



Nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày của cao chiết cây Trai hoa trần (*Murdannia Nudiflora* (L.) Brenan) trên thực nghiệm

RESEARCHING ON THE ANTI-PEPTIC ULCER EFFECT OF MURDANNIA NUDIFLORA (L.) BRENNAN EXTRACT IN EXPERIMENT

Lê Hồng Dương^{1,3}, Vũ Đức Lợi^{1,2}, Vũ Thị Thúy Linh²
Nguyễn Thúc Thu Hương¹, Nguyễn Thị Vân Anh³

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Học viện Y-Dược học cổ truyền Việt Nam

³Trường Đại học Khoa học và Công Nghệ Hà Nội

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng chống loét dạ dày của cao phân đoạn ethyl acetat cây Trai hoa trần (ký hiệu MNC2) trên thực nghiệm.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: MNC2 đạt tiêu chuẩn cơ sở. Nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày của mẫu MNC2 trên mô hình gây loét dạ dày bằng indomethacin.

Kết quả: Nghiên cứu này cho thấy mẫu MNC2 có xu hướng làm giảm số lượng tổn thương so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), nhưng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống liều cao ($p < 0,05$).

Kết luận: MNC2 có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày trên mô hình gây loét dạ dày bằng indomethacin ở chuột cống trắng, với liều 360 mg cao/kg có tác dụng ức chế loét 25,25% so với lô mô hình. Tuy nhiên, liều này chưa thể hiện được tác dụng cải thiện mức độ một số tổn thương trên vi thể.

Từ khóa: Trai hoa trần, *Murdannia nudiflora*, tác dụng chống loét dạ dày

SUMMARY

Objective: To evaluate the anti-peptic ulcer effect of ethyl acetate extract of *Murdannia nudiflora* (L.) Brenan (MNC2) in experiment.

Subjects and methods: MNC2 that met the basic quality standard was used to conduct the experiment on the model of peptic ulcers caused by indomethacin.

Results: The MNC2 tended to reduce the number of lesions compared to the model group, but the difference is not statistically significant ($p > 0.05$). It reduced the ulcer index compared to the model group, with a statistically significant difference in the high dose group ($p < 0.05$).

Conclusions: MNC2 protects the gastric mucosa in the model of peptic ulcers caused by indomethacin in white rats. At a dose of 360 mg/kg, it has the effect of inhibiting ulcers 25.25% compared to the model group. However, this dose has not yet been shown to improve the level of some microscopic lesions.

Keywords: *Murdannia nudiflora*, anti-peptic ulcer effect.

Tác giả liên hệ: Lê Hồng Dương

Điện thoại: 0356128243

Email: lehngduong@gmail.com

Mã DOI: <https://doi.org/10.60117/vjmap.v55i2.276>

Ngày nhận bài: 14/11/2023

Ngày phản biện: 21/03/2024

Ngày chấp nhận đăng: 31/07/2024



ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm loét dạ dày là bệnh lý phổ biến ở nước ta cũng như trên thế giới, chiếm từ 5-10% dân số. Bệnh là hậu quả của sự mất cân bằng giữa các yếu tố tấn công và yếu tố bảo vệ niêm mạc. Theo Y học cổ truyền (YHCT), viêm loét dạ dày được xếp vào phạm vi của chứng “Vị quản thống” [1]. Nhiều vị thuốc YHCT đã được nghiên cứu áp dụng điều trị bệnh loét dạ dày đem lại hiệu quả tốt như Dạ cẩm, Chè dây, Chút chít, Khôi tía, Bồ công anh...[1]. Bên cạnh đó cây Trai hoa trần từ lâu đã được sử dụng để điều trị bệnh dạ dày đóng vai trò như một chất làm săn se, chóng liền vết loét, bảo vệ niêm mạc dạ dày [2]. Trong một số nghiên cứu trên thế giới về thành phần hóa học của cây Trai hoa trần có một số nhóm hợp chất như alcaloid, saponin, tannin và flavonoid có tác dụng chống viêm, giảm đau và làm săn se niêm mạc rất tốt. Để cung cấp bằng chứng khoa học về tính an toàn và hiệu quả của cao chiết từ cây Trai hoa trần, chúng tôi tiến hành: Nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày của cao chiết từ cây Trai hoa trần (*Murdannia nudiflora* (L.) Bernan) trên thực nghiệm.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Cao phân đoạn ethyl acetat từ phần trên mặt đất của cây Trai hoa trần (*Murdannia nudiflora* (L.) Bernan), ký hiệu là MNC2.

Cây Trai hoa trần thu hái vào tháng 2/2023, được rửa sạch, phơi, sấy khô, bảo quản túi nilon kín.

Quy trình chiết cao:

Phần trên mặt đất của cây (3,0kg) được ngâm chiết bằng dung môi EtOH 80% (3 lần, mỗi lần 10L), sử dụng thiết bị chiết siêu âm ở 40°C trong vòng 30 phút. Lọc các dịch chiết EtOH thu được qua giấy lọc, gộp dịch lọc và cất loại dung môi dưới áp suất giảm, thu được 220g cao chiết tổng ethanol. Hoà cao tổng với 1 lít nước rồi chiết phân bố với các dung môi có độ phân cực tăng dần: n-hexan, ethyl acetat. Các dịch chiết n-hexan, EtOAc được cất loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được phân đoạn tương ứng n-hexan (35,1g) và etyl acetat (46,2g). Sử dụng

cao phân đoạn ethyl acetat để nghiên cứu độc tính và tác dụng chống loét dạ dày. Phân tán cao khô phân đoạn ethyl acetat này trong nước rồi dùng cho chuột uống theo liều thử như mô hình.

Động vật thí nghiệm

Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, khỏe mạnh, cân nặng $200 \pm 20g$ do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội, 5-10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột, uống nước tự do.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được triển khai tại Bộ môn Dược lý Trường Đại học Y Hà Nội và Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội từ tháng 09/2022 tới tháng 01/2024.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu:

Thử nghiệm trên động vật có nhóm đối chứng. Đánh giá tác dụng chống viêm và bảo vệ niêm mạc dạ dày trên mô hình thực nghiệm gây viêm loét dạ dày bằng indomethacin ở chuột cống trắng.

Cỡ mẫu và cách tiến hành:

Cỡ mẫu: 55 chuột cống trắng chủng Wistar

Cách tiến hành: Tác dụng chống loét dạ dày của các mẫu nghiên cứu được đánh giá trên mô hình gây loét dạ dày bằng uống indomethacin (INDO) liều duy nhất 40mg/kg trên chuột cống trắng [3]. Chuẩn bị: Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô nghiên cứu, mỗi lô 11 con, với tỉ lệ đực/cái như nhau ở mỗi lô.

- + Lô 1 (Chứng sinh học): Uống nước cất 10ml/kg
- + Lô 2 (Mô hình): Uống nước cất 10ml/kg + uống INDO.
- + Lô 3 (Misoprostol): Uống Xmisoprostol 50µg/kg + uống INDO
- + Lô 4 (MNC2 liều cao): Uống MNC2 liều 360mg cao/kg + uống INDO
- + Lô 5 (MNC2 liều thấp): Uống MNC2 liều 180mg cao/kg + uống INDO



Chuột ở các lô được uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục trong thời gian 10 ngày. Tại ngày thứ 10 của nghiên cứu, sau 1 giờ uống thuốc, chuột ở các lô từ 2 đến 5 được uống INDO liều 40mg/kg một lần duy nhất. Chuột được nhịn ăn 18 tiếng trước khi uống INDO. Sau 6 giờ kể từ khi uống INDO, tất cả các chuột được gây mê bằng chloral hydrat, mổ bụng, quan sát dạ dày để đánh giá kết quả.

- Tất cả chuột được đánh số mã hóa, nghiên cứu viên làm mù để không biết chuột ở lô nào, nhằm mục đích hạn chế sai số.

- Chuột được mổ bụng, bộc lộ dạ dày. Phần ống tiêu hóa từ thực quản (sát tâm vị) đến ruột non (cách môn vị 3cm) được cắt riêng rẽ, mở tá tràng và dạ dày bằng kéo theo đường bờ cong lớn. Rửa sạch bằng nước muối sinh lý, thấm bề mặt vết loét bằng formaldehyd 5%, cố định dạ dày- tá tràng trên tấm xốp bằng ghim.

- Quan sát bằng kính lúp độ phóng đại 10 lần, đánh giá mức độ loét theo thang điểm của Raish M và cộng sự (2021) [4] như sau:

- + Dạ dày bình thường (Normal stomach): 0 điểm.

- + Sung huyết (Red coloration): 0,5 điểm.
- + Xuất huyết (Hemorrhagic spots): 1,0 điểm.
- + 1-5 loét nhỏ (1-5 small ulcers): 2,0 điểm
- + Nhiều loét nhỏ (many small ulcers): 3,0 điểm.
- + Nhiều loét nhỏ và lớn (many small and large ulcers): 4,0 điểm.
- + Thủng dạ dày (stomach full of ulcers with perforations): 5,0 điểm.

Đánh giá kết quả:

- + Tỷ lệ chuột có loét dạ dày ở mỗi lô nghiên cứu.
- + Số lượng tổn thương dạ dày trung bình ở mỗi lô.
- + Chỉ số loét (Ulcer Index – UI) là điểm mức độ loét đại thể của mỗi lô.
- + Phần trăm ức chế loét được tính theo công thức:

$$\% \text{ Ức chế loét} = \frac{(\text{UI mô hình} - \text{UI thuốc thử}) \times 100}{\text{UI mô hình}}$$

- + Hình ảnh đại thể dạ dày chuột.

Thang điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày

	Điểm 0	Điểm 1	Điểm 2	Điểm 3
Độ sâu của tổn thương trượt	Tế bào bình thường, không tổn thương trượt	Lên đến 1/3 độ dày niêm mạc	Lên đến 2/3 độ dày niêm mạc	Toàn bộ niêm mạc
Độ sâu của tổn thương loét	Tế bào bình thường, không tổn thương loét	Tổn thương giới hạn tại cơ niêm	Tổn thương vượt qua cơ niêm, giới hạn ở tầng dưới niêm mạc	Tổn thương loét sâu đến tầng cơ
Xuất huyết	Tế bào bình thường, không xuất huyết	Tại chỗ	Nhẹ	Nặng
Viêm	Tế bào bình thường, không viêm	Có thể quan sát được	Nhẹ	Nặng
Apoptosis	Tế bào bình thường, không apoptosis	Có thể quan sát được	Nhẹ	Nặng

+ Hình ảnh vi thể dạ dày của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô. Đánh giá mức độ tổn thương trên hình ảnh vi thể dạ dày theo thang điểm của Simões S và cộng sự [5] và được điều chỉnh như trong bảng trên. Điểm tổn thương vi thể được tính bằng tổng điểm của các tham số đánh giá, với điểm tối đa có thể là 15.

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và SPSS 22.0, kết quả nghiên cứu thể hiện bằng tỷ lệ %, $\bar{X} \pm SD$, sử dụng T-test thống kê. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

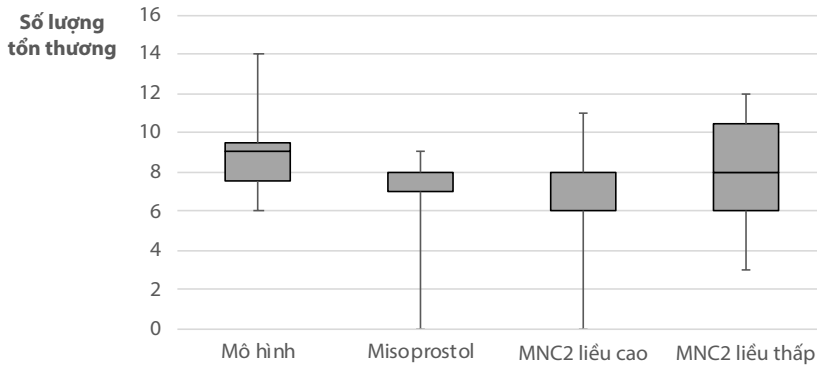
Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đảm bảo vấn đề đạo đức trong nghiên cứu trên động vật thực nghiệm.



KẾT QUẢ

Kết quả nghiên cứu tác dụng chống loét dạ dày của MNC2 trên thực nghiệm
Ảnh hưởng của MNC2 đến số lượng tổn thương ở dạ dày trong các lô nghiên cứu:



Biểu đồ 1. Số lượng tổn thương ở dạ dày trong các lô nghiên cứu

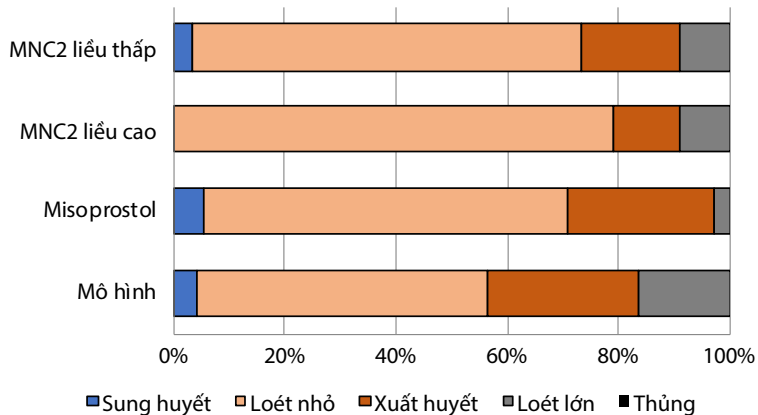
Bảng 1. Số lượng tổn thương trung bình ở dạ dày trong các lô nghiên cứu

Lô nghiên cứu	n	Tỷ lệ loét	Số tổn thương ($\bar{X} \pm SD$)
Lô 2: Mô hình	11	11/11	9,00 ± 2,41
Lô 3: Misoprostol	11	10/11	6,55 ± 2,88
Lô 4: MNC2 liều cao	11	10/11	7,00 ± 3,10
Lô 5: MNC2 liều thấp	11	11/11	8,18 ± 2,82

Kết quả biểu đồ và bảng trên cho thấy: 100% chuột ở lô mô hình có hình ảnh loét dạ dày. Misoprostol và các lô uống MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm số lượng

tổn thương trung bình so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của MNC2 đến mức độ tổn thương dạ dày ở các lô nghiên cứu:



Biểu đồ 2. Mức độ tổn thương dạ dày ở các lô nghiên cứu



Không quan sát thấy tình trạng thủng dạ dày ở tất cả các lô nghiên cứu. Loại tổn thương chủ yếu được quan sát thấy ở các lô nghiên cứu là loét nhỏ. Các lô được điều trị trước bằng misoprostol và MNC2 đều có tỷ lệ loét nhỏ cao hơn so với lô mô hình, cao nhất là MNC2 liều cao với 79,22%. Các loại tổn

thương nặng (xuất huyết, loét lớn) gặp với tỷ lệ cao nhất ở lô mô hình (43,43%), sau đó giảm dần theo thứ tự các lô như sau: misoprostol (29,17%) > MNC2 liều thấp (26,67%) > MNC2 liều cao (20,78%).

Ảnh hưởng của MNC2 đến chỉ số loét dạ dày ở các lô nghiên cứu:

Bảng 2. Chỉ số loét dạ dày ở các lô nghiên cứu

Lô nghiên cứu (n=11)	Tỷ lệ loét	Chỉ số loét (UI)	% ức chế loét
Lô 2: Mô hình	11/11	4,50 ± 0,63	---
Lô 3: Misoprostol	10/11	3,18 ± 1,27**	29,29
Lô 4: MNC2 liều cao	10/11	3,36 ± 1,50*	25,25
Lô 5: MNC2 liều thấp	11/11	4,00 ± 1,07	11,11

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ so với lô mô hình (Mann-Whitney U test)

Misoprostol làm giảm có ý nghĩa thống kê chỉ số loét so với lô mô hình ($p < 0,05$), tỷ lệ ức chế loét là 29,29%. MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô

uống MNC2 liều cao.

Ảnh hưởng của MNC2 đến hình ảnh mô bệnh học dạ dày chuột:

Mức độ tổn thương trên hình ảnh vi thể dạ dày chuột được đánh giá theo thang điểm của Simões S và cộng sự:

Bảng 3. Điểm đánh giá tổn thương vi thể dạ dày chuột

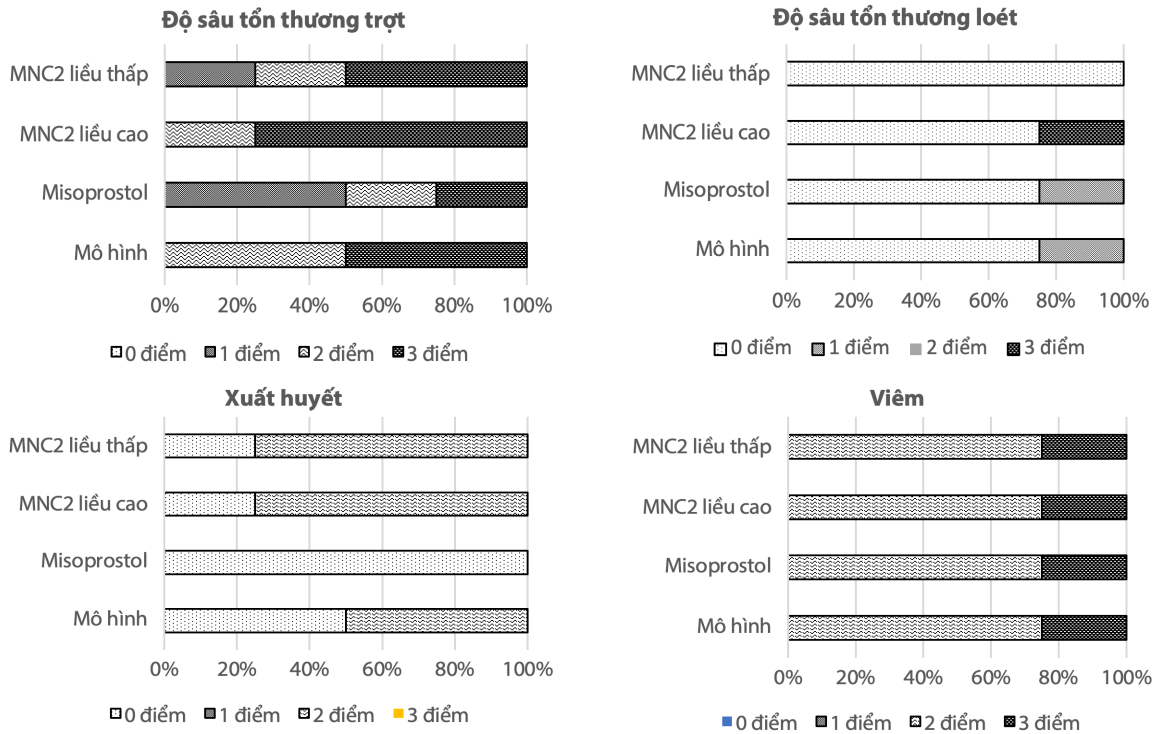
Lô nghiên cứu	Tổng điểm vi thể				Tổng điểm trung bình
	Mẫu DD1	Mẫu DD2	Mẫu DD3	Mẫu DD4	
Chứng	0	0	0	0	0,00
Mô hình	7	6	6	5	6,00 ± 0,82
Misoprostol	4	6	3	4	4,25 ± 1,26
MNC2 liều cao	11	7	7	4	7,25 ± 2,87
MNC2 liều thấp	7	6	7	4	6,00 ± 1,41

Mức độ tổn thương có xu hướng cải thiện ở lô uống misoprostol với điểm vi thể trung bình thấp hơn chưa có ý nghĩa thống kê so

với lô mô hình. Điểm vi thể trung bình ở các lô uống MNC2 chưa có sự cải thiện so với lô mô hình.



Điểm tổn thương của từng thông số đánh giá trên quan sát vi thể:



Biểu đồ 3. Các thông số đánh giá trên hình ảnh vi thể

Không có hình ảnh apoptosis ở tất cả các mẫu dạ dày. Độ sâu của tổn thương trượt: Mức độ trượt nặng được quan sát thấy ở lô mô hình và các lô uống MNC2 với $\geq 50\%$ mẫu dạ dày có độ sâu tổn thương ở mức toàn bộ niêm mạc (3 điểm). Misoprostol có tác dụng làm giảm mức độ trượt với 50% mẫu dạ dày có mức độ trượt chỉ lên đến 1/3 độ dày niêm mạc (1 điểm). Độ sâu của tổn thương loét: Tổn thương loét sâu đến tầng cơ chỉ được quan sát thấy ở 1/4 mẫu dạ dày của lô uống MNC2 liều cao. Tổn thương loét ở các lô mô hình, misoprostol có mức độ tổn thương giới hạn tại cơ niêm (1 điểm). 100% mẫu dạ dày của lô uống MNC2 liều thấp có hình ảnh tế bào bình thường, không tổn thương loét (0 điểm). Xuất huyết: Tình trạng xuất huyết nhẹ (2 điểm) được quan sát thấy ở $\geq 50\%$ mẫu dạ dày của các lô mô hình và 2 lô uống MNC2. Viêm: Tất cả các mẫu dạ dày đều có tình trạng viêm, phần lớn có mức độ viêm nhẹ (2 điểm). Mức độ viêm nặng (3 điểm) được quan sát thấy ở 1/4 mẫu dạ dày ở cả 4 lô gây loét bằng INDO.

BÀN LUẬN

Cơ chế bảo vệ niêm mạc dạ dày có nhiều trong đó 2 cơ chế hay được đề cập đến là bao phủ vết loét ngăn cản sự tấn công của acid, pepsin và kích thích tiết chất nhầy thông qua kích thích tổng hợp prostaglandin. Indomethacin nói riêng và các thuốc chống viêm không steroid nói chung ức chế enzym cyclooxygenase do đó làm giảm tổng hợp prostaglandin dẫn đến giảm bài tiết chất nhầy và bicarbonat, tạo điều kiện cho HCl và pepsin tấn công gây tổn thương niêm mạc và hệ thống mạch máu dưới niêm mạc, giảm lưu lượng máu nuôi dưỡng niêm mạc gây viêm loét dạ dày [6]. Do đó, gây loét dạ dày bằng indomethacin là mô hình kinh điển dùng để nghiên cứu tác dụng bảo vệ dạ dày của thuốc theo cơ chế tăng cường yếu tố bảo vệ mà chủ yếu là tăng chất nhầy bảo vệ niêm mạc. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng indomethacin liều 40mg/kg dùng một lần duy nhất đường uống để gây mô hình loét dạ dày ở chuột cống trắng. Đây là mô hình được sử dụng từ lâu, tuy



nhiên hiện nay vẫn rất phổ biến trên thế giới [7],[8].

Kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy, các lô uống MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm số lượng tổn thương trung bình so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), các loại tổn thương nặng (xuất huyết, loét lớn) gặp với tỷ lệ cao nhất ở lô mô hình (43,43%), sau đó giảm dần theo thứ tự các lô như sau: misoprostol (29,17%) > MNC2 liều thấp (26,67%) > MNC2 liều cao (20,78%). Mẫu MNC2 ở các mức liều nghiên cứu đều có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được quan sát thấy ở lô uống MNC2 liều cao ($p < 0,05$), tỷ lệ ức chế loét là 25,25%. Cơ chế gây loét của Indomethacin là làm giảm tiết chất nhày. Vì vậy, MNC2 có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày chống loét một phần do kích thích tiết chất nhày ở niêm mạc dạ dày. Do kết quả nghiên cứu MNC2 ở liều thấp 180mg cao/kg chưa thấy tác dụng. Điều đó cũng có nghĩa là tác dụng bảo vệ dạ dày của MNC2 hoàn toàn không phải trung hòa acid tức thì mà có thể tác dụng theo cơ chế đã nói trên. Tác dụng của MNC2 liều cao tương đương misoprostol liều 50 μ g/kg. Misoprostol là thuốc tương tự prostaglandin E1 có khả năng chống loét do kích thích tiết nhày và bicarbonat ở dạ dày, duy trì lượng máu đến niêm mạc dạ dày.

Từ kết quả nghiên cứu này có thể nhận định MNC2 liều 360 mg/kg có tác dụng bảo vệ dạ dày theo cơ chế tăng cường bảo vệ niêm mạc, bao phủ và kích thích tiết chất nhày và bicarbonat.

KẾT LUẬN

Cao chiết phân đoạn ethyl acetat cây Trai hoa trần liều có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày trên mô hình gây loét dạ dày chuột cống trắng bằng indomethacin, với liều 360 mg cao/kg có tác dụng ức chế loét 25,25% so với lô mô hình, sự khác biệt chỉ số loét có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Nhà nước, mã số: ĐTĐL.CN-27/21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Bộ Y Tế.** *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh theo y học cổ truyền, kết hợp y học hiện đại*, Nhà xuất bản Y học, 2020, pp.111.
- 2. Patwari Bhargab, et al.** Phytochemical standardization and analgesic activity of *Murdannia nudiflora* (L) Brenan. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014, 6(7), pp.512-515.
- 3. Ozbakiş Dengiz G, Gürsan N.** Effects of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) on indomethacin-induced ulcer model in rats. *Turk J Gastroenterol*, 2008, 16(2), pp.85-88.
- 4. Raish M, Shahid M, et al..** Gastroprotective Effect of Sinapic Acid on Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats: Involvement of Nrf2/HO-1 and NF- κ B Signaling and Antiapoptotic Role. *Front Pharmacol*, 2021,12:622815.
- 5. Simões S, Lopes R, et al.** Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation. *Animal Model Exp Med*, 2019, 2(2), pp.121-126.
- 6. Nguyễn Ngọc Lanh.** Cơ chế bệnh sinh loét dạ dày tá tràng. *Bài giảng sau đại học*, Bộ môn miễn dịch- Sinh lý bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội, 1999.
- 7. Anurag M, Sandeep A, et al..** Effect of *Feronia elephantum* (Corr) Fruit Pulp Extract on Indomethacin-induced Gastric Ulcer in Albino Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2009, 8(6), pp.509-514.
- 8. Dengz G, Nesrin G.** Effects of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) on indomethacin-induced ulcer model in rats. *Turk J Gastroenterol*, 2008, 16(2), pp.85-88.