị IC_{50} lần lượt là $248,83 \pm 7,66 \mu M$ và $450,31 \pm 7,77 \mu M$; acid protocatechuic và acid syringic có hoạt tính ức chế α -glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là $416,17 \pm 9,41 \mu M$ và $490,78 \pm 9,28 \mu M$.

KIẾN NGHỊ

Từ các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, lá cây Xấu hổ là dược liệu tiềm năng trong điều trị bệnh ĐĐT típ 2 và ngăn ngừa biến chứng suy thận trong bệnh ĐĐT

trên thực nghiệm. Để có thể khai thác và sử dụng nguồn dược liệu dễ kiếm, dễ trồng thành vùng trồng dược liệu đạt tiêu chuẩn và để có thể sử dụng lá cây Xấu hổ dưới dạng cao chiết phân đoạn EtOAc một cách hiệu quả, tác giả xin đề xuất:

- Nghiên cứu một số cơ chế hạ glucose huyết khác của cao chiết lá cây Xấu hổ phân đoạn EtOAc và các chất tách chiết được từ phân đoạn này.

- Nghiên cứu bào chế và tiêu chuẩn hóa cao chiết phân đoạn EtOAc lá cây Xấu hổ. Có thể lấy hai hợp chất acid protocatechuic acid và acid syringic làm chất định chuẩn cho cao chiết cây Xấu hổ.

- Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của cao chiết lá cây Xấu hổ phân đoạn EtOAc, cũng như các nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng để phát triển thành chế phẩm thuốc.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1- Pham Thi Lan, Nguyen Thi Thu, Vu Thi Thom, Nguyen Thi Hai Yen, Phan Hong Minh, Bui Son Nhat, Nguyen Thi Huyen, Nguyen Hong Nhung, Ta Thi Thu Hang, Pham Thi Nguyet Hang, Bui Thanh Tung. (2022), "Antidiabetic and Renoprotective Effects of Ethyl Acetate Fraction of *Mimosa pudica* Linn. Leaves Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice." *Current Bioactive Compounds* 18(10), p. 9-18.

2- Pham Thi Lan, Nguyen Thi Thu, Vu Thi Thom, Nguyen Thi Hai Yen, Phan Hong Minh, Bui Son Nhat, Nguyen Thi Huyen, Nguyen Hong Nhung, Ta Thi Thu Hang, Pham Thi Nguyet Hang, Bui Thanh Tung. (2023), "Bioactive Compounds from *Mimosa pudica* Leaves Extract with Their α -glucosidase and Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitory Activities in vitro and in silico Approaches." *Letters in Drug Design & Discovery* 20(3), p. 353-364.

3- Pham Thi Lan, Pham Thi Nguyet Hang, Bui Thanh Tung. (2024), "The protective effect of ethyl acetate fraction and bioactive compounds of *Mimosa pudica* L. leaves in methylglyoxal-induced glucotoxicity" *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, ISSN 2588-1132.