

# Tác dụng bảo vệ gan từ cao chiết toàn cây đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms)

Lê Trung Khoản<sup>1\*</sup>, Hoàng Thị Thu Huyền<sup>1</sup>  
Chu Thị Thu Hiền<sup>1</sup>, Nguyễn Tố Uyên<sup>1</sup>, Lê Minh Quân<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Khoa Dược, Đại học Buôn Ma Thuột  
<sup>2</sup>Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

## Summary

The aim of this study is to evaluate hepatoprotective effect of whole plant extract of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms (root, stem, leaf). The extract would be evaluated based on Vietnamese Pharmacopoeia 5<sup>th</sup> edition before using. Model of drug-induced liver injury by paracetamol was used, but it had been re-assessed doses (350 – 450 mg/kg), solvent before experiment was begun. Paracetamol 400 mg/kg and PEG 400 25% (v/v) was chosen for model of experiment. For hepatoprotective effect, the dose of 100 and 200 mg/kg decreased ALT, AST activity compared to pathological group, and equivalent to silymarin at 100 mg/kg. In mice, the extract reduced the structural injury of hepatocytes induced by paracetamol. In conclusion, oral administration at 100 and 200 mg/kg for a course of 14 days had hepatoprotective effects similar to those of 100 mg/kg silymarin.

**Keywords:** *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, hepatoprotective effect, oleanolic acid, paracetamol.

## Đặt vấn đề

Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms) là dược liệu quý, được sử dụng nhiều trong dân gian với các tác dụng khác nhau. Trong y học hiện đại, đinh lăng đã được nghiên cứu nhiều về thành phần hoá học, và tác dụng dược lý. Tuy nhiên, các nghiên cứu thường tập trung nhiều vào bộ phận dùng là rễ, chưa có nhiều nghiên cứu về lá, thân hoặc cao phối hợp toàn cây đinh lăng để có thể tận dụng tối đa dược liệu. Nhằm cung cấp thêm dữ liệu về tác dụng bảo vệ gan của cao chiết toàn cây đinh lăng, chúng tôi tiến hành thực nghiệm đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết toàn cây đinh lăng.

## Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### Cao chiết toàn cây đinh lăng (rễ-thân-lá):

Được cung cấp bởi Bộ môn Bảo chế Công nghiệp Dược - Khoa Dược, Đại học Buôn Ma Thuột. Cao chiết được đánh giá các tiêu chí về chất lượng cao trước khi đem đi thử nghiệm.

**Hoá chất:** Paracetamol (Sigma-Aldrich), silymarin/ Legalon (Madaus-Đức), chất chuẩn acid oleanolic (Sigma-Aldrich), acetonitril, methanol, chloroform, nước cất.

Chịu trách nhiệm: Lê Trung Khoản

Email: trungkhoang@gmail.com

Ngày nhận: 30/3/2021

Ngày phản biện: 04/4/2021

Ngày duyệt bài: 20/5/2021

**Động vật nghiên cứu:** Chuột nhắt Swiss albino, đực và cái, 6-7 tuần tuổi, trọng lượng  $20 \pm 3$  g, khỏe mạnh được cung cấp từ Viện Vaccin và Sinh phẩm y tế Nha Trang, nuôi ổn định trong môi trường thí nghiệm trước 5 ngày trước khi thử nghiệm.

## Phương pháp nghiên cứu

**Đánh giá chỉ tiêu chất lượng của cao chiết toàn cây đinh lăng:** Cảm quan, độ ẩm, định tính, định lượng acid oleanolic, giới hạn thuốc bảo vệ thực vật và giới hạn về vi sinh vật dựa theo chuyên luận của cao đinh lăng trong Dược điển Việt Nam (ĐVN) V<sup>[1]</sup>.

## Đánh giá mô hình gây tăng enzym gan bởi paracetamol

Paracetamol được hoà tan trong hỗn hợp dung môi: Nước cất và polyethylen glycol 400 (PEG) với tỷ lệ tương ứng là 7,5:2,5, thu được các nồng độ tương ứng là 35 – 40 - 45 mg/ml. Thử nghiệm với 4 lô (n = 6): Sinh lý (uống dung dịch PEG 25% trong nước), lô 2, 3, 4 uống paracetamol 0,1 ml/10 g chuột (tương ứng liều 350-400-450 mg/kg). Sau 48 giờ, chuột được gây mê bằng đá CO<sub>2</sub>, mổ lấy máu tim và đo chỉ số ALT, AST.

## Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết toàn cây đinh lăng

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 lô (n = 8): Lô 1 (chứng sinh lý) uống nước cất

với liều 0,1 ml/10 g thể trọng trong 14 ngày. Lô 2 (chứng bệnh lý) uống nước cất với liều 0,1 ml/10 g thể trọng trong 14 ngày. Lô 3 (đối chứng dương) uống silymarin với liều 100 mg/kg thể trọng trong 14 ngày. Lô 4 (thử 1) uống cao chiết toàn cây đinh lăng với liều 100 mg/kg trong 14 ngày. Lô 5 (thử 2) uống cao chiết toàn cây đinh lăng với liều 200 mg/kg trong 14 ngày. Sau 14 ngày tất cả chuột được cho nhịn đói qua đêm, sáng ngày thứ 15, chuột ở lô 2, 3, 4, 5 sẽ được cho uống paracetamol với liều 400 mg/kg thể trọng. Lô 1 uống dung dịch PEG 25%. Sau 48 giờ, chuột được gây mê bằng đá CO<sub>2</sub>, mổ lấy máu tim và tách lấy gan. Máu thu được đem ly tâm với vận tốc 3000 vòng/phút trong 10 phút, tách lấy huyết thanh và đo chỉ số ALT và AST tại Trung tâm Xét nghiệm Buôn Ma Thuột (170 Đinh Tiên Hoàng, Tp. Buôn Ma Thuột). Tách lấy gan, rửa bằng NaCl 0,9% lạnh, thấm

khô. Quan sát đại thể bằng mắt thường, ghi nhận những đặc điểm màu sắc, hình thái bề mặt, các tổn thương... Sau đó, gan được cố định trong formol 10%, cắt tiêu bản dày 2-3 mm để phân tích vi thể bằng phương pháp nhuộm hematoxylin-eosin (HE) tại Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Đa khoa Vùng Tây Nguyên (184 Trần Quý Cáp, Tụ An, Thành phố Buôn Ma Thuột).

#### Phân tích kết quả và xử lý số liệu thống kê

Kết quả xử lý bằng Excel, trình bày dạng trung bình ± sai số chuẩn của giá trị trung bình (Mean ± SEM) và phân tích thống kê với phần mềm SPSS 24,0 bằng phép kiểm Kruskal-Wallis và Mann-Whitney. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

#### Kết quả

**Đánh giá chỉ tiêu chất lượng của cao chiết toàn cây đinh lăng trước khi thử nghiệm**

**Bảng 1. Các chỉ tiêu chất lượng của cao chiết toàn cây đinh lăng**

| Chỉ tiêu                                       | Kết quả   |
|--|---|
| Cảm quan (thể chất, màu sắc, mùi vị)           | Thể chất đặc sánh, đồng nhất, màu xanh đen, mùi thơm, vị đắng.            |
| Độ ẩm  | 18,33%  |
| Định tính:                                     |   |
| Phản ứng tạo bọt                               | Tạo cột bọt bền > 10 phút.  |
| Phản ứng lieberman                             | Xuất hiện vòng nhẫn màu đỏ ngăn cách giữa 2 lớp.                          |
| Phản ứng thuốc thử felling                     | Xuất hiện tủa đỏ gạch.  |
| Sắc ký lớp mỏng                                | Trên sắc ký đồ của mẫu thử có vết trùng với vết của acid oleanolic chuẩn. |
| Hàm lượng acid oleanolic (HPLC)                | 2,56 ± 0,02%  |
| Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật <sup>1</sup> | Đạt   |
| Giới hạn vi sinh vật <sup>1</sup>              | Đạt   |

<sup>1</sup>: Tiến hành tại Trung tâm Kỹ thuật tiêu chuẩn đo lường chất lượng 2 (02 Ngô Quyền, Quận Sơn Trà, Tp. Đà Nẵng).

Các chỉ tiêu của cao chiết đều đạt theo chuyên luận Cao định lăng của ĐBVN V.

#### Đánh giá mô hình gây tăng enzym gan bởi paracetamol

**Bảng 2. Chỉ số enzym ALT và AST trong thử nghiệm đánh giá mô hình**

| TT | Lô                      | n | ALT               | AST              |
|----|-------------------------|---|-------------------|------------------|
| 1  | Chứng sinh lý           | 6 | 84,17 ± 10,68     | 52,47 ± 15,75    |
| 2  | Gây bệnh liều 350 mg/kg | 6 | 255,23 ± 27,77 *  | 187,05 ± 39,62 * |
| 3  | Gây bệnh liều 400 mg/kg | 6 | 409,7 ± 55,15 *#  | 307,35 ± 59,42 * |
| 4  | Gây bệnh liều 450 mg/kg | 6 | 456,08 ± 90,61 *# | 334,25 ± 82,79 * |

\*:  $p < 0,01$  so với lô sinh lý; #:  $p < 0,05$  so với lô bệnh 2 (liều 350 mg/kg)

Từ kết quả thử nghiệm, cả 3 lô uống paracetamol đều tăng chỉ số ALT, AST ít nhất gấp 3 lần so với lô sinh lý, và sự khác biệt này

có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Giữa lô 3 và 4 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về cả 2 chỉ số ALT, AST. So sánh lô 2 với lô 3 và 4,

AST không có sự khác biệt, nhưng ALT có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Vậy, với mức liều 350 - 450 mg/kg và trong điều kiện thử nghiệm, mô hình có gây ra tổn thương gan. Với kết quả trên, mức liều 400 mg/kg được lựa chọn để

đánh giá trong thử nghiệm tác dụng bảo vệ gan của cao toàn cây đinh lăng.

### Tác động lên hoạt tính enzym gan ALT và AST

**Bảng 3. Tác dụng của cao đinh lăng trên hoạt tính của enzym gan ALT và AST**

| TT | Lô            | Liều mg/kg | n | ALT                          | AST                         |
|----|---------------|------------|---|------------------------------|-----------------------------|
| 1  | Chứng sinh lý | -          | 8 | 81,1 ± 8,98 <sup>#@</sup>    | 38,86 ± 5,46 <sup>#</sup>   |
| 2  | Chứng bệnh lý | -          | 8 | 443,88 ± 120,93 <sup>*</sup> | 324,59 ± 53,08 <sup>*</sup> |
| 3  | Silymarin     | 100        | 8 | 94,76 ± 8,83 <sup>#</sup>    | 35,43 ± 1,62 <sup>#</sup>   |
| 4  | Cao đinh lăng | 100        | 8 | 121,63 ± 9,88 <sup>#</sup>   | 71,81 ± 22,87 <sup>#</sup>  |
| 5  | Cao đinh lăng | 200        | 8 | 90,81 ± 7,91 <sup>#@</sup>   | 53,88 ± 9,96 <sup>#</sup>   |

\*:  $p < 0,001$  so với lô 1; #:  $p \leq 0,001$  so với lô 2; @:  $p < 0,05$  so với lô 4.

Lô bệnh lý có chỉ số ALT và AST tăng lần lượt so với nhóm sinh lý tương ứng là 5,5 và 8,3 lần ( $p < 0,001$ ), chứng tỏ paracetamol đã làm tổn thương tế bào gan và giải phóng ALT, AST vào trong máu. Lô uống silymarin và cao đinh lăng đều làm giảm chỉ số ALT, AST có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh lý. Lô uống silymarin và 2 lô uống cao toàn cây đinh lăng không có sự khác biệt về chỉ số ALT, AST. Riêng đối với chỉ số ALT, lô chuột uống cao đinh lăng liều 100 mg/kg cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý và lô uống cao đinh lăng 200 mg.

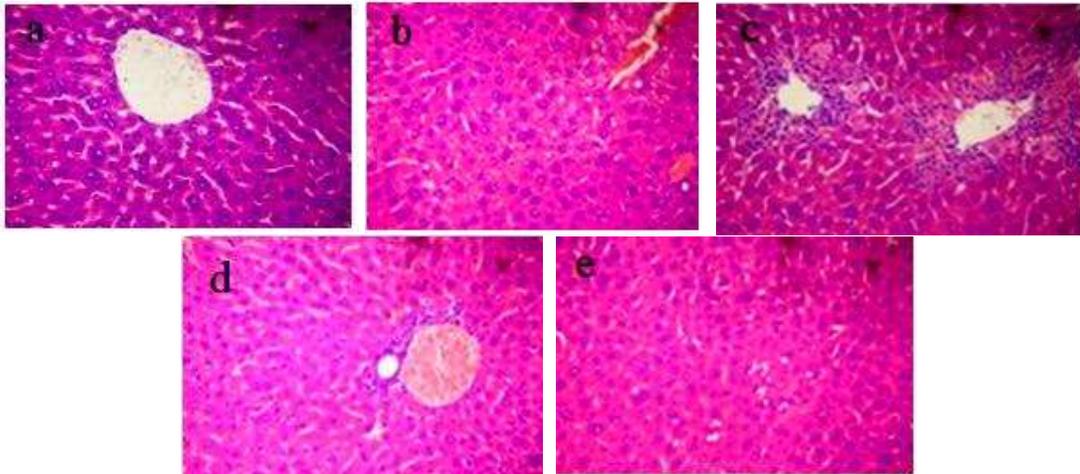
### Tác dụng lên đại thể và vi thể gan

Về đại thể, gan chuột ở lô bệnh lý có màu gan nhạt hơn so với các lô còn lại, trên bề mặt có một số đốm trắng và mạch máu bị sung huyết. Các lô còn lại, đa số gan có màu đỏ thẫm, không thấy bị sung huyết ở bề mặt ngoài. Lô uống silymarin và lô uống cao 200 mg/kg có 1/8 mẫu gan bị nhạt màu, lô uống cao liều 100 mg/kg có 3/8 mẫu gan nhạt màu.

Về vi thể, lấy ngẫu nhiên 6/8 mẫu gan ở mỗi lô để xét nghiệm:

**Bảng 4. Kết quả đánh giá về vi thể gan chuột thử nghiệm**

|                                      | Mô tả chung   | Kết luận  |
|--------------------------------------|---|---|
| <b>Lô 1: sinh lý</b>                 | Cấu trúc tiểu thụỷ còn nguyên, không có sự xơ hoá, tế bào gan hình thái bình thường, có sung huyết nhẹ trong gan.   | 6/6 mẫu có hình thái mô gan trong giới hạn bình thường              |
| <b>Lô 2: uống silymarin</b>          | Cấu trúc tiểu thụỷ vẫn còn nguyên vẹn, khoảng cửa không xơ hóa, bề gan rõ. Tế bào gan hình thái bình thường. Có thoái hoá nhẹ quanh tĩnh mạch trung tâm. Không thấy hoại tử.  | 6/6 mẫu thoái hoá mức độ nhẹ  |
| <b>Lô 3: bệnh lý</b>                 | Cấu trúc bị thay đổi, tế bào gan bị thoái hoá, vỡ màng tạo ra các khoảng trống, tập trung tại khoảng cửa, tĩnh mạch trung tâm và các tĩnh mạch trong gan. Nhiều vụn tế bào. Các tổn thương tạo hình ảnh hoại tử cầu nối (bridging necrosis): Cửa-cửa, trung tâm-trung tâm, cửa-trung tâm. Tế bào kuffer phì đại, nhiều đám lympho quanh khoảng cửa. | 5/6 mẫu thoái hoá mức độ nặng kèm hoại tử tế bào gan và nhẹ 1/6 mẫu |
| <b>Lô 4: uống cao liều 100 mg/kg</b> | Cấu trúc tiểu thụỷ vẫn còn, có sự hiện diện của tế bào viêm loại đơn nhân với mật độ trung bình, tế bào gan quanh các tĩnh mạch thoái hoá mức độ vừa. Giới hạn của các tế bào có vùng không rõ. Không thấy hoại tử.   | 6/6 mẫu thoái hoá mức độ vừa  |
| <b>Lô 5: uống cao liều 200 mg/kg</b> | Cấu trúc tiểu thụỷ vẫn còn, có sự hiện diện của tế bào viêm loại đơn nhân với mật độ trung bình, tế bào gan quanh các tĩnh mạch thoái hoá mức độ vừa. Giới hạn của các tế bào có vùng không rõ. Không thấy hoại tử.   | 6/6 mẫu thoái hoá mức độ vừa  |



**Hình 1.** Hình ảnh vi thể tế bào gan của chuột thử nghiệm (x 40, HE).  
 a - Lô sinh lý: Hình ảnh bình thường của tĩnh mạch trung tâm;  
 b - Lô uống silymarin: Hình ảnh bình thường của nhu mô gan;  
 c - Lô bệnh lý: Hình ảnh tổn thương khoảng cửa và tĩnh mạch trung tâm, có kèm sự thâm nhiễm của tế bào viêm;  
 d - Lô 4 uống cao liều 100 mg/kg: Hình ảnh tổn thương nhẹ ở khoảng cửa;  
 e - Lô 5: Hình ảnh bình thường của nhu mô gan.

### Bàn luận

Việc đánh giá các tiêu chuẩn của cao chiết trước khi thử nghiệm là cần thiết, để đảm bảo chất lượng cũng như tính lặp lại của thử nghiệm. Với đặc điểm nguồn nguyên liệu đĩnh lăng được thu hái tại tỉnh Đắk Lắk, nơi người nông dân có thể trồng xen kẽ với hồ tiêu và các cây trồng khác, dẫn tới việc có thể phơi nhiễm với thuốc bảo vệ thực vật. Do vậy, chỉ tiêu giới hạn thuốc bảo vệ thực vật được đưa vào để kiểm soát chặt chẽ chất lượng cao chiết. Chỉ tiêu giới hạn vi sinh vật và thuốc bảo vệ thực vật được gửi mẫu tới Trung tâm Kỹ thuật tiêu chuẩn đo lường chất lượng 2 để đánh giá và đều đạt yêu cầu.

Về mô hình gây tổn thương gan bằng paracetamol, đã có nhiều tác giả áp dụng thử nghiệm, cho thấy tính ổn định của mô hình. Mức liều thường được sử dụng khoảng 400 mg/kg, dung môi thường là nước hoặc có thêm chất làm tăng độ nhớt (carboxymethyl cellulose) để ổn định dưới dạng hỗn dịch. Paracetamol dạng bột ở dạng nguyên liệu tinh khiết có đặc điểm là nhẹ, dễ vón lại khi cho vào trong nước, và không tan hết trong dung môi nước ở mức liều 35 - 45 mg/ml (ứng với liều 350 - 450 mg/kg chuột), do vậy gây ra nhiều khó khăn cũng như

khó đảm bảo sự đồng nhất khi sử dụng giữa các chuột. Trong thử nghiệm, chúng tôi phối hợp sử dụng PEG vào nước (25% theo thể tích) và hoà tan được hoàn toàn paracetamol ở nồng độ mong muốn ở dạng dung dịch. PEG là chất hoạt động không ion hoá, ít hấp thu vào tuần hoàn và có tính an toàn rất cao ở chuột<sup>[2]</sup>. Do vậy, chúng tôi đánh giá lại mô hình gây tổn thương gan cấp tính với paracetamol trước khi thử nghiệm. Kết quả cho thấy, những lô uống paracetamol tăng các chỉ số ALT, AST ít nhất 3 lần so với lô sinh lý uống dung dịch PEG 25%. Mức liều 400 mg/kg gây tăng ALT rõ rệt so với liều 350 mg/kg ( $p = 0,02$ ), tuy nhiên lại không khác biệt so với liều 450 mg/kg ( $p = 0,48$ ). Do vậy, chúng tôi lựa chọn liều 400 mg/kg để thử nghiệm.

Cao rễ hoặc lá đĩnh lăng thể hiện nhiều tác dụng dược lý<sup>[3-5]</sup>, theo một số tài liệu tham khảo như chúng tôi tìm hiểu, mức liều thường dùng trong thử nghiệm 100-200 mg/kg. Do vậy, thử nghiệm tác dụng bảo vệ gan của cao toàn cây đĩnh lăng được tiến hành ở mức liều này. Kết quả trên chỉ số ALT, AST cho thấy cả 2 lô uống cao đều làm giảm chỉ số enzyme gan so với lô bệnh lý và đưa về tương đương với lô đối chứng uống silymarin 100 mg/kg. Tuy nhiên khi so với lô sinh lý, lô uống cao liều 100 mg/kg có

chỉ số ALT cao hơn so với lô sinh lý ( $p = 0,015$ ), chỉ có lô uống cao liều 200 mg/kg đưa được cả 2 chỉ số ALT, AST về tương đương với khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,574$  với ALT và 0,279 với AST). Vì vậy, nếu dựa vào chỉ số ALT, AST có thể kết luận: Lô uống cao liều 200 mg cho tác dụng bảo vệ gan tốt hơn so với lô uống cao 100 mg và tương đương với lô sinh lý và lô uống silymarin 100 mg/kg.

Khi đánh giá tổn thương về mặt vi thể, lô bệnh lý bị tổn thương nặng ở tế bào gan, dẫn tới hình thành hoại tử cầu nối giữa các tiểu thùy (bridging necrosis) ở 5/6 mẫu xét nghiệm, ứng với sự gia tăng mạnh của các chỉ số ALT, AST (5,5 và 8,3 lần) so với lô sinh lý. Lô sinh lý ngoại trừ có sung huyết mức độ nhẹ bên trong gan, không thấy có tổn thương nào khác. Những mẫu gan chuột ở các lô còn lại tổn thương trên vi thể mức độ vừa và nhẹ. Lô chuột uống cao liều 200 mg/kg cho chỉ số ALT, AST tốt hơn so với lô chuột uống cao liều 100 mg/kg, tuy nhiên khi so sánh mức độ tổn thương về vi thể thấy ít có sự khác biệt giữa 2 nhóm này. Trong khi đó, lô uống silymarin có chỉ số ALT, AST tương đương lô chuột uống cao 200 mg/kg, tuy nhiên sự tổn thương về mặt vi thể lại nhẹ hơn. Vậy, nếu kết luận dựa theo đánh giá vi thể, tác dụng bảo vệ gan của silymarin 100 mg/kg tốt hơn so với cao toàn cây đinh lăng liều 100 và 200 mg/kg.

### Kết luận

Cao chiết toàn cây đinh lăng có tác dụng bảo vệ gan ở mức liều 100 mg/kg và 200 mg/kg trong mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol, và tác dụng tương đương với silymarin 100 mg/kg trên 2 chỉ số enzym ALT, AST.

### Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, NXB Y học, tr. 1388-1389.
2. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/3527600418.mb2532268kske0010>.
3. Trần Công Luận và CS. (2017), "Khảo sát tác dụng tăng lực của chế phẩm từ đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms)", *Tạp chí Nghiên cứu Khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô*, 02, tr. 110-119.
4. Nguyễn Trần Châu, Đỗ Mai Anh (2010), "Nghiên cứu tác dụng chống oxy hoá và hạ cholesterol của cao toàn phần chiết xuất từ lá đinh lăng *Polyscias fruticosa* L. Harms", *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 14 (2), tr. 96-100.
5. Nguyễn Trần Châu, Đỗ Mai Anh, Nguyễn Phương Dung (2007), "Nghiên cứu một số tác dụng dược lý thực nghiệm của sản phẩm cây mô từ cây đinh lăng *Polyscias fruticosa* Harm, Araliaceae", *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, tập 11, Phụ bản của số 2, 2007.