

ISSN 0868 - 3859



# TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

SỐ 2 - 2012

TẬP 17

**Journal of Medicinal Materials-Hanoi**

activity of saponins from *Costus speciosus* (Koen) Sm. Indian J. Med. Res., 60(2):287-90. 6. Viện Dược Liệu (nhóm tác giả) (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật; Tập 2, 272-275. 7. Viện Dược liệu (nhóm tác giả) (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ Dược thảo*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 209-220.

*Tạp chí Dược liệu, tập 17, số 2/2012 (Trang 73 - 77)*

## TÁC DỤNG NỘI TIẾT TỔ SINH DỤC NỮ CỦA CÁC CAO CHIẾT TỪ LÁ CHÙM NGÂY

*Đỗ Minh Anh, Nguyễn Văn Nghi, Nguyễn Thị Thu Hương*  
*Trung Tâm Sâm và Dược liệu Tp. Hồ Chí Minh-Viện Dược liệu*  
(Nhận bài ngày 20 tháng 02 năm 2012)

### Summary

#### Estrogenic Effects of Extracts from *Moringa oleifera* Leaves

The study determined estrogenic effects of ethanol extract and aqueous extract from *Moringa oleifera* leaves on naïve mice and ovariectomized mice. The phase of the estrus cycle was determined by early vaginal opening in immature mice and by vaginal smear cytology. The weight of reproductive organs and plasma  $17\beta$ -estradiol content were also determined. The results revealed that *Moringa oleifera* extracts induced estrogenic effects in immature mice and ovariectomized mice more significant than in naïve mice. Ovariectomized mice subjected to 15-day oral administration of ethanol extract or aqueous extract spent more time in estrus phase and showed development of uterus weight. The plasma  $17\beta$ -estradiol contents in ovariectomized mice after administration of *Moringa oleifera* extracts were restored to the normal level as compared to untreated control. The findings will be useful for advanced study on *Moringa oleifera* leaves as a resource of phytoestrogens.

**Keywords:** *Moringa oleifera* leaves, ethanol extracts, aqueous extract, estrogenic effect, ovariectomized mice,  $17\beta$ -estradiol content.

### 1. Đặt vấn đề

Chùm ngây được sử dụng nhiều trong thực phẩm và dược phẩm [1]. Quả chùm ngây có tác dụng làm giảm cholesterol và lipid máu. Vỏ thân chùm ngây có tác dụng hạ sốt, trị đau bao tử, đau bụng kinh, sâu răng. Dầu từ hạt để trị phong thấp [6].

Ở Việt Nam, chùm ngây được dùng để chữa các bệnh như: u xơ tiền liệt tuyến, suy nhược cơ thể, suy nhược thần kinh; có tác dụng ổn định huyết áp, ổn định đường huyết, bảo vệ gan, hạ cholesterol, hạ lipid máu, hạ triglycerid, hoặc làm giảm acid uric, ngăn ngừa sỏi oxalat. Rễ chùm ngây còn được đồng bào dân tộc Raglay dùng làm thuốc ngừa thai. Lá chùm ngây chứa nhiều vitamin A, C dùng chữa bệnh scorbut và các bệnh

viêm, có công dụng sát trùng, kháng nấm và làm tan máu bầm. Lá làm trà trị bệnh loét dạ dày và tiêu chảy [6].

Những nghiên cứu trước đây theo hướng tác dụng kiểu nội tiết tổ sinh dục nữ (estrogen) cho thấy cao lá chùm ngây cho chuột cống trắng cái chủng *Charles Foster* uống liều 175 mg/kg từ ngày 5 đến ngày 10 sau khi ghép với chuột đực có tác dụng gây sảy thai 100% [4, 5]. Với mục tiêu tìm nguồn dược liệu trong nước có tác dụng phòng và chữa một số bệnh liên quan đến estrogen, đề tài tiến hành nghiên cứu tác dụng kiểu estrogen của các cao chiết cồn và cao chiết nước từ lá chùm ngây (*Moringa oleifera* Lamk., Moringaceae) trên cơ địa chuột nhắt trắng cái bình thường và chuột bị gây giảm năng sinh dục.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Lá chàm ngây được cung cấp bởi Phòng Nông nghiệp Huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang. Chiết đạo nước từ lá chàm ngây được thực hiện bằng phương pháp chiết nóng với nước theo tỷ lệ 1:15 (bột dược liệu:nước) trong 1 giờ, thu dịch nước và cô cách thủy đến khi đạt tiêu chuẩn cao mềm theo Dược điển Việt Nam IV. Chiết cao cồn từ lá chàm ngây được thực hiện bằng phương pháp chiết ngâm kiệt theo tỉ lệ 1:10 với cồn 70%. Thu dịch cồn và cô cách thủy đến khi đạt tiêu chuẩn cao mềm theo Dược điển Việt Nam IV. Các liều thử nghiệm của cao được chọn tương đương với 5 g và 10 g dược liệu.

### 2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng cái, chủng *Swiss albino*, được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế - TP. Nha Trang, gồm: chuột non 3-4 tuần tuổi, có trọng lượng 16-18g và chuột trưởng thành 7-8 tuần tuổi, có trọng lượng 23-25g. Chuột được nuôi bằng thực phẩm viên, nước uống đầy đủ và được để ổn định ít nhất một tuần trước khi thử nghiệm. Thể tích cho uống là 10 ml/kg thể trọng chuột.

### 2.3. Thuốc thử nghiệm

Progynova<sup>®</sup> (Bayer Co. Germany, chứa estradiol valerate 2 mg/viên) pha trong dầu ôliu và được sử dụng làm thuốc đối chiếu.

### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Gây mô hình chuột nhắt trắng giảm năng sinh dục [3]:

Chuột nhắt cái được gây mê bằng ether, cắt hai đường dài khoảng 0,5 cm ngang lưng chuột ở hai bên trái và phải, tính từ đốt sống thứ 4 và kéo 2 buồng trứng ra ngoài. Dùng chỉ cột một phần ống dẫn trứng lại sau đó cắt bỏ 2 buồng trứng. Khâu vết mổ bằng chỉ vô trùng và sát trùng vết thương bằng dung dịch cồn iod (Povidine<sup>®</sup>). Chuột sau khi cắt buồng trứng được chăm sóc và để ổn định

trong 2 tuần. Sau 2 tuần, khảo sát vết phết dịch nhờn âm đạo trong 5 ngày để xác định chuột đã bị cắt bỏ hoàn toàn buồng trứng. Loại bỏ các động vật có các vết phết động dục dương tính (giai đoạn estrus) trong 3 ngày cuối. Cho uống một liều estrogen mỗi (Progynova<sup>®</sup> pha trong dầu ôliu), khảo sát vết phết dịch nhờn âm đạo trong 3 ngày để xác định khả năng đáp ứng của động vật. Các động vật không cho các vết phết động dục dương tính, nghĩa là không có đáp ứng, sẽ bị loại bỏ.

2.4.2. Đánh giá chu kỳ động dục của chuột non [2]:

Cho chuột cái non uống thuốc thử nghiệm trong 15 ngày, quan sát hàng ngày trạng thái và độ mờ của âm đạo bằng kính lúp để quan sát các dấu hiệu động dục. Tác động kiểu estrogen được đánh giá dựa vào các dấu hiệu của giai đoạn tiền động dục (Proestrus: âm đạo mờ, các mô có màu hồng đỏ, ẩm ướt và có nhiều nếp gấp chạy dọc theo chiều dọc của 2 môi âm vật) hay giai đoạn động dục (Estrus: các dấu hiệu tương tự như proestrus, nhưng các mô có màu hồng sáng hơn và ít ẩm ướt, các nếp gấp cũng rõ ràng hơn). Ghi nhận thời gian xuất hiện giai đoạn động dục tính từ lúc cho chuột uống thuốc thử nghiệm.

2.4.3. Phương pháp Allen-Doisy [3]:

Dựa vào sự thay đổi các thành phần của chất nhờn âm đạo xảy ra trong chu kỳ động dục của chuột trên tiêu bản vết phết dịch nhờn âm đạo. Tác động kiểu estrogen được đánh giá dựa trên sự xuất hiện những tế bào sừng hóa (giai đoạn estrus) hay tế bào bì mô có nhân (giai đoạn proestrus) và sự khiếm diện của bạch cầu trong chất nhờn âm đạo của chuột cái. Chuột trưởng thành, bình thường được cho uống thuốc thử nghiệm trong 15 ngày và khảo sát vết phết dịch nhờn âm đạo hàng ngày. Chuột bị giảm năng sinh dục được cho uống thuốc thử nghiệm trong 15 ngày và khảo sát vết phết dịch nhờn âm

đạo từ ngày thứ 8. Cách tính tỷ lệ % động dục dương tính:  $\% = (S / n \times m) \times 100$  (trong đó: S là số lần xuất hiện giai đoạn estrus và proestrus trong toàn lô; n là số chuột trong lô; m là số lần lấy dịch nhón âm đạo).

#### 2.4.4. Phương pháp Astwood [3]:

Tác động kiểu estrogen của thuốc thử nghiệm được đánh giá qua sự thay đổi trọng lượng tử cung-buồng trứng ở chuột bình thường và trọng lượng tử cung ở chuột bị cắt 2 buồng trứng. Chuột non, chuột trưởng thành và chuột bị giảm năng sinh dục được cho uống thuốc thử nghiệm trong 15 ngày. 24 giờ sau lần dùng thuốc cuối cùng, giết chuột. Giải phẫu và cân trọng lượng tử cung, buồng trứng (mg %).

#### 2.4.5. Định lượng $17\beta$ -estradiol trong huyết tương bằng kỹ thuật ELISA:

Thực hiện theo hướng dẫn của  $17\beta$ -estradiol - EASIA Kit (GenWay Biotech Inc.) dựa trên nguyên tắc ELISA cạnh tranh. Nồng độ của estradiol trong mẫu được xác định bằng cách tham chiếu trên đường cong chuẩn. Chuột trưởng thành và chuột bị giảm năng sinh dục được cho uống thuốc thử

thử nghiệm trong 15 ngày. 24 giờ sau lần dùng thuốc cuối cùng, lấy máu đuôi định lượng nồng độ  $17\beta$ -estradiol trong huyết tương.

#### 2.4.6. Đánh giá kết quả:

Các số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình:  $M \pm SEM$  (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 Student - Newman - Keuls test (phần mềm Jandel Scientific SigmaStat). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi  $P < 0,05$  so với lô đối chứng.

### 3. Kết quả

#### 3.1. Kết quả khảo sát về giai đoạn động dục

Ở chuột cái non, cao nước và cao cồn đều có tác dụng làm xuất hiện sự mở âm đạo sớm hơn so với lô đối chứng. Ở chuột cái trưởng thành bình thường và chuột cái bị gây giảm năng sinh dục, cao nước và cao cồn đều có tác dụng làm tăng tỷ lệ % động dục dương tính so với lô đối chứng. Tác dụng làm tăng tỷ lệ % động dục dương tính của các cao chiết từ lá chùm ngây trên chuột bị gây giảm năng sinh dục diễn hình hơn trên chuột bình thường.

**Bảng 1.** Kết quả khảo sát dấu hiệu động dục của chuột non (sự mở âm đạo) và tỷ lệ % động dục dương tính ở các lô chuột trưởng thành bình thường và chuột bị giảm năng sinh dục

Lô thử nghiệm N - 10-12	Liều (mg/kg)	Thời gian xuất hiện sự mở âm đạo của chuột non (ngày)	Tỷ lệ (%) động dục dương tính	
			Chuột trưởng thành	Chuột giảm năng sinh dục
Đối chứng	-	10	40,5	13,8
Cao nước	1,3	5	62,7	76,2
	2,6	7	64,7	62,5
Cao cồn 70%	0,625	-	60,0	65,0
	1,25	8	57,3	70,7
Progynova®	0,1	3	100	100
	0,5	1	100	100

#### 3.2. Khảo sát trọng lượng tử cung-buồng trứng

Trên chuột non, lô chuột uống cao nước (2,6 g/kg) và cao cồn (1,25 g/kg) từ lá chùm

ngây làm tăng trọng lượng tử cung-buồng trứng đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng. Trên chuột trưởng thành bình thường, cao nước và cao cồn không ảnh

hường trên trọng lượng tử cung-buồng trứng. Trên cơ địa chuột bị gây giảm năng sinh dục, trọng lượng tử cung của lô chuột chứng giảm rất nhiều so với lô đối chứng bình thường. Trọng lượng tử cung của lô chuột uống cao nước (1,3 g/kg) và cao côn (1,25 g/kg) từ lá chùm ngây tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng. Kết hợp với

kết quả khảo sát trên tỷ lệ % động dục dương tính, có thể sơ bộ nhận định rằng: cao nước liều 1,3 g/kg và cao côn liều 1,25 g/kg có tác dụng kiểu estrogen điển hình hơn các liều thử nghiệm khác và sự biểu hiện tác dụng kiểu estrogen của các cao chiết từ lá chùm ngây chưa điển hình trên cơ địa chuột trưởng thành bình thường.

Bảng 2. Trọng lượng tử cung-buồng trứng của các lô chuột non, chuột trưởng thành bình thường và chuột bị gây giảm năng sinh dục

Lô thử nghiệm N = 10-12	Liều (mg/kg)	Trọng lượng tử cung- buồng trứng (mg%)		Trọng lượng tử cung (mg%)
		Chuột non	Chuột trưởng thành	Chuột giảm năng sinh dục
Đối chứng	-	113,15 ± 5,40	202,65 ± 10,00	94,47 ± 7,34#
Cao nước	1,3	145,77 ± 14,89	207,56 ± 20,74	178,60 ± 21,38*
	2,6	156,93 ± 9,92*	206,42 ± 25,03	106,21 ± 9,00
Cao côn 70%	0,625	143,25 ± 8,40	194,10 ± 11,54	110,27 ± 6,69
	1,25	219,37 ± 20,31*	225,45 ± 13,34	130,58 ± 5,22*
Progynova®	0,5	237,18 ± 15,47*	869,92 ± 89,51*	248,19 ± 4,55*

\* P < 0,05 so với lô đối chứng tương ứng.

# P < 0,05 so với lô đối chứng của chuột trưởng thành bình thường.

### 3.3. Kết quả định lượng 17β-estradiol trong huyết tương

Trên cơ địa chuột bị gây giảm năng sinh dục, nồng độ 17β-estradiol trong huyết tương của lô đối chứng giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng sinh lý. Các liều cao chiết có tác dụng estrogen điển hình trong kết

quả phần 3.1 và 3.2 được chọn để khảo sát ảnh hưởng trên nồng độ 17β-estradiol trong huyết tương. Kết quả ở bảng 3 cho thấy nồng độ 17β-estradiol trong huyết tương của lô chuột uống cao nước (1,3 g/kg) và cao côn (1,25 g/kg) tăng đạt ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng.

Bảng 3. Nồng độ 17β-estradiol trong huyết tương của các lô chuột bị gây giảm năng sinh dục

Lô thử nghiệm N = 10-12	Mẫu thử	Liều (mg/kg)	Nồng độ 17β-estradiol (pg/ml)
Đối chứng sinh lý	-	-	20,074 ± 1,001
Chuột giảm năng sinh dục	Đối chứng nước cất	-	11,190 ± 0,852 #
	Đối chứng dầu ôliu	-	19,822 ± 1,329 *
	Cao nước	1,30	17,927 ± 0,584 *
	Cao côn 70%	1,25	19,964 ± 2,603 *
	Progynova®	0,1	40,564 ± 3,464 *
		0,5	89,469 ± 11,350 *

\* P < 0,05 so với lô đối chứng tương ứng.

# P < 0,05 so với lô đối chứng sinh lý.

#### 4. Bàn luận

Các nghiên cứu *in vivo* để khảo sát tác dụng kiểu estrogen của những phytoestrogen thường lựa chọn các khảo sát trên loài gặm nhấm và trên các đối tượng như động vật chưa trưởng thành (hoạt động của nội tiết tố sinh dục chưa hoàn chỉnh) hay động vật bị hủy tuyến yên (cơ quan trung ương điều hành hoạt động của các cơ quan sinh dục) hay động vật bị gây giảm năng sinh dục (động vật bị cắt hai buồng trứng để loại ảnh hưởng của các estrogen nội sinh). Do đó, để tải chọn đối tượng chuột non và chuột bị cắt buồng trứng để khảo sát tác dụng kiểu estrogen của lá chùm ngây. Kết quả nghiên cứu trên sự mờ âm đạo của chuột non, trên vết phết dịch âm đạo và trọng lượng tử cung cho thấy các cao chiết nước và cao chiết cồn từ lá chùm ngây không thể hiện tác dụng estrogen trên chuột trưởng thành bình thường nhưng thể hiện tác

dụng estrogen tương đối rõ hơn trên chuột non và chuột bị gây giảm năng sinh dục. Tuy nhiên, tác dụng estrogen của lá chùm ngây yếu hơn so với thuốc đối chiếu Progynova®, là một estrogen tổng hợp thể hiện tác dụng estrogen trên cả ba đối tượng chuột trưởng thành bình thường, chuột non và chuột bị gây giảm năng sinh dục. Kết quả này cho thấy ưu điểm của dược liệu là chỉ thể hiện tác dụng điển hình trong các trường hợp bệnh lý, ít thể hiện tác dụng trên cơ địa bình thường do đó hạn chế được những tác dụng phụ không mong muốn.

#### 5. Kết luận

Tổng hợp các kết quả thu được có thể kết luận rằng cao chiết cồn và cao chiết nước từ lá chùm ngây có tác dụng kiểu estrogen.

*Lời cảm ơn:* Đề tài nhận được sự tài trợ từ Chương Trình Y tế (2010-2012) của Sở Khoa học và Công nghệ TP.HCM.

#### Tài liệu tham khảo

1. Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. (2007), *Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal use*. Phytother. Res.; 21 (1):17-25.
2. Champlin, A.K., Dorr D.L, Gates, A.H. (1973). Biol. Reprod., 8:191-194.
3. Nguyễn Hoàng Linh, Bùi Mỹ Linh (2010), *Thử nghiệm hoạt tính estrogen của mầm hạt đậu nành*, Y Học TP.HCM, tập 14, phụ bản số 1, 73-79.
4. Shukla S, Mathur R, Prakash AO (1988). *Antifertility profile of the aqueous extract of Moringa oleifera roots*. J. Ethnopharmacol.; 22:51-62.
5. Shukla S, Mathur R, Prakash AO. (1988), *Biochemical and physiological alterations in female reproductive organs of cyclic rats treated with aqueous extract of Moringa oleifera Lamk*. Acta Eur. Fert.; 19(4):225-232.
6. Viện Dược Liệu (nhóm tác giả) (2004), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật; Tập 1, 457-460.