

NGHIÊN CỨU *IN VIVO* TÁC DỤNG NỘI TIẾT KIỂU OESTROGEN CỦA ISOFLAVONES CHIẾT XUẤT TỪ SẮN DÂY *PUERARIA THOMSONII* BENTH.

ĐỖ THỊ HOA VIÊN

I. MỞ ĐẦU

Sắn dây là một loài cây thuốc lâu đời ở Việt Nam và được trồng khá phổ biến từ vùng miền núi đến đồng bằng. Từ lâu, y học dân gian đã coi sắn dây như một loại thuốc có thể chữa được nhiều chứng bệnh như cảm sốt phong nhiệt, kiết lỵ kèm theo sốt, giải nhiệt,... Một trong số các nhóm chất được chứng minh là có tác dụng chữa bệnh của sắn dây là các dẫn chất thuộc nhóm isoflavonoid có hoạt tính oestrogen, hay còn gọi là các phytoestrogen. Đây là một nhóm hoạt chất đa dạng có nguồn gốc từ thực vật mà những chất này có cấu trúc và chức năng tương tự như hormone estrogen của động vật có vú, có khả năng thay thế estrogen trong cơ thể phụ nữ. Các phytoestrogen có tác dụng ngăn ngừa các biểu hiện rối loạn hormone cũng như làm giảm nguy cơ mắc các bệnh về tim mạch, loãng xương, ung thư vú, ... ở phụ nữ thời kỳ tiền mãn kinh và còn có tác dụng phòng chống ung thư tiền liệt tuyến ở nam giới.

Vì vậy, nhiều nghiên cứu đã xem phytoestrogen như một sự lựa chọn cho giải pháp thay thế hormone (hormone replacement therapy- HRT) và giải pháp thay thế estrogen (estrogen replacement therapy- ERT).

Ở Việt Nam, sắn dây có 5 loài, phổ biến nhất là loài *Pueraria thomsonii* Benth. được trồng để làm thực phẩm và làm thuốc. Để góp phần nghiên cứu và khai thác các hoạt chất có hoạt tính sinh học từ sắn dây, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu chiết xuất các phytoestrogen từ sắn dây và thử nghiệm hoạt tính của chúng trên động vật.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu và đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu: Cao chiết isoflavone từ củ sắn dây *Pueraria thomsonii* Benth, huyện Lâm Sơn, tỉnh Hoà Bình.

Nội dung nghiên cứu: Tác dụng nội tiết kiểu oestrogen của isoflavone chiết xuất từ sắn dây trên chuột nhắt trắng.

Đối tượng thử nghiệm: Chọn chuột nhắt trắng cái khỏe, nhanh nhẹn, lông mượt, mắt hồng, đuôi hồng rõ tĩnh mạch có trọng lượng từ 14 - 17 g.

Dụng cụ: Kính hiển vi soi tế bào, lam kính, que lấy tế bào, kim tiêm, bàn mổ, pince, kéo, giấy đo pH, bông,...

Hóa chất: Dung dịch chuẩn EDP (Estradiol dipropionat), thuốc nhuộm diêm sa, cồn 90°, nước cất,...

2. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành theo phương pháp Allen- Doisy:

Bước 1: Cố định chuột nằm sấp trên bàn mổ.

Bước 2: Cắt bỏ hai buồng trứng, thủ thuật được tiến hành ở vùng hông, cắt xong buồng trứng tiến hành khâu 2 lớp, lớp cơ rồi đến lớp da.

Bước 3: Sau khi cắt bỏ hai buồng trứng cho chuột nghỉ 15 ngày. Đến ngày thứ 16 kiểm tra để loại bỏ những con thiếu sót.

Bước 4: Chuột không thiếu sót được chia thành 3 lô thí nghiệm sau:

+ Lô chuẩn: Tiêm EDP với liều 0,05mg/con (tiêm một lần tại bắp đùi).

+ Lô chứng: uống nước đun sôi để nguội 0,5 ml / con / ngày.

+ Lô thử: Chuột được uống cao chiết với liều 150 mg / 0,5 ml nước cất / con / ngày.

Lô chứng và lô thử chuột được uống liền trong 7 ngày.

Ngày nào cũng kiểm tra tế bào âm đạo, pH âm đạo để theo dõi sự xuất hiện các tế bào sừng.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Chỉ tiêu quan sát

- Tế bào âm đạo: Tiêu bản dương tính: là những tế bào sừng hoá trên toàn bộ tiêu bản; Tiêu bản âm tính: không có tế bào sừng, chỉ có bạch cầu và một ít tế bào nhân trên tiêu bản.

- pH âm đạo: theo dõi sự biến đổi pH âm đạo dưới tác dụng của isoflavone chiết xuất từ sắn dây.

2. Kết quả thử nghiệm

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm *in vivo* tác dụng nội tiết kiểu estrogen của cao chiết isoflavone từ củ sắn dây *Pueraria thomsonii* Benth.

	pH âm đạo		Ngày có tế bào sừng	Số con có tế bào sừng	Tỉ lệ % có tế bào sừng	Ghi chú
	Trước θ	Sau θ				
Lô chứng (uống nước đun sôi để nguội)	6,6	6,8	4	1/27	3,7%	Tế bào sừng xuất hiện rất ít vào ngày thứ 4, chỉ có tế bào nhân và bạch cầu.
Lô chuẩn (tiêm EDP)	6,8	7,0	1	28/28	100%	Có tế bào sừng từ ngày thứ 1→7.
Lô thử (uống cao chiết)	6,7	6,9	4	17/33	51,5%	Có tế bào sừng từ ngày thứ 4→7.

(θ : điều trị)

Nhận xét:

- Ở lô chuột được tiêm dung dịch chuẩn EDP, kiểm tra tế bào âm đạo cho thấy: các tế bào sừng xuất hiện từ ngày thứ nhất đến ngày thứ 7 trên 100% số chuột thử nghiệm.

- Ở lô chuột chỉ uống nước, hầu như không có tế bào sừng, chỉ có tế bào nhân và bạch cầu. Các tiêu bản được xem là âm tính.

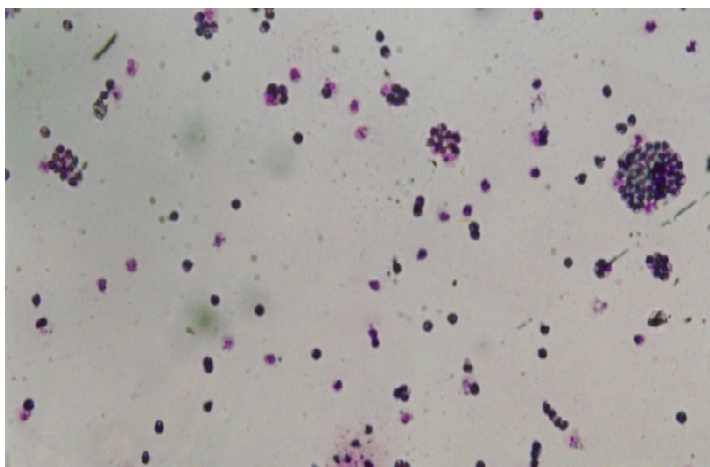
- Ở lô chuột cho uống cao chiết, các tế bào sừng xuất hiện từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 7 trên 51,5% số chuột thử nghiệm.

- pH môi trường âm đạo của các lô chuột hầu như không bị ảnh hưởng trong suốt thời gian thử nghiệm.

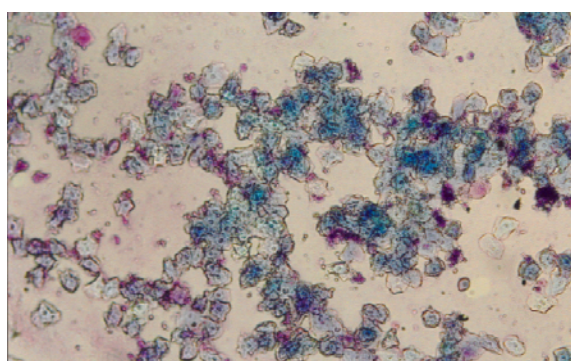
Như vậy, thử nghiệm tác dụng nội tiết kiểu oestrogen của cao chiết từ sản dây cho kết quả dương tính với liều 150 mg / chuột / ngày, cao chiết có tác dụng nội tiết kiểu oestrogen với kết quả là 51,5%.

So sánh với kết quả thử nghiệm ở phòng Đông y thực nghiệm, Viện y học cổ truyền Việt Nam thì liều thử nghiệm của cao chiết isoflavone từ sản dây tương đối cao (ở cỏ ba lá là 50 mg / con / ngày, ở đậu tương là 25 mg / con / ngày). Tuy nhiên, kết quả thử nghiệm có biểu hiện dương tính trên 51,5% số chuột cho thấy cao chiết isoflavone từ sản dây có tác dụng nội tiết kiểu oestrogen khá rõ rệt.

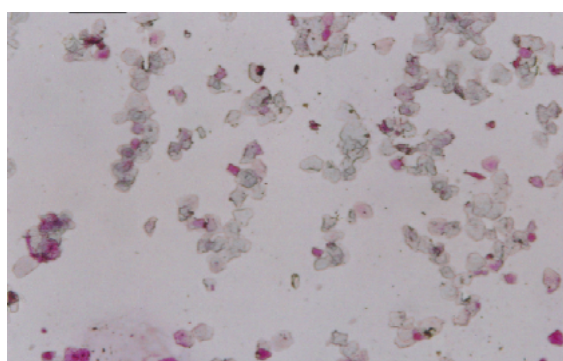
Sau đây là hình ảnh một số tiêu bản về sự xuất hiện các tế bào sừng ở các lô chuột thử nghiệm:



Hình 1. Tiêu bản tế bào của chuột ở lô chứng



Hình 2. Tiêu bản tế bào của chuột ở lô chuẩn



Hình 3. Tiêu bản tế bào của chuột ở lô thử

IV. KẾT LUẬN

Cao chiết isoflavone từ củ sản dây *Pueraria thomsonii* Benth. có hoạt tính nội tiết kiểu estrogen trên 51,5% chuột nhắt trắng cái với liều uống 150 mg / con / ngày. Điều này cho thấy hoạt tính estrogen của hỗn hợp isoflavone chiết xuất từ củ sản dây là khá rõ rệt.

Lời cảm ơn. Tác giả xin trân trọng cảm ơn Hiệp hội các trường đại học Vương quốc Bỉ về hợp tác phát triển trường đại học (Flemish Interuniversity Council for University Development cooperation - VLIR UOS) đã tài trợ kinh phí giúp chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bài giảng dược liệu - Tập 1, Trường Đại học Dược Hà Nội.
2. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam - Tập 2, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 2004.
3. Võ Văn Chi - Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, 1999.
4. Dược điển Việt Nam - Bộ Y tế, 2002.
5. Đỗ Tất Lợi - Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, 2001.
6. P. Diel, S. Schumidt, and G. Vollmer - In vivo test system for quantitative and qualitative analysis of the biological activity of phytoestrogens, *Journal of chromatography B*, **777** (2002) 192-201.
7. Joan Garey, Maria A. Morgan and et al - Effects of the Phytoestrogen coumestrol on locomotor and fear-related behavior in female mice, *Hormone and Behavior* **40** (2001) 65- 76.
8. Lisa A. Henry and Diane M. Witt - Phytoestrogen effects on reproductive physiology and behavior in female rats, *Hormone and Behavior* **41** (2001) 220-228.
9. Stefan O. Mueller - Overview of in vitro tools to assess the estrogenic and antiestrogenic activity of phytoestrogens, *Journal of chromatography B* **777** (2002) 155-165.

SUMMARY

RESEARCH *IN VIVO* ON ESTROGEN ACTIVITY OF ISOFLAVONES FROM KUDZU *PUERARIA THOMSONII* BENTH.

Kudzu is the popular medicinal herb in Vietnam. For a long time, Vietnamese have used Kudzu root's powder to prepare the refreshing water in summer. In the traditional medicine, kudzu root is used alone or is combined with the others to treat many of disease. Kudzu root has not only refreshing and detoxifying effect, but it contains also isoflavones. They have a weak estrogen activity (named phytoestrogens), they can function as anti-estrogens by competing with the more potent endogenous estrogens for binding to the estrogen receptor. Moreover, phytoestrogens have high antioxidant effect and can promote bone health. Phytoestrogens can prevent and treat osteoporosis, heart disease, breast cancer, prostate cancer and symptoms associated with menopause of woman. Recent studies showed that phytoestrogens specifically inhibit the activity of various growth-regulating enzymes, so that they have the cancer cell growth inhibitory effects and they can also against non-hormone related cancers, such as cancer of the colon, rectum, lung and stomach.

In this paper, we study on the estrogen activity of isoflavones from kudzu root *Pueraria thomsonii* Benth planted in Hoabinh province of Vietnam. Research result showed that the isoflavone extract from *Pueraria thomsonii* Benth. have estrogen activity on 51.5% of tested white female mice with the oral dose 150 mg / mouse / day.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 22 tháng 2 năm 2005

Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.