

Nghiên cứu độc tính cấp và ảnh hưởng của konjac glucomannan đến khả năng dung nạp glucose trên chuột

Trần Thị Nữ^{1,2}, Đỗ Thị Nguyệt Quế³, Lại Thị Thúy^{2,4}, Nguyễn Hồng Vinh⁵, Nguyễn Kim Thanh⁴, Lê Thanh Hà⁴, Phạm Thị Bích Hạnh⁴, Trần Thị Ý Nhi^{4*}, Đỗ Trường Thiện⁴

¹Đại học Y Dược Thái Bình

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Đại học Dược Hà Nội

⁴Viện Hóa học, Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁵Đại học Bà Rịa – Vũng Tàu

Đến Tòa soạn 01-8-2017; Chấp nhận đăng 20-10-2017

Abstract

We herein evaluated the acute toxicity of glucomannan isolated from *Amorphophallus konjac* K. Koch and its effect on experimental animals using oral glucose tolerance test. The acute oral toxicity test on mice has shown that at the highest doses of 10 g/kg body weight/day, glucomannan is non-toxic to mice. With dose of 6g/kg body weight, blood glucose values after 30 minutes and 120 minutes were not statistically significant different from those in the control group, but the blood glucose levels were significantly decreased after 60 minutes.

Keywords. Konjac glucomannan, *Amorphophallus konjac*, toxicity.

1. MỞ ĐẦU

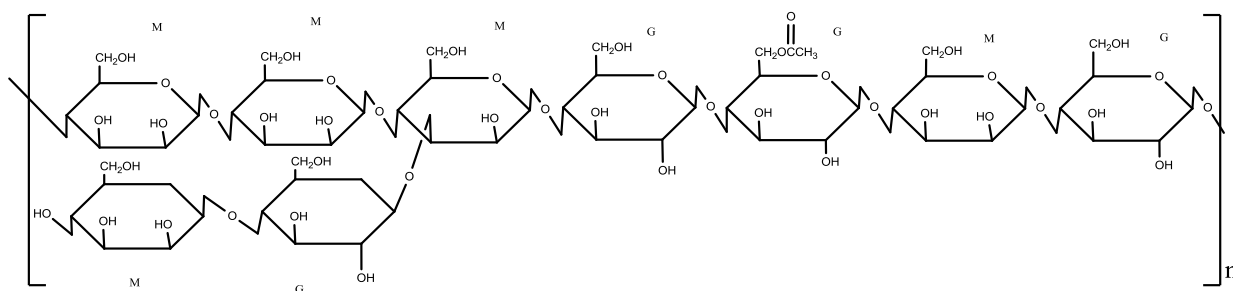
Glucomannan là polysaccharit có khối lượng phân tử lớn được cấu tạo bởi các mắt xích D-mannose và D-glucose liên kết với nhau bằng liên kết β -(1 \rightarrow 4) glucosit, mạch nhánh khoảng 8 % thông qua liên kết β -1,3-glucosit hoặc β -1,6-glucosit, độ axetyl khoảng 5÷10%. Tỷ lệ mannose/glucose phụ thuộc vào nguồn gốc glucomannan và thường dao động từ 1,6/1 đến 3,6/1. Konjac glucomannan (KGM) cũng là tên gọi chung của glucomannan tách từ các loài Nưa khác nhau thuộc chi *Amorphophallus*[1, 2].

Đái tháo đường (ĐTĐ) là bệnh rối loạn chuyển hóa mạn tính với số người mắc bệnh lớn và đang tăng nhanh. ĐTĐ tuýp 2, chiếm khoảng 90-95 % số bệnh nhân ĐTĐ, liên quan đến sự thiếu hụt insulin tương đối do rối loạn tiết insulin và hiện tượng kháng insulin. Vai trò của các chất xơ hòa tan đối với sức khỏe ngày càng được nhắc đến nhiều với các bằng chứng khoa học vững chắc. Glucomannan là một chất xơ hoà tan, không chứa năng lượng nên rất có lợi cho sức khoẻ. Các nghiên cứu khoa học đã chứng minh ngoài công dụng làm thực phẩm, glucomannan còn được sử dụng làm thực phẩm chức năng có tác dụng hỗ trợ điều trị tiểu đường, giảm béo, giảm cholesterol [2]....

Theo tài liệu nghiên cứu [4], bổ sung 3,6 g

glucomannan/ngày trong 28 ngày có tác dụng hỗ trợ giảm đường huyết sau ăn, cholesterol máu, lipid máu ở bệnh nhân tiểu đường type 2. Glucomannan còn hỗ trợ làm tăng độ nhạy của insulin, kiểm soát hội chứng kháng insulin, giảm nguy cơ mắc bệnh tim mạch ở bệnh nhân tiểu đường tuýp 2, giảm nồng độ lipid huyết tương và glucosơ máu, giảm cân và hỗ trợ điều trị cao huyết áp với liều sử dụng 1÷13 g/kg thể trọng/ngày. Việc bổ sung KGM làm cải thiện tốt mức độ lipid máu bởi sự tăng bài tiết qua phân của các sterol trung tính, acid mật và làm giảm mức gluco tăng cao trong bệnh tiểu đường [5-7]... Glucomannan có nhiều tính chất quý nên được ứng dụng trong rất nhiều lĩnh vực như: công nghiệp thực phẩm, công nghệ sinh học, y sinh và dược phẩm cũng như một số lĩnh vực khác... Theo đánh giá của Alonso-Sande M. glucomannan là loại vật liệu rất tiềm năng cho nhiều lĩnh vực, đặc biệt là cho lĩnh vực y dược học [3].

Nhằm tạo cơ sở cho việc sử dụng glucomannan trong việc hỗ trợ điều trị tiểu đường, béo phì, trong công trình nghiên cứu này chúng tôi công bố kết quả nghiên cứu về độc tính cấp và ảnh hưởng của glucomannan tách từ cây Nưa (*Amorphophallus Konjac* K. Koch) đến khả năng dung nạp glucose trên động vật thực nghiệm.



Sơ đồ 1: Cấu trúc hóa học của glucomannan tách từ cây *A.konjac* K. Koch

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu nghiên cứu

Glucomannan (95 %) từ cây *Amorphophallus Konjac* K. Koch được tách và tinh chế tại phòng thí nghiệm của chúng tôi theo tài liệu [8].

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Độc tính cấp: chuột nhắt trắng chủng Swiss, trọng lượng từ 18-22 g, khỏe mạnh, cả 2 giống, do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp. Tất cả chuột thực nghiệm được nuôi ổn định, uống nước tự do và theo dõi cân nặng trong suốt quá trình tiến hành thử nghiệm.

Khả năng dung nạp glucose: thí nghiệm được tiến hành trên chuột cống trắng, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng từ 160-180g, do học viện Quân y cung cấp. Động vật thí nghiệm sau khi mua về được nuôi 5 ngày trước khi thí nghiệm, được ăn viên thức ăn chuẩn do Viện Vệ sinh dịch tễ Hà Nội cung cấp, uống nước tự do.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Độc tính cấp

Tiến hành thử độc tính cấp với mô hình phân loại độc theo hướng dẫn của OECD số 425 [9]. Chuột nhắt trắng được nhịn đói 4 giờ trước khi uống mẫu thử, cho uống nước bình thường. Sau 4 giờ dùng mẫu thử với liều cao nhất có thể cho uống được. Thể tích mẫu thử mỗi lần cho chuột nhắt uống là 0,2 ml/10 g chuột. Chuột được cho ăn trở lại sau 2 giờ, nước uống bình thường. Theo dõi liên tục trong vòng 4 giờ đầu và tiếp tục theo dõi trong thời gian 7 ngày sau khi uống mẫu thử.

Chỉ tiêu theo dõi:

- Tình trạng chung của chuột: hoạt động tự nhiên, tư thế, màu sắc (mũi, tai, đuôi), lông, phân, nước tiểu...;

- Tỷ lệ chuột chết trong vòng 72 giờ: Khi có

chuột chết, mổ để quan sát đại thể các cơ quan phủ tạng. Nếu cần, có thể làm thêm vi thể để xác định nguyên nhân.

2.3.2. Khả năng dung nạp glucose

Chuột cống sau khi đã nuôi ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm được chia thành các lô:

Lô chứng: chứng trắng uống carboxymethyl xenlulo (CMC);

Lô gliclazid: cho uống gliclazid với liều 10mg/kg cân nặng;

Lô thuốc thử 1: cho uống glucomannan với liều 3g/kg cân nặng;

Lô thuốc thử 2: cho uống glucomannan với liều 6g/kg cân nặng

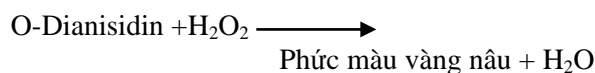
Test dung nạp glucose được tiến hành sau khi chuột uống mẫu thử 1 giờ (chuột được để nhịn đói 15 giờ trước đó).

Test dung nạp glucose được tiến hành cụ thể như sau: tại thời điểm 1 giờ sau khi cho chuột uống thuốc tiến hành định lượng glucose huyết, sau đó cho chuột uống glucose với liều 2 g/kg cân nặng (chuột được để nhịn đói 15 giờ trước đó). Định lượng glucose huyết ở các thời điểm sau khi cho uống glucose 30, 60 và 120 phút.

Phương pháp định lượng glucose huyết được tiến hành dựa theo nguyên tắc: phản ứng oxy hóa glucose thành axit gluconic được xúc tác bởi oxidase (GOD) như sau:



H_2O_2 tạo thành sẽ bị peroxidase phân huỷ và giải phóng O_2 , oxy hoá O-Dianisidin tạo thành phức chất có màu vàng nâu theo phản ứng:



Cường độ màu được xác định bằng phương pháp

đo quang.

Tiến hành định lượng glucose huyết: lấy máu đuôi chuột, bỏ giọt đầu tiên và để máu chảy tự nhiên. Nhỏ 1 giọt máu trực tiếp lên bộ phận nhận mẫu của máy. Máy tự động đo và hiển thị kết quả sau 15 giây.

Cách đánh giá kết quả: So sánh giá trị glucose huyết và mức độ tăng glucose huyết ở các thời điểm nghiên cứu so với thời điểm trước khi uống glucose của lô uống thuốc thử so với lô chứng tại cùng thời điểm để đánh giá tác dụng ức chế tăng glucose huyết của thuốc.

Mức độ tăng glucose huyết tại các thời điểm sau uống glucose so với ngay trước khi uống glucose được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{C_t - C_0}{C_0} \times 100$$

Trong đó: X là mức độ tăng glucose huyết (%); C_0 là nồng độ glucose huyết ngay trước khi uống glucose; C_t là nồng độ glucose huyết sau khi uống glucose

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá độc tính cấp của glucomanan

Tình trạng chuột ở các lô trong thời gian 4 giờ đầu, 72 giờ và 7 ngày được mô tả ở bảng 1. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau 72 giờ uống thuốc với liều cao nhất có thể cho uống là 10 g/kg, không có chuột nào chết.

Trong vòng 7 ngày dùng thuốc thử chuột hoạt động bình thường, phân và nước tiểu bình thường, niêm mạc hồng hào, lông mượt.

Như vậy, từ kết quả nghiên cứu cho thấy glucomanan không thể hiện độc tính ngay cả khi thử với liều cao nhất có thể cho uống (10g/kg). Có

thể kết luận glucomanan không độc.

Bảng 1: Mô tả tình trạng chuột ở các lô trong vòng 7 ngày

Lô	4 giờ đầu	Trong 72 giờ	Trong 7 ngày
	Chuột hoạt động bình thường, phân nước tiểu bình thường, phân xạ tốt với kích thích	Các chuột đều hoạt động bình thường, phân nước tiểu bình thường, niêm mạc hồng hào, lông mượt, phân xạ tốt với các kích thích	Chuột hoạt động, ăn uống bình thường, phân nước tiểu bình thường, niêm mạc hồng hào, lông mượt

3.2. Ảnh hưởng của glucomanan trên khả năng dung nạp glucose

Glucose huyết trung bình ở các thời điểm trước và sau cho uống glucose được trình bày trong bảng 2. Kết quả nghiên cứu cho thấy, giá trị glucose huyết ở lô chuột uống gliclazid với liều 10 mg/kg cân nặng thấp hơn glucose huyết của lô chứng rõ rệt ở các thời điểm ngay trước khi uống glucose, sau khi uống glucose 60, 90 và 120 phút ($p < 0,05$).

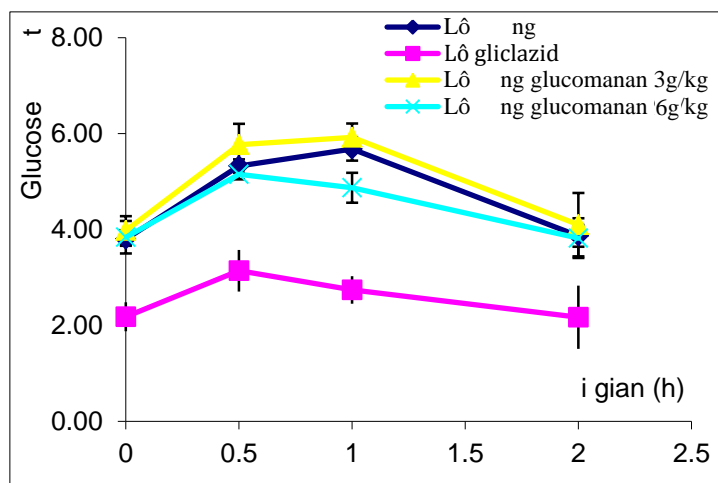
Glucose huyết ở lô uống glucomanan với liều 3g/kg cân nặng khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

Sau khi chuột uống glucomanan với liều 6g/kg cân nặng giá trị glucose huyết sau khi uống glucose 30 phút và 120 phút đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng nhưng glucose huyết tại thời điểm 60 phút sau khi cho uống glucose thấp hơn rõ rệt so với lô chứng ($p < 0,05$). Giá trị glucose huyết được ghi lại ở bảng 3.

Bảng 2: Glucose huyết trước và sau khi cho uống glucose

Tên lô	n	Glucose huyết trung bình mmol/l ($M \pm SE$)			
		Trước uống glucose	Sau uống glucose		
			30 phút	60 phút	120 phút
Lô chứng uống CMC 1%	9	3,80±0,20	5,32±0,28	5,68±0,25	3,87±0,25
Lô gliclazid uống gliclazid 10mg/kg	10	2,18±0,30 p < 0,01	3,14±0,44 p < 0,01	2,74±0,29 p < 0,01	2,17±0,66 p < 0,01
Lô thuốc thử 1 uống glucomanan 3g/kg	9	3,98±0,34 p > 0,05	5,77±0,10 p > 0,05	5,92 ± 0,31 p>0,05	4,10±0,41 p > 0,05
Lô thuốc thử 2 uống glucomanan 6g/kg	10	3,84±0,14 p > 0,05	5,15±0,14 p > 0,05	4,87±0,23 p < 0,05	3,82±0,23 p>0,05

p: so sánh với lô chứng tại cùng thời điểm.



Hình 1: Glucose huyết trước và sau khi cho uống glucose

Bảng 3: Tỷ lệ phần trăm tăng glucose huyết sau khi cho uống glucose so với thời điểm ngay trước khi cho uống glucose

Tên lô	n	Tỷ lệ phần trăm tăng glucose huyết trung bình $M \pm SE$		
		Sau 30 phút	Sau 60 phút	Sau 120 phút
Lô chứng uống CMC 1%	9	41,37±6,69	52,98±12,52	3,57±7,56
Lô gliclazid uống gliclazid 10mg/kg	10	45,03±7,76 $p > 0,05$	26,44±7,91 $p < 0,01$	(1,30)±11,40 $p > 0,05$
Lô thuốc thử 1 uống glucomanan 3g/kg	9	45,86±0,51 $p > 0,05$	50,44±0,85 $p > 0,05$	2,38±0,88 $p > 0,05$
Lô thuốc thử 2 uống glucomanan 6g/kg	10	35,82±7,86 $p > 0,05$	7,03±5,72 $p < 0,05$	0,09±6,66 $p > 0,05$

Từ kết quả thể hiện trên bảng 3 và hình 1 cho thấy ở lô chuột uống glucomanan với liều 6g/kg cân nặng, tại thời điểm 60 phút sau uống glucose, tỷ lệ tăng glucose huyết thấp hơn rõ rệt so với tỷ lệ tăng glucose huyết của lô chứng tại cùng thời điểm ($p < 0,05$). Sau 30 phút, và 120 phút sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

Ở lô chuột uống glucomanan với liều 3g/kg cân nặng, tỷ lệ tăng glucose huyết không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại tất cả các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

4. KẾT LUẬN

- Glucomanan không thể hiện độc tính ngay cả khi thử với liều cao nhất có thể cho uống (10 g/kg).

- Ở lô chuột uống glucomanan với liều 6 g/kg cân nặng, tại thời điểm 60 phút sau uống glucose, tỷ lệ tăng glucose huyết thấp hơn rõ rệt so với tỷ lệ tăng glucose huyết của lô chứng tại cùng thời điểm ($p < 0,05$). Sau 30 phút, và 120 phút sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Lời cảm ơn. Nghiên cứu này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài cơ sở, VHH.2017.2.12.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kaname Katsuraya. *Constitution of konjac glucomannan: chemical analysis and ^{13}C NMR spectroscopy*, Carbohydrate Polymers, **53**, 183-189 (2003).
2. Melinda Chuaa, Timothy C. Baldwin, Trevor J. Hocking, Kelvin Chan. *Traditional uses and potential health benefits of Amorphophallus konjac K. Koch ex N.E.Br*, Journal of Ethnopharmacology, **128**, 268-278 (2010).
3. Alonso-Sande M., Teijeiro-Osorio D., Remuán-López C., Alonso M.J. *Glucomannan, a promising polysaccharide for biopharmaceutical purposes*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **72**, 453-462 (2009).
4. Hsiao-Ling Chen, Wayne Huey-Herng Sheu, Tsai-Sung Tai, Yung-Po Liaw, and Yi-Chuan Chen. *Konjac supplement alleviated hypercholesterolemia and hyperglycemia in type 2 diabetic subjects-a*

- randomized double-blind trial*, Journal of the American College of Nutrition, **22(1)**, 36-42 (2003).
5. Nitesh Sood, William L Baker, and Craig I Coleman. *Effect of glucomannan on plasma lipid and glucose concentrations, body weight, and blood pressure: systematic review and meta-analysis*, American Society for Nutrition, **88**, 1167-75 (2008).
 6. Vuksan V., Sievenpiper J. L., Owen R., Swilley J. A., Spadafora P., Jenkins D. J., Vidgen E., Brighenti F., Josse R. G., Leiter L. A., Z Xu Z., and Novokmet R. *Beneficial effects of viscous dietary fiber from Konjac-mannan in subjects with the insulin resistance syndrome: results of a controlled metabolic trial*, Diabetes Care, **23**, 9-14 (2000).
 7. Vuksan V., Jenkins D.J., Spadafora P., Sievenpiper J. L., Owen R., Vidgen E., Brighenti F., Josse R.G., Leiter L. A., and Bruce-Thompson C. *Konjac-mannan (glucomannan) improves glycemia and other associated risk factors for coronary heart disease in type 2 diabetes. A randomized controlled metabolic trial*, Diabetes Care, **22**, 913-919 (1999).
 8. Trần Thị Ý Nhi, Trần Thị Nữ, Đỗ Trường Thiện, Phạm Thị Bích Hạnh, Lại Thị Thúy. *Nghiên cứu cấu trúc hóa học của glucomannan từ củ cây Nưa Amorphophallus konjac K. Koch thu tại Hà Giang, Việt Nam*, Tạp chí Hóa học, **52(6A)**, 228-232 (2014).
 9. OECD - Test Guideline for the Testing of Chemicals / Section 4: Health Effects Test No. 425: Acute oral toxicity – Up and Down procedure, 2001

Liên hệ: Trần Thị Ý Nhi

Phòng Polyme Thiên nhiên

Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Số 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

E-mail: ynhivh@gmail.com; Điện thoại: 01668721160.