



Original Article

## Evaluation of the Hepatoprotective Activity of the Wood of *Heliciopsis lobata* (Merr.) Sleumer

Bui Van Trung<sup>1</sup>, Nguyen Thu Hang<sup>2</sup>, Duong Hong Anh<sup>3</sup>, Pham Hung Viet<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Drug Quality Control, 48 Hai Ba Trung, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Vinh Medical University, 116 Nguyen Phong Sac, Vinh city, Nghe An, Vietnam

<sup>3</sup>VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam

Received 26 October 2022

Revised 23 November 2022; Accepted 25 November 2022

**Abstract:** *Heliciopsis lobata* (Merr.) Sleumer is a popular herbal material in the North-West territories of Vietnam. The wood of this plant is still used for the treatment of some liver diseases, although there is no scientific evidence for evaluating these activities and the safety of this herbal material. Our study focused on accessing acute toxicity and hepatoprotective activity of water extract from the wood of *Heliciopsis lobata*. Among experimental groups of mice induced by high dosage of paracetamol, mice were treated with extract at dosages of 0.56 g/kg, 1.15 g/kg and 2.30 g/kg could be against liver damage with different levels. Water extract at dosages of 0.56 g/kg and 1.15 g/kg could maintain the original situation of livers; significantly reduced the increase of ALT and AST enzymes at levels of about 80% and 87% respectively; significantly reduced 70% the increase of AST, and against most of the peroxidation process in liver tissue. A dosage of 2.30 g/kg expressed lower hepatoprotective activities in comparison with the former dosages and which may increase liver toxicity when used with high dosages of paracetamol. The highest experimental dosage at 32.60 g/kg did not show acute toxicity by independent oral administration. It could be concluded that water extract of the wood of *Heliciopsis lobata* exposed hepatoprotective ability with dosage from 0.56 g/kg to 1.15 g/kg, equivalent to dosages from 60 g to 120 g for humans per day.

**Keywords:** Hepatoprotective, ALT, AST, TBARs, *Heliciopsis lobata*, acute toxicity.

\* Corresponding author.

E-mail address: [phamhungviet@hus.edu.vn](mailto:phamhungviet@hus.edu.vn)

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4448>

# Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết nước phân gỗ loài bàn tay ma đỏ (*Heliciopsis lobata* merr.) trồng tại Bắc Kạn

Bùi Văn Trung<sup>1</sup>, Nguyễn Thu Hằng<sup>2</sup>, Dương Hồng Anh<sup>3</sup>, Phạm Hùng Việt<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, 48 Hai Bà Trưng, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Y khoa Vinh, 116 Nguyễn Phong Sắc, Vinh, Nghệ An, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,  
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 26 tháng 10 năm 2022

Chỉnh sửa ngày 23 tháng 11 năm 2022; Chấp nhận đăng ngày 25 tháng 11 năm 2022

**Tóm tắt:** Bàn tay ma đỏ (*Heliciopsis lobata* (Merr.) Sleumer) thuộc họ Song quán (Protaceae) phân bố nhiều tại các tỉnh vùng núi phía Tây Bắc Việt Nam. Bàn tay ma đỏ vẫn đang được dùng để điều trị một số bệnh về gan nhưng chưa có minh chứng khoa học để đánh giá về liều dùng và độ an toàn của dược liệu này. Nghiên cứu này tập trung đánh giá độc tính cấp và khả năng bảo vệ gan của cao chiết nước phân gỗ dược liệu Bàn tay ma đỏ. Kết quả nghiên cứu cho thấy mẫu cao chiết nước của dược liệu này với liều 0,56 g/kg, 1,15 g/kg và 2,30 g/kg có khả năng phục hồi tình trạng gan bị tổn thương gây ra bởi paracetamol. Cao chiết liều 0,56 g/kg và liều 1,15 g/kg làm giảm các triệu chứng tổn thương trên gan chuột, đồng thời làm giảm khoảng 80% và 87% hoạt độ enzym ALT ở các liều tương ứng; giảm khoảng 70% hoạt độ enzym AST ở cả hai liều; và hầu như chống được hoàn toàn quá trình peroxyl hóa lipid ở gan. Liều 2,30 g/kg có tác dụng bảo vệ gan ít hơn nhiều so với hai liều trên, khi dùng cao chiết ở mức liều này đồng thời với paracetamol có thể làm tăng độc tính của paracetamol. Cho chuột uống cao chiết với liều 32,60 g/kg, liều cao nhất có thể cho chuột uống, không thể hiện các triệu chứng độc tính cấp. Có thể kết luận rằng liều cao chiết có khả năng bảo vệ gan ở khoảng liều từ 0,56 g/kg đến 1,15 g/kg cao chiết trên mô hình chuột nhất trắng, tương ứng với liều 60 g/kg đến 120 g/kg dược liệu cho người trên ngày; liều gây ra độc tính cấp có thể cao hơn gấp 28 lần liều 1,15 g/kg chuột.

**Từ khóa:** Bảo vệ gan, ALT, AST, TBARs, *Heliciopsis lobata*, độc tính cấp.

## 1. Mở đầu

Cây bàn tay ma đỏ (*Heliciopsis lobata* (Merr.) Sleumer), hay còn gọi là cây Đũa, thuộc họ Com vàng, Song quán (Proteaceae) mọc tự nhiên ở nhiều tỉnh miền núi phía Bắc [1, 2]. Toàn thân của cây Bàn tay ma đỏ được đông bào Dao ở vùng núi phía Bắc phơi hoặc sấy khô, dùng sắc uống để chữa bệnh thấp khớp, hoặc nấu

nước tắm cho phụ nữ sau sinh để chống đau nhức, phục hồi sức khỏe sau sinh. Gần đây Bàn tay ma đỏ còn được sử dụng để điều trị một số bệnh về gan, trong đó có viêm gan do virus [2]. Trong khi các nghiên cứu khác trước đó đã tập trung khai thác về thành phần hóa học và hoạt tính của lá dược liệu này [3-7], công bố năm 2020 của chúng tôi đã xác định được một số

\* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: phamhungviet@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4448>

thành phần hóa học của thân gỗ dược liệu này trong đó có một số thành phần hóa học trong pha nước thể hiện một số tác dụng bảo vệ tế bào gan trên mô hình *in-vitro* [8].

Như vậy cả kinh nghiệm sử dụng trong nhân dân cũng như từ kết quả nghiên cứu trước đó đều chỉ ra rằng dược liệu Bàn tay ma có thể có khả năng bảo vệ gan, nhưng cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào đánh giá tác dụng bảo vệ gan cũng như mức độ an toàn của dược liệu này để sử dụng điều trị. Nghiên cứu này sẽ tập trung vào đánh giá tác dụng bảo vệ gan và độc tính cấp của cao chiết nước thân gỗ dược liệu Bàn tay ma đỏ.

## 2. Thực nghiệm

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây tươi của dược liệu Bàn tay ma đỏ được thu hái ở huyện Bạch Thông, tỉnh Bắc Kạn vào tháng 8 năm 2021, được giám định thực vật bởi ThS. Nghiêm Đức Trọng, Trường Đại học Dược Hà Nội với tên khoa học là *Heliciopsis lobata*, họ Song quán hay Chẹo thui (Protaceae). Phần gỗ của cây (thân và cành) được cắt thành lát mỏng, phơi khô, nghiền nhỏ. Độ ẩm bột dược liệu là 8,4%.

Lấy 2 kg mẫu bột dược liệu, thêm 5 lít nước, đun sôi trong 2 giờ. Gạn lấy dịch chiết. Làm lặp lại quá trình chiết thêm 2 lần, gộp dịch chiết của 3 lần, lọc. Cô quay chân không ở 80 °C để thu được cao chiết đặc quánh.

Cao chiết sau khi cô có khối lượng 80 g, độ ẩm 32% (hiệu suất chiết khoảng 4,0%). Cao chiết sau đó được thêm nước với lượng thích hợp để pha loãng và cho chuột uống ở các thí nghiệm.

Liều dược liệu thử nghiệm để đánh giá tác dụng bảo vệ gan được thiết kế từ kinh nghiệm sử dụng dược liệu Bàn tay ma đỏ ở vùng Tây Bắc do nhóm nghiên cứu thực hiện điều tra và tham khảo tài liệu. Theo đó, liều sử dụng hiện tại đang được đồng bào vùng Tây Bắc sử dụng là 60-90 gam toàn cây [2]. Trong nghiên cứu này, bộ phận dùng là gỗ và cành đã phơi khô, trong gỗ thường chất chiết được sẽ ít hơn các bộ phận khác (như vỏ và rễ), nên liều thiết kế thí nghiệm cao hơn liều đang sử dụng, ba liều thử tương ứng là 60 g,

120 g và 240 g trong 1 ngày cho người. Qui đổi ra cao điều chế được sẽ tương ứng với khoảng liều 0,56 g/kg, 1,15 g/kg và 2,30 g/kg tính theo tỷ lệ cao trên thể trọng chuột [9].

### 2.2. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino* cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng  $25,0 \pm 2,0$  g (nguồn gốc Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương) được sử dụng để nghiên cứu đánh giá tác dụng bảo vệ gan. Chuột được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp và nước uống theo nhu cầu tại phòng thí nghiệm của Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương trước 7 ngày và trong suốt thời gian nghiên cứu.

### 2.3. Hóa chất, dụng cụ thí nghiệm

- Hóa chất, thuốc thử: viên nén Paracetamol (Sanofi Aventis, lô 17094, chứa 500 mg paracetamol); viên nang Legalon (Madaus, lô B1602390, chứa 70 mg silymarin); Bộ kit định lượng ALT, AST của hãng Erba (Séc).

- Thiết bị: máy định lượng sinh hóa bán tự động Humanlyser 2000 (Đức). Máy nghiền bi Ultraturrax T25 của (IKA Labortechnik) và máy ly tâm Mikro 22R của hãng Hettich (Đức). Máy quang phổ UV-VIS mini 1240 (Shimadzu – Nhật Bản), cân kỹ thuật practum 612-1S (Sartorius – Đức), cân phân tích CP224S (Sartorius – Đức).

- Dụng cụ nghiên cứu: kim cong đầu tù, pipet, xy lanh, kéo, panh, cốc và các dụng cụ thủy tinh khác của khoa Dược lý, Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.4.1. Phương pháp đánh giá tác dụng bảo vệ gan

Chuột nhắt trắng thí nghiệm được chia ngẫu nhiên làm 7 lô, số lượng chuột trong mỗi lô được chia cụ thể như sau:

+ Lô 1 (đối chứng sinh lý, 8 con): chuột uống nước cất;

+ Lô 2 (đối chứng bệnh lý, 14 con): chuột uống paracetamol và nước cất;

- + Lô 3 (lô thử 1, 14 con): chuột uống paracetamol và cao chiết liều 0,56 g/kg;
- + Lô 4 (lô thử 2, 14 con): chuột uống paracetamol và cao chiết liều 1,15 g/kg;
- + Lô 5 (lô thử 3, 14 con): chuột uống paracetamol và cao chiết liều 2,30 g/kg;
- + Lô 6 (đối chứng dương, 8 con): chuột uống paracetamol và silymarin liều 70 mg/kg.

Chuột thí nghiệm được uống nước hoặc mẫu nghiên cứu với thể tích từ 0,1 ml/10 g chuột đến 0,2 ml/10 g chuột liên tục trong 7 ngày. Cuối ngày thứ 4, cho chuột nhịn đói, nước uống tự do. Ngày thứ 5, sau uống 1 giờ, gây tổn thương gan chuột ở tất cả các lô (trừ lô chứng sinh lý) bằng uống paracetamol (PAR) liều 200mg/kg với thể tích 0,1 ml/10g thể trọng chuột. Ngày thứ 6, sau uống 1 giờ, gây tổn thương gan chuột ở tất cả các lô (trừ lô chứng sinh lý) bằng uống PAR liều 350 mg/kg với thể tích 0,1 ml/10g thể trọng chuột. Ngày thứ 7, sau khi cho chuột uống (nước hoặc mẫu thử) 1 giờ, chuột ở tất cả các lô thí nghiệm bị giết để lấy máu và gan [10, 11].

Máu được để đông tự nhiên ở nhiệt độ phòng khoảng 60 phút, li tâm 3000 v/phút trong 10 phút, hút lấy huyết thanh trong để định lượng hoạt độ enzym aspartate aminotransferase (AST) và alanine aminotransferase (ALT). ALT, AST huyết thanh và protein gan được đo bằng kit sẵn có do hãng Erba cung cấp theo hướng dẫn của nhà sản xuất, sử dụng máy định lượng sinh hóa bán tự động Humanlyser [10, 11].

Mẫu gan được cân để xác định tỷ lệ tương đối giữa khối lượng gan và khối lượng chuột, quan sát đại thể và định lượng các cơ chất phản ứng với acid thiobarbituric (TBARs).

Định lượng TBARs: định lượng TBARs theo phương pháp Wasowich và Balahoroglu có cải tiến [12, 13]. Quy trình định lượng TBARs được tóm tắt như sau: cân 100 mg gan, nghiền đồng thể trong 1 ml dung dịch đệm RIPPA. Hút 100  $\mu$ l dịch đồng thể cho vào ống nghiệm có 1ml H<sub>2</sub>O, thêm vào đó 1 ml dung dịch acid thiobarbituric 0,25% pha trong acid acetic, đun cách thủy nhiệt độ 100 °C trong 60 phút, để nguội, thêm 25  $\mu$ l HCl 5N, lắc đều, thêm vào 3,5 ml n-butanol, ly tâm 3000 v/phút x 10 phút, hút phần n-butanol đo quang ở bước sóng 532 nm.

Hàm lượng TBARs được tính theo phương trình hồi quy tuyến tính của chất chuẩn là 1,1,3,3-tetraethoxypropane với các nồng độ 0,2; 0,3; 0,4; 0,6 và 0,8 nmol/ml. Giá trị TBARs được thể hiện dưới dạng nmol/g protein gan. Lượng TBARs trong mẫu thử giảm so với đối chứng gây bệnh sẽ biểu hiện khả năng ức chế quá trình peroxy hóa lipid (POL) của chất thử.

#### 2.4.2. Phương pháp đánh giá độc tính cấp

Độc tính cấp được đánh giá theo quy định hiện hành của Bộ Y tế [9] và tác giả Đỗ Trung Đàm [14].

Trước khi cho chuột uống mẫu thử, cho chuột nhịn đói qua đêm và uống nước tự do theo nhu cầu. Chia chuột thành các lô, mỗi lô 10 con, cho uống mỗi lô một mức liều duy nhất với mức liều thử tăng dần.

Đường dùng mẫu thử: đường uống, dùng kim cong đầu tù bơm trực tiếp mẫu thử vào dạ dày chuột với thể tích 0,4 ml/10 g chuột. Tìm liều tối đa mà không có chuột nào của lô thí nghiệm chết (LD0) và liều tối thiểu để 100% chuột của lô thí nghiệm chết (LD100). Thử thêm 2-4 liều trung gian giữa 2 liều nói trên để xác định LD50.

Thời gian theo dõi: chuột được để ở phòng thí nghiệm có khí hậu đảm bảo để mọi hoạt động của chuột bình thường. Theo dõi và quan sát các biểu hiện về hành vi, hoạt động, ăn uống, bài tiết của chuột và số chuột sống chết trong 03 ngày. Chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Theo dõi chuột sống sót thêm 1 tuần nữa.

LD50 được tính theo phương pháp Behrens-Karber:

$$LD50 = LD100 - \frac{\sum(d \times z)}{n}$$

Trong đó: LD50: liều làm chết 50% số con vật thí nghiệm; LD100: liều làm chết 100% số con vật thí nghiệm; d: hiệu số liều của 2 liều kế tiếp; z: Trung bình số chuột chết giữa 2 liều kế tiếp; n: Số chuột thí nghiệm/lô.

#### 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm SigmaPlot 12.0 (SYSTAT Software Inc, Richmond, CA, USA). Dữ liệu

được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  sai số chuẩn. So sánh giữa lô bệnh lý và lô sinh lý bằng t-test Student. So sánh giữa lô bệnh lý và các lô dùng mẫu thử (cao chiết) sử dụng phân tích phương sai một chiều (one - way ANOVA) sau đó sử dụng test hậu kiểm Dunnett để so sánh từng cặp. Sự khác biệt được coi có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Kết quả tác dụng bảo vệ gan

Quá trình thực nghiệm chuột ở lô 2 chết 4 con; chuột ở lô 3 chết 3 con; chuột ở lô 5 chết 7 con. Kết quả tỷ lệ khối lượng gan và khối lượng chuột, định lượng enzyme ALT và AST, thực hiện quan sát mô bệnh học gan và đánh giá khả

năng chống oxy hóa qua TBARs chỉ thực hiện trên số chuột còn sống.

#### 3.1.1. Kết quả quan sát hình ảnh đại thể gan và tỷ lệ khối lượng gan so với khối lượng chuột

Kết quả đại thể gan chuột (Hình 1) cho thấy ở lô sinh lý (Lô 1), gan màu đỏ nâu, mặt nhẵn, mật độ mềm, không có hiện tượng phù nề, xung huyết. Ngược lại, ở lô bệnh lý, màu nâu đỏ của gan bị bạc, phù nề, xung huyết, bề mặt gan sần sùi, có các chấm huyết và các điểm tổn thương nổi rải rác. Lô 3, lô 4 và lô 6 (sinh lý) bề mặt gan nhẵn, bóng, hình thái gần tương tự như bề mặt gan chuột ở lô 1 mặc dù màu sắc vẫn còn nhạt hơn lô 1 một chút. Gan chuột ở lô 5 màu nhạt hơn và bề mặt gan không bóng bằng các lô 3, lô 4 và lô 6; các điểm tổn thương trên bề mặt gan vẫn còn rất nhiều, có thể quan sát thấy được mặc dù không rõ ràng như gan chuột ở lô 2.



Lô 1



Lô 2



Lô 3



Lô 4



Lô 5



Lô 6

Hình 1. Kết quả giải phẫu đại thể gan chuột và tỷ lệ khối lượng gan so với thể trọng chuột (% kl/kl) trên mô hình gây độc bằng paracetamol.

Bảng 1. Ảnh hưởng của cao chiết nước dược liệu Bàn tay ma đở lên sự thay đổi tỷ lệ khối lượng gan so với thể trọng chuột (% kl/kl) trên các lô chuột nghiên cứu

Lô thí nghiệm	Tỷ lệ khối lượng gan/thể trọng (% kl/kl)
Chứng sinh lý (n = 8/8)	4,57 ± 0,13 %
Chứng bệnh lý (n = 10/14)	5,37 ± 0,29 %*
Liều 1 (n=11/14)	5,81 ± 0,22 %*
Liều 2 (n=14/14)	5,55 ± 0,20 %*
Liều 3 (n=7/14)	6,32 ± 0,38 %*
Đôi chứng dương (n=8/8)	5,78 ± 0,34 %*

\*: P so với lô sinh lý <0,05; #: P so với lô bệnh lý < 0,05.

Tỷ lệ khối lượng gan chuột và khối lượng chuột ở lô chứng sinh lý có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh lý và các lô còn

lại, tuy nhiên chưa có sự khác biệt về tỷ lệ này giữa lô bệnh lý và các lô sử dụng mẫu thử cũng như chứng dương.

Bảng 2. Ảnh hưởng của cao chiết nước dược liệu Bàn tay ma đở lên hoạt độ enzym ALT trên các lô chuột nghiên cứu

Lô thí nghiệm	ALT (U/L)	% giảm ALT so với chứng bệnh lý
Chứng sinh lý (n = 8/8)	69,2 ± 5,6	-
Chứng bệnh lý (n = 10/14)	4148,0 ± 679,5*	-
Liều 1 (n=11/14)	904,6 ± 325,8*#	79,5
Liều 2 (n=14/14)	608,9 ± 187,5*#	86,8
Liều 3 (n=7/14)	1510,3 ± 392,5*#	64,7
Đôi chứng dương (n=8/8)	481,5 ± 113,2*#	89,9

\*: P so với lô sinh lý <0,05; #: P so với lô bệnh lý < 0,05.

3.1.2. Tác dụng của mẫu nghiên cứu lên hoạt độ enzym ALT

Kết quả đánh giá tác dụng của cao chiết lên hoạt độ enzym ALT được trình bày ở Bảng 2.

Hoạt độ enzym ALT ở lô bệnh lý (lô 2) cao hơn rất nhiều so với lô chứng sinh lý. Cả

silymarin và các liều cao chiết đều có xu hướng làm giảm men gan ALT. Trong số các lô chuột uống cao chiết, liều 1,15 g/kg làm giảm hoạt độ ALT nhiều nhất, gần tương đương với silymarin liều 70 mg/kg.

Bảng 3. Ảnh hưởng của cao chiết nước dược liệu Bàn tay ma đở lên hoạt độ enzym AST trên các lô chuột nghiên cứu

Lô thí nghiệm	AST (U/L)	% giảm AST so với chứng bệnh lý
Chứng sinh lý (n = 8)	181,1 ± 11,3	-
Chứng bệnh lý (n = 10)	4197,1 ± 687,1*	-
Liều 1 (n=11)	1398,3 ± 265,9*#	69,7
Liều 2 (n=14)	1380,6 ± 304,7*#	70,1
Liều 3 (n=7)	2657,9 ± 621,8*	38,3
Đôi chứng dương (n=8)	1429,1 ± 269,7*#	68,9

\*: P so với lô sinh lý <0,05; #: P so với lô bệnh lý < 0,05.

### 3.1.3. Tác dụng của mẫu nghiên cứu lên hoạt độ enzym AST

Bảng 3 tổng hợp kết quả ảnh hưởng của cao chiết lên hoạt độ enzym AST trên mô hình chuột thí nghiệm.

Tương tự hoạt độ enzym ALT, hoạt độ AST ở chứng bệnh lý cũng tăng lên rất cao so với chứng sinh lý. Tất cả các lô uống cao chiết và lô chứng dương đều có xu hướng làm giảm hoạt độ AST, tuy nhiên cao chiết liều 2,30 g/kg chỉ làm giảm 38,8% hoạt độ enzyme AST, cả silymarin và cao chiết 2 liều còn lại đều làm giảm hoạt độ enzym này tới khoảng 70%.

### 3.1.4. Tác dụng của mẫu nghiên cứu lên cơ chất của TBARs

Nồng độ TBARs được tính từ phương trình hồi qui tuyến tính được thiết lập từ độ hấp thụ của chất chuẩn 1,1,3,3-tetraethoxypropane với các nồng độ 0,2; 0,3; 0,4; 0,6 và 0,8 nmol/ml. Phương trình như sau:

$$C = (0,0009A_{hc} + 0,074) * 20$$

Trong đó: C là nồng độ TBARs (nmol/100 mg gan);  $A_{hc}$  là độ hấp thụ đã được hiệu chỉnh nền của các mẫu thử.

Kết quả nồng độ TBARs tạo thành từ các mẫu gan trong mô hình nghiên cứu được trình bày tóm tắt ở Bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của cao chiết nước dược liệu Bàn tay ma đỏ lên cơ chất của TBARs trên các lô chuột nghiên cứu

Lô thí nghiệm	TBARs (nmol/100 mg gan)	% giảm peroxyd hóa so với chứng bệnh lý
Chứng sinh lý (n = 8)	7,80 ± 0,59	-
Chứng bệnh lý (n = 10)	12,21 ± 1,03*	-
Liều 1 (n=11)	7,88 ± 0,45 <sup>#</sup>	98,2
Liều 2 (n=14)	7,91 ± 0,48 <sup>#</sup>	97,5
Liều 3 (n=7)	9,33 ± 0,79 <sup>#</sup>	65,3
Đối chứng dương (n=8)	8,35 ± 0,68 <sup>#</sup>	87,5

\*: P so với lô sinh lý <0,05; #: P so với lô bệnh lý < 0,05.

Mẫu thử ở chứng bệnh lý cho nồng độ TBARs là 12,21 nmol/100mg gan, cao hơn nồng độ chất này trong mẫu chứng sinh lý với độ tin cậy là 95%. Nồng độ TBARs tạo thành từ phản ứng của các mẫu gan ở các lô chuột uống mẫu thử và silymarin nhìn chung là giảm, đặc biệt ở hai lô 3 và lô 4, tương ứng với lô có chuột uống cao chiết liều 0,56 g/kg và 1,15 g/kg thể trọng.

### 3.2. Kết quả đánh giá độc tính cấp

Cho lô chuột uống hỗn hợp mẫu đến liều 23,04 g cao/kg thể trọng chuột (gấp 10 lần liều cao nhất thử tác dụng bảo vệ gan – liều 3) mà vẫn chưa thấy chuột chết.

Cân một lượng chính xác cao chiết, thêm từ một lượng chính xác nước cất đến khi tạo hỗn hợp sánh đặc nhất mà vẫn có thể cho qua kim đầu tù cho chuột uống được liều cao nhất có thể cho chuột uống là 32,60 g cao/kg thể trọng chuột

(cao gấp 14 lần liều cao nhất thử tác dụng bảo vệ gan). Đây là liều đặc nhất có thể cho chuột uống với thể tích tối đa (0,4 ml/10g chuột) nên không tiếp tục cho chuột uống liều cao hơn.

Sau khi uống, tất cả các chuột không có biểu hiện gì bất thường, vận động, bài tiết bình thường. Sau 3 ngày theo dõi, không có chuột nào chết, tất cả các chuột đều khỏe mạnh, ăn uống, vận động, bài tiết bình thường.

Như vậy ở liều cao nhất có thể cho chuột uống, cao chiết chưa thể hiện độc tính cấp.

### 3.3. Bàn luận

Nghiên cứu này đã thiết kế được mô hình phù hợp để đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết nước dược liệu Bàn tay ma đỏ, tác dụng này phụ thuộc vào liều sử dụng.

Về mặt tổng quan, kết quả giải phẫu gan đại thể cho thấy mô hình đã gây độc được gan chuột

bằng paracetamol với hai liều sử dụng là 200 mg/kg và 350 mg/kg ở hai ngày liên tiếp. Gan chuột ở chứng bệnh lý xuất hiện các triệu chứng bị tổn thương như bạc màu, phù nề, xung huyết, bề mặt gan sần sùi, có các chấm huyết và các điểm tổn thương nổi rải rác so với chứng sinh lý. Lô chứng dương uống silymarin và các lô chuột uống cao chiết có khả năng phục hồi các tổn thương gan chuột về trạng thái bình thường (trạng thái của lô sinh lý) nhưng với các mức độ khác nhau. Gan chuột ở lô uống silymarin, cao chiết liều 1,15 g/kg các tổn thương đã giảm đi rất nhiều, bề mặt gan nhẵn, bóng. Gan chuột ở lô uống cao chiết liều 0,56 g/kg tuy đã giảm đi nhiều, bề mặt gan cũng nhẵn, bóng, đỡ bạc màu nhưng vẫn còn rải rác các vết tổn thương. Các trạng thái thể hiện mức độ tổn thương ở bề mặt gan nhiều hơn ở lô chuột uống cao chiết liều 2,30 g/kg.

Các enzym ALT và AST tập trung chủ yếu ở tế bào gan, khi tế bào gan bị tổn thương và vỡ ra thì các enzym này được giải phóng vào trong máu. Hàm lượng các enzym này trong máu càng cao thì mức độ tổn thương gan càng nghiêm trọng. Xác định hàm lượng (thông qua hoạt độ) các enzym này sẽ đánh giá được mức độ tổn thương gan. Sự phù hợp của mô hình nghiên cứu được thể hiện ở việc tăng đồng thời hoạt độ cả ALT và AST ở lô bệnh lý so với lô chứng sinh lý, trong khi đó lô chứng dương đã làm giảm hoạt độ hai enzym này so với lô bệnh lý (kết quả ở Bảng 2 và Bảng 3). Về tác dụng của mẫu nghiên cứu, cả ba liều cao thử nghiệm đều làm giảm hoạt độ các enzym ALT và AST, liều 0,56 g/kg và liều 1,15 g/kg cho tác dụng tương đương với silymarin liều 70 mg/kg; liều 2,30 g/kg có tác dụng ít hơn hai liều còn lại. Với chỉ số ALT, trong khi liều 3 chỉ làm giảm được 65% so với chứng bệnh lý thì liều 1 và liều 2 làm giảm được khoảng 80% và 87% tương ứng. Chuột uống liều 3 cũng có thể giảm được khoảng 38% hoạt độ AST, sự giảm này không có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh lý, và khả năng phục hồi chỉ số AST của lô này chỉ bằng khoảng một nửa so với các lô chuột uống hai liều còn lại (70%).

Khi gan bị tổn thương, bên cạnh việc giải phóng các enzym ALT và AST vào máu, một

loạt các phản ứng bảo vệ khác của cơ thể cũng được kích hoạt theo. Trong đó có các phản ứng peroxyd hóa lipid để giải phóng các chất chống oxy hóa nhằm chống lại quá trình phá hủy tế bào gan. Sản phẩm của các quá trình peroxyd hóa lipid (cơ chất) càng nhiều thì mức độ tổn thương gan càng lớn. Hàm lượng cơ chất được đánh giá thông qua phức hợp tạo của nó thành với acid thiobarbituric (TBARs), phức hợp có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 532 nm. Do phản ứng tạo phức hợp xảy ra với tỷ lệ 1:1 nên nồng độ TBARs cũng chính bằng nồng độ cơ chất. Đánh giá nồng độ TBARs sẽ góp phần đánh giá mức độ tổn thương gan.

Kết quả định lượng TBARs cũng đã chứng minh sự phù hợp của mô hình thí nghiệm đã thiết kế bởi nồng độ TBARs sau phản ứng ở lô bệnh lý cao hơn đáng kể so với lô sinh lý và lô chứng dương. Hoạt tính của các chất trong cao chiết đã làm giảm đáng kể quá trình peroxyd hóa lipid thể hiện thông qua kết quả định lượng TBARs ở lô chuột uống cao chiết. Mức độ peroxyd hóa lipid giảm tới gần như 100% ở các lô chuột uống cao liều 1 và liều 2; liều 3 tuy có thấp hơn hai liều đầu nhưng cũng giảm tới 65%.

Mặc dù các thông số bên trên đã thể hiện tác dụng bảo vệ gan ở một số lô chuột uống cao chiết hoặc chứng dương, tuy nhiên tỷ lệ khối lượng gan trên thể trọng chuột chưa cho thấy tác dụng này. Trong mô hình, chứng sinh lý có tỷ lệ thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với các lô chuột uống PAR, nhưng không có sự khác biệt thống kê giữa lô chứng bệnh lý và các lô uống PAR còn lại. Điều này có thể giải thích là vì độc tính với gan khi gây độc bằng hai liều PAR khá cao. Độc tính ấy giúp đánh giá rõ được tác dụng của cao chiết thông qua các thông số đã xác định bên trên (quan sát đại thể, hoạt độ ALT, AST và TBARs), nhưng cũng có nhược điểm là sẽ làm quá trình phục hồi các tổn thương gan lâu hơn. Ở thời điểm đánh giá kết quả, các lô chuột uống mẫu thử và chứng dương đã được phục hồi nhưng chưa hoàn toàn nên tỷ lệ khối lượng gan trên tỷ trọng chuột vẫn còn cao hơn so với lô chứng sinh lý và tương đương với lô chứng bệnh lý.

Như vậy kết quả định lượng hoạt độ enzym ALT, AST và kết quả định lượng TBARs phù

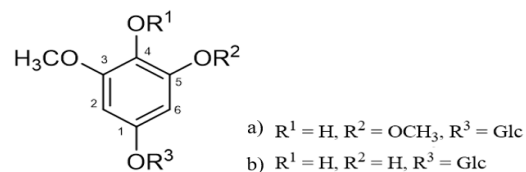


hợp với kết quả giải phẫu gan đại thể. Trên mô hình đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết nước dược liệu Bàn tay ma đở đã thiết lập, liều 1,15 g/kg tính theo khối lượng cao trên thể trọng chuột cho tác dụng bảo vệ gan tốt nhất, tiếp đến là liều 0,56 g/kg. Liều 2,30 g/kg có thể hiện tác dụng bảo vệ gan, tuy nhiên số lượng chuột chết khi nghiên cứu lại khá nhiều, nhóm nghiên cứu đã tiếp tục tiến hành đánh giá độc tính cấp của cao chiết đang nghiên cứu.

Trong quá trình thử độc tính cấp, đã thử đến liều cao chiết 23,0 g/kg thể trọng chuột (gấp 10 lần liều cao nhất đã dùng để đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dược liệu và gấp 20 lần liều có tác dụng tốt nhất) và liều cao nhất có thể cho chuột uống là liều 32,60 g/kg (cao gấp 14,1 lần liều cao nhất đã dùng để đánh giá tác dụng bảo vệ gan của dược liệu) đều không làm chuột chết. Có thể thấy rằng liều LD<sub>0</sub> (nếu có) chắc chắn sẽ lớn hơn hoặc bằng 32,60 g/kg tính theo khối lượng cao chiết trên thể trọng chuột thử nghiệm.

Trong khi các lô chuột uống liều 0,56 g/kg và liều 1,15 g/kg thể hiện tác dụng bảo vệ gan tốt, đồng thời số lượng chuột chết giảm đi so với lô chứng bệnh lý, nhất là lô uống liều 1,15 g/kg không làm chuột thí nghiệm chết; lô chuột uống cao chiết liều 2,30 g/kg vừa thể tác dụng bảo vệ gan ít hơn so với hai lô còn lại, số lượng chuột thí nghiệm chết nhiều (chết 7/14 chuột thí nghiệm, chết nhiều hơn 3 chuột so với lô chứng bệnh lý). Như vậy, mặc dù cao chiết có độc tính thấp ở liều thử nghiệm, việc dùng đồng thời liều cao của cao chiết với PAR có thể dẫn đến một số tương tác bất lợi là nguyên nhân gây ra số lượng chuột chết khá nhiều ở lô này.

Từ các kết quả nghiên cứu có thể thấy rằng cao chiết nước của phần gỗ dược liệu Bàn tay ma đở có tác dụng bảo vệ gan ở liều từ 0,56 g/kg đến 1,15 g/kg tương ứng với liều 60 g đến 120 g dược liệu sử dụng cho người trong ngày. Điều này phù hợp với số liệu điều tra cũng như tài liệu trước đó đã viết. Liều 1,15 g/kg không có chuột chết, trong khi liều 0,56 g/kg làm chết 3/14 chuột nghiên cứu. Kết hợp với một số thông số trong bên trên có thể thấy liều 1,15 g/kg có tác dụng tốt hơn liều 0,56 g/kg.



Hình 2. Một số chất có tác dụng bảo vệ gan của dược liệu Bàn tay ma đở [8] 5-dimethoxy-4-hydroxyphenyl-1-O-β-D-glucopyranosid (a) và tachioside (b).

So sánh với kết quả nghiên cứu công bố của trước đó của chúng tôi về tác dụng chống oxy hóa bởi tác động của DPPH trên mô hình phản ứng chống oxy hóa tạo TBARs và tác dụng bảo vệ tế bào gan dưới tác động của CCl<sub>4</sub> trên mô hình *in-vitro*, các chất 3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenyl-1-O-β-D-glucopyranosid và tachioside, hai chất chính được phân lập từ trong pha nước của dịch chiết methanol liệu Bàn tay ma đở, cũng cho tác dụng chống oxy hóa và có khả năng bảo vệ tế bào gan. Kết quả nghiên cứu đã công bố phù hợp với kết quả trong nghiên cứu này, giúp khẳng định thêm khả năng bảo vệ gan của dược liệu đang nghiên cứu.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá được tác dụng bảo vệ gan và độc tính cấp của cao chiết nước phần gỗ dược liệu Bàn tay ma đở (*Heliciopsis lobata* (Merr.) Sleumer). Về tác dụng bảo vệ gan, cao chiết nước dược liệu bàn tay ma đở có tác dụng bảo vệ gan ở liều từ 0,56 g/kg đến 1,15 g/kg tính theo khối lượng cao uống trên thể trọng chuột, tương ứng với liều từ 60 g đến 120 g dược liệu sử dụng cho người trong một ngày. Về độc tính cấp, ở liều cao nhất có thể cho chuột thí nghiệm uống 32,60 g/kg (gấp 28 lần liều cao nhất có tác dụng điều trị, liều 1,15 g/kg) chưa gây độc tính cấp.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] V. V. Chi, Dictionary of Medicinal Plant in Vietnam, Medical Publishing House, Hanoi, Vol. 1, 2012, pp. 973-974 (in Vietnamese).

- [2] D. H. Bich et al., Medicinal Plants and Animals in Vietnam, Science and Technology Publishing House, Hanoi, Vol. 3, 2011, pp. 126-127 (in Vietnamese).
- [3] Q. Q. He et al., Phenolic Glycosides from Leaves of *Hepiciopsis lobata*, Journal of Asian Nature Products Research, Vol. 8, No. 4, 2006, pp. 373-377, <https://doi.org/10.1080/10286020500172251>.
- [4] M. Liu et al., A New Phenolic Glucoside from the Leaves of *Heliciopsis lobata*, Fitoterapia, Vol. 79, No. 5, 2008, pp. 398-399, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.03.006>
- [5] N. T. P. Lan, Study on Chemical Components of The Leaves of *Heliciopsis lobata* (Merr.) Sleum in Cao Bang Province, Master Thesis, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, 2021 (in Vietnamese).
- [6] M. Liu et al., A New Arbutin Derivative from The Leaves of *Heliciopsis lobata*, Nature Product Research, Vol. 24, No. 19, 2010, pp. 1861-1864, <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.482938>.
- [7] W. Y. Qi et al., New Arbutin Derivatives from The Leaves of *Heliciopsis lobata* with Cytotoxicity. Chinese Journal Nature Medicines, Vol. 14, No. 10, 2016, pp. 789-793, [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(16\)30094-2](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(16)30094-2).
- [8] B. V. Trung et al., Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Phenyl Glycosides Isolated from *Heliciopsis lobata*. Natural Product Communications, Vol. 15, 2020, <https://doi.org/10.1177/1934578X209462>.
- [9] Administration of Science Technology and Training-Ministry of Health, Decision No. 141/QĐ-K2ĐT date 27/10/2015: Preclinical and Clinical for Herbal Formulations and Medicines from Herbal Medicines, Hanoi, 2015 (in Vietnamese).
- [10] N. Akther et al., Hepatoprotective Activity of *Marrubium vulgare* Against Paracetamol Induced Toxicity, Journal of Pharmacy Research, Vol. 7, No. 7, 2013, pp. 565-570, <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.06.023>.
- [11] H. K. Cheedella,, R. Alluri, K. M. Ghanta, Hepatoprotective and Antioxidant Effect of *Ecbolium viride* (Forssk.) Alston Roots Against Paracetamol-induced Hepatotoxicity in Albino Wistar Rats, Journal of Pharmacy Research, Vol. 7, No. 6, 2013, pp. 496-501, <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.06.001>.
- [12] R. Balahoroğlu et al., Protective Effects of Antioxidants on The Experimental Liver and Kidney Toxicity in Mice. European Journal of General Medicine, Vol. 5, No. 3, 2008, pp. 157-164, <https://doi.org/10.29333/ejgm/82598>.
- [13] W. Wasowicz, J. Nève, A. Peretz, Optimized Steps in Fluorometric Determination of Thiobarbituric Acid-reactive Substances in Serum: Importance of Extraction pH and Influence of Sample Preservation and Storage. Clinical Chemistry, Vol. 39, No. 12, 1993, pp. 2522-2526, <https://doi.org/10.1093/clinchem/39.12.2522>.
- [14] D. T. Dam, Methods for Determining Drug Acute Toxicity, Medicinal Publishing House, Hanoi, 2014 (in Vietnamese).