

## PHẦN A: GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường (ĐTĐ) là bệnh rối loạn chuyển hoá mạn tính phức tạp có xu hướng ngày càng gia tăng, đặc biệt ở những nước đang phát triển trong đó có Việt Nam. Cho tới nay, mặc dù đã có rất nhiều các thuốc mới giúp cho các bệnh nhân ĐTĐ được điều trị tốt hơn nhưng các thuốc này giá thành còn cao nên bệnh nhân khó tiếp cận điều trị. Trong điều kiện đó, các nghiên cứu về thuốc YHCT được sự hỗ trợ của YHHĐ đã làm sáng tỏ cơ chế của thuốc có nguồn gốc thảo mộc với sự kết hợp nhiều hoạt chất khác nhau đem lại hiệu quả giảm glucose máu và có tính an toàn.

Thuốc Nhất đường linh (NDL) được phát triển từ phương thuốc cổ Nhất quán tiễn gia giảm và bào chế thành dạng viên nang, có tác dụng dưỡng âm thanh nhiệt, ích khí hoá đàm, hoạt huyết. Tuy nhiên trên lâm sàng thuốc mới chỉ dùng như một liệu pháp bổ sung để cải thiện chứng trạng mà chưa được quan tâm đến hiệu quả kiểm soát glucose máu trong điều trị ĐTĐ typ 2.

Vì vậy, đề tài “Nghiên cứu độc tính và tác dụng hỗ trợ điều trị đái tháo đường typ 2 của viên nang cứng Nhất đường linh” đã được tiến hành.

### 2. MỤC TIÊU ĐỀ TÀI

- 1. Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng hạ glucose máu của viên nang cứng Nhất đường linh trên thực nghiệm.*
- 2. Đánh giá tác dụng hỗ trợ hạ glucose máu của viên nang cứng Nhất đường linh trên bệnh nhân ĐTĐ typ 2.*

### **3.NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN**

#### **Ý nghĩa khoa học và thực tiễn**

Đề tài đã cung cấp những chứng cứ khoa học về tác dụng hạ glucose máu của viên nang Nhất đường linh, tận dụng được các thảo dược sẵn có trong thiên nhiên vừa có hiệu quả điều trị vừa hạn chế các tác dụng phụ. Thuốc Nhất đường linh được bào chế thành dạng viên nang sử dụng thuận tiện phù hợp với bệnh lý cần điều trị kéo dài như bệnh ĐTĐ typ 2.

Việc nghiên cứu ứng dụng thuốc YHCT Nhất đường linh trong điều trị và hỗ trợ điều trị bệnh ĐTĐ typ 2 góp phần làm sáng tỏ lý luận YHCT cũng như từng bước hiện đại hoá YHCT là việc làm có ý nghĩa khoa học, thực tiễn.

#### **Những đóng góp mới**

Qua thực nghiệm, viên nang cứng Nhất đường linh có tính an toàn cao và có tác dụng giảm glucose máu trên mô hình chuột ĐTĐ typ 2 gây bằng chế độ ăn giàu chất béo kết hợp tiêm STZ liều 100mg/kg thể trọng. Trên lâm sàng, thuốc có tác dụng giảm glucose máu và HbA1c, giảm cholesterol máu ở bệnh nhân ĐTĐ typ 2. Kết quả của đề tài có thể làm cơ sở cho những nghiên cứu tiếp theo trên quy mô lớn hơn nhằm đưa ra cơ sở khoa học cho việc áp dụng một chế phẩm thuốc YHCT, phục vụ công tác phòng và điều trị bệnh ĐTĐ typ 2. Đặc biệt với bề dày truyền thống sử dụng YHCT trong hệ thống y tế quốc gia để chăm sóc sức khoẻ cộng đồng tại Việt Nam thì kết quả của đề tài luận án là những đóng góp mới và thiết thực.

### **4. CẤU TRÚC LUẬN ÁN**

Luận án gồm 141 trang, được chia thành 4 chương trong đó đặt vấn đề 2 trang; Tổng quan 36 trang; Chất liệu, đối tượng và phương

pháp nghiên cứu: 18 trang. Kết quả nghiên cứu: 41 trang; Bàn luận: 41 trang. Kết luận: 2 trang. Kiến nghị: 1 trang.

Luận án có 40 bảng, 15 biểu đồ, 4 hình, 9 ảnh; 165 tài liệu tham khảo (tiếng Việt: 51; tiếng Anh: 86; tiếng Trung: 28).

## **PHẦN B: NỘI DUNG LUẬN ÁN**

### **CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN**

#### **1.1. Đại cương về bệnh ĐTD theo quan điểm của YHHĐ**

##### **1.1.1. Định nghĩa, phân loại và chẩn đoán đái tháo đường**

Hiệp hội đái tháo đường Hoa Kỳ (ADA) năm 2004 định nghĩa: “Đái tháo đường là một nhóm các bệnh lý chuyển hoá đặc trưng bởi tăng glucose máu do thiếu hụt insulin, thiếu hụt hoạt động insulin hoặc cả hai. Tăng glucose máu mạn tính trong ĐTD sẽ gây tổn thương, rối loạn chức năng hay suy nhiều cơ quan, đặc biệt là mắt, thận, thần kinh, tim và mạch máu”

Tổ chức Y tế thế giới đã phân loại ĐTD thành các thể chính sau: ĐTD typ 1, ĐTD typ 2, ĐTD thai kỳ và một số thể ĐTD đặc biệt khác trong đó chủ yếu hay gặp là ĐTD typ 2.

Chẩn đoán ĐTD theo ADA-2014 khi có một trong các tiêu chuẩn sau: Glucose máu bất kỳ  $\geq 11,1$  mmol/l (200mg/dl) có kèm theo các triệu chứng của tăng glucose máu (khát nhiều, tiểu nhiều, ăn nhiều, gầy sút cân). Hoặc glucose máu lúc đói (nhịn ăn ít nhất 8 giờ)  $\geq 7,0$  mmol/l (126mg/dl) định lượng ít nhất 2 lần. Hoặc glucose máu 2h sau khi uống 75g glucose  $\geq 11,1$  mmol/l (200mg/dl) (nghiệm pháp tăng glucose máu). Hoặc HbA1c (định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp)  $\geq 6,5\%$

##### **1.1.2. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh ĐTD typ 2**

Bệnh ĐTD typ 2 xuất hiện do sự tương tác giữa các yếu tố môi trường không thuận lợi và yếu tố di truyền. Yếu tố môi trường không thuận lợi là sự thay đổi lối sống (ít hoạt động thể lực, nhiều chất béo, giảm chất xơ, stress về tâm lý...), ngoài ra tuổi thọ ngày càng tăng, nguy cơ mắc bệnh càng cao và đây là yếu tố không thể can thiệp được.

Bệnh sinh ĐTĐ typ 2 cho đến nay còn nhiều vấn đề chưa rõ ràng nhưng người ta thường quan tâm nhiều đến hai cơ chế là rối loạn tiết insulin và đề kháng insulin.

Các yếu tố nguy cơ của bệnh bao gồm: Phụ nữ có tiền sử đẻ con >4kg, ĐTĐ thai kỳ, trong gia đình có anh chị em, cha mẹ ruột bị bệnh ĐTĐ, người trung niên và cao tuổi từ 45-65 tuổi ít hoạt động, tiền sử rối loạn dung nạp glucose hoặc rối loạn glucose lúc đói, tăng huyết áp (THA), rối loạn lipid máu (RLLP), thừa cân, béo phì..

### **1.1.3. Điều trị ĐTĐ typ 2**

- Các biện pháp điều trị bao gồm điều chỉnh lối sống (chế độ ăn uống, luyện tập) và dùng thuốc.

- Các thuốc điều trị ĐTĐ hiện nay bao gồm insulin và các thuốc tăng tiết insulin (sulfonylure, glitinid), thuốc làm tăng nhạy cảm của tế bào với insulin (dẫn xuất biguanid, nhóm thiazolidindion), thuốc ức chế enzym  $\alpha$ -glucosidase, thuốc giống như incretin và ức chế DPP4, đồng đẳng amylin, thuốc ức chế chất đồng vận chuyển  $\text{Na}^+$ / glucose ở ống thận (SGLT2).

- Lựa chọn thuốc và phương thức điều trị trên lâm sàng theo hướng dẫn đồng thuận của các hiệp hội đái tháo đường quốc tế để đạt được mục tiêu điều trị HbA1c < 7 (cần cá thể hoá).

- Kiểm soát glucose máu cần phải kết hợp với điều trị các yếu tố nguy cơ như tăng huyết áp, rối loạn lipid máu...

## **1.2 Quan niệm của YHCT về bệnh đái tháo đường**

Bệnh đái tháo đường thuộc phạm vi chứng Tiêu khát của YHCT. Chứng Tiêu khát với các chứng trạng lớn uống nhiều, ăn nhiều, đái nhiều, gầy mòn còn gọi là “tam đa nhất thiếu”. Nguyên nhân gây ra Tiêu khát là do bẩm tố tiên thiên bất túc, ăn uống không điều hoà, tinh thần không thoải mái, an nhàn quá sức, hoặc phòng the quá sức thận tinh hao tổn, hoặc lạm dụng thuốc ôn bổ, lục dâm xâm phạm, dẫn đến ngũ tạng hư nhược. Cơ chế sinh bệnh chứng Tiêu khát có liên quan đến âm tinh hao tổn, tích nhiệt nội thịnh mà dẫn đến âm hư là chủ yếu. Phân thể lâm

sàng và biện chứng theo tam tiêu gồm thượng tiêu (phế táo), trung tiêu (vị nhiệt) và hạ tiêu (thận âm hư). Tuy nhiên với bệnh cảnh ĐTD typ 2 hiện nay thường tiến triển âm thầm, ít bộc lộ rõ các triệu chứng lâm sàng, thường được phát hiện nhờ xét nghiệm máu thì phương thức phân loại và biện chứng theo tam tiêu truyền thống tỏ ra chưa hoàn toàn thích hợp. Bởi vậy, từ thực tiễn lâm sàng, căn cứ vào tiến triển tự nhiên của bệnh ĐTD typ 2, lý luận YHCT đã bổ sung những phương thức phân loại mới chứng Tiêu khát.

### **1.3. Tổng quan về tác dụng điều trị ĐTD typ 2 của thuốc YHCT**

Nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc thảo dược theo hướng điều trị ĐTD đã được tiến hành ở nhiều quốc gia trên thế giới. Hiệu lực giảm glucose máu của các thuốc YHCT tuy không mạnh bằng thuốc hóa dược nhưng thuốc YHCT thường ít gây tác dụng phụ hạ glucose máu, là một ưu điểm so với hóa dược điều trị ĐTD hiện hành. Tác dụng giảm glucose máu của thuốc YHCT được cho là do phối hợp nhiều cơ chế như cải thiện độ nhạy insulin, kích thích bài tiết insulin, tăng tổng hợp glycogen ở gan, ức chế hấp thu carbohydrat đường ruột, chống oxy... đem lại hiệu quả điều trị đi kèm với tính an toàn cao của những nguyên liệu nguồn gốc thiên nhiên. Đây chính là cơ sở để tiến hành nghiên cứu tác dụng của thuốc YHCT điều trị ĐTD typ 2 trên thực nghiệm và lâm sàng.

### **1.4. Tổng quan về thuốc Nhất đường linh**

- Thành phần: Sinh địa 12g, Sa sâm 10g, Mạch môn 12g, Kỳ tử 12g, Đương quy 12g, Bạch truật 12g, Côn bố 10g.

- Tác dụng: Dưỡng âm thanh nhiệt, ích khí hóa đàm, hoạt huyết.

- Bài thuốc có xuất xứ từ phương thuốc cổ “Nhất quán tiễn” gia giảm. Các vị thuốc trong bài như Sinh địa, Sa sâm, Mạch môn, Kỳ tử, Đương quy là những dược liệu thường được sử dụng trong điều trị chứng Tiêu khát của YHCT. Kết quả nghiên cứu dược hiện đại cho thấy các vị thuốc trong Nhất đường linh đều chứa các thành phần hoá học có tác dụng hạ glucose máu trên thực nghiệm.

## CHƯƠNG 2: CHẤT LIỆU-ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Chất liệu nghiên cứu

Viên nang cứng Nhất đường linh (với tiêu chuẩn dược liệu theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam IV), hàm lượng 500mg/viên, sản xuất tại Trung tâm Dược Bệnh viện YHCT Trung ương.

### 2.2. Đối tượng nghiên cứu

#### 2.2.1. Nghiên cứu trên thực nghiệm

- Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng trung bình 18 - 22g.

- Thỏ chủng *Newzealand White*, lông trắng, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 1,8-2,5 kg.

Động vật thực nghiệm được nuôi dưỡng trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, trường Đại học Y Hà nội từ 3-7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

#### 2.2.2. Nghiên cứu trên lâm sàng

- Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân: Bệnh nhân được chẩn đoán xác định ĐTĐ typ 2 (theo tiêu chuẩn của ADA 2014), có  $7,2 \text{ mmol/l} < \text{glucose máu lúc đói} \leq 10 \text{ mmol/l}$  và  $\text{HbA1c} < 8\%$  chưa điều trị bằng thuốc hạ glucose máu của YHHĐ hoặc đang điều trị bằng đơn trị liệu metformin trong đó 3 tháng gần đây nhất sử dụng liều trung bình  $\geq 1000\text{mg/}$  ngày nhưng không đạt mục tiêu điều trị ( $\text{HbA1c} \geq 7\%$ ).

-Tiêu chuẩn loại trừ bệnh nhân: Bệnh nhân ĐTĐ typ 2 có glucose máu lúc đói  $> 10\text{mmol/l}$ ,  $\text{HbA1c} \geq 8\%$ . Bệnh nhân ĐTĐ typ 2 có biến chứng cấp tính của ĐTĐ, có bệnh về máu ảnh hưởng đến kết quả HbA1c, phụ nữ có thai và cho con bú. Không tuân thủ điều trị.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng hạ glucose máu của viên nang Nhất đường linh trên động vật thực nghiệm.

- *Độc tính cấp*: được xác định trên chuột nhắt trắng theo đường uống bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon: chuột được uống NĐL liều từ 15ml (tương đương 125 g dược liệu/kg thể trọng/24 giờ) đến 75ml (tương đương 625g dược liệu/kg thể trọng/24 giờ) với lượng thuốc uống hằng định mỗi lần 0,25ml/10g cân nặng, uống 3 lần mỗi lần cách nhau 2 giờ. Theo dõi trong 7 ngày về tình trạng sức khỏe, hoạt động, tiêu hoá, sống chết. So sánh với chứng uống nước cất.

- *Độc tính bán trường diễn*: tiến hành trên thỏ với liều 4,8g dược liệu/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương trên người, tính theo hệ số 3) và liều 24 g dược liệu /kg/ngày (gấp 5 lần liều dùng trên người) trong thời gian thử nghiệm 12 tuần. Theo dõi cân nặng, hoạt động tiêu hoá, huyết học, hoá sinh chức năng gan, thận, mô bệnh học gan và thận. So sánh với chứng uống nước cất.

- *Nghiên cứu tác dụng hạ glucose máu của viên nang cứng Nhất đường linh trên chuột nhắt ĐTĐ typ 2 thực nghiệm*

**Gây mô hình chuột ĐTĐ typ 2 thực nghiệm** (theo phương pháp của Fabiola và Srinivasan): chuột nhắt trắng gây ĐTĐ typ 2 bằng chế độ ăn giàu chất béo (HFD) trong 8 tuần sau đó tiêm STZ với liều 100mg/kg thể trọng (một liều duy nhất). Chuột ở lô tiêm STZ có glucose lúc đói > 10 mmol/L được chọn vào nghiên cứu.

Lô 1 (Lô chứng): Chế độ ăn bình thường (NFD) + uống nước cất

Lô 2: Chế độ HFD + tiêm STZ 100mg/kg + uống nước cất

Lô 3: Chế độ HFD + tiêm STZ 100mg/kg + uống gliclazid liều 80 mg/kg.

Lô 4: Chế độ HFD + tiêm STZ 100mg/kg + uống NĐL liều 19,2 g dược liệu/kg/ngày (tương đương liều lâm sàng).

Lô 5: Chế độ HFD + tiêm STZ 100mg/kg + uống NĐL liều 57,6 g dược liệu/kg/ngày (gấp 3 liều lâm sàng).

Tiến hành lấy máu ngoại vi định lượng glucose máu lúc đói tại các thời điểm  $T_0$  (chưa uống thuốc),  $T_1$  (sau 1 tuần uống thuốc),  $T_c$  (sau 2 tuần uống thuốc) và định lượng lipid máu: cholesterol toàn phần (TC), triglycerid (TG), LDL-c, HDL-c ở tất cả các lô sau 2 tuần uống thuốc.

### **2.3.2. Nghiên cứu trên lâm sàng**

80 bệnh nhân nghiên cứu gồm 2 nhóm:

➤ Nhóm NC 1 (chưa điều trị thuốc YHHĐ): uống viên nang NĐL 500mg x 12 viên/ngày, chia 3 lần, trước ăn 30 phút. Liệu trình 90 ngày.

➤ Nhóm NC 2 (điều trị bằng đơn trị liệu metformin nhưng không đạt mục tiêu điều trị ( $HbA1c \geq 7\%$ ): uống viên nang NĐL 500mg x 12 viên/ngày, chia 3 lần trước ăn 30 phút, kết hợp uống metformin với liều đang sử dụng. Liệu trình 90 ngày.

- Các chỉ tiêu theo dõi: triệu chứng cơ năng (khát nước, uống nhiều, ăn nhiều, tiểu nhiều...), huyết áp, BMI, WHR, glucose máu khi đói, glucose máu 2h sau ăn, HbA1c, lipid máu, AST, ALT, tổng phân tích tế bào máu, tổng phân tích nước tiểu.

- Theo dõi tác dụng không mong muốn: Trong quá trình điều trị các BN nghiên cứu đều được hướng dẫn tự phát hiện các triệu chứng của hạ glucose máu (đói, vã mồ hôi, bủn rủn chân tay...). Ngoài ra còn theo dõi các triệu chứng đau bụng, buồn nôn, rối loạn tiêu hóa, mất ngủ...

#### **\* Đánh giá tác dụng điều trị của viên nang cứng NĐL**

➤ *Thay đổi các triệu chứng lâm sàng, nồng độ glucose máu  $T_b$ , HbA1c  $T_b$ , nồng độ cholesterol  $T_b$ , Triglycerid  $T_b$ , LDL-c, HDL-c trước và sau 90 ngày điều trị*



➤ *Hiệu quả điều trị glucose máu*

- Đánh giá hiệu quả điều trị glucose máu qua tỷ lệ BN đạt mục tiêu kiểm soát glucose máu sau 90 ngày điều trị (theo ADA-2014): Glucose máu khi đói: 3,9-7,2 mmol/l; Glucose máu 2h sau ăn <10mmol/l; HbA1c < 7%.

➤ *Hiệu quả điều trị lipid máu*

- Đánh giá hiệu quả điều trị lipid máu qua tỷ lệ BN đạt mục tiêu kiểm soát lipid máu. Theo ADA 2014, mục tiêu kiểm soát lipid máu cho bệnh nhân ĐTĐ typ 2 chưa có biến chứng tim mạch :

Cholesterol < 5,2 mmol/l (200mg/dl); Triglycerid < 1,7 mmol/l (<150mg/dl); LDL-c < 2,6 mmol/l (<100mg/dl); HDLc > 1mmol/l (>40mg/dl, nam), >1,3 mmol (>50mmol/l, nữ).

➤ *Tác dụng không mong muốn trên lâm sàng và cận lâm sàng*

**2.4. Đạo đức nghiên cứu:** đã thông qua Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của cơ sở nghiên cứu.

**2.5. Xử lý số liệu:** theo phương pháp thống kê y học, bằng phần mềm SPSS 16.0

## CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

**3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn, tác dụng hạ glucose máu của viên nang cứng NĐL trên thực nghiệm**

**3.1.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp (LD50)**

Liều dung nạp tối đa 625g dược liệu/kg thể trọng chuột nhắt cao gấp 32 lần liều dự kiến dùng trên người không có biểu hiện độc tính cấp.

**3.1.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn**

Liều 4,8g dược liệu/kg/ngày (liều tương đương trên người) và liều 24g dược liệu/kg/ngày (gấp 5 lần liều dùng trên người), uống liên tục trong 12 tuần chưa thấy biến đổi các chỉ số huyết học, sinh hoá máu và mô bệnh học gan, thận thỏ.

**3.1.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng hạ glucose máu trên thực nghiệm**  
**Bảng 3.1. Ảnh hưởng của NĐL lên nồng độ glucose máu của**  
**chuột nhắt trắng ĐTĐ typ 2 sau 2 tuần uống thuốc**

N	Nồng độ glucose máu mmol/l ( $\bar{X} \pm SD$ )		
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>c</sub>
<b>Lô 1</b> (n=10): Chủng sinh học Nước cất	6,03 ± 0,82	5,92 ± 0,51	5,46 ± 0,50
<b>Lô 2</b> (n=10): Chuột ĐTĐ Nước cất	18,46 ± 6,54	20,77 ± 3,12	17,16 ± 4,31
% thay đổi so với T <sub>0</sub>		↑ <b>12,5</b>	↓ <b>7,0</b>
<b>Lô 3</b> (n=10): Chuột ĐTĐ Gliclazid liều 80mg/kg	17,41 ± 5,32	16,53 ± 3,76 <i>p3-2 &lt; 0,05</i>	11,73 ± 2,79 <i>p3-2 &lt; 0,05</i>
% thay đổi so với T <sub>0</sub>		↓ <b>5,1</b>	↓ <b>32,6</b>
% thay đổi so với mô hình		↓ <b>20,4</b>	↓ <b>31,6</b>
<b>Lô 4</b> (n=10): Chuột ĐTĐ NĐL liều 19,2 g /kg/ngày	17,06 ± 6,77	20,05 ± 6,58 <i>p4-2 &gt; 0,05</i> <i>p4-3 &gt; 0,05</i>	14,04 ± 5,17 <i>p4-2 &gt; 0,05</i> <i>p4-3 &gt; 0,05</i>
% thay đổi so với T <sub>0</sub>		↑ <b>17,5</b>	↓ <b>17,7</b>
% thay đổi so với mô hình		↓ <b>3,5</b>	↓ <b>18,2</b>
<b>Lô 5</b> (n=10): Chuột ĐTĐ NĐL liều 57,6 g/kg/ngày	17,26 ± 6,50	18,29 ± 4,55 <i>p5-2 &gt; 0,05</i> <i>p5-3 &gt; 0,05</i>	11,19 ± 3,16 <i>p5-2 &lt; 0,05</i> <i>p5-3 &gt; 0,05</i>
% thay đổi so với T <sub>0</sub>		↑ <b>5,9</b>	↓ <b>35,2</b>
% thay đổi so với mô hình		↓ <b>11,9</b>	↓ <b>34,8</b>

**Bảng 3.2. Ảnh hưởng của NĐL lên nồng độ lipid máu của chuột nhắt trắng đái tháo đường typ 2 sau 2 tuần uống thuốc**

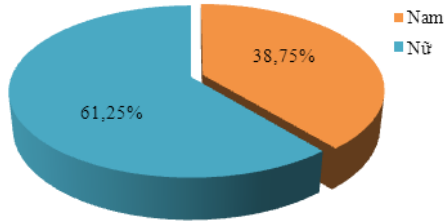
Lô chuột	Nồng độ lipid máu mmol/l ( $\bar{X} \pm SD$ )			
	TC	TG	HDL-c	LDL-c
<b>Lô 1</b> (n=10): Chuột bình thường, uống nước cất	2,93 ± 0,56	0,65 ± 0,11	1,39 ± 0,13	1,24 ± 0,51
<b>Lô 2</b> (n=10): Chuột ĐTĐ, uống nước cất	3,74 ± 0,51	0,83 ± 0,22	1,66 ± 0,15	1,71 ± 0,39
<b>Lô 3</b> (n=10): Chuột ĐTĐ, uống gliclazid liều 80mg/kg	4,05 ± 0,33	0,89 ± 0,20	1,60 ± 0,08	1,97 ± 0,29
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05
<b>Lô 4</b> (n=10): Chuột ĐTĐ, uống NĐL liều 19,2g/kg/ngày	3,60 ± 0,58	0,72 ± 0,12	1,54 ± 0,05	1,73 ± 0,55
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05
<b>Lô 5</b> (n=10): Chuột ĐTĐ, uống NĐL liều 57,6g/kg/ngày	3,78 ± 0,33	0,85 ± 0,17	1,89 ± 0,34	1,51 ± 0,43
p so lô mô hình	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05
p so liều thấp	p > 0,05	p > 0,05	p < 0,05	p > 0,05

### 3.2. Kết quả nghiên cứu trên lâm sàng

#### 3.2.1. Đặc điểm chung của bệnh nhân nghiên cứu

**Bảng 3.3: Đặc điểm về tuổi**

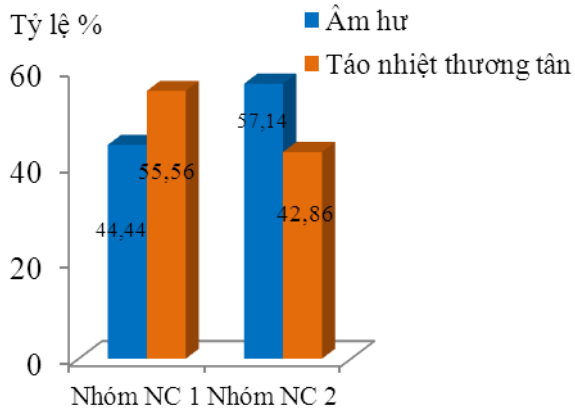
Đặc điểm Nhóm NC	Nhóm tuổi				Tuổi Tb ( $\bar{X} \pm SD$ )
	< 40	40-49	50-59	60-70	
Nhóm NC 1 (n=45)	2 (4,44%)	4 (8,90%)	15 (33,33%)	24 (53,33%)	58,20±8,62
Nhóm NC 2 (n=35)	0	1 (2,86%)	7 (20%)	27 (77,14%)	61,49±5,96
Chung (n=80)	2 (2,5%)	5 (6,25%)	22 (27,50%)	51 (63,75%)	59,64±7,71



**Biểu đồ 3.1: Phân bố bệnh nhân theo giới**

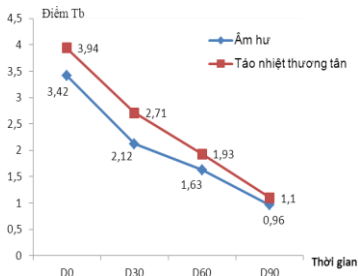
**Bảng 3.4. Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của 2 nhóm nghiên cứu tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu**

Chỉ số	Nhóm NC 1 (n=45)	Nhóm NC 2 (n=35)
BMI Tb ( $\bar{X} \pm SD$ )	22,98±1,62	22,98±1,71
WHR Tb ( $\bar{X} \pm SD$ )	0,88±0,04	0,89±0,04
THA (%)	40%	60%
RLLP máu (%)	62,22%	65,71%
Glucose máu lúc đói Tb (mmol/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )	7,97±0,71	8,53±0,88
Glucose máu 2h sau ăn Tb (mmol/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )	10,85±1,42	13,13±1,37
HbA1c Tb (%) ( $\bar{X} \pm SD$ )	6,55±0,96	7,22±0,27

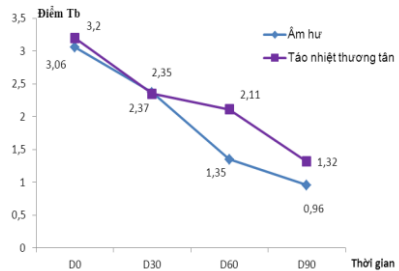


**Biểu đồ 3.2. Phân thể lâm sàng YHCT theo nhóm NC**

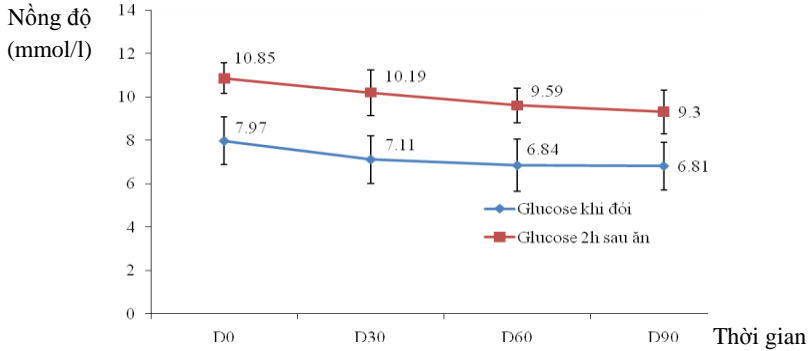
### 3.2.2. Tác dụng điều trị của viên nang cứng Nhất đường linh



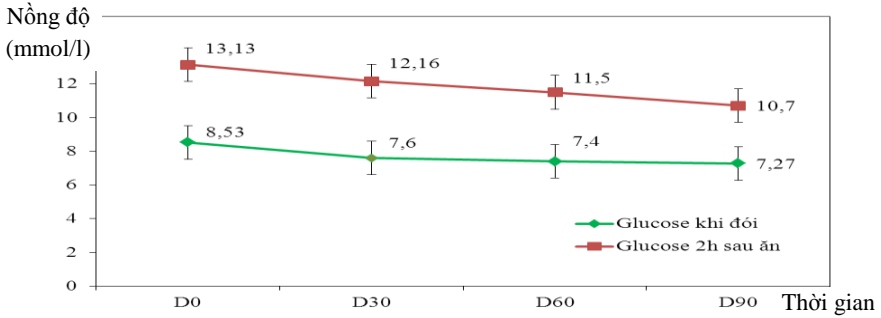
**Biểu đồ 3.3. Diễn biến các triệu chứng lâm sàng theo phân thể YHCT của nhóm NC 1**



**Biểu đồ 3.4. Diễn biến các triệu chứng lâm sàng theo phân thể YHCT của nhóm NC 2**



**Biểu đồ 3.5. Diễn biến glucose máu khi đói và glucose máu 2h sau ăn ở nhóm NC 1**



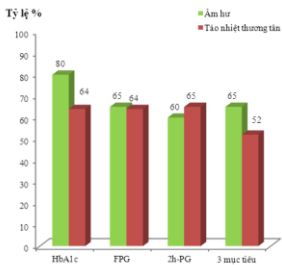
**Biểu đồ 3.6. Diễn biến glucose máu lúc đói và glucose máu 2h sau ăn ở nhóm NC 2**

**Bảng 3.5. Thay đổi HbA1c trước và sau 90 ngày điều trị theo nhóm NC**

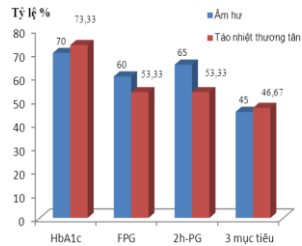
Nhóm nghiên cứu	HbA1c % ( $\bar{x} \pm SD$ )		p	Chênh lệch D0-D90 ( $\bar{x} \pm SD$ ) (%)
	D0	D90		
Nhóm NC 1 (n=45)	6,55±0,96	5,96±0,64	<0,05	0,59±0,17
Nhóm NC 2 (n=35)	7,22±0,27	6,76±0,51	<0,05	0,46±0,14

**Bảng 3.6: Tỷ lệ bệnh nhân đạt mục tiêu kiểm soát glucose máu sau điều trị theo nhóm NC**

Mục tiêu điều trị	Nhóm NC 1 (n=45)		Nhóm NC 2 (n=35)	
	n	Tỷ lệ (%)	n	Tỷ lệ
Glucose máu lúc đói <7,2 mmol/l	32	71,11	19	54,29
Glucose máu 2h sau ăn <10 mmol/l	33	73,33	20	57,14
HbA1c <7%	42	93,33	21	60
Glucose máu lúc đói <7,2 mmol/l và HbA1c <7%	32	71,11	18	51,43
Cả 3 mục tiêu	30	66,67	14	40



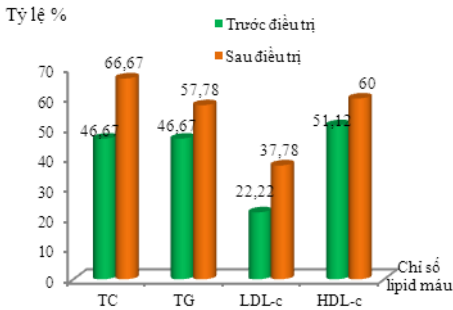
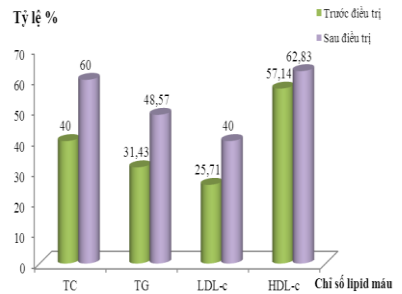
**Biểu đồ 3.7. Tỷ lệ bệnh nhân đạt mục tiêu kiểm soát glucose máu theo phân thể YHCT của nhóm NC 1**



**Biểu đồ 3.8. Tỷ lệ bệnh nhân đạt mục tiêu kiểm soát glucose máu theo phân thể YHCT của nhóm NC 2**

**Bảng 3.7 Thay đổi lipid máu trước và sau điều trị theo nhóm NC**

Nhóm NC Chỉ số ( $\bar{X} \pm SD$ )	Nhóm NC 1(n=45)			Nhóm NC 2 (n=35)		
	D0	D90	p	D0	D90	p
Cholesterol (mmol/L)	5,47±0,94	4,89±0,96	<0,05	5,66±1,32	5,10±1,07	<0,05
Triglycerid (mmol/L)	2,46±1,45	2,24±1,50	>0,05	2,87±1,96	2,55±1,91	>0,05
LDLc (mmol/L)	3,46±0,80	3,15±0,69	>0,05	3,42±1,09	3,19±1,01	>0,05
HDL-c (mmol/L)	1,12±0,31	1,16±0,34	>0,05	1,13±0,26	1,16±0,25	>0,05

**Biểu đồ 3.9. Tỷ lệ bệnh nhân đạt mục tiêu kiểm soát lipid máu trước và sau điều trị ở nhóm NC 1****Biểu đồ 3.10. Tỷ lệ bệnh nhân đạt mục tiêu kiểm soát lipid máu trước và sau điều trị ở nhóm NC 2**



**\*Tác dụng không mong muốn trên cận lâm sàng**

**Bảng 3.8. Thay đổi chỉ số huyết học trước và sau điều trị**

Nhóm NC Chỉ số ( $\bar{X} \pm SD$ )	Nhóm NC 1 (n=45)		Nhóm NC 2 (n=35)	
	D0	D90	D0	D90
Hồng cầu (T/L)	4,82±0,54	4,81±0,52	4,79±0,41	4,89±0,49
	p > 0,05		p > 0,05	
Bạch cầu (G/L)	7,63±1,88	7,12±1,64	8,29±2,45	7,88±1,93
	p > 0,05		p > 0,05	
Tiểu cầu (G/L)	242,07±69,49	237,93±52,69	257,54±57,63	253,11±62,48
	p > 0,05		p > 0,05	
Hemoglobin (g/l)	132,16±26,36	130,77±26,99	129,99±27,99	125,75±28,05
	p > 0,05		p > 0,05	

**Bảng 3.9. Thay đổi một số chỉ số sinh hoá trước và sau điều trị**

Nhóm NC Chỉ số	Nhóm NC 1 (n=45) ( $\bar{X} \pm SD$ )		Nhóm NC 2 (n=35) ( $\bar{X} \pm SD$ )	
	D0	D90	D0	D90
Ure (mmol/l)	5,98±1,42	5,63±1,22	5,97±1,57	5,62±1,73
	p > 0,05		p > 0,05	
Creatinin ( $\mu$ mol/L)	78,75±17,78	74,95±22,41	78,34±17,26	78,54±15,06
	p > 0,05		p > 0,05	
AST (UI/L)	30,62±15,66	26,54±10,68	28,08±1,26	25,14±8,68
	p > 0,05		p > 0,05	
ALT (UI/L)	36,00±21,12	30,25±10,47	31,94±10,72	29,60±10,04
	p > 0,05		p > 0,05	

**\*Tác dụng không mong muốn trên lâm sàng**

Trong quá trình điều trị 90 ngày liên tục bằng viên nang cứng NDL chỉ có 2 BN có rối loạn tiêu hoá (2,5%) đi ngoài phân lỏng, nát 2-3 lần/ngày lúc bắt đầu uống thuốc sau đó tự hết sau 3 ngày (BN không phải dừng thuốc); không có BN nào có biểu hiện hạ glucose

máu hoặc các triệu chứng khác như buồn nôn, nôn, đau đầu, phát ban, mẩn ngứa, nổi mào đay...

## **CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN**

### **4.1. Cơ sở lựa chọn thuốc nghiên cứu**

Dựa trên cơ sở những hiểu biết về bệnh ĐTĐ typ 2 theo YHHĐ cũng như kinh nghiệm lâm sàng và y lý YHCT trong biện chứng luận trị chứng Tiêu khát đã xây dựng nên phương thuốc “Nhất đường linh” gồm 7 vị thuốc có tác dụng dưỡng âm thanh nhiệt, ích khí hoá đàm, hoạt huyết. Bài thuốc sử dụng các vị thuốc tư âm thanh nhiệt như Sa sâm, Mạch môn, Sinh địa, Kỳ tử phối hợp với Bạch truật có tác dụng kiện tỳ, ích khí, Côn bố tác dụng hoá đàm và Đương quy bổ huyết, hoạt huyết hoá ứ. Bên cạnh đó, nghiên cứu dược học hiện đại cũng đã chứng minh những vị thuốc trong thuốc Nhất đường linh đều chứa các thành phần có tác dụng hạ glucose máu.

Ngoài ra, ĐTĐ typ 2 là một bệnh mạn tính đòi hỏi phải điều trị thường xuyên nên trong thực tế điều trị việc sử dụng thuốc cần phải đơn giản, thuận tiện để người bệnh dễ tuân thủ điều trị. Do đó, từ dạng bào chế truyền thống là thuốc sắc, cao lỏng, bài thuốc Nhất đường linh đã được cải dạng bào chế thành viên nang cứng là dạng bào chế hiện đại của YHCT phù hợp với tính chất cần điều trị lâu dài của bệnh.

### **4.2. Kết quả nghiên cứu trên thực nghiệm**

#### **4.2.1. Độc tính cấp**

Liều tối đa chuột đã uống và có thể dung nạp được là 75ml/kg thể trọng chuột tương đương 625g dược liệu/kg thể trọng, cao gấp 32 lần liều dự kiến trên lâm sàng. Kết quả này phù hợp với thành phần cấu tạo bài thuốc đã được công bố trong y văn không độc và trong thực hành lâm sàng YHCT các vị thuốc này vẫn thường xuyên được kê phối ngũ với nhau theo biện chứng luận trị để điều trị mà không gây độc cho người bệnh. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy viên nang cứng NĐL có phạm vi an toàn rộng.

#### **4.2.2. Độc tính bán trường diễn**

Liều 4,8g dược liệu/kg/ngày (tương đương liều trên lâm sàng) và liều 24g dược liệu/kg/ngày (gấp 5 lần liều trên lâm sàng), uống liên tục trong 12 tuần chưa thấy biến đổi các chỉ số huyết học, hoá sinh máu và mô bệnh học gan, thận, thỏ. Thuốc Nhất đường linh phù hợp để điều trị dài ngày trên bệnh nhân ĐTĐ typ 2.

#### **4.2.3. Tác dụng hạ glucose máu trên thực nghiệm**

Đề tài sử dụng phương pháp gây ĐTĐ trên chuột nhất trắng bằng chế độ ăn giàu chất béo kéo dài trong 8 tuần để gây tình trạng rối loạn dung nạp glucose sau đó tiêm STZ 100mg/kg (liều duy nhất) để phá huỷ một phần tế bào beta tuyến tụy tạo ra bệnh cảnh ĐTĐ gần tương đương với ĐTĐ typ 2 trên người.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau 2 tuần uống thuốc, ở các lô chuột uống NĐL nồng độ glucose máu đều giảm so với trước điều trị, lô uống NĐL liều 57,6g dược liệu/kg/ ngày nồng độ glucose máu giảm rõ rệt so với lô mô hình (giảm 34,8%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Kết quả này cho thấy thuốc NĐL có tác dụng hạ glucose máu trên thực nghiệm. Tác dụng làm giảm nồng độ glucose máu có thể là do sự phối hợp tác dụng hạ glucose máu của một số dược liệu đã được chứng minh trên thực nghiệm như Sinh địa, Mạch môn, Kỷ tử, Đương quy, Bạch truật...

Tình trạng tăng glucose máu thường đi kèm với tình trạng RLLP máu đã được chứng tỏ qua kết quả của việc gây mô hình nghiên cứu. Bên cạnh tác dụng hạ glucose máu, viên nang NĐL cũng có xu hướng làm giảm các chỉ số lipid máu cholesterol, triglycerid, LDL-c và tăng HDL-c so với lô mô hình. Tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Mặc dù saponin có trong thành phần các dược liệu của thuốc NĐL được báo cáo có tác dụng hạ lipid máu trong nhiều nghiên cứu. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này do mô hình ĐTĐ typ 2 của chúng tôi tạo ra sự rối loạn lipid máu nặng mà thời gian uống thuốc trong nghiên cứu còn ngắn nên hiệu quả ban đầu của thuốc NĐL trong điều chỉnh RLLP còn chưa rõ rệt.

### **4.3. Kết quả nghiên cứu trên lâm sàng**

#### **4.3.1. Đặc điểm chung của bệnh nhân nghiên cứu**

##### *4.3.1.1. Tuổi và giới:*

Tuổi trung bình của nhóm BN tham gia nghiên cứu là  $59,64 \pm 7,71$  trong đó cao tuổi nhất là 70 tuổi và thấp nhất là 38 tuổi. Nhóm tuổi tập trung cao nhất là từ 60-70 tuổi chiếm tỷ lệ 63,75% trong đó tỷ lệ bệnh nhân nữ là 61,25% và nam là 38,75%. Theo Diabcare-Việt Nam (2003) tuổi trung bình BN mắc đái tháo đường là  $57,6 \pm 13,2$  năm. Nhóm tuổi từ 51-70 tuổi cũng là nhóm tuổi thường gặp ở một số nghiên cứu trên bệnh nhân ĐTĐ typ 2 như Phạm Hồng Hoa (2010), Tiêu Ngọc Chiến (2013)...

Quan điểm YHCT thì cho rằng khi con người từ 40 tuổi trở lên thì thiên quý bắt đầu suy, cơ thể chuyển từ thịnh sang suy, công năng tạng phủ dễ bị rối loạn làm cho khí hư huyết kém dễ sinh ra âm hư, âm hư sinh nội nhiệt, nhiệt làm hao tổn tân dịch, từ đó dễ phát sinh ra chứng Tiêu khát. Tiêu khát hay gặp ở nữ là do phụ nữ khi có tuổi thì thường “khí hữu dư huyết bất túc” đồng nghĩa với thừa dương và thiếu âm (âm hư). Âm hư thường gặp ở nữ nhiều hơn nam mà cơ chế phát sinh chứng Tiêu khát là do âm hư sinh nội nhiệt mà nên chứng Tiêu khát hay gặp ở phụ nữ nhiều hơn nam giới là phù hợp với lý luận YHCT.

##### *4.3.1.2. Tình hình kiểm soát cân nặng, huyết áp, lipid máu trước điều trị*

Trước điều trị, ở nhóm NC 1 tỷ lệ bệnh nhân có RLLP máu là 62,22%, THA là 40% còn ở nhóm NC 2, tỷ lệ bệnh nhân có RLLP máu là 65,71%, THA là 60%. Nhóm NC 1 có BMI Tb là  $22,98 \pm 1,62$ , chỉ số WHR Tb là  $0,88 \pm 0,04$ , nhóm NC 2 có BMI Tb là  $22,98 \pm 1,71$ , chỉ số WHR là  $0,88 \pm 0,03$ . Kết quả cho thấy, tại thời điểm ban đầu đã có một tỉ lệ lớn bệnh nhân nghiên cứu mắc kèm THA, RLLP và phần lớn các bệnh nhân này tuy không quá thừa cân, béo phì nhưng lại có tỷ lệ eo/hông cao. Kết quả này tương tự kết quả của một số tác giả trong nước khi nghiên cứu trên bệnh nhân ĐTĐ typ 2 ở Việt Nam như Nguyễn Khoa Diệu Vân (2006), Vũ Ngọc Linh (2010)...

#### 4.3.1.3. *Nồng độ glucose máu ban đầu*

Theo khuyến cáo của các hiệp hội ĐTĐ quốc tế, nồng độ glucose máu tại thời điểm bắt đầu điều trị có ảnh hưởng nhiều tới việc lựa chọn phác đồ điều trị cũng như hiệu quả của phương pháp điều trị. Trong nghiên cứu này, ở thời điểm bắt đầu nghiên cứu, glucose máu lúc đói Tb ở nhóm NC 1 là  $7,97 \pm 0,71$  (mmol/l), ở nhóm NC 2 là  $8,53 \pm 0,88$  (mmol/l). Glucose máu lúc đói Tb trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như nồng độ glucose máu lúc đói Tb trong nghiên cứu của một số tác giả trong nước khác khi nghiên cứu về tác dụng của một số chế phẩm thuốc YHCT trên bệnh nhân ĐTĐ typ 2 như Tiêu Ngọc Chiến (2013), Trần Thị Thu Trang (2015).

#### 4.3.2. *Tác dụng điều trị của viên nang cứng Nhất đường linh trên bệnh nhân ĐTĐ typ 2*

##### 4.3.2.1. *Tác dụng cải thiện các triệu chứng cơ năng*

Thuốc NĐL với thành phần chủ yếu là các vị dược liệu thuộc nhóm dưỡng âm thanh nhiệt của YHCT đã có tác dụng cải thiện một số triệu chứng cơ năng trên lâm sàng của bệnh nhân ĐTĐ typ 2 có liên quan đến chứng Tiêu khát như mệt mỏi, khô miệng, khát nước, hay đói, thèm ăn, tiểu nhiều, táo bón.... Kết quả này cũng tương tự với kết quả nghiên cứu về tác dụng của một số chế phẩm thuốc YHCT hỗ trợ điều trị ĐTĐ typ 2 đã được công bố như Bát vị tri bá, Thập vị giáng đường phương, Tiêu khatling...

##### 4.3.2.2. *Tác dụng của viên nang cứng Nhất đường linh trên nồng độ glucose máu, HbA1c*

\* Nồng độ glucose máu: Ở cả hai nhóm nghiên cứu, glucose máu lúc đói Tb và glucose máu 2h sau ăn Tb tại các thời điểm D30, D60, D90 đều giảm có ý nghĩa thống kê khi so với glucose máu lúc đói và 2h sau ăn tại thời điểm ban đầu D0. Ở mỗi nhóm NC, trong từng thể YHCT, glucose máu lúc đói Tb và glucose máu 2h sau ăn Tb đều giảm có ý nghĩa thống kê từ sau 30 ngày điều trị ( $p < 0,05$ ). Đây là một kết quả có ý nghĩa vì nhiều nghiên cứu đã chứng minh, tăng glucose mạn tính trong đại tháo đường sẽ gây tổn thương, rối loạn chức năng nhiều cơ quan nên việc giảm glucose máu sẽ cải thiện tiên lượng lâu dài của người bệnh.

\* Nồng độ HbA1c: Các thử nghiệm can thiệp lâm sàng lớn đã coi HbA1c là kết quả đại diện tốt nhất trong điều trị ĐTĐ. Giảm HbA1c theo đúng mục tiêu sẽ làm giảm nguy cơ biến chứng mạch máu và thần kinh. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sau 90 ngày điều trị, ở nhóm NC 1, HbA1c giảm từ  $6,55 \pm 0,96$  % còn  $5,96 \pm 0,64$ % (giảm được  $0,59 \pm 0,17$ %). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Ở nhóm NC 2, HbA1c giảm từ  $7,22 \pm 0,27$  còn  $6,76 \pm 0,51$  (giảm được  $0,46 \pm 0,14$ %). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

#### 4.3.2.3. Tác dụng của viên nang cứng Nhất đường linh trên nồng độ lipid máu

RLLP máu là một trong những yếu tố nguy cơ chính làm tăng tỷ lệ tử vong do biến cố tim mạch ở bệnh nhân ĐTĐ, vì vậy việc kiểm soát lipid máu ở bệnh nhân ĐTĐ là rất cần thiết. Kết quả nghiên cứu cho thấy sau 90 ngày điều trị, ở nhóm NC 1, TC giảm từ  $5,47 \pm 0,94$  (mmol/l) còn  $4,89 \pm 0,96$  (mmol/l). Ở nhóm NC 2, TC giảm từ  $5,66 \pm 1,32$  (mmol/l) còn  $5,10 \pm 1,07$  (mmol/l). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . TG, LDL-c có xu hướng giảm, HDL-c có xu hướng tăng nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Việc kết hợp thay đổi lối sống và uống thuốc của BN trong nghiên cứu đã góp phần cải thiện tình trạng RLLP máu của BN. Tỷ lệ BN đạt mục tiêu kiểm soát lipid máu sau 90 ngày điều trị có xu hướng tăng ở cả hai nhóm. Đối với BN đái tháo đường cải thiện tình trạng kiểm soát lipid máu theo mục tiêu điều trị sẽ góp phần đạt được mục tiêu kiểm soát glucose máu, nâng cao hiệu quả điều trị trên lâm sàng cũng như góp phần hạn chế biến chứng tim mạch của bệnh

#### 4.3.2.4. Đánh giá hiệu quả điều trị glucose máu theo mục tiêu điều trị của YHHĐ

Đánh giá hiệu quả kiểm soát glucose máu theo HbA1c và điều trị ĐTĐ theo mục tiêu thường được sử dụng làm tiêu chí đánh giá trong các nghiên cứu lâm sàng ĐTĐ của YHHĐ. Theo ADA 2014, mục tiêu kiểm soát glucose máu cho bệnh nhân ĐTĐ typ 2 là

HbA1c < 7% (cá thể hóa), glucose máu khi đói < 7,2 mmol/l, glucose máu 2h sau ăn < 10 mmol/l.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ bệnh nhân đạt mục tiêu kiểm soát glucose máu ở nhóm NC 1 (nhóm chưa dùng thuốc) là 66,67%, ở nhóm NC 2 (nhóm đã dùng metformin) là 40%. Với kết quả điều trị trên đây sẽ mở ra một triển vọng tiếp tục nghiên cứu để sớm ứng dụng rộng rãi thuốc Nhất đường linh vào cộng đồng.

#### 4.3.2.5. Tác dụng không mong muốn của viên nang cứng Nhất đường linh

Trong quá trình điều trị 90 ngày liên tục bằng viên nang cứng NĐL chỉ có 2 bệnh nhân (2,5%) có rối loạn tiêu hoá, đi ngoài phân lỏng 2-3 lần/ ngày khi bắt đầu uống thuốc sau đó giảm dần và tự hết (BN không phải dùng thuốc), không thấy các triệu chứng khác: nôn, buồn nôn, đau đầu, phát ban, mẩn ngứa, nổi mề đay... đặc biệt không có bệnh nhân nào có biểu hiện hạ glucose máu.

Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu trên thực nghiệm của viên nang cứng NĐL và cũng phù hợp với nhiều kết quả nghiên cứu về thuốc điều trị ĐTĐ có nguồn gốc thảo dược có hiệu quả điều trị và có tính an toàn cao. Kết quả cho thấy với liều dùng trên lâm sàng thì NĐL là an toàn với người bệnh.

## KẾT LUẬN

### 1. Viên nang cứng Nhất đường linh có tính an toàn và có tác dụng hạ glucose máu trên thực nghiệm:

- Trên chuột nhất trắng, với liều dung nạp tối đa 625 g dược liệu/kg thể trọng không có biểu hiện độc tính cấp. Liều 4,8g dược liệu/kg thể trọng / ngày (liều tương đương trên người) và liều 24g dược liệu /kg thể trọng /ngày (gấp 5 lần liều dùng trên người), uống liên tục trong 12 tuần chưa thấy biến đổi các chỉ số huyết học, sinh hoá máu và mô bệnh học gan thận thỏ.

- Trên chuột nhất trắng ĐTĐ typ 2 (gây bằng chế độ ăn giàu chất béo kết hợp tiêm STZ 100mg/kg thể trọng), Nhất đường linh liều 57,6g dược liệu/kg thể trọng/ngày uống trong 2 tuần có tác dụng

giảm glucose máu ( $p < 0,05$ ); Cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL-c, HDL-c thay đổi chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

**2. Viên nang cứng Nhất đường linh có tác dụng hỗ trợ hạ glucose máu trên bệnh nhân ĐTĐ typ 2 với glucose máu lúc đói từ 7,2-10 mmol/l, HbA1c <8% và chưa thấy tác dụng không mong muốn:**

Sau 90 ngày điều trị:

- Ở nhóm NC 1 (BN chưa dùng thuốc YHHĐ): Glucose máu khi đói Tb giảm từ  $7,97 \pm 0,71$  (mmol/l) còn  $6,81 \pm 1,06$  (mmol/l); Glucose máu sau ăn 2h Tb giảm từ  $10,85 \pm 1,42$  (mmol/l) còn  $9,30 \pm 1,51$  (mmol/l); HbA1c giảm từ  $6,55 \pm 0,86$  (%) còn  $5,96 \pm 0,64$  (%) ( $p < 0,05$ ). 66,67% BN đạt mục tiêu kiểm soát glucose máu. Cholesterol toàn phần Tb giảm từ  $5,47 \pm 0,94$  (mmol/l) còn  $4,89 \pm 0,96$  (mmol/l) ( $p < 0,05$ ).

- Ở nhóm NC 2 (BN đã dùng đơn trị liệu metformin nhưng chưa đạt mục tiêu điều trị (HbA1c  $\geq 7\%$ ): Glucose máu khi đói Tb giảm từ  $8,53 \pm 0,88$  (mmol/l) còn  $7,27 \pm 0,96$  (mmol/l); Glucose máu sau ăn 2h Tb giảm từ  $13,13 \pm 1,37$  (mmol/l) còn  $10,70 \pm 1,67$  (mmol/l) ( $p < 0,05$ ); HbA1c giảm từ  $7,22 \pm 0,27$  (%) còn  $6,76 \pm 0,51$  (%) ( $p < 0,05$ ). 40% BN đạt mục tiêu kiểm soát glucose máu. Cholesterol toàn phần Tb giảm từ  $5,66 \pm 1,32$  (mmol/l) còn  $5,10 \pm 1,07$  (mmol/l) ( $p < 0,05$ ).

- Không có sự khác biệt về hiệu quả hạ glucose máu của viên nang cứng Nhất đường linh trên bệnh nhân thể âm hư và tảo nhiệt thương tân.

- Thuốc không gây tác dụng không mong muốn trên bệnh nhân nghiên cứu.

### **KIẾN NGHỊ**

1. Thuốc Nhất đường linh cần được tiếp tục nghiên cứu trên lâm sàng với cỡ mẫu lớn hơn và thời gian dài hơn nhằm khẳng định cơ sở khoa học cho việc áp dụng một chế phẩm thuốc YHCT, phục vụ công tác phòng và điều trị bệnh ĐTĐ typ 2.
2. Cần nghiên cứu tìm hiểu cơ chế tác dụng của thuốc.



## INTRODUCTION

Diabetes mellitus, a chronic metabolic disorder with complexity increasing trend, has rapidly grown in developing countries including Vietnam. Although many few drugs have been existed to help diabetes patients, the relatively high cost of drugs still make it difficult for Vietnamese patients from all regions to afford. Under this circumstance, the study of traditional medicine with the support western medicine has been worked out that the mechanisms of herbal medicines in combination with various active ingredients may effectively reduce blood glucose in a synergistic and highly safe way.

Prescription Nhatduonglinh (NDL), developed from classical formula Nhatquantien and formulated into capsules, has good effect in yin nourishing, heat clearing , qi tonifying, phlegm relieving, stasis activating blood and resolving. However, clinically the drug has only been used as an adjuvant therapy to improve the condition but not effective in blood glucose control of type 2 diabetes treatment. Therefore, the research of toxicity and effects to support type 2 diabetes treatment of Nhatduonglinh capsules has been implemented.

### **TARGETS OF THE SUBJECT**

1. Do research on acute toxicity, semi chronic toxicity and effects in reducing blood glucose by using Nhatduonglinh capsules on animal experiment.
2. Evaluate the effect of blood glucose reduction by using Nhatduonglinh capsules in type 2 diabetes patients.

### **NEW FINDINGS OF THE THESIS**

#### **Scientific and reality significance**

This study provides scientific evidence on effects to reduce blood glucose of Nhatduonglinh capsules which utilized natural existing herbs to maximize treatment efficiency and to limit the side effects. Nhatduonglinh has been formulated into capsules convenient for such diseases that need long-term treatment as diabetes.

### **New findings**

The research obtains the concrete and reliable results of Nhatduonglinh capsules effects. Nhatduonglinh capsules has high safety, with effect to reduce glucose in experimental animals. In type 2 diabetes patients, Nhatduonglinh capsules has effect blood glucose, HbA1c, cholesterol reduction support which will be a foundation for large-scale studies in order to provide a scientific basis for a traditional medicine preparations application and type 2 diabetes prevention and treatment.

The research of applying Nhatduonglinh traditional medicine for treatment and supporting treatment for type 2 diabetes contributes to make clear of traditional medicine theory and to gradually modernize traditional medicine has the practical scientific. Especially, with a long history of traditional medicine usage in the national health system for public health care in Vietnam, the results of the thesis is new and very practical contribution.

### **LAYOUT OF THE THESIS**

The thesis consists of 141 pages. Introduction: 2 pages; Overview: 36 pages. Objects and research method 18 pages; Researching result: 41 pages. Discussion 41 pages; Conclusion: 2 pages; Recommendation and Suggestions: 1 page. The thesis has 165 references (51 in Vietnamese, 86 in English, 28 in Chinese) and illustrated by 40 tables, 4 diagrams and 15 charts, 9 figures.

## **Chapter 1: OVERVIEW**

### **1.1. Definition, disease generating system, diagnosis standard and treatment of type 2 diabetes by western medicine**

#### ***1.1.1. Definition and classification of diabetes***

According to American Diabetes Association: “Diabetes is one metabolism disease group with the attribution of increasing blood glucose, results of insulin shortage, default in insulin action; or both. In creasing of chronic blood glucose in Diabetes combines with hurt, function disorder and functions weaken of many organs, especially eyes, kidney, nerve system, heart and blood vessel”.

According to World Health Organization, diabetes are classified into some major categories: type 1 diabetes mellitus, type 2 diabetes mellitus, gestational diabetes mellitus, and other specific types of diabetes, and the most popular is type 2 diabetes mellitus.

Diabetes is usually diagnosed based on plasma glucose criteria, either the fasting plasma glucose (FPG) or the 2h-plasma glucose (2-hPG) value after a 75g oral glucose tolerance test (OGTT). Recently, an International Expert Committee added the  $HbA1c \geq 6,5\%$  as a third option to diagnose diabetes.

### ***1.1.2. Disease generating mechanism of type 2 diabetes***

The development of type 2 diabetes is caused by the interaction between the environmental and genetic factor. The environmental factor is habit changing in exercising reduction, eating mechanism that increase of glucose and fat and decrease of cellulose resulting in energy excess, stress. Besides, there are some factors that cannot be controlled such as an increasing of average dead age, female gender, and genetics.

Diabetes mellitus (DM) type 2 is characterized by either lack of insulin production or deficient activity in the presence of normal or even elevated levels of insulin. This disease is a metabolic disorder characterized by increased blood glucose levels. Chronically, the disease causes micro-vascular (retinopathy, nephropathy and neuropathy) and macro-vascular (hypertension, dyslipidemia, myocardial infarction and stroke) complications.

Several risk factors have been associated with type 2 diabetes and include: Family history of diabetes; Overweight; Unhealthy diet; Physical inactivity; Increasing age; High blood pressure; Impaired glucose tolerance (IGT); History of gestational diabetes; Poor nutrition during pregnancy.

### ***1.1.3. Treatment of type 2 diabetes***

Treatment methods comprise the amendment way of living (diet and physical exercise) and taking medicine.

Currently, medicine for treatment type 2 diabetes focuses on the group: medicine to excite insulin excretion (sulfonylurea, glitinid),

medicine to increase the sensitive of objective cell with insulin (biguanid,thiazolidinedion group), enzyme  $\alpha$  glucosidase inhibitor, GLP-1 receptor agonist, DPP-4 inhibitor, medicine to restrict co-transport Na<sup>+</sup>/glucose substance at kidney larynx.

The goals in caring for patients with diabetes mellitus are to eliminate symptoms and to prevent, or at least slow, the development of complications. According the goal of treatment is typically an HbA<sub>1c</sub> of around 7%. Combined treatment of risk factors such as hypertension, dyslipidemia.

However these goals may be changed after professional clinical consultation, taking into account particular risks of hypoglycemia and life expectancy.

## **1.2. Reasons, disease generating, symptom and treatment principles on type 2 diabetes according to traditional medicine**

According to traditional medicine, diabetes belongs to the category of “Xiaoke disease”.

Xiaoke is attributed to three main factors: improper diet (consuming large quantities of sweets, fatty or greasy foods, alcohol...), emotional disturbances (stress, anxiety, depression,) and a constitutional and Yin deficiency (fatigue, weakness, lethargy, pale complexion).

In traditional medicine, the diagnoses and treatment of Xiaoke disease were traditionally based on “three excessive and one loss” symptoms, excessive fluid drinking, excessive food-consumption, excessive urination, and weight loss and its core pathogenesis are “Yin deficiency and dryness-heat.” However, 80% of type 2 diabetes patients do not have these three typical symptoms, so are very different form Xiaoke. But almost of type 2 diabetes patients are overweight or obese, suggesting that these obese diabetes patients form the majority of the diabetic population. In addition, compared with prior living environments, the modern diet has changed significantly, which has resulted in a significant increase in the diabetic population. Fewer individuals are thin, and an increasing number of people are obese. Thus, physicians gradually realized that the typical Sanjiao symptoms usually

develop later during the pathogenesis of diabetes, and so most people with diabetes do not present with these symptoms so novel theories have been proposed. Diabetes symptoms are complex, and physicians do not have unified opinions regarding the pattern identification based the syndrome differentiation of diabetes. Diabetes mellitus treatment using integrated traditional medicinal and western medicinal therapy have all been proposed for the traditional medicine-mediated differentiation of the clinical stages of diabetes mellitus suggested that the traditional medicine-mediated differentiation with the clinical stages of diabetes mellitus is indispensable. Therefore, we performed syndrome differentiation based on the clinical stages of diabetes.

Herbal medications treating type 2 diabetes can target multiple mechanisms including enhancement of insulin sensitivity, stimulation of insulin secretion, or reduction of carbohydrate absorption. Unlike Western medicine which usually contains a single active ingredient aiming for a specific mechanism, herbal concoctions may contain various active ingredients targeting multiple mechanisms. Herbal medicine is based on the holistic theory, which puts an emphasis on the integrated body. Western drugs are typically more potent than herbal medicine in lowering blood glucose levels. However, herbal supplements are highly safe and shown to be able to treat diabetic complications. Thus herbal medicine can also be used as supplementation or in combination with the Western medicine to improve better therapeutic outcomes.

#### **1.4. Nhatduonglinh medicine**

-Composition of Nhatduonglinh medicine

No.	Name of medicines (drug)	Content
1.	Radix Glehniae	10g
2.	Radix Ophiopogonis japonici	12g
3.	Radix Rehmanniae glutinosae	12g
4.	Fructus lycii	12g
5.	Radix Angelicae sinensis	12g
6.	Rhizoma Atractylodis macrocephalae	12g
7.	Thallus Laminariae seu Eckloniae	10g

- Form of study material: Nhat duong linh is formulated into capsules, concentration of 500 mg / capsule
- Effect: yin nourishing, heat clearing, qi tonifying, phlegm relieving, stasis activating blood and resolving
- Modern research results show that medicine components of Nhat duong linh medicine all contains chemical compositions that have effect to reduce blood glucose practically.

## **Chapter 2**

### **MATERIALS - SUBJECTS AND METHODOLOGY**

#### **2.1. Researching materials**

Nhatduonglinh capsule 500mg, prepared at the Department of Pharmacy, National Hospital of Traditional Medicine.

The Nhatduonglinh capsule is produced with modern pharmaceutical technologies, which ensure the equal quantity of each herb component in each capsule

#### **2.2. Subject's research**

##### **2.2.1. Research in experimental**

*Swiss strain white mice, Newzealand White strain rabbits* that meet study's criteria provided by breeding center of experimental animals.

##### **2.2.2. Clinical research**

The study involves 80 patients who were diagnosed type 2 diabetes, both genders, treated at the National Hospital of Traditional Medicine. Patients was selected according to the study's criteria.

##### **\* Criteria to select patients for research.**

- Aged 30–70 years
- Poor glycemic control with fasting plasma glucose (FPG) between 7,2–10 mmol/L and HbA1c <8%
  - Patients, who are newly discovered of type 2 diabetes, have been treated by diet and physical exercise regimes but no result is generated.
  - Patients received treatment with metformin at a stable dose  $\geq 1000$  mg/day for at least 3 months before screening, and glycated hemoglobin (HbA1c)  $\geq 7\%$  at screening.

**\* Exclusion criteria:**

- FPG $\geq$ 10 mmol/L or HbA1c $\geq$ 8%
- Treatment with glucose-lowering agents other than metformin before screening.
- Kidney function or serum creatinine levels reaching the upper limit of normal, alanine aminotransferase (ALT) or aspartate aminotransferase (AST) $>$ 2.5 times the upper limit of normal, suffering from acute or chronic hepatitis, hemoglobin disease or chronic anemia, or underlying conditions that could lead to poor compliance.
- Type 1 diabetes patient and pregnant and breeding women type 2 diabetes.

**2.3. Research methods**

**2.3.1. Research in experimental**

***\*Studies on acute and semi-chronic toxicity experiment***

- *Acute toxicity test:* to be confirmed on white mouse by oral taking due to Litchfield - Wilcox on method: Nhatduonglinh syrup dose 125g medicine material /kg body weight /24 hours to highest dose that mice can drink 625g medicine material /kg body weight /24 hours (at different doses that may provide for mouse to drink 2 or 3 times to attain maximum cubit dimension to be able to drink within 24 hours). Follow up 1 week on health conditions, operation, digression, death or alive. Comparison to taking of poured distilled water.

- *Semi chronic toxicity test:* to carry out on rabbit with dose 4,8g/kg/day (equivalent to dose used on human being, calculated by 3rd coefficient) and dose 24 g/kg/day (5 times higher than dose used on human being) during test time of 12 weeks. To follow up weight, eating, sleeping, digestion, biochemical function of liver, kidney, tissue disease of liver and kidney. Comparison to taking of poured distilled water.

***\*To investigate the hypoglycemic action of Nhatduonglinh capsules in type 2-like diabetic mice.***

- Type 2-like diabetic mice model: obesity mice by rich nutria energy from lipid and fructose (HFD regime) in 8 weeks then injected STZ 100mg/kg dose.

- Carry out weight testing of mouse, take peripheral blood testing to carry out the identification of blood glucose content when being hungry at period before, after feed by HFD in 8 weeks, after injected STZ 72 hours and after two weeks of taking Nhat duong linh medicine. Lipid index (complete cholesterol (TC), triglyceride (TG), HDL-Cholesterol (HDL-c), LDL-Cholesterol (LDL-c) before and after two weeks of taking Nhat duong linh medicine. Results are compared with type 2-like diabetic mice taking orally gliclazid dose 80mg/kg.

- Study site: Pharmacological Department, Hanoi Medical University

### **2.3.2. Clinical research**

- Open clinical research - testing - compare results before and after treatment.

- 80 patients type 2 diabetes with unsatisfactory glyemic control (fasting glucose 7,2–10 mmol/L), HbA1c<8% were randomly assigned to receive Nhat duonglinh capsules in two study groups: drug naive group and metformin group

- Group 1 (drug naive group): 45 patients taking NDL 500mg x 12capsules/day, dividing into 3 times, before breakfast, lunch, dinner 30 minutes.

- Group 2 (metformin group): 35 patients taking NDL 500mg x 12capsules/day dividing into 3 times, before breakfast, lunch, dinner 30 minutes, combined metformin stable dose  $\geq 1000$ mg/day (unchanged dose compare before screening).

The treatment course lasted for 90 days.

Based on clinical symptoms, patients of each group were classified into 2 most frequency types on traditional medicine: yin deficiency and heat injured body fluid

#### **\*Researching content:**

- Patients are medical examined over ally on clinic by modern and traditional medicines, to do para-clinical tests before researching.

- Patients in researching guided to implement one eating regimes, physical exercise while being treated.



- Patients are regularly checked with blood glucose and periodical medical examination 2 weeks/1 time, after that they are given medicines and using guidance on days D<sub>0</sub>, D<sub>15</sub>, D<sub>30</sub>, D<sub>45</sub>, D<sub>60</sub>, D<sub>75</sub>, D<sub>90</sub>.

**\* Outcome appraisal method:**

- Subjective symptoms test 15 days /1 time on (D<sub>0</sub>, D<sub>15</sub>, D<sub>30</sub>, D<sub>45</sub>, D<sub>60</sub>, D<sub>75</sub>, D<sub>90</sub>) based on main symptoms on eating, drinking, urinating, tiredness, palpitations, insomnia, and constipation. Objective symptoms are evaluated at periods (D<sub>0</sub>, D<sub>30</sub>, D<sub>60</sub>, D<sub>90</sub>) according to marking form by table. Each symptom was graded into four categories and assigned a score from 0 to 3 (3=most severe category).

- Criteria for the assessment before and after taking medication

\* *In clinical:* Body Mass Index (BMI); Waist hip ratio (WHR ); Blood pressure on treatment days D<sub>0</sub>, D<sub>30</sub> , D<sub>60</sub> and D<sub>90</sub>.

\* *Laboratory:*

+ Fasting plasma glucose testing (FPG) on treatment days D<sub>0</sub>, D<sub>15</sub>, D<sub>30</sub>, D<sub>60</sub>, D<sub>90</sub>.

+The 2-h plasma glucose (2-h PG) tests on treatment days D<sub>0</sub>, D<sub>30</sub>, D<sub>60</sub>, D<sub>90</sub>.

+ Glycated hemoglobin test (HbA1c) on treatment days D<sub>0</sub> and D<sub>90</sub>.

+ Hematopietic function (number of erythrocyte, Hb, hematocrit, formula of leukocyte and number of thrombocyte); Urinate testing: Urinary's, protein, urinate on treatment days D<sub>0</sub> and D<sub>90</sub>. Lipid parameters (cholesterol, triglycerid, HDL-C, LDL-C); ALT, AST, ure, creatinin test on treatment days D<sub>0</sub> and D<sub>90</sub>

- To follow up unexpected effect: hypoglycemic, vomiting attempt, vomiting, bellyache, itching...

- Evaluation of general treatment effect: Based on FPG, 2h-PG and HbA1c to classify into achieving glycemic goals types (FBG<7,2 mmol/L, 2h-PG<10mmol/L, HbA1c< 7%) and haven't been achieved glycemic goals.

- Study site: Department of Consultation, Gerontology, National Hospital of Traditional Medicine

**2.4. Data processing:** using SPSS 16.0 software with T-test Student and  $\chi^2$ .

### Chapter 3: RESEARCH FINDINGS

#### **3.1. Searching results acute and sub-chronic toxicity with effect to reduce glucose of blood by oral taking Nhatduonglinh capsules in experimental animal.**

##### ***3.1.1. Result on acute toxicity research (LD<sub>50</sub>)***

Maximum taking dose 625g/kg body weight of mice, 32 times of estimated dose used on human has no pernicious toxic manifestation.

##### ***3.1.2. Result on semi-chronic toxicity***

Dose of 4,8g/kg/day (equivalent to dose used on human being) and dose 24g/kg/day (five times higher than dose used on human being), taking orally continuously in three months, there is no change on hematology index, hematology biochemical indexes and liver tissue disease of rabbit's kidney.

##### ***3.1.3. Do research on glucose reduction and blood lipid effect of Nhatduonglinh capsules (NDL) in experimental animals.***

- Control group: Sample batch: NFD regime + drinking distilled water
- Model group: HFD regime +injecting STZ dose 100mg/kg+ drinking distilled water
- Gliclazid group: HFD regime + injecting STZ dose 100mg/kg+ taking gliclazid dose 80mg/kg
- NDL 19.2g/kg group: HFD regime + injecting STZ dose 100mg/kg+taking NDL capsules dose 19.2g/kg.
- NDL 57.6g/kg group: HFD regime + injecting STZ dose 100mg/kg+taking NDL capsules dose 57.6g/kg.

**Table 3.1 Effect of NDL capsules on glucose blood level of mice**

<b>Researching group</b>	<b>Blood glucose level (mmol/L)(<math>\bar{x} \pm SD</math>)</b>		
	Before taking NDL (T0)	After 1 week taking NDL (T1)	After 2 weeks taking NDL (T2)
Group1: Control group	6.03 $\pm$ 0.82	5.92 $\pm$ 0.51	5.46 $\pm$ 0.58
Group2: Model group	18.46 $\pm$ 6.54	20.77 $\pm$ 3.12	17.16 $\pm$ 4.31
<i>Change compare T0 (%)</i>		<b><math>\uparrow 12.5</math></b>	<b><math>\downarrow 7.0</math></b>
Group3: Gliclazid group	17.41 $\pm$ 5.32	16.53 $\pm$ 3.76 p3-2<0.05	11.73 $\pm$ 2.79 p3-2<0.05
<i>Change compare T0 (%)</i>		<b><math>\downarrow 5.1</math></b>	<b><math>\downarrow 32.6</math></b>
<i>Change compare model (%)</i>		<b><math>\downarrow 20.4</math></b>	<b><math>\downarrow 31.6</math></b>
Group4: NDL 19.2g/kg group	17.06 $\pm$ 6.77	20.05 $\pm$ 6.58 p4-2>0.05 p4-3>0.05	14.04 $\pm$ 5.17 p4-2>0.05 p4-3>0.05
<i>Change % (compare T0)</i>		<b><math>\uparrow 17.5</math></b>	<b><math>\downarrow 17.7</math></b>
<i>Reduction (%) (compare model group)</i>		<b><math>\downarrow 3.5</math></b>	<b><math>\downarrow 18.2</math></b>
Group5: NDL 57.6 g/kg group	17.26 $\pm$ 6.50	18.29 $\pm$ 4.55 p5-2>0.05 p5-3>0.05	11.19 $\pm$ 3.16 p5-2<0.05 p5-3>0.05
<i>Change (%) (compare T0)</i>		<b><math>\uparrow 5.9</math></b>	<b><math>\downarrow 35.2</math></b>
<i>Reduction (%) (compare model group)</i>		<b><math>\downarrow 11.9</math></b>	<b><math>\downarrow 34.8</math></b>

**Table 3.2. Effect of NDL capsules on lipid blood level of mice**

Researching group	Blood lipid level (mmol/L)( $\bar{x} \pm SD$ )			
	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-c (mmol/L)	LDL-c (mmol/L)
Control group	2.93 ± 0.56	0,65 ± 0,11	1,39 ± 0,13	1,24 ± 0,51
Model group	3.74± 0,51	0.83± 0.22	1.66± 0.15	1.71 ± 0.39
Gliclazid group	4.05 ± 0.33	0,89 ± 0.20	1.60 ± 0.08	1.97 ± 0.29
Difference compared to model group	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05
NDL 19.2g/kg group	3.60 ± 0.58	0.72 ± 0.12	1.54 ± 0.05	1.73 ± 0.55
Difference compared to model group	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05
NDL 57.6 g/kg group	3.78 ± 0.33	0.85± 0.17	1.89 ± 0.34	1.51 ± 0.43
Difference compared to model group	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05
Difference compared to NDL 19.2g/kg group	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05

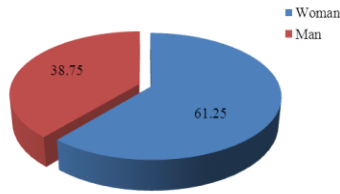
### 3.2. Clinical results

#### 3.2.1. Subjects characteristic

\* *Distribution of patients by ages and gender*

**Table 3.3. Distribution of patients by ages**

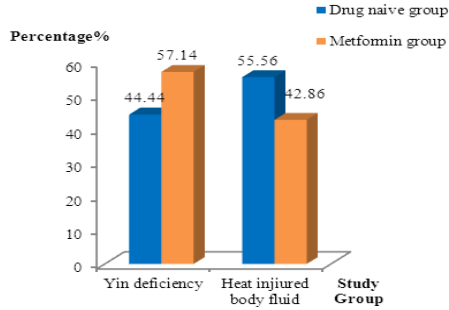
Researching group	Ages				Age-mean ( $\bar{x} \pm SD$ )
	< 40	40-49	50-59	60-70	
Drug naïve group(n=45)	2 (4.44%)	4 (8.90%)	15 (33.33%)	24 (53.33%)	58.20±8.62
Metformin group (n=35)	0	1 (2.86%)	7 (20%)	27 (77.14%)	61.49±5.96
Common patient (n=80)	2 (2.5%)	5 (6.25%)	22 (27.50%)	51 (63.75%)	59.64±7.71



**Chart 3.1. Distribution of patients by gender**

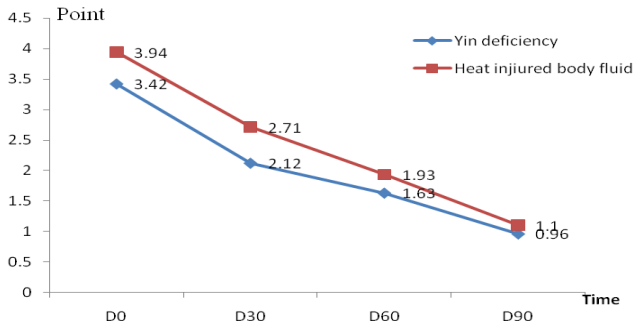
**Table 3.4. Baseline demographic and clinical variables**

<b>Variables</b>	<b>Drug naive group (n=45)</b>	<b>Metformin group (n=35)</b>
BMI ( $\bar{X} \pm SD$ )	22.98±1.62	22.98±1.71
WHR( $\bar{X} \pm SD$ )	0.88±0.04	0.89±0.04
Hypertension (%)	40%	60%
Dyslipidemia (%)	62.22%	65.71%
Fasting plasma glucose (mmol/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )	7.97±0.71	8.53±0.88
2-h plasma glucose (mmol/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )	10.85±1.42	13.13±1.37
Glycated hemoglobin (%) ( $\bar{X} \pm SD$ )	6.55±0.96	7.22±0.27
Total Cholesterol (mmol/l)( $\bar{X} \pm SD$ )	5.47±0.94	5.66±1.32
Triglycerid (mmol/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )	2.46±1.45	2.87±1.96
LDL-c (mmol/l)( $\bar{X} \pm SD$ )	3.46±0.80	3.42±1.09
HDL-c(mmol/l)( $\bar{X} \pm SD$ )	1.12±0.31	1.13±0.26

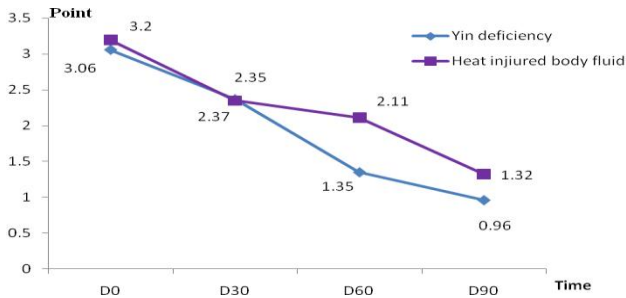


**Chart 3.2. Traditional medicine types**

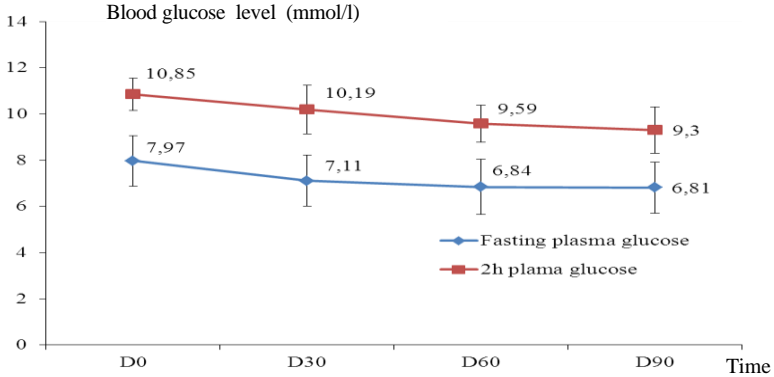
**3.2.2. Changes of clinical symptoms and laboratory tests in the course of treatment**



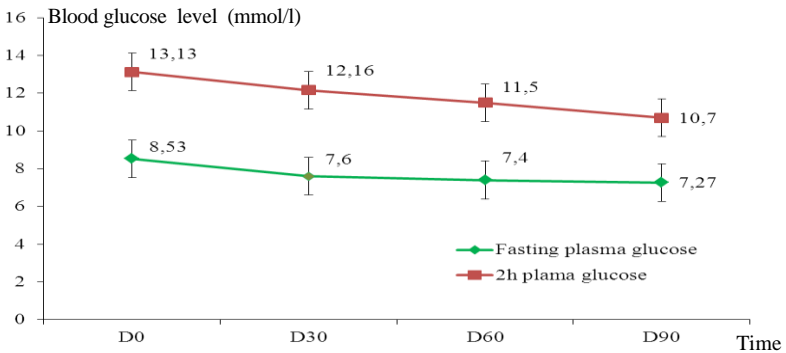
**Chart 3.3. Results on changing of traditional clinical symptoms by traditional medicine types of drug naive group**



**Chart 3.4. Results on changing of traditional clinical symptoms by traditional medicine types of metformin group**



**Chart 3.5. Results on changing of blood glucose in drug naive group**



**Chart 3.6.. Results on changing of blood glucose in metformin group**  
**Table 3.5. Results on changing of HbA1c after 90 days of treatment.**

Group	HbA1c % ( $\bar{X} \pm SD$ )		p	D0-D90 difference ( $\bar{X} \pm SD$ )
	D0	D90		
Drug naive group	6.55± 0.96	5.96±0.64	<0.05	0.59±0.17
Metformin group	7.22±0.27	6.76±0.51	<0.05	0.46±0.14

**Table 3.6. Results on changing of blood lipid after 90 days of treatment.**

Index ( $\bar{X} \pm SD$ )	Drug naive group (n=45)			Metformin group (n=35)		
	D0	D90	p	D0	D90	p
Cholesterol (mmol/L)	5.47±0,94	4.89±0,96	<0.05	5.66±1.32	5.10±1.07	<0.05
Triglycerid (mmol/L)	2.46±1,45	2.24±1,50	>0.05	2.87±1.96	2.55±1.91	>0.05
LDLc (mmol/L)	3.46±0,80	3.15±0,69	>0.05	3.42±1.09	3.19±1.01	>0.05
HDL-c (mmol/L)	1.12±0,31	1.16±0,34	>0.05	1.13±0.26	1.16±0.25	>0.05

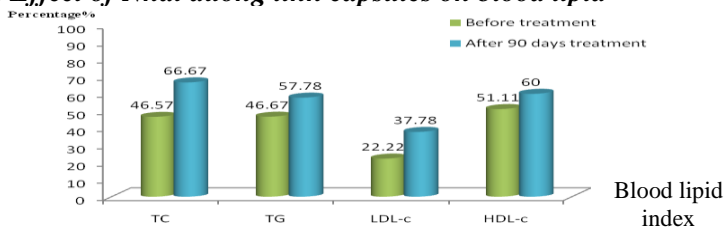
### 3.2.3. Classification of treatment results

#### 3.2.3.1. Effect of Nhat duong linh capsules on blood glucose

**Table 3.6. The percentage of patients achieved glycemic goals**

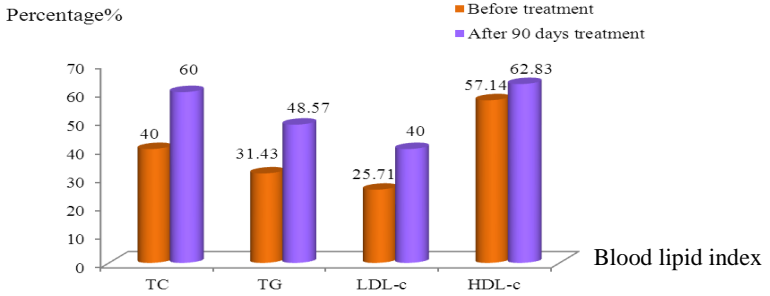
Achieved glycemic goals	Drug naive group (n=45)		Metformin group (n=35)	
	Number of patient	Rate (%)	Number of patient	Rate (%)
Fasting plasma glucose <7,2 mmol/l	32	71.11	19	54.29
2-h plasma glucose <10 mmol/l	33	73.33	20	57.14
Glycated hemoglobin <7%	42	93.33	21	60
Fasting plasma glucose <7,2 mmol/l and Glycated hemoglobin <7%	32	71.11	18	51.43
Three glycemic goals	30	66.67	14	40.00

#### 3.2.3.2. Effect of Nhat duong linh capsules on blood lipid

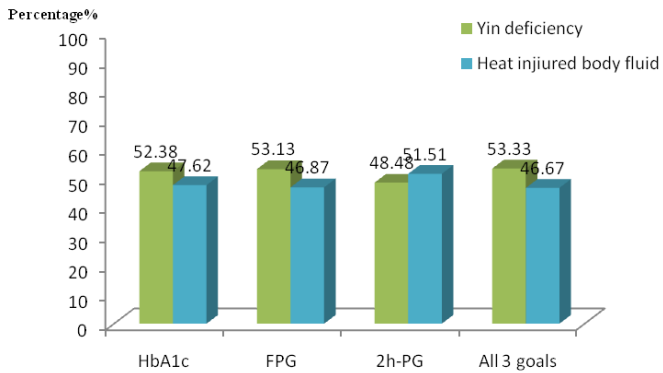


**Chart 3.7. The percentage of patients achieved lipid goals before and after treatment of drug naive group**

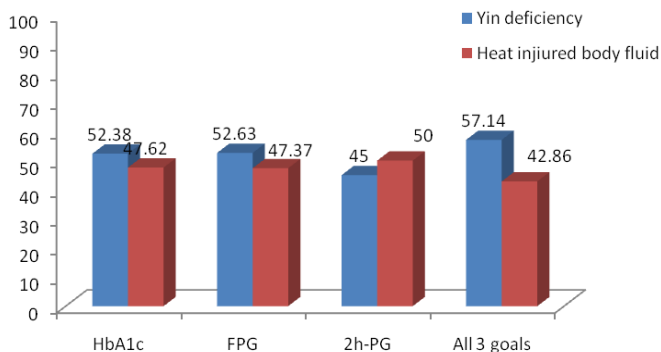




**Chart 3.8. The percentage of patients achieved lipid goals before and after treatment of metformin group**



**Chart 3.9. Comparison the effective treatment of NDLC capsules between traditional medicine types of drug naive group**



**Chart 3.10. Comparison the effective treatment of NDL capsules between traditional medicine types of metformin group**

### 3.2.4. Adversed effects of Nhatduonglinh capsules

**Table 3.7. Hematological indexes before and after treatment**

Group Index ( $\bar{X} \pm SD$ )	Drug naive group (n= 45)		Metformin group (n=35)	
	D0	D60	D0	D60
Number of erythrocyte (T/l)	4.82±0,54	4.81±0,52	4.79±0,41	4.89±0.49
	p>0.05		p>0.05	
Hemoglobin (g/l)	132.16±26.36	130.77±26.99	129.99±27.99	125.75±28.05
	p>0.05		p>0.05	
Number of leukocyte (G/l)	7.63±1.88	7.12±1.64	8.29±2.45	7.88±1.93
	p>0,05		p>0,05	
Number of platelet (G/l)	242.07±69.49	237.93±52.69	257.54±57.63	253.11±62.48
	p>0.05		p>0.05	

**Table 3.8. Biochemical indexes before and after treatment**

Group Index ( $\bar{X} \pm SD$ )	Drug naive group (n= 45)		Metformin group (n=35)	
	D0	D60	D0	D60
AST (U/l)	30.62±15.66	26.54±10.68	28.08±1.26	25.14±8.68
	p>0.05		p>0.05	
ALT (U/l)	36±21.12	30,25±10.47	31.94±10.72	29.60±10.04
	p>0.05		p>0.05	
Ure (mmol/l)	5.98±1.42	5.63±1.22	5.97±1.57	5.62±1.73
	p>0.05		p>0.05	
Creatinin ( $\mu$ mol/l)	78.75±17.78	74.95±22.41	78.34±17.26	78.54±15.06
	p>0.05		p>0.05	

**3.2.5. Unexpected clinical effect**

Within 90 continuous treatment days, there is 2.5% of the case that patients go to stool with crushed excrements when they start to take medicine but the symptom gradually disappears after 1 – 2 days and treatment diagram is still continued.

**Chapter 4: DISCUSSION****4.1. Theoretical basis of the selection of researching remedy**

Based on dialectics basis to treat thirsty digestion, Nhat duong linh remedy is established which comprises 7 medical drugs with effects to nourishing yin, clearing away heat, tonify qi, relieve phlegm, activate blood and resolve stasis. The remedy use medicines that nourishing yin, clearing away heat (Radix Glehniae, Radix Rehmanniae glutinosae, Radix Ophiopogonis japonici, Fructus lycii) in combination with Rhizoma Atractylodis macrocephalae have effected tonify qi, Thallus Laminariae seu Eckloniae relieve phlegm, Radix Angelicae sinensis activate blood. Besides, modern medicine and pharmaceutical research results also prove that drugs in Nhat duong linh comprises composition with effect to reduce blood glucose which has been presented.

In addition, type 2 diabetes is a chronic disease requiring regular treatment, and in fact drug use should be simple to facilitate patient easy adherence to treatment. Therefore, from the traditional dosage forms, syrup medicine Nhat duong linh was highly improved into

capsule dosage form, the modern traditional medicine which will in line with the natural needs for long-term treatment of the disease.

## **4.2. Research finding in experimental**

### **4.2.1. Acute toxic research ( $LD_{50}$ )**

Maximum taking dose 625g/kg body weight of mice, 32 times of estimated dose used on human has no pernicious toxic manifestation.

Edical composition in the remedy which has been announced as non toxic in medical books and traditional medical practices, those medicines are regularly prescribed to coordinate 5 medicines to each other according to treatment theory which does not cause toxic to patients. Research results prove that Nhat duong linh capsule has widely safe scale.

### **4.2.2. Semi-chronic toxicity**

Dose of 4.8g/kg/day (equivalent to dose used on human being) and dose 24g/kg/day (five times higher than dose used on human being), taking orally continuously in three months, there is no change on hematology index, hematology biochemical indexes and liver tissue disease of rabbit's kidney.

### **4.2.3. Effect to reduce blood glucose of Nhat duong linh capsules in experimental animals.**

Topics using methods cause diabetes in mice with high-fat diet for 8 weeks lasted for causing turmoil glucose tolerance then injected STZ low dose 100mg / kg (single dose) to destroy part of pancreatic beta cells, diabetes illness creates roughly equivalent to type 2 diabetes in humans.

The study results showed that, in mice drinking lots NDL blood glucose concentrations were reduced compared with before treatment, drinking lots 57.6g NDL medicinal dose / kg / day reduced blood glucose levels significantly, compared to the model (down 34.8%).The difference was statistically significant at  $p < 0.05$ . This result shows that the drug NDL hypoglycaemia works quite well on the empirical. Effects in reducing blood glucose levels may be the well combination of certain hypoglycaemia medicinal product which has been proven in experiments like Radix Rehmanniae glutinosae, Radix Ophiopogonis japonici, Fructus lycii).

Hyperglycaemia condition often accompanied by blood RLLP status has been proved by the results of research raising model. Besides blood glucose lowering effect, NDL capsules also tends to reduce blood lipid values cholesterol, triglycerides, LDL-C and

increasing HDL-C, compared to the model. But the difference is not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

Saponin contained in the medicinal ingredients of the NDL drug is reported as lipid-lowering effects in multiple studies. However, in this study because of the type 2 diabetes model we created a severe dyslipidemia and the time taken in the study was so short that the initial effect of the NDDL drug in the adjusted dyslipidemia is still not clear.

### **4.3. Regarding results on clinical research**

#### **4.3.1. General attributions of researched patient**

##### ***\*Ages and gender:***

The average age of patients participating group was  $59.64 \pm 7.71$  Research in which 70-year-old is the oldest and the lowest was 38 years old. The highest age group is concentrated from age 60-70 accounted for 63.75% in which the ratio is 61.25% female patients and 38.75% male. According Diabcare-Vietnam (2003), the average age of patients with diabetes was  $57.6 \pm 13.2$  years . 51-70 year-old age group is also more common in the age group of several studies in patients with type 2 diabetes, such as Pham Hong Hoa (2010), Tieu Ngoc Chien (2013).

Up to now, there is no persuaded explanation for the reason that female diabetes patient, kind 2 is more than male patients. According to traditional medicine, the body generates thirsty digestion due to damaged inner organs causing inner heat. Inner heat is the top of the symptom; damaged inner organs are the root – reasons of the disease. On the other hands, traditional medicine has concepts that when women grow old, they become having surplus negative energy and lacking of positive energy, in man, it is opposite. Therefore, origin of thirsty digestion would happen in woman more than man is quite suitable to philosophy theory of traditional medicine.

##### ***\* Situation weight control, blood pressure, blood lipids before treatment***

Before treatment, drug naive group ratio among patients with hyperlipidemia is 62.22%, hypertension 40%. Metformin group, the proportion of patients with blood was 65.71% hyperlipidemia,

hypertension is 60%. Drug naive group, BMI was  $22.98 \pm 1.62$ , WHR index was  $0.88 \pm 0.04$ , metformin group, BMI was  $22.98 \pm 1.71$ , WHR index was  $0.88 \pm 0.03$ . The results show that, at the time of the original has a high proportion of study patients suffering from hypertension accompanied, dyslipidemia and the majority of patients admitted but not too overweight, obese but rates of waist / hip high . This result is similar to the results of a number of domestic league when research on type 2 diabetes patients in Vietnam as Nguyen Khoa Dieu Van (2006), Vu Ngoc Linh (2010).

**\* Blood glucose test**

At the start of the study, in drug naive group, fasting blood glucose was  $7.97 \pm 0.71$  (mmol / l), metformin group was  $8.53 \pm 0.88$  (mmol / l). Fasting blood glucose in our study is similar to fasting blood glucose levels in the study of a number of other local authors when studying the effects of certain traditional medicines in patients with diabetes type 2 as Tieu Ngoc Chien (2013), Tran Thi Thu Trang (2015).

**4.3.2. The effect blood glucose reduction support of *Nhat duong linh* capsules in type 2 diabetes patient**

**\* Improvement of functional symptoms**

NDL capsules with ingredients mainly belong nourishing yin clearing away heat of herbs medicine group effects have improved some functional symptoms on the patient's clinical type 2 diabetes-related securities, such as fatigue, dry mouth, thirst, hunger or appetite, frequent urination, constipation .... The result is similar to the results of research on the effects of some traditional medicines to support the treatment of diabetes type 2 was announced as the Bat vi tri ba, Thap vi giáng duong phuong giang, Tieukhatling...

**\* The effects of *Nhat duong linh* capsules on blood glucose and HbA1c**

- Blood glucose level: In both study groups, the average fasting blood glucose and postprandial blood glucose average 2h at the time of D30, D60, D90 statistically significant reduced when compared to the fasting blood glucose and postprandial 2h at D0 initial point. Many studies have showed that, increased glucose in diabetic

chronic causes damage, dysfunction should agencies lowering blood glucose would improve the long-term prognosis of patients.

-The HbA1c level: The clinical intervention trials were considered large HbA1c is the best representative results in the treatment of diabetes. HbA1c reduction as it aims to reduce the risk of vascular complications and neurological. The study results showed that, after 90 days of treatment, HbA1c decreased on average  $0.59 \pm 0.17\%$  in drug naïve group and  $0.46 \pm 0.14\%$  in metformin group, compared to the before treatment by NDL capsules. The difference was statistically significant at  $p < 0.05$ .

*\* Evaluation on the reduction blood glucose effect of Nhat duong linh capsules based on western medicine*

Evaluate the effectiveness of blood glucose control base on HbA1c and treatment of diabetes according to achieved goals often used as benchmarks in the diabetes clinical study of western medicine. According ADA 2014 standard, the achieved glycemic goals are HbA<sub>1c</sub> less than 7%, fasting glucose of less than 7,2 mmol/L (130 mg/dL), two-hour plasma glucose of less than 10mmol/L (180mg/dL)

The study results showed that, the percentage of patients achieved glycemic goals in drug naïve group is 66.67% and 40% in metformin group.

This results will open a further study prospects for early drug widely used Nhat duong linh in community

#### **4.2.4. The safety of Nhat duong linh capsules**

Within 90 continuous treatment day, there are 2.5% the case that patient go to stool with crushed excrements when they start to take medicine but the symptom gradually disappears after 1 – 2 days and treatment diagram is still continued. Do not show other symptoms: nausea, vomiting, headache, hives, rashes, urticaria ... especially not a single patient has hypoglycaemia expression.

This result is in consistent with the results of experimental studies NDL capsules which showed clinical dose, the NDL is safe for

patients and is consistent with the research on diabetes medications sources effective herbal treatment and has high safe.

## CONCLUSION

### ***1. Nhatduonglinh capsules has high safety, with effect to reduce glucose in experimental animals.***

-Maximum taking dose 625g/kg weight of mice has no acute toxic manifestation. Dose of 4.8g/kg/day (equivalent to dose used on human being) and dose 24 g/kg/day (five times higher than dose used on human being), taking orally continuously in three months, there is no change on hematology index, hematology biochemical indexes and liver tissue disease of rabbit's kidney.

-Type 2-like diabetic mice orally taking Nhatduonglinh capsules with dose 57.6g/kg weight /day in parallel with HFD eating regime continuously in 8 weeks then injected STZ 100mg/kg dose, it has effect: glucose content in blood reduces ( $p < 0.05$ ). Total cholesterol, triglycerid and low density lipoprotein cholesterol, reduction effect resulting difference was not statistic significantly with  $p > 0.05$ .

### ***2. Nhatduonglinh capsules has effect blood glucose reduction support in type 2 diabetes patient with HbA<sub>1c</sub> less than 8%, fasting glucose of less than 10 mmol/L. Nhatduonglinh has safety profile, side effects are rare and usually resolve after 90 days of treatment.***

-In drug naive group, FPG reduced from  $7.97 \pm 0.71$  to  $6.81 \pm 1.06$  (mmol/l); 2h PG reduced from  $10.85 \pm 1.42$  to  $9.30 \pm 1.51$  (mmol/l). HbA<sub>1c</sub> reduced from  $6.55 \pm 0.96\%$  to  $5.96 \pm 0.64\%$  ( $p < 0.05$ ). The percentage of patients achieved glycemc goals is 66.67%. Cholesterol (TC) reduced from  $5.47 \pm 0.94$  to  $4.89 \pm 0.96$  (mmol/l) ( $p < 0.05$ )

- In metformin group, FPG reduced from  $8.53 \pm 0.88$  to  $7.27 \pm 0.96$  (mmol/l); 2h PG reduced from  $13.13 \pm 1.37$  to  $10.70 \pm 1.67$  (mmol/l). HbA<sub>1c</sub> reduced from  $7.22 \pm 0.27\%$  to  $6.76 \pm 0.51\%$  ( $p < 0.05$ ). The percentage of patients achieved glycemc goal is 40%. Cholesterol (TC) reduced from  $5.66 \pm 1.32$  to  $5.10 \pm 1.07$  (mmol/l) ( $p < 0.05$ )

- Nhatduonlinh capsules has blood glucose reduction effect resulting in type of yin deficiency and heat injured body fluid difference was not statistic significantly with  $p > 0.05$ .

- No unexpected effect is found on type 2 diabetes patients after 90 days of treatment.

## RECOMMENDATION

1. Drugs NDL should have further clinical studies with larger sample sizes scale and longer duration to provide the scientific basis for the application of a traditional medicine preparations, serving the prevention and treatment of diabetes type 2.

2. Need research to find out the mechanism of action of the drug.