TÓM TẮT LUẬN ÁN

Họ và tên nghiên cứu sinh: **Phạm Thị Lan**

Tên luận án: **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**

Họ và tên cán bộ hướng dẫn (học hàm/ học vị):

Cán bộ hướng dẫn 1: **PGS TS. Bùi Thanh Tùng**

Cán bộ hướng dẫn 2: **PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng**

Cơ sở đào tạo: **Viện Dược liệu**

Nội dung tóm tắt luận án:

1. Mục tiêu

- 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.
- 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. 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.

2.1. Phương pháp thử nghiệm dung nạp glucose đường uống (OGTT)

- Đánh giá tác dụng hạ glucose huyết của cao toàn phần và các phân đoạn cao chiết lá cây Xấu hổ theo phương pháp dung nạp glucose đường uống (OGTT) trên chuột bình thường.
- Sàng lọc phân đoạn cao có tác dụng hạ glucose huyết tốt nhất.
- Nghiên cứu tác dụng cơ chế tác dụng hạ glucose huyết của cao ethanol toàn phần và các phân đoạn n - hexan, ethyl acetat (EtOAc) và butanol (BuOH) của cao Xấu hổ ở liều 100 mg/kg. Sau đó phân đoạn có tác dụng tốt nhất sẽ được tiến hành thử nghiệm OGTT lặp lại một lần nữa với liều 50 mg/kg và 100 mg/kg.

2.2. Phương pháp đánh giá các tác dụng của phân đoạn có tác dụng tốt nhất trên mô hình chuột bị gây ĐTĐ kiểu típ 2 do chế độ ăn giàu chất béo và streptozotocin

- Đánh giá 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.

- Đánh giá cấu trúc hình thái vi thể thận từ đó đánh giá mức độ cải thiện tổn thương trên mô thận trên chuột bị ĐTĐ típ 2 gây ra bởi STZ.

2.3. Phương pháp đánh giá tác dụng ức chế enzym α- glucosidase và PTP-1B của hợp chất chính phân lập được từ cây Xấu hổ trên mô hình *in silico*

- Đánh giá tác dụng ức chế enzym α- glucosidase và PTP-1B của hợp chất chính phân lập được từ cây Xấu hổ là Acid protocatechuic và acid syringic bằng phương pháp *in silico* từ đó dự đoán khả năng giống thuốc của các hợp chất trên và các hợp chất trên hứa hẹn sẽ trở thành các hợp chất tiềm năng trong điều trị bệnh đái tháo đường.
- Đây là những hoạt chất chính tách chiết được từ phân đoạn EtOAc- phân đoạn cao chiết có tác dụng hạ glucose huyết tốt nhất, từ đó dự đoán cơ chế tác dụng của phân đoạn cao chiết này trong điều trị bệnh ĐTĐ típ 2.
- Phương pháp này cũng giúp dự đoán khả năng hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ của hai hợp chất trên và dự đoán độc tính đối với gan, độc tính ddooid với da của hai hợp chất trên.

2.4.* Phương pháp đánh giá tác dụng ức chế enzym α- glucosidase và PTP-1B của hợp chất chính phân lập được từ cây Xấu hổ *in vitro

- Phương pháp này cho phép đánh giá mức độ ức chế của hai hợp chất đối với enzym α-glucosidase và PTP-1B thể hiện ở giá trị IC50 và có sử dụng chất đối chứng dương để so sánh và làm rõ.

-Thử nghiệm *in silico* và *in vitro* cùng góp phần vào việc giải thích cơ chế tác dụng điều trị ĐTĐ típ 2 (hạ glucose huyết) của phân đoạn cao chiết có tác dụng hạ glucose huyết tốt nhất - phân đoạn EtOAc của cây Xấu hổ.

2.5. Phương pháp đánh giá tác dụng ức chế của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất đối với độc tính glucose trên dòng tế bào HUVECs; tác dụng ức chế sự hình thành AGEs do MGO gây ra; tác dụng của phân đoạn cao chiết EtOAc và hai hợp chất đối với thử nghiệm MGO-AGEs breaker (phá vỡ MGO-AGEs) *in vitro.*

- Tác dụng bảo vệ tế bào tránh khỏi tác động của MGO khi glucose huyết tăng cao của phân đoạn EtOAc và hai hợp chất được làm sáng tỏ thông qua các thử nghiệm *in vitro* trên dòng tế bào HUVECs.

- Các nghiên cứu *in vivo* về cơ chế hạ glucose huyết, cải thiện các biến chứng bệnh thận đái tháo đường của phân đoạn EtOAc cao chiết cây Xấu hổ được đánh giá thông qua cơ chế giảm tình trạng viêm, tăng khả năng chống oxy hóa.

3. Kết quả chính

3.1. Về tác dụng hạ glucose huyết của cao chiết lá cây Xấu hổ và các phân đoạn

- 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 thử nghiệm 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 huyết 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-1β .

KẾT LUẬN

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-1β 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 ĐTĐ típ 2.

2. Kết quả đánh giá cơ chế tác dụng chống ĐTĐ 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 ĐTĐ 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 IC50 lần lượt là 248,83 ± 7,66 µM và 450,31 ± 7,77 µM; acid protocatechuic và acid syringic có hoạt tính ức chế α-glucosidase với giá trị IC50 lần lượt là 416,17 ± 9,41 µM và 490,78 ± 9,28 µM.

Hà Nội, ngày tháng năm 2023

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN **NGHIÊN CỨU SINH**

PGS TS. Bùi Thanh Tùng PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng Phạm Thị Lan