

# ĐỘC TÍNH CẤP, ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN VÀ TÁC DỤNG HẠ ACID URIC CỦA PHÂN ĐOẠN CAO CHIẾT ĐẠ LIỀN N-HEXAN (*KAEMPFERIA GALANGA* L.) TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thị Thuý Hằng<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thanh Bình<sup>1</sup>, Nguyễn Thúc Thu Hương<sup>1</sup>  
 Nguyễn Thị Thuý<sup>1</sup>, Phan Hồng Minh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Mai<sup>1</sup>, Hoàng Thu Trang<sup>3</sup>  
 Mai Phương Thanh<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thị Thanh Hà<sup>2</sup> và Đỗ Thị Hồng Khánh<sup>1,✉</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>3</sup>Trường Đại học Dược Hà Nội

Nghiên cứu nhằm đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng hạ acid uric của phân đoạn cao chiết Đạ liền n-hexan trên thực nghiệm. Nghiên cứu độc tính cấp thực hiện bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon trên chuột nhắt trắng Swiss. Độc tính bán trường diễn đánh giá theo hướng dẫn của WHO trên chuột cống trắng Wistar với liều uống 50 mg/kg/ngày và 150 mg/kg/ngày trong 4 tuần. Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu ở các mức liều 100 mg/kg/ngày và 300 mg/kg/ngày trên chuột nhắt trắng Swiss được tiêm màng bụng một liều duy nhất hỗn dịch kali oxonat 500 mg/kg. Kết quả nghiên cứu cho thấy: phân đoạn cao chiết Đạ liền n-hexan thể hiện độc tính cấp đường uống với LD<sub>50</sub> là 3671,94 mg/kg. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn ở cả 2 mức liều không có sự thay đổi về tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, chức năng gan, thận và cấu trúc thận. Tuy nhiên, thay đổi mô bệnh học gan được quan sát ở liều cao, cần có nghiên cứu sâu hơn để đánh giá. Hai mức liều đều có tác dụng hạ acid uric máu.

**Từ khóa:** Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, acid uric, n-hexan, Đạ liền, *Kaempferia galanga*.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gout là một bệnh rối loạn chuyển hóa, đặc trưng bởi tình trạng viêm khớp, có biểu hiện sưng, đau khớp đi kèm với tăng acid uric máu. Bệnh diễn biến nhiều năm, ảnh hưởng nặng nề đến chất lượng sống, kinh tế của người bệnh, thậm chí gây tàn tật suốt đời nếu không điều trị sớm. Gout đã trở thành vấn đề sức khỏe toàn cầu với tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong ngày càng tăng cao. Trên toàn thế giới, tỷ lệ lưu hành bệnh gout dao động từ 1 - 4% và dự đoán tỷ lệ tử vong có thể tăng 55% vào năm 2060.<sup>1,2</sup> Thuốc điều trị gout hiện nay chủ yếu làm giảm triệu chứng

thông qua các cơ chế như: ức chế viêm, giảm sản xuất và tăng thải trừ acid uric. Nhìn chung, số lượng các thuốc điều trị gout không nhiều, tuy hiệu quả cao nhưng dễ gây tác dụng không mong muốn lên các cơ quan quan trọng của cơ thể như tim mạch, gan, thận... khi sử dụng kéo dài, đặc biệt với các thuốc thường dùng như glucocorticoid, NSAIDs hay febuxostat. Trong bối cảnh xã hội ngày càng phát triển, với mong muốn tăng thêm sự lựa chọn thuốc điều trị cho bệnh nhân gout, các nhà khoa học đã không ngừng tìm kiếm và thử nghiệm thuốc mới tiềm năng. Thuốc mới có thể có nguồn gốc tổng hợp hay tự nhiên từ cây thuốc, con thuốc sẵn có tại mỗi vùng miền, mỗi quốc gia.

Việt Nam là quốc gia có nguồn dược liệu dồi dào, phong phú. Đạ liền (*Kaempferia galanga* L.), là loài cây thân thảo, dễ trồng, dễ kiếm, mọc

Tác giả liên hệ: Đỗ Thị Hồng Khánh

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

Email: hongkhanhdhn@gmail.com

Ngày nhận: 17/03/2025

Ngày được chấp nhận: 08/04/2025

nhieu ở các tỉnh miền Bắc hoặc Tây Nguyên.<sup>3</sup> Thành phần hóa học Địa liền rất đa dạng, gồm nhiều hợp chất như ethyl p-methoxycinnamat, kaempferol và quercetin...<sup>4</sup> Một số nghiên cứu trên thế giới đã xác định tác dụng của Địa liền như kháng khuẩn, giảm đau, hạ sốt, chống viêm, chống huyết khối, chống ung thư...<sup>5</sup> Tại Việt Nam, số lượng công bố về tác dụng dược lý của Địa liền còn hạn chế. Thông qua đánh giá tác dụng ức chế enzym xanthin oxidase *in vitro*, nhóm nghiên cứu bước đầu thu được phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan có tác dụng ức chế tốt nhất. Nhằm cung cấp cơ sở khoa học về tính an toàn và giá trị sử dụng của phân đoạn này trong điều trị gout trên lâm sàng, chúng tôi tiếp tục tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng hạ acid uric của phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan (*Kaempferia galanga* L.) trên thực nghiệm.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Đối tượng

#### **Thuốc nghiên cứu**

Thân rễ Địa liền được thu hái tại Khoái Châu, Hưng Yên (Ký hiệu mẫu: YD-ĐL 2023). Thân rễ (3kg) xay nhỏ, chiết nóng với cồn 70° ở 65°C, trong 3 lần, mỗi lần 3 giờ, tỉ lệ dược liệu: dung môi lần lượt là 10:1; 8:1; 8:1 (kl/kl), cất quay dưới áp suất giảm thu được 709,4g cao chiết ethanol. Phân tán 700,1g cao chiết vào 1L nước, chiết lỏng-lỏng lần lượt với dung môi: n-hexan, ethyl acetat. Mỗi loại 3 lần, mỗi lần với 1L dung môi, thu được các phân đoạn tương ứng: 217,6g n-hexan, 23,9g ethyl acetat, 457,1g cao nước.

Phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan được sử dụng trong nghiên cứu này. Phân đoạn cao chiết được bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh và pha mới hằng ngày bằng nước ấm trước khi cho chuột uống.

### **Động vật nghiên cứu**

Chuột nhắt trắng, chủng Swiss, hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng  $25 \pm 2g$  do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột cống trắng chủng *Wistar*, hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng  $200 \pm 30g$  do Học viện Quân y cung cấp. Động vật được nuôi 5 ngày trước và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm, đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

### **Thuốc, hóa chất, máy móc phục vụ nghiên cứu**

Kali oxonat (Sigma-Aldrich, Đức); bột CMC-Na (Nhật Bản); viên nén allopurinol 300 mg (Công ty TNHH Stellapharm, Việt Nam); kit định lượng ALT (alanin aminotransferase) (BLT00053, số lô: 2305038), AST (aspartat aminotransferase) (BLT00050, số lô: 2408023), bilirubin toàn phần (BLT00010, số lô: 2209033), albumin (BLT00001, số lô: 2406037), cholesterol toàn phần (BLT00034, số lô: 2407022), creatinin (BLT00020, số lô: 2408025), acid uric (BLT00062, số lô: 2406040) sản xuất bởi ERBA Lachema S.R.O, Đức. Hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

### 2. Phương pháp

#### **Đánh giá độc tính cấp**

Nghiên cứu độc tính cấp được tiến hành trên chuột nhắt trắng theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) và xác định LD<sub>50</sub> theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon.<sup>6,7</sup>

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm. Chuột nhắt trắng được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi cho uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Cho chuột uống phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp

nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong 72 giờ sau khi uống thuốc. Chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD<sub>50</sub> của thuốc thử. Tiếp tục theo dõi tình trạng chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi dùng thuốc.

#### **Đánh giá độc tính bán trường diễn**

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan trên chuột cống trắng theo đường uống được tiến hành theo hướng dẫn của WHO.<sup>6</sup>

Chuột cống trắng được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con: lô chứng uống nước cất 1 mL/100g/ngày, lô trị 1 và lô trị 2 uống phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan liều 50 mg/kg/ngày và 150 mg/kg/ngày, trong 4 tuần liên tục, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi trước lúc uống thuốc, sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc gồm: Tình trạng chung, thể trọng của chuột; chức phận tạo máu (số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu); chức năng gan (bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol); mức độ hủy hoại tế bào gan (hoạt độ ALT, AST); chức năng thận (nồng độ creatinin máu). Sau 4 tuần uống thuốc, chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột mỗi lô.

#### **Đánh giá tác dụng hạ acid uric máu**

Gây tăng acid uric máu trên chuột nhắt trắng theo phương pháp của Etani và cộng sự (2016) bằng cách tiêm màng bụng liều duy nhất hỗn dịch kali oxonat 500 mg/kg.<sup>8</sup>

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con: Lô 1 (chứng sinh học) và lô 2 (chứng bệnh lý) uống nước cất, lô 3 (chứng dương) uống allopurinol 20 mg/kg, lô 4 và 5 uống phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan liều 100 mg/kg và 300 mg/kg với cùng thể tích 0,2 mL/10g thể trọng chuột vào một giờ nhất định hàng ngày trong vòng 5 ngày. Trước khi dùng nước cất hoặc thuốc thử 1,5 giờ, chuột không được ăn nhưng uống nước bình thường. Ngày thứ 5 của nghiên cứu, 1 giờ trước khi uống thuốc lần cuối, chuột ở các lô được tiêm màng bụng kali oxonat liều 500 mg/kg (lô chứng sinh học được tiêm dung môi pha kali oxonat là CMC-Na 0,5%) (0,1mL/10 g thể trọng chuột). Sau uống thuốc lần cuối 2 giờ, lấy máu động mạch cảnh định lượng nồng độ acid uric huyết thanh.

#### **Xử lý số liệu**

Số liệu được thu thập và xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2019 và SPSS 20.0. Số liệu được trình bày dưới dạng:  $\bar{X} \pm SD$ . Kiểm định các giá trị bằng T-test Student và test trước sau (Avant- après), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

### **III. KẾT QUẢ**

#### **1. Độc tính cấp**

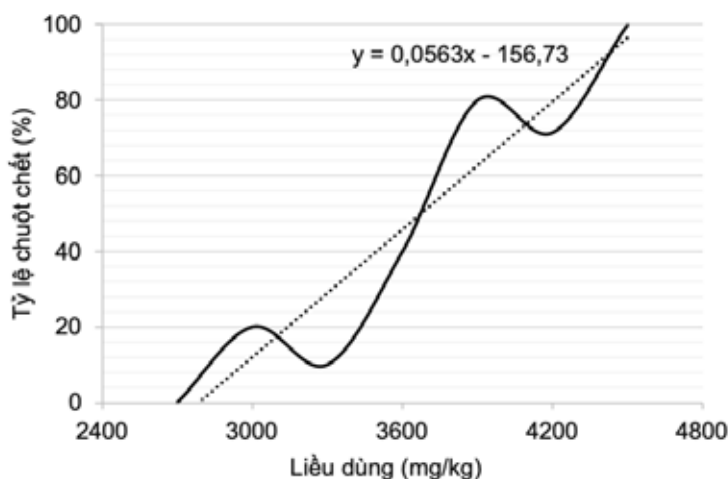
**Bảng 1. Mối tương quan giữa liều dùng phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan, tỷ lệ chuột chết và số lượng chuột tiêu chảy, khó thở, co giật**

Lô chuột	n	Liều (mg phân đoạn cao chiết/kg thể trọng)	Số chuột chết	Tỷ lệ chết (%)	Số chuột tiêu chảy	Số chuột khó thở, co giật
1	10	2700	0	0	5	0
2	10	3000	2	20	4	2
3	10	3300	1	10	6	1
4	10	3600	4	40	4	4
5	10	3900	8	80	0	8
6	14	4200	10	71	4	10
7	14	4500	14	100	0	14

Với nồng độ cao nhất có thể cho uống bằng kim chuyên dụng (4500 mg/kg), thể tích cho uống là 0,2 mL/10 g thể trọng chuột, theo dõi thấy chuột có biểu hiện lừ đừ, lông xù, co giật và chết sau 4 - 24 giờ sau khi uống mẫu thử. Ở liều 2700 mg/kg, chuột có biểu hiện đi phân lỏng, không ghi nhận tử vong trong 72 giờ và 7 ngày sau uống thuốc. Liều 3000 mg/kg có tỷ lệ chuột chết cao hơn liều 3300 mg/kg, tuy nhiên sự khác biệt là không có ý nghĩa thống kê. Tương tự, tỷ lệ tử vong của chuột uống

mức liều 3900 mg/kg cũng cao hơn liều 4200 mg/kg, và sự khác biệt cũng là không đáng kể. Xác định được: nồng độ tối đa không gây chết chuột ( $LD_{0}$ ) là 2700 mg/kg, nồng độ tối thiểu gây chết 100% chuột ( $LD_{100}$ ) là 4500 mg/kg. Bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon,  $LD_{50}$  được xác định là 3671,94 mg/kg.

Tiến hành các thử nghiệm tiếp theo với liều dùng trên chuột nhất là 100 mg/kg và 300 mg/kg, tương đương 1/37 và 1/12  $LD_{50}$ , chuột cống là 50 mg/kg và 150 mg/kg.



**Biểu đồ 1. Mối tương quan giữa liều dùng phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan và tỷ lệ chuột chết**

## 2. Độ tinh bán trường diễn

Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng chuột cống trắng

Trong suốt thời gian nghiên cứu, chuột cống trắng ở lô chứng sinh học và 2 lô uống phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Không thấy biểu hiện bất

thường ở cả 3 lô chuột.

Sau 2 tuần, 4 tuần uống thuốc, trọng lượng chuột ở cả 3 lô chỉ tăng nhẹ so với trước khi nghiên cứu, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Không có sự khác biệt về mức độ gia tăng trọng lượng chuột giữa lô chứng và các lô dùng thuốc ( $p > 0,05$ ).

### Đánh giá chức năng tạo máu

**Bảng 2. Ảnh hưởng của phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan lên chức năng tạo máu ở chuột cống trắng**

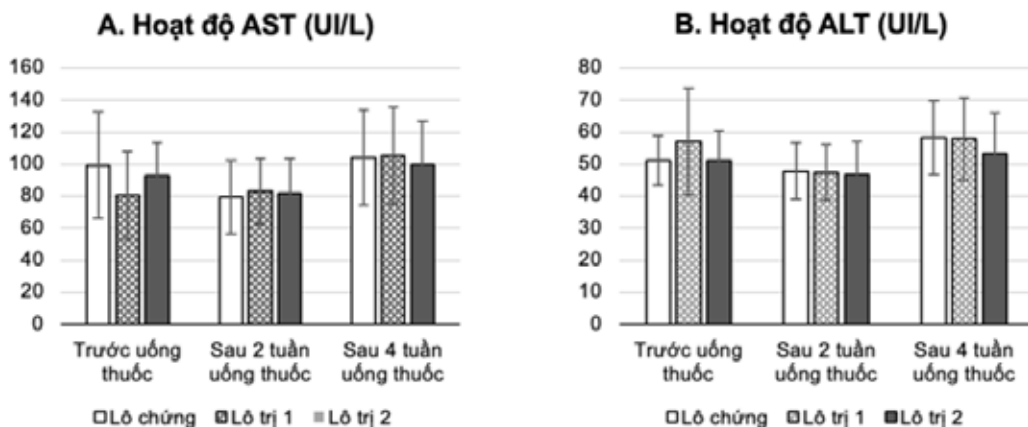
Chỉ số	Lô (n = 10)	Trước uống thuốc	Sau 2 tuần uống thuốc	Sau 4 tuần uống thuốc	$p_{\text{trước-sau}}$
Số lượng hồng cầu (T/L)	Lô chứng	7,31 ± 0,53	7,49 ± 0,56	6,99 ± 0,57	> 0,05
	Lô trị 1	7,43 ± 0,70	7,49 ± 0,46	7,10 ± 0,70	> 0,05
	Lô trị 2	7,40 ± 0,81	7,09 ± 0,53	6,94 ± 0,68	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Hàm lượng huyết sắc tố (g/dL)	Lô chứng	11,80 ± 3,12	11,78 ± 0,89	13,06 ± 1,16	> 0,05
	Lô trị 1	12,41 ± 2,16	11,93 ± 0,90	12,83 ± 0,79	> 0,05
	Lô trị 2	12,32 ± 2,28	12,49 ± 1,12	11,67 ± 1,03	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Hematocrit (%)	Lô chứng	36,58 ± 2,89	36,21 ± 2,06	34,70 ± 2,36	> 0,05
	Lô trị 1	33,63 ± 1,85	35,76 ± 2,26	36,19 ± 3,71	> 0,05
	Lô trị 2	33,69 ± 2,93	35,33 ± 3,06	35,61 ± 2,33	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Thể tích trung bình hồng cầu (fL)	Lô chứng	47,37 ± 3,77	47,17 ± 1,65	47,20 ± 1,69	> 0,05
	Lô trị 1	47,37 ± 3,80	43,79 ± 4,86	46,41 ± 1,62	> 0,05
	Lô trị 2	48,23 ± 4,10	47,75 ± 1,95	46,93 ± 1,98	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Số lượng tiểu cầu (G/L)	Lô chứng	325,20 ± 53,72	328,80 ± 39,61	320,50 ± 98,71	> 0,05
	Lô trị 1	313,40 ± 75,20	310,30 ± 80,11	374,70 ± 73,63	> 0,05
	Lô trị 2	346,80 ± 51,02	304,50 ± 66,76	307,20 ± 64,69	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Chỉ số	Lô (n = 10)	Trước uống thuốc	Sau 2 tuần uống thuốc	Sau 4 tuần uống thuốc	P <sub>trước-sau</sub>
Số lượng bạch cầu (T/L)	Lô chứng	8,82 ± 2,21	9,56 ± 3,26	9,30 ± 2,99	> 0,05
	Lô trị 1	8,91 ± 1,69	8,92 ± 2,03	10,69 ± 2,33	> 0,05
	Lô trị 2	10,68 ± 3,45	8,86 ± 1,40	10,97 ± 2,78	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
% bạch cầu lympho	Lô chứng	68,44 ± 10,34	62,48 ± 10,31	58,61 ± 8,42	> 0,05
	Lô trị 1	69,46 ± 5,62	65,77 ± 7,07	64,51 ± 8,36	> 0,05
	Lô trị 2	69,01 ± 10,36	63,06 ± 5,46	62,38 ± 12,28	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
% bạch cầu trung tính	Lô chứng	31,56 ± 10,34	37,52 ± 10,31	41,39 ± 8,42	> 0,05
	Lô trị 1	30,54 ± 5,62	34,23 ± 7,07	35,49 ± 8,36	> 0,05
	Lô trị 2	30,99 ± 10,36	36,94 ± 5,46	37,62 ± 12,28	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy: sau 2 tuần, 4 tuần uống thuốc, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu, số lượng tiểu cầu, số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu trên chuột cống ở cả 2 lô trị không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với trước khi uống thuốc ( $p > 0,05$ ).

#### Ảnh hưởng lên mức độ tổn thương tế bào gan

Theo Biểu đồ 2: sau 2 tuần và 4 tuần uống phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan, hoạt độ AST và ALT ở cả 2 lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).



**Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan lên hoạt độ AST, ALT của chuột cống trắng**

**Ảnh hưởng lên chức năng gan, thận****Bảng 3. Ảnh hưởng của phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan lên chức năng gan, thận ở chuột cống trắng**

Chỉ số	Lô (n = 10)	Trước uống thuốc	Sau 2 tuần uống thuốc	Sau 4 tuần uống thuốc	$p_{\text{trước - sau}}$
Nồng độ albumin (g/dL)	Lô chứng	2,57 ± 0,52	3,34 ± 0,33	2,90 ± 0,54	> 0,05
	Lô trị 1	2,68 ± 0,29	3,31 ± 0,73	2,90 ± 0,38	> 0,05
	Lô trị 2	2,92 ± 0,33	3,32 ± 0,62	2,68 ± 0,61	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Nồng độ bilirubin toàn phần (mmol/L)	Lô chứng	13,59 ± 0,55	13,45 ± 0,39	13,33 ± 0,69	> 0,05
	Lô trị 1	13,38 ± 0,39	13,52 ± 0,36	13,59 ± 0,55	> 0,05
	Lô trị 2	13,40 ± 0,27	13,30 ± 0,45	13,55 ± 0,41	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Cholesterol toàn phần (mmol/L)	Lô chứng	1,79 ± 0,26	1,52 ± 0,20	1,36 ± 0,26	> 0,05
	Lô trị 1	1,88 ± 0,39	1,63 ± 0,31	1,46 ± 0,16	> 0,05
	Lô trị 2	1,55 ± 0,20	1,91 ± 0,37	1,50 ± 0,29	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Creatinin (mg/dL)	Lô chứng	1,07 ± 0,05	1,07 ± 0,05	1,06 ± 0,08	> 0,05
	Lô trị 1	1,06 ± 0,05	1,05 ± 0,05	1,06 ± 0,08	> 0,05
	Lô trị 2	1,06 ± 0,05	1,06 ± 0,05	1,06 ± 0,10	> 0,05
	p (t-test Student)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan, các xét nghiệm đánh giá chức năng gan (nồng độ albumin, bilirubin toàn phần và cholesterol toàn phần) và chức năng thận (nồng độ creatinin) ở cả lô trị 1 và lô trị 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

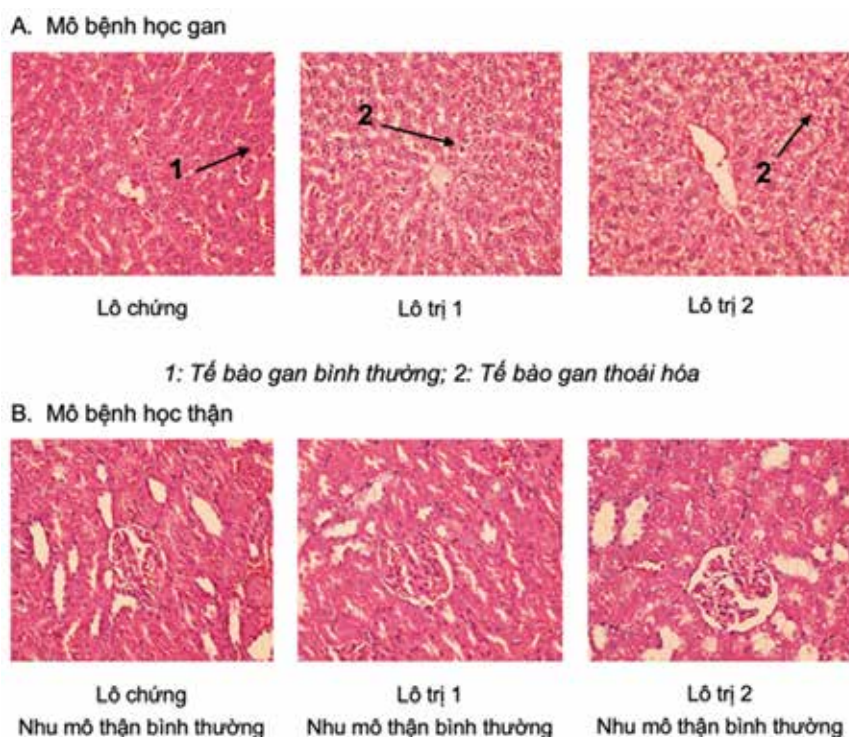
**Thay đổi về mô bệnh học**

**Đại thể:** Sau 4 tuần uống thuốc liên tục, trên tất cả các chuột thực nghiệm (cả lô chứng và 2

lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hoá của chuột cống trắng.

**Vi thể:** Không có khác biệt về cấu trúc vi thể gan, thận chuột sau 4 tuần uống thuốc ở các lô trị 1 và lô chứng, các tế bào gan bình thường (2/3 mẫu) hoặc thoái hóa nhẹ (1/3 mẫu). Ở lô trị 2, có tổn thương vi thể gan chuột nặng hơn so với lô chứng, tế bào gan thoái hóa nhẹ (2/3 mẫu) và vừa (1/3 mẫu).





Hình 1. Mô bệnh học gan, thận (HE x 400)

### 3. Tác dụng hạ acid uric máu

Bảng 4. Ảnh hưởng của phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan lên nồng độ acid uric máu

Lô nghiên cứu (n = 10)	Acid uric máu ( $\mu\text{mol/mL}$ )	% giảm so với lô mô hình
Lô 1 (chứng sinh học)	15,93 1,27	
Lô 2 (mô hình)	21,03 1,98 <sup>***</sup>	
Lô 3 (allopurinol 20 mg/kg)	14,79 1,20 <sup>***</sup>	29,67 %
Lô 4 (n-hexan 100 mg/kg)	16,50 1,20 <sup>***</sup>	21,54 %
Lô 5 (n-hexan 300 mg/kg)	15,85 1,21 <sup>***</sup>	24,63 %

<sup>\*\*\*</sup> $p < 0,001$ :  $p$  so với lô chứng sinh học, <sup>\*\*\*</sup> $p < 0,001$ :  $p$  so với lô mô hình

Kết quả Bảng 4 cho thấy: Nồng độ acid uric trong máu của lô mô hình tăng cao rõ rệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học, với  $p < 0,001$ . Phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan ở cả hai liều làm giảm rõ rệt nồng độ acid uric máu so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

## IV. BÀN LUẬN

### Về độc tính cấp

Nghiên cứu độc tính là một bước không thể thiếu trong nghiên cứu và phát triển thuốc. Trên thế giới, phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan chỉ mới được đánh giá độc tính trên da thỏ,



chưa có báo cáo về độc tính đường uống.<sup>9</sup> Do đó, nghiên cứu độc tính cấp đường uống là cần thiết. Nghiên cứu nhằm theo dõi và đánh giá tất cả những dấu hiệu bất thường ở động vật sau khi dùng thuốc và tiến hành xác định LD<sub>50</sub>, tức liều gây chết 50% chuột theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon.<sup>7</sup>

Nghiên cứu của Siska và cộng sự xác định phân đoạn cao chiết Địa liền ethyl acetat không có độc tính cấp với LD<sub>50</sub> > 15 g/kg.<sup>10</sup> Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phân đoạn cao chiết Địa liền khác là n-hexan, với LD<sub>50</sub> là 3671,94 mg/kg. Theo phân loại của WHO, đây là thuốc thử nguồn gốc dược liệu ít độc.<sup>11</sup> Có thể do trong thuốc thử có các hợp chất có khả năng gây độc cấp tính. Theo Trần Trọng Biên và cộng sự, phân đoạn n-hexan có tỷ lệ ethyl-p-methoxycinnamat cao hơn phân đoạn ethyl acetat (1,99% và 1,12%).<sup>12</sup> Hợp chất này được xác định có mức độ độc tính nhẹ và chất tổng hợp của nó là acid p-methoxycinamic có mức độ độc tính trung bình khi đánh giá trong 24 giờ.<sup>13</sup>

Cơ sở tính liều của phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan dùng trên động vật thực nghiệm xác định dựa trên LD<sub>50</sub>. Liều dùng trên chuột nhất là 100 mg/kg và 300 mg/kg, tương đương 1/37 và 1/12 LD<sub>50</sub>, chuột cống là 50 mg/kg và 150 mg/kg. Mức liều này cũng đã được sử dụng trong nhiều nghiên cứu thực nghiệm trên thế giới trước đó.<sup>14,15</sup>

### **Về độc tính bán trường diễn**

Ngoài một số dược liệu có biểu hiện tác dụng và độc tính nhanh, phần lớn cần dùng trong thời gian dài mới biểu hiện tác dụng hoặc tác dụng không mong muốn. Vì vậy, việc nghiên cứu độc tính dài ngày là hoàn toàn cần thiết và là yêu cầu bắt buộc để đảm bảo vấn đề đạo đức trong nghiên cứu y sinh. Trong nghiên cứu độc tính bán trường diễn của phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan, chúng tôi tiến hành đánh giá trên chuột cống trắng trong 4 tuần với 2 mức liều là

50 mg/kg/ngày và 150 mg/kg/ngày. Nếu thuốc có độc tính sẽ ảnh hưởng đến toàn trạng, một số chức năng và hình thái cấu trúc của các cơ quan chính trong cơ thể. Địa liền có nhiều tác dụng dược lý đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu trước đây. Tuy nhiên, thông tin về độc tính còn hạn chế. Kết quả của chúng tôi tương tự với báo cáo trước đây của Amuamuta và cộng sự, phân đoạn cao chiết Địa liền ethanol uống liều 1.000 mg/kg trong 30 ngày liên tiếp cho thấy không có độc tính đáng kể, không có chuột nào chết.<sup>16</sup> Nghiên cứu độc tính bán trường diễn 28 ngày của Kanjanapothi và cộng sự cũng không có chuột chết khi dùng cao chiết ethanol với liều 25, 50 hoặc 100 mg/kg.<sup>9</sup>

Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng phản ánh tình trạng sức khỏe của động vật. Trong nghiên cứu, chuột ở cả 3 lô đều ăn uống, hoạt động bình thường, mắt sáng, lông mượt, phân khô. Cân nặng chuột ở cả 3 lô đều tăng nhẹ so với trước nghiên cứu. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở 2 lô trị so với lô chứng. Như vậy, thuốc thử không ảnh hưởng xấu tới tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng chuột trong 4 tuần.

Máu là tổ chức quan trọng, liên hệ mật thiết với mọi cơ quan và nhạy cảm nhất đối với các hợp chất có độc tính. Theo WHO, các chỉ số huyết học là xét nghiệm bắt buộc khi đánh giá độc tính của thuốc thử, càng nhiều thông số được đánh giá, độc tính của thuốc càng có khả năng xác định chính xác hơn.<sup>6</sup> Sau 2 tuần và 4 tuần điều trị, không có sự khác biệt đáng kể về các chỉ số huyết học trên giữa 2 nhóm được điều trị bằng phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan với nhóm chứng. Theo Kanjanapothi và cộng sự, liều 50 và 100 mg/kg làm giảm bạch cầu lympho có ý nghĩa thống kê, nhưng không có ý nghĩa lâm sàng.<sup>9</sup> Điều đó chứng tỏ phân đoạn n-hexan không gây độc trên hệ thống tạo máu.

Trong cơ thể, gan có vai trò rất quan trọng, đảm nhiệm nhiều chức năng phức tạp và là cửa ngõ chuyển hóa các chất, nên gan dễ bị tổn thương. Khi vào cơ thể, thuốc có thể gây độc cho gan, gây hủy hoại tế bào gan và ảnh hưởng đến chức năng gan. AST và ALT là 2 enzym được sử dụng rộng rãi trong đánh giá hủy hoại tế bào gan.<sup>17</sup> Ngoài ra, gan có vai trò trong tổng hợp albumin, cholesterol và bilirubin. Thậm chí là cơ quan bài tiết của cơ thể, vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể, thuốc cũng có thể gây tổn thương thận. Creatinin và ure được sử dụng để đánh giá và theo dõi chức năng thận. Trong đó, creatinin máu là chỉ số tin cậy và quan trọng hơn, do creatinin là chất nội chuyển hóa được tổng hợp với tốc độ ổn định trong cơ thể, bị lọc ở cầu thận, không được tái hấp thu và chỉ một lượng nhỏ được bài tiết ở ống lượn gần.<sup>17</sup> Theo kết quả nghiên cứu, ALT, AST và các chỉ số chức năng gan, thận của chuột cống ở cả 2 lô trị đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước nghiên cứu và so với lô chứng tại cùng một thời điểm. Như vậy, thuốc thử không độc trên gan, thận.

Giải phẫu bệnh đại thể và vi thể là chỉ số cần thiết khi đánh giá độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn của WHO.<sup>6</sup> Để đánh giá chắc chắn về mức độ an toàn của phân đoạn n-hexan, chúng tôi tiến hành nghiên cứu mô bệnh học gan và thận. Khi so sánh với lô chứng, lô trị 2 cho thấy có xuất hiện thoái hóa tế bào gan mức độ vừa ở 1 trong 3 mẫu bệnh phẩm. Tuy nhiên, do chỉ đánh giá 30% chuột mỗi lô, đồng thời các chỉ số sinh hóa đánh giá chức năng gan không có dấu hiệu bất thường. Do đó, cần có nghiên cứu trong thời gian dài hơn để đánh giá ảnh hưởng của thuốc thử lên sự tổn thương tế bào gan.

#### **Về tác dụng hạ acid uric máu**

Tăng acid uric máu là yếu tố nguy cơ quan trọng nhất đối với sự phát triển của bệnh gout.

Để có thể đánh giá tác dụng hạ acid uric của thuốc thử, nhóm nghiên cứu tiến hành trên mô hình động vật đã tăng acid uric máu bằng kali oxonat.

Kali oxonat ức chế cạnh tranh uricase chọn lọc, ngăn chặn tác dụng của uricase gan, từ đó acid uric không chuyển được thành allantoin, gây ra tình trạng tăng acid uric máu nhanh trong thời gian ngắn.<sup>18</sup> Điều này được thể hiện ở mức tăng rõ rệt nồng độ acid uric ở lô mô hình so với lô chứng sinh học,  $p < 0,001$ , tỷ lệ tăng acid uric là 32,02%.

Điều trị 5 ngày bằng phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan đường uống đã làm giảm đáng kể nồng độ acid uric máu trên chuột nhắt trắng tăng acid uric cấp, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ). Tác dụng này có thể do các hợp chất trong phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan có tác dụng ức chế enzym xanthin oxidase mạnh. Zhu và cộng sự thấy rằng uống 50 mg/kg quercetin làm giảm đáng kể nồng độ acid uric ở chuột tăng acid uric máu và cũng ức chế đáng kể hoạt động của enzym xanthin oxidase.<sup>19</sup> Trong nghiên cứu của Mo, kaempferol làm giảm acid uric máu ở liều 100 mg/kg trong mô hình tương tự, ngoài ra kaempferol cũng biểu hiện sự ức chế xanthin oxidase ở gan.<sup>20</sup>

## **V. KẾT LUẬN**

Phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan thể hiện độc tính cấp đường uống với  $LD_{50}$  là 3671,94 mg/kg trên chuột nhắt trắng.

Phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan liều 50 mg/kg/ngày và 150 mg/kg/ngày dùng đường uống liên tục trong 4 tuần không ảnh hưởng đến tình trạng chung, các chỉ số huyết học, sinh hóa, mô bệnh học thận. Tuy nhiên, cần có nghiên cứu sâu hơn để đánh giá ảnh hưởng lên mô bệnh học gan chuột cống trắng.

Phân đoạn cao chiết Địa liền n-hexan liều

100 mg/kg/ngày và 300 mg/kg/ngày dùng đường uống 5 ngày liên tục có tác dụng hạ acid uric trên mô hình gây tăng acid uric máu cấp bằng kali oxonat ở chuột nhắt trắng.

## LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Bộ môn Dược lý và Bộ môn Bệnh học, Trường Đại học Y dược, Đại học Quốc gia Hà Nội đã hỗ trợ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Singh JA, Gaffo A. Gout epidemiology and comorbidities. *Semin Arthritis Rheum*. 2020; 50(3): 11-16. doi:10.1016/j.semarthrit.2020.04.008.
- Mattiuzzi C, Lippi G. Recent updates on worldwide gout epidemiology. *Clin Rheumatol*. 2020; 39(4): 1061-1063. doi:10.1007/s10067-019-04868-9.
- Võ Văn Chi. *Từ Điển Cây Thuốc Việt Nam*. NXB Y học; 2021: 472-473.
- Wang SY, Zhao H, Xu H, et al. Kaempferia galanga L.: Progresses in Phytochemistry, Pharmacology, Toxicology and Ethnomedicinal Uses. *Front Pharmacol*. 2021; 12. doi:10.3389/fphar.2021.675350.
- Kumar A. Phytochemistry, pharmacological activities and uses of traditional medicinal plant Kaempferia galanga L. - An overview. *J Ethnopharmacol*. 2020; 253: 112667.
- World Health Organization. General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. 2000: 28-29.
- Litchfield JT, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther*. 1949; 96(2): 99-113.
- Etani R, Kataoka T, Kanzaki N, et al. Difference in the action mechanism of radon inhalation and radon hot spring water drinking in suppression of hyperuricemia in mice. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2016; 57(3): 250-257. doi:10.1093/jrr/rrw014.
- Kanjanapothi D, Panthong A, Lertprasertsuke N, et al. Toxicity of crude rhizome extract of Kaempferia galanga L. (Proh Hom). *J Ethnopharmacol*. 2004; 90(2-3): 359-365. doi:10.1016/j.jep.2003.10.020.
- Siska S, Bariroh T, Supandi S. Acute Toxicity of Ethyl Acetate Fraction of Kaempferia galanga L. Rhizome. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2023; 1242:012007. doi:10.1088/1755-1315/1242/1/012007.
- World Health Organization. *WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2019 Edition*. 2020.
- Bien TT, Trung NQ, Han NV. Extraction of Ethyl-p-methoxycinnamate from Kaempferia galanga L. *VNU J Sci Med Pharm Sci*. 2020; 36(4).
- Nurmala S, Zahara I. Acute Toxicity Test Of P-Metoxicycnamic Acid Synthetic From Ethyl P-Methysicycnamate. *J Kim MULAWARMAN*. 2022; 19(2): 76-80.
- Riditid W, Sae-wong C, Reanmongkol W, Wongnawa M. Antinociceptive activity of the methanolic extract of Kaempferia galanga Linn. in experimental animals. *J Ethnopharmacol*. 2008; 118(2): 225-230. doi:10.1016/j.jep.2008.04.002.
- Samodra G, Febrina D. Anti-Inflammatory Effects of Kaempferia galanga L. Rhizome Extract in Carrageenan-Induced Female Rats. In: Atlantis Press; 2020: 13-17. doi:10.2991/ahsr.k.200204.004.
- Amuamuta A, Plengsuriyakarn T, Na-Bangchang K. Anticholangiocarcinoma activity and toxicity of the Kaempferia galanga Linn. Rhizome ethanolic extract. *BMC Complement Altern Med*. 2017; 17(1): 213. doi:10.1186/s12906-017-1713-4.

17. Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương. *Xét Nghiệm Sử Dụng Trong Lâm Sàng*. Nhà xuất bản Y học; 2015.
18. Tang DH, Ye YS, Wang CY, Li ZL, Zheng H, Ma KL. Potassium oxonate induces acute hyperuricemia in the tree shrew (*tupaia belangeri chinensis*). *Exp Anim*. 2017; 66(3): 209-216. doi:10.1538/expanim.16-0096.
19. Zhu JX, Wang Y, Kong LD, Yang C, Zhang X. Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *J Ethnopharmacol*. 2004; 93(1): 133-140. doi:10.1016/j.jep.2004.03.037.
20. Mo SF, Zhou F, Lv YZ, Hu QH, Zhang DM, Kong LD. Hypouricemic Action of Selected Flavonoids in Mice: Structure–Activity Relationships. *Biol Pharm Bull*. 2007; 30(8): 1551-1556. doi:10.1248/bpb.30.1551.

## Summary

### STUDY OF ACUTE, SUB-CHRONIC TOXICITY AND ANTI-HYPERURICEMIC ACTIVITY OF N-HEXANE FRACTION OF *KAEMPFERIA GALANGA* L. ON EXPERIMENTAL ANIMALS

The study evaluates the acute, sub-chronic toxicity and anti-hyperuricemic activity of n-hexane fraction of *Kaempferia galanga* L. on experimental models. Acute toxicity was assessed using the Litchfield-Wilcoxon method on *Swiss* albino mice. The sub-chronic toxicity was evaluated following WHO guidelines on *Wistar* rats at the daily doses of 50 mg/kg/day and 150 mg/kg/day for 4 weeks. The anti-hyperuricemic effect was tested at doses of 100 mg/kg/day and 300 mg/kg/day on *Swiss* mice, which were intraperitoneally injected with a single dose of potassium oxonate suspension (500 mg/kg). The results showed that n-hexane fraction exhibited acute oral toxicity with an LD<sub>50</sub> of 3671.94 mg/kg. In the sub-chronic toxicity study, both dose levels caused no change in general health status, body weight, hematopoietic function, liver and kidney function, or renal structure. However, histopathological changes in the liver were observed at the higher dose, warranting further investigation. Both dose levels demonstrated a blood uric acid-lowering effect.

**Keywords:** Acute toxicity, subchronic toxicity, uric acid, n-hexane, *Kaempferia galanga*.