

# STUDY ON BLOOD URIC ACID-LOWERING EFFECTS AND TOXICITY OF DRIED LOLOT LEAF EXCITEMENT ON EXPERIMENTAL ANIMALS

Duong Anh Tuyet<sup>1</sup>, Ngo Nguyen Quynh Anh<sup>1\*</sup>, Vu Thi Minh Thu<sup>1</sup>, Nguyen Thi Thu Huyen<sup>1</sup>,  
Pham Thi Hang<sup>1</sup>, Nguyen Thi Dong<sup>2</sup>, Nguyen Thuy Duong<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hai Duong Central College of Pharmacy - 324 Nguyen Luong Bang, Hai Duong, Vietnam

<sup>2</sup>Department of Science, Technology and Training, Ministry of Health - 138B Giang Vo, Hanoi, Vietnam

<sup>3</sup>Hanoi University of Pharmacy - 13-15 Le Thanh Tong, Hanoi, Vietnam

Received: 27/10/2023

Revised: 20/12/2023; Accepted: 03/02/2024

## ABSTRACT

**Objective:** The research aimed to investigate the impact of reducing blood uric acid and the toxicity of dried lolot leaf extract. The specific goals were to assess the efficacy of lowering blood uric acid and evaluate the acute and semi-chronic toxicity of the extract.

**Research subjects and methods:** The study involved evaluating the uric acid-lowering effect of dried lolot leaf extract using a model inducing acute hyperuricemia by injecting potassium oxonate through the peritoneum in white mice. Additionally, acute toxicity tests were conducted on white mice over a 14-day period, and semi-chronic toxicity tests were performed on rats over 28 days.

**Results:** The dried lolot leaf extract, administered at a dose of 300 mg/kg, demonstrated effectiveness in lowering blood uric acid, showing a reduction rate of 36.3% ( $p < 0,05$ ) compared to the control group. Importantly, the dried lolot leaf extract exhibited no acute toxicity at the tested doses, as evidenced by the absence of fatalities in the test batches, preventing the determination of LD<sub>50</sub>. Furthermore, in semi-chronic toxicity tests on mice subjected to repeated doses (330 mg/kg/day and 990 mg/kg/day) for 28 days, the extract did not display toxicity across parameters assessing general condition, liver function, kidney function, and hematopoietic function.

**Conclusion:** The dried lolot leaf extract was found to effectively lower uric acid without exhibiting signs of toxicity in the experimental animals.

*Keywords:* Gout; dried extract of lolot leaves; lowering uric acid; toxicity.

---

\*Corresponding author

Email address: qanhk63hup@gmail.com

Phone number: (+84) 988 185 505

<https://doi.org/10.52163/yhc.v65i2.943>



# NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG HẠ ACID URIC MÁU VÀ ĐỘC TÍNH CỦA CAO KHÔ LÁ LỐT TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Dương Ánh Tuyết<sup>1</sup>, Ngô Nguyễn Quỳnh Anh<sup>1\*</sup>, Vũ Thị Minh Thu<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu Huyền<sup>1</sup>, Phạm Thị Hằng<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Đông<sup>2</sup>, Nguyễn Thùy Dương<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Trường Cao đẳng Dược Trung ương Hải Dương - 324 Nguyễn Lương Bằng, Hải Dương, Việt Nam

<sup>2</sup>Cục Khoa học Công nghệ và Đào tạo, Bộ Y tế - 138B Giảng Võ, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Dược Hà Nội - 13-15 Lê Thánh Tông, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 27 tháng 10 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 20 tháng 12 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 03 tháng 02 năm 2024

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Nghiên cứu tác dụng hạ acid uric máu và độc tính của cao khô Lá lốt được triển khai với mục tiêu đánh giá tác dụng hạ acid uric máu, đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của Cao khô lá lốt.

**Phương pháp nghiên cứu:** Đánh giá tác dụng hạ acid uric của cao khô lá lốt bằng mô hình gây tăng acid uric cấp khi tiêm kali oxonat qua màng bụng chuột nhắt trắng; thử độc tính cấp của cao khô lá lốt trên chuột nhắt trắng trong 14 ngày; thử độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng trong 28 ngày.

**Kết quả:** Cao khô Lá lốt liều 300 mg/kg có tác dụng tác dụng hạ acid uric máu với tỉ lệ giảm 36,3% ( $p=0,015$ ) so với lô chứng bệnh. Đồng thời, mẫu cao khô Lá lốt không thể hiện độc tính cấp ở các liều thử nghiệm (không có chuột chết ở các lô thử nghiệm nên chưa xác định được  $LD_{50}$ ). Khi thử nghiệm độc tính bán trường diễn, mẫu cao khô Lá lốt không thể hiện độc tính trên các thông số đánh giá tình trạng chung, chức năng gan, chức năng thận và chức năng tạo máu khi dùng liều lặp lại 28 ngày trên chuột cống trắng với các mức liều thử 330 mg/kg/ngày và 990 mg/kg/ngày.

**Kết luận:** Cao khô Lá lốt có tác dụng hạ acid uric, không có biểu hiện độc tính trên động vật thực nghiệm.

*Từ khóa:* Bệnh gout; cao khô lá lốt; hạ acid uric; độc tính.

---

\*Tác giả liên hệ

Email: qanhk63hup@gmail.com

Điện thoại: (+84) 988 185 505

<https://doi.org/10.52163/yhc.v65i2.943>

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Gout ngày càng trở nên phổ biến trên Thế giới, tỷ lệ tử vong do bệnh gout có thể lên tới 55% vào năm 2060 [1]. Tại Việt Nam, Hội thảo “Kiểm soát hiệu quả điều trị bệnh gout” tại Bệnh viện 115 năm 2019 đã ghi nhận tại Việt Nam, tỷ lệ bệnh gout chiếm tới 1,0 % dân số (khoảng 940.000 bệnh nhân), trong đó 96% là nam giới, 38% ở lứa tuổi 40, với 75% trong độ tuổi lao động. Hơn 50% bệnh nhân gout có tăng huyết áp và các bệnh rối loạn chuyển hoá khác. Điều trị Gout với thuốc hiện nay có nhiều tác dụng phụ thường gặp như rối loạn tiêu hóa, đau dạ dày; một số thuốc có thể gây phát ban da và gây rối loạn chức năng thận (allopurinol) hoặc gây độc tính trên thần kinh cơ (đau cơ, yếu cơ), ức chế tủy xương, tổn thương gan, thận (colchicine) [2]... Lá lốt là dược liệu phổ biến, dễ trồng. Lá lốt đã được sử dụng trong dân gian để giảm các triệu chứng của bệnh thống phong (bệnh gout). Do đó nghiên cứu được triển khai với mục tiêu đánh giá tác dụng hạ acid uric máu, đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của Cao khô lá lốt.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu nghiên cứu

*Mẫu thử:* Cao khô Lá lốt (độ ẩm 1%).

*Động vật nghiên cứu:* Chuột nhắt trắng trưởng thành, khối lượng 18 – 22g, do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp; chuột cống trắng chủng Wistar, cân nặng từ 140-200g, khỏe mạnh do Học viện Quân y cấp. Động vật được nuôi ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm 7 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu, được cho ăn thức ăn tiêu chuẩn do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp, uống nước tự do.

### 2.2. Thiết kế nghiên cứu

#### 2.2.1. Đánh giá tác dụng hạ acid uric của cao lá lốt trên mô hình gây tăng acid uric máu cấp bằng kalioxanat

Áp dụng mô hình gây tăng acid uric cấp bằng cách tiêm màng bụng kalioxanat

##### • Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng chủng Swiss, giống đực, khỏe mạnh, chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 động vật.

- Lô 1 (lô chứng trắng): uống nước, không gây tăng acid uric.

- Lô 2 (lô chứng bệnh): uống nước.

- Lô 3 (lô chứng dương): uống allopurinol liều 10 mg/kg cân nặng chuột.

- Lô 4 (lô L1): uống cao lá lốt liều 300 mg/kg cân nặng chuột.

- Lô 5 (lô L2): uống cao lá lốt liều 600 mg/kg cân nặng chuột.

Lô 2, 3, 4, 5 gây tăng acid uric bằng kali oxonat.

##### • Tiến hành

Các lô chuột được uống các chế phẩm tương ứng với cùng thể tích 0,1 ml/10g cân nặng hàng ngày trong 4 ngày, vào một giờ nhất định. Vào ngày thứ năm, thực hiện các bước sau:

- Gây tăng acid uric: tiêm màng bụng hỗn dịch kalioxonat pha trong NaCMC 0,5%, liều 500 mg/kg cân nặng vào tất cả các chuột.

- Lấy mẫu và xử lý mẫu: Sau khi tiêm 2 giờ 30 phút, lấy máu từ xoang hốc mắt chuột. Máu được để lắng tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, sau đó đem ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút, lấy huyết thanh để định lượng acid uric.

##### • Thông số đánh giá

❖ Nồng độ acid uric huyết thanh

❖ Tỷ lệ giảm nồng độ acid uric huyết thanh của lô thử so với lô chứng và tính theo công thức:

$$I (\%) = \frac{C_C - C_T}{C_C} \times 100\%$$

Trong đó:

I (%): tỷ lệ giảm nồng độ acid uric huyết thanh của lô thử so với lô chứng.

$C_C, C_T$ : nồng độ acid uric huyết thanh của lô chứng, lô thử.

#### 2.2.2. Phương pháp thử độc tính cấp (Theo hướng dẫn của Bộ Y tế, OECD và tài liệu khác)

##### Thiết kế thí nghiệm

Chuột nhắt trắng, giống cái, được nhịn ăn 3 giờ trước khi thí nghiệm. Kiểm tra cân nặng trước khi thí nghiệm. Cho chuột uống mẫu thử nhiều lần trong vòng 24 giờ,

mỗi lần cách nhau 2-3 giờ. Sau lần cuối cùng uống mẫu thử 2 giờ, chuột được cho ăn trở lại. Theo dõi các biểu hiện của chuột trong vòng 14 ngày sau khi dùng mẫu thử: theo dõi liên tục trong vòng 4 giờ, theo dõi thường xuyên trong vòng 72 giờ và đến 14 ngày sau khi uống chế phẩm thử lần cuối.

- *Thử nghiệm thăm dò*: 2 động vật thí nghiệm/nhóm, cho uống một số mức liều nhằm xác định khoảng liều cho thử nghiệm chính thức.

- *Thử nghiệm chính thức*: Sau khi thử nghiệm thăm dò, động vật thí nghiệm được chia thành từng lô, mỗi lô 10 động vật. Mỗi lô được cho uống một mức liều đã tính toán được từ thử nghiệm thăm dò. Thông thường, thiết kế thí nghiệm với lô đầu uống liều tối đa không gây chết động vật và lô cuối cùng uống liều tối thiểu gây chết toàn bộ động vật (nếu thử nghiệm thăm dò cho thấy sản phẩm có độc tính gây chết động vật) hoặc dùng liều tăng dần đến liều tối đa mà chuột dung nạp được bằng đường uống (nếu thử nghiệm thăm dò cho thấy sản phẩm không gây chết động vật).

#### **Theo dõi, đánh giá**

Theo dõi động vật liên tục 4 giờ và theo dõi thường xuyên đến 14 ngày sau khi uống chế phẩm thử trên các tiêu chí sau đây: Tình trạng chung của chuột; Sự tiêu thụ thức ăn, nước uống; Số động vật chết: xác định tỉ lệ động vật chết ở các lô trong vòng 72 giờ để tính toán LD<sub>50</sub>.

Khi có động vật chết, mổ để quan sát đại thể các cơ quan phủ tạng. Nếu có dấu hiệu đáng nghi ngờ mà không xác định được rõ nguyên nhân xem xét làm thêm vi thể để xác định nguyên nhân.

#### **2.2.3. Thử nghiệm độc tính bán trường diễn**

(Theo hướng dẫn thử độc tính liều lặp lại 28 ngày qua đường uống trên động vật gặm nhấm của OECD TG-407)

##### **Thiết kế thí nghiệm**

Thử nghiệm độc tính bán trường diễn với liều nhắc lại 28 ngày trên chuột cống trắng cả hai giống đực và cái.

Chuột cống trắng mỗi giống (đực hoặc cái) được chia ngẫu nhiên thành 3 lô:

+ Lô chứng: uống nước với thể tích 1 ml/100 g chuột.

+ Lô L2: uống cao khô Lá lốt với liều 330 mg/kg với thể tích 1 ml/100g chuột.

+ Lô L6: uống cao khô Lá lốt với liều 990 mg/kg với thể tích 1 ml/100g chuột.

Chuột thí nghiệm được cho uống mẫu thử hoặc nước hàng ngày vào 9 giờ sáng với thể tích 1 ml/100g chuột, liên tục trong 28 ngày. Trong suốt quá trình thử nghiệm, theo dõi tình trạng chung của chuột, hằng tuần cân để theo dõi khối lượng cơ thể đồng thời điều chỉnh lượng thuốc uống. Tại thời điểm kết thúc (sau 28 ngày uống thuốc), lấy máu từ tĩnh mạch đùi của từng chuột để làm các xét nghiệm huyết học và các xét nghiệm hóa sinh. Mổ toàn bộ chuột để quan sát đại thể các cơ quan, lấy ngẫu nhiên 3 chuột trong mỗi lô để làm tiêu bản vi thể gan và thận.

- *Thông số đánh giá*: Tình trạng toàn thân: theo dõi hàng ngày, hằng tuần cân động vật thực nghiệm để theo dõi sự thay đổi khối lượng cơ thể đồng thời điều chỉnh lượng thuốc uống; Các thông số huyết học, hóa sinh; Đại thể cơ quan: quan sát cảm quan các cơ quan tim, gan, thận, phổi, lách, tuyến thượng thận. Cân ngay khối lượng các cơ quan và tính tỷ lệ so với khối lượng toàn bộ cơ thể theo công thức

$$X = \frac{m}{P} \times 100 (\%)$$

Trong đó: X là tỷ lệ khối lượng cơ quan so với khối lượng toàn bộ cơ thể

m: khối lượng cơ quan (g)

P: khối lượng cơ thể (g)

+ Mô bệnh học: sau khi giết động vật thực nghiệm, các mẫu gan và thận được cố định bằng dung dịch Carnoy, vùi trong parafin, cắt các lát mỏng 5 – 7 μm, nhuộm hematoxylin – eosin và quan sát dưới kính hiển vi quang học để đánh giá cấu trúc hình thái vi thể gan, thận.

#### **2.3. Phương pháp xử lý số liệu**

Phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 20. Sự khác biệt giữa các lô được coi là có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

Với các số liệu thuộc phân phối chuẩn, kết quả được biểu diễn dưới dạng  $M \pm SE$  (M: giá trị trung bình từng lô, SE: sai số chuẩn). So sánh giá trị trung bình giữa các lô bằng one - way ANOVA và dùng hậu kiểm LSD đối với phương sai đồng nhất, Dunnett's T3 với phương sai không đồng nhất. Với thiết kế so sánh giá trị trung bình giữa 2 lô, dùng kiểm định T-test Student.

Với các số liệu không thuộc phân phối chuẩn, kết quả

được trình bày dưới dạng trung vị và khoảng (giá trị cực tiểu – giá trị cực đại). Dùng thuật toán Kruskal Wallis để so sánh giữa các lô, Mann-Whitney U test để so sánh kết quả giữa lô thử với lô chứng.

Xác định LD<sub>50</sub> (nếu có) bằng phương pháp phân tích hồi qui probit trên phần mềm SPSS.

### 2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được đánh giá các nguy cơ là tối thiểu và hợp lý so với những lợi ích dự kiến có được, đồng thời

đảm bảo sự bảo vệ, chăm sóc cho động vật sử dụng trong nghiên cứu. Các dữ liệu, thông tin thu thập trong nghiên cứu và trình bày trong các báo cáo được cam kết trung thực và chỉ dùng cho mục đích nghiên cứu.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Kết quả đánh giá tác dụng hạ acid uric của cao lá lốt trên mô hình gây tăng acid uric máu cấp bằng kalioxanat

**Bảng 1. Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt đến nồng độ acid uric huyết thanh**

Lô	Thông số	n	Nồng độ acid uric huyết thanh (µmol/L)	Tỷ lệ giảm acid uric huyết thanh so với lô chứng bệnh (I%)
Chứng sinh lý		10	61,2 ± 4,7	-
Chứng bệnh		10	146,1 ± 11,3*	-
Allopurinol 10 mg/kg		10	43,5 ± 7,0**	70,2
Cao khô lá lốt 300 mg/kg		10	93,1 ± 16,0*	36,3
Cao khô lá lốt 600 mg/kg		10	116,1 ± 20,6	20,5

Ghi chú: Dữ liệu được biểu diễn dưới dạng M±SE; \* p < 0,001 so với lô chứng sinh lý (kiểm định T-Test Student); # p < 0,05 so với lô chứng bệnh (kiểm định LSD); ## p < 0,001 so với lô chứng bệnh (kiểm định LSD)

Nhận xét: Cao khô Lá lốt liều 300 mg/ kg có tác dụng tác dụng hạ acid uric máu với tỉ lệ giảm 36,3 % (p=0,015) so với lô chứng bệnh. Allopurinol liều 10 mg/kg thể hiện tác dụng hạ acid uric máu với tỉ lệ giảm 70,2 % (p=0,000) so với lô chứng bệnh. Mức giảm acid uric máu của cao khô Lá lốt liều 600 mg/ kg chưa có ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng bệnh.

### 3.2. Kết quả độc tính

#### 3.2.1. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp

Kết quả thử nghiệm thăm dò

- Sử dụng chuột nhắt trắng, giống cái, chia thành 3 nhóm, mỗi nhóm 2 động vật và cho uống mẫu cao khô Lá lốt với liều tăng dần từ 6,7 g/ kg đến 26,7 g/ kg. Sau 4 giờ, tất cả chuột đều không có biểu hiện bất thường; sau 72 giờ các chuột đều còn sống và không xuất hiện chuột chết trong 14 ngày sau khi uống thuốc.

Kết quả thử nghiệm chính thức

Dựa trên kết quả của thử nghiệm thăm dò, tiến hành thử nghiệm chính thức trên các lô chuột, mỗi lô 10 con. Các lô chuột được dùng mẫu thử ở các mức liều tăng từ 13,35 g/ kg đến 26,7 g/ kg, tóm tắt trong bảng 3 (các lần dùng mẫu thử cách nhau 3 giờ)

**Bảng 2. Liều dùng và chế độ dùng mẫu thử cao khô Lá lốt**

Liều dùng (g cao/kg chuột)	Nồng độ mẫu thử (g/ ml)	Thể tích dùng (mL /10g chuột/ lần)	Số lần cho uống
13,35	0,67	0,2 mL	1
26,7	0,67	0,2 mL	2

- Theo dõi các biểu hiện của chuột liên tục trong vòng 4 giờ, thường xuyên trong vòng 72 giờ và hằng ngày trong vòng 14 ngày sau khi uống mẫu thử lần cuối.

- Kết quả:

+ Sau khi uống thuốc 4 giờ: Đa số các chuột đều không có biểu hiện bất thường, ăn uống, vận động bình thường, phản xạ tốt với kích thích, lông mượt, niêm mạc hồng hào, mắt sáng, phân khô, nước tiểu bình thường.

+ Trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc, không xuất hiện chuột chết và 100 % số chuột thử nghiệm đều còn sống sau 14 ngày thử nghiệm.

+ Vì không có chuột chết ở các lô thử nghiệm nên chưa xác định được LD<sub>50</sub>.

+ Liều cao nhất đã thử độc tính cấp gấp 89 lần liều thể hiện tác dụng hạ acid uric.

### 3.2.2. Kết quả thử nghiệm độc tính bán trường diễn

#### *Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt đến tình trạng toàn thân của chuột cống trắng*

- *Ảnh hưởng đến tình trạng toàn thân:* Chuột ở các lô đều ăn uống, hoạt động bình thường, không có biểu hiện bất thường.

- *Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt đến tăng trưởng khối lượng cơ thể của chuột cống trắng:* Chuột cống trắng được cân hàng tuần trong suốt quá trình thực nghiệm. Kết quả không có sự khác biệt khối lượng cơ thể giữa các lô thử so với các lô chứng cùng giống, tại tất cả các thời điểm nghiên cứu.

#### *Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt đến các thông số huyết học của chuột cống trắng*

Tại thời điểm sau uống thuốc 28 ngày, thông số huyết học: WBC, Lym, RBC, HGB, HCT, PLT không có sự khác biệt giữa các lô dùng mẫu thử LÁ LỐT so với lô chứng ( $p > 0,05$ ), thông số MCV không có sự khác biệt giữa các lô giống đực. Ở các lô giống cái: lô dùng LÁ

LỐT liều 330 mg/ kg có sự giảm MCV (4,2%,  $p < 0,05$ ) so với lô chứng; sự khác biệt giữa lô dùng LÁ LỐT liều 990 mg/ kg so với lô chứng không có ý nghĩa thống kê.

#### *Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt đến các thông số sinh hóa của chuột cống trắng*

Tại thời điểm sau uống thuốc 28 ngày, các thông số ALT, AST, creatinin, cholesterol toàn phần, protein toàn phần, glucose huyết thanh không có sự khác biệt giữa các lô uống cao khô Lá lốt so với lô chứng.

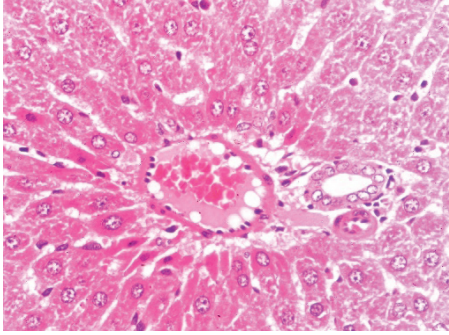
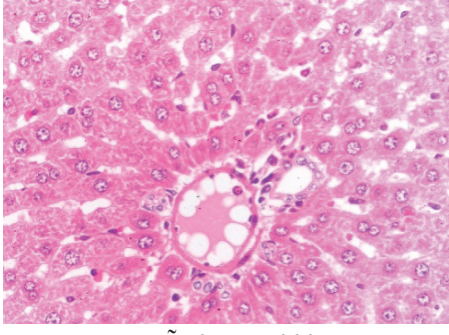
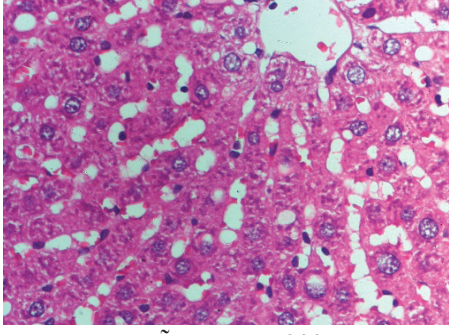
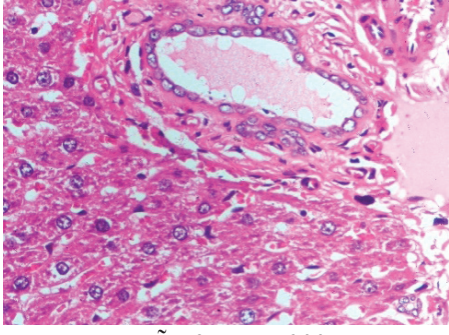
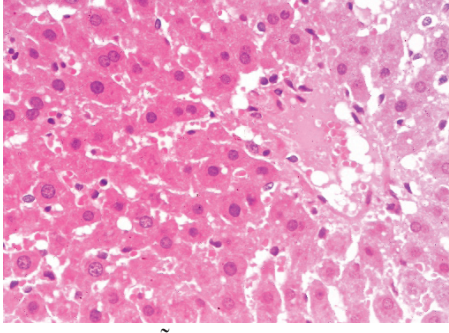
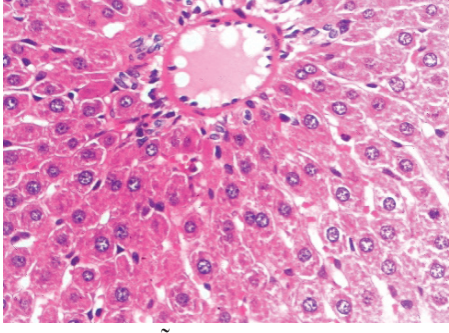
#### *Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt đến đại thể các cơ quan của chuột cống trắng*

Toàn bộ động vật thực nghiệm được mổ để quan sát, cân đại thể các cơ quan. Tại thời điểm sau khi dùng liều lặp lại 28 ngày, tỷ lệ khối lượng các cơ quan tim, thận, lách, thượng thận/khối lượng cơ thể của các động vật ở các lô dùng mẫu thử và lô chứng không có sự khác biệt. Thông số tỷ lệ khối lượng gan: không có sự khác biệt giữa các lô giống cái; ở các lô chuột giống đực: lô dùng cao khô Lá lốt liều 990 mg/ kg có sự giảm tỷ lệ khối lượng gan (21,1%,  $p < 0,001$ ), trong khi không có sự khác biệt ở lô dùng liều 330 mg/ kg so với lô chứng cùng giống. Thông số tỷ lệ khối lượng phổi: không có sự khác biệt giữa các lô giống đực; ở các lô chuột giống cái: lô dùng Lá lốt liều 330 mg/ kg có sự tăng tỷ lệ khối lượng phổi (27,6%,  $p < 0,05$ ), lô dùng cao khô Lá lốt liều 990 mg/ kg có sự tăng tỷ lệ khối lượng phổi (18,3%,  $p < 0,05$ ) so với lô chứng cùng giống.

#### *Thay đổi về mô bệnh học trên chuột cống trắng*

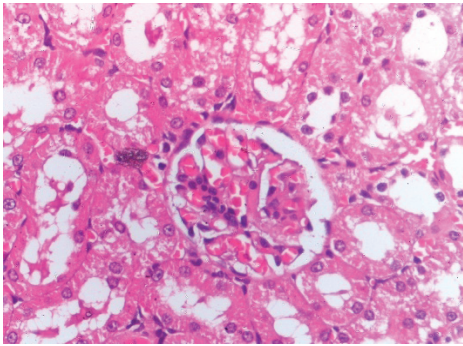
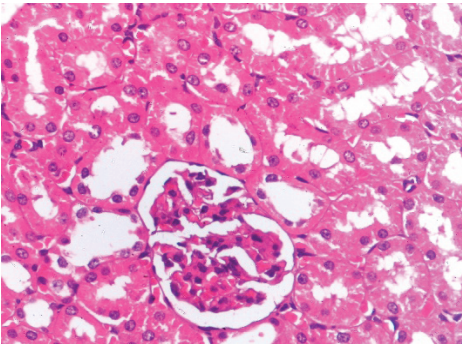
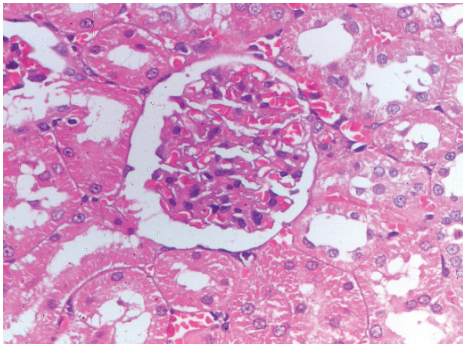
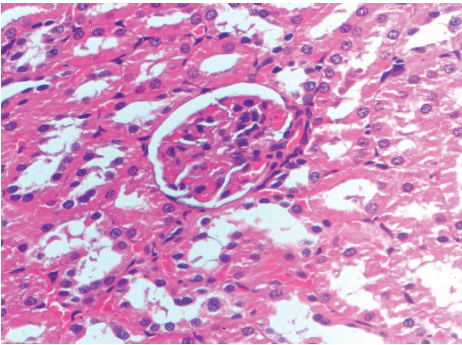
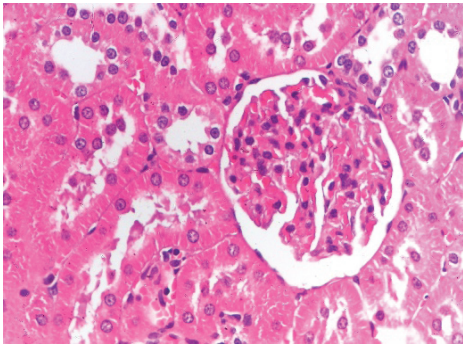
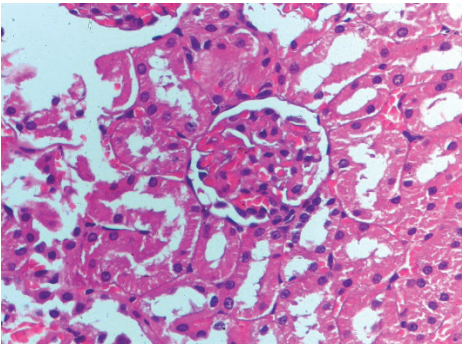
Để đánh giá ảnh hưởng của mẫu thử đến các cơ quan tại thời điểm sau khi uống thuốc 28 ngày, toàn bộ động vật thực nghiệm được mổ để quan sát đại thể các cơ quan. Lấy ngẫu nhiên 3 chuột ở từng lô để làm tiêu bản vi thể gan và thận. Tiêu bản vi thể gan, thận được thực hiện và đánh giá bởi PGS. TS. Lê Đình Roanh, tại Trung tâm nghiên cứu và phát hiện sớm ung thư. Kết quả được thể hiện trong các bảng 3 và bảng 4.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt dùng liều lặp lại 28 ngày đến mô bệnh học gan chuột**

Lô	Hình ảnh mô gan chuột giống đực	Hình ảnh mô gan chuột giống cái
Lô chứng	 <p>Mẫu 1, HEx 200                      1/3 mẫu mô gan thoái hóa hốc mỡ nhẹ                      1/3 mẫu mô gan thoái hóa hốc mỡ vừa                      1/3 mẫu gan thoái hóa hốc mỡ hoại tử chảy máu vừa</p>	 <p>Mẫu 2, HEx 200                      1/3 mẫu mô gan thoái hóa hốc mỡ nhẹ                      2/3 mẫu mô gan có rất ít ổ tế bào gan thoái hóa hốc mỡ</p>
LÁ LỐT 330 mg/ kg	 <p>Mẫu 45, HEx 200                      1/3 mẫu gan thoái hóa hốc mỡ vừa                      2/3 mẫu gan thoái hóa hốc mỡ nặng</p>	 <p>Mẫu 94, HEx 200                      1/3 mẫu tế bào gan thoái hóa hốc mỡ nhẹ                      1/3 mẫu tế bào gan thoái hóa hốc, mỡ vừa                      1/3 mẫu mô gan thoái hóa vừa có xâm nhập viêm nhẹ</p>
LÁ LỐT 990 mg/ kg	 <p>Mẫu 31, HEx 200                      1/3 mẫu mô gan bình thường                      2/3 mẫu gan thoái hóa hốc mỡ nhẹ</p>	 <p>Mẫu 85, HEx 200                      1/3 mẫu mô gan bình thường                      2/3 mẫu gan thoái hóa hốc mỡ nhẹ</p>



**Bảng 4. Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt dùng liều lặp lại 28 ngày đến mô bệnh học thận chuột**

Lô	Hình ảnh mảnh cắt mô thận chuột giống đực	Hình ảnh mảnh cắt mô thận chuột giống cái
Lô chứng	 <p>Mẫu 116, HEx 200 3/3 mẫu mô thận có cấu trúc cầu thận và ống thận bình thường</p>	 <p>Mẫu 105, HEx 200 3/3 mẫu mô thận có cấu trúc cầu thận và ống thận bình thường</p>
LÁ LỐT 330 mg/ kg	 <p>Mẫu 35, HEx 200 3/3 mẫu mô thận có cấu trúc cầu thận và ống thận bình thường</p>	 <p>Mẫu 79, HEx 200 3/3 mẫu mô thận có cấu trúc cầu thận và ống thận bình thường</p>
LÁ LỐT 990 mg/ kg	 <p>Mẫu 26, HEx 200 3/3 mẫu mô thận có cấu trúc cầu thận và ống thận bình thường</p>	 <p>Mẫu 91, HEx 200 3/3 mẫu mô thận có cấu trúc cầu thận và ống thận bình thường</p>

Trên hình ảnh tiêu bản, không nhận thấy có sự khác biệt rõ rệt giữa các lô dùng mẫu thử với lô chứng cùng giống. Mẫu cao khô Lá lốt không thể hiện độc tính trên các thông số đánh giá tình trạng chung, chức năng gan, chức năng thận và chức năng tạo máu khi dùng liều lặp lại 28 ngày trên chuột cống trắng với các mức liều thử 330 mg/kg/ngày và 990 mg/

kg/ngày. Tuy nhiên, ở giống đực, lô dùng cao khô Lá lốt liều 990 mg/ kg có sự giảm tỷ lệ khối lượng gan (21,1%,  $p < 0,001$ ) khi so với lô chứng. Với các lô chuột giống cái dùng cao khô Lá lốt có sự tăng tỷ lệ khối lượng phổi: liều 330 mg/ kg tăng 27,6% ( $p < 0,05$ ), liều 990 mg/ kg tăng 18,3% ( $p < 0,05$ ) so với lô chứng cùng giống.



## 4. BÀN LUẬN

### 4.1. Về tác dụng đánh giá tác dụng hạ acid uric

Dựa trên kinh nghiệm dân gian về giảm đau khớp và sử dụng trong bệnh Thống phong (gout) của cây Lá lốt, nhóm nghiên cứu đã tiến hành thử nghiệm tác dụng hạ acid uric của Lá lốt. Cao khô Lá lốt liều 300 mg/ kg có tác dụng tác dụng hạ acid uric máu với tỉ lệ giảm 36,3 % ( $p=0,015$ ) so với lô chứng bệnh. Kết quả cho thấy cao khô Lá lốt có tác dụng hạ acid uric trên chuột nhắt ở liều 300mg/kg, tác dụng không tăng khi tăng liều. Trong tổng quan tài liệu cũng chưa tìm được nghiên cứu nào về tác dụng hạ acid uric máu của dược liệu Lá lốt nhưng một số tác dụng hạ sốt, chống viêm và chống oxy hóa của Lá lốt đã được công bố [9]. Do đó chúng tôi nhận thấy Lá lốt có tiềm năng trong việc hỗ trợ điều trị bệnh gout. Tuy nhiên cần thêm các nghiên cứu để xác định cơ chế tác dụng của Lá lốt trong điều trị bệnh gout.

### 4.2. Về độc tính cấp

Kết quả cho thấy, sau khi uống Cao khô lá lốt, chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện khó thở, tím tái. Các chuột không có triệu chứng bất thường và bị chết ngay cả khi uống liều 26,7 g/kg trong 72 giờ và 14 ngày sau đó. Như vậy không tìm thấy liều  $LD_{50}$  của Cao khô lá lốt. Mức liều 26,7 g/kg đã cao hơn nhiều lần trong các hướng dẫn của OECD, hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu của Bộ Y tế. Do đó, có thể kết luận mẫu thử Cao khô lá lốt có tính an toàn khi thử đường uống ở chuột nhắt trắng.

### 4.3. Về độc tính bán trường diễn

#### *Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt đến tình trạng toàn thân của chuột cống trắng*

Chuột ở tất cả các lô đều hoạt động bình thường, có biểu hiện khỏe mạnh, tăng trưởng cân nặng đều trong thời gian nghiên cứu. ( $p<0,05$ )

#### *Ảnh hưởng của cao khô Lá lốt đến các thông số huyết học của chuột cống trắng*

Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so với trước khi dùng cao khô lá lốt ở tất cả các chỉ số nghiên cứu. Kết quả bước đầu

cho phép khẳng định cao khô lá lốt không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu.

### *Thay đổi về mô bệnh học trên chuột cống trắng*

Trên gan, kết quả AST, ALAT gần như không khác biệt giữa lô thử và lô chứng cho thấy cao khô lá lốt không gây tổn thương tế bào gan. Kết quả giải phẫu mô bệnh học cũng phù hợp với kết quả xét nghiệm sinh hóa máu. Trên thận, kết quả định lượng Creatinin máu chuột cũng không có sự khác biệt giữa lô thử và lô chứng. Quan sát đại thể thận và vi phẫu mô bệnh học cho thấy các vùng chức năng bình thường, không bị thoái hóa.

## 5. KẾT LUẬN

Với mức liều 300 mg/kg cân nặng chuột nhắt trắng, mẫu cao khô Lá lốt có tác dụng hạ acid uric máu (giảm 36,3% so với lô chứng bệnh) khi áp dụng gây tăng acid uric cấp bằng cách tiêm màng bụng kali oxonate. Chưa tìm thấy  $LD_{50}$  của cao khô lá lốt, và thử theo đường uống trên chuột nhắt trắng, cao khô lá lốt không thể hiện độc tính cấp và độc tính bán trường diễn.

Như vậy Cao khô Lá lốt có tác dụng hạ acid uric, không có biểu hiện độc tính, do đó có tính an toàn và hiệu quả, có tiềm năng trong việc phát triển thành sản phẩm hỗ trợ điều trị gout.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Camilla M, Giuseppe L, Recent updates on worldwide gout epidemiology, Clinical Rheumatology volume, 39, 2020, pp. 1061-1063.
- [2] Mai Tất Tố, Vũ Thị Trâm, Đào Thị Vui, Dược lý học tập 2, Nhà xuất bản Y học, 2018.
- [3] Thuy Duong Nguyen, Phuong Thien Thuong, In Hyun Hwang et al., Anti-Hyperuricemic, Anti-inflammatory and Analgesic Effect of Siegesbeckia orientalis L. Resulting from the Fraction with High Phenolic Content, BMC Complementary and Alternative Medicine 17:191, 2017.
- [4] Nguyen Thuy Duong, Pham Duc Vinh, Phuong Thien Thuong et al., Xanthine oxidase

- inhibitors from *Archidendron clypearia* (Jack.) I.C. Nielsen: Results from systematic screening of Vietnamese medicinal plants, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(6): 549–556, 2017.
- [5] Bộ Y tế, Hướng dẫn thử nghiệm lâm sàng và tiền lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu, <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/The-thao-Y-te/Quyết-dinh-141-QĐ-K2DT-2015-Huong-dan-thu-nghiem-tien-lam-sang-lam-sang-thuoc-dong-y-414589.aspx>, 2015.
- [6] OECD, Test Guidelines for Chemicals, OECD, 2021; Section 4, Test No. 407,420,423,425.
- [7] Đỗ Trung Đàm, Phương pháp xác định độc tính của thuốc, Nhà xuất bản Y học, 2014.
- [8] Ridditid W, Ruangsang P, Reanmongkol W et al., Studies of the anti-inflammatory and antipyretic activities of the methanolic extract of *Piper sarmentosum* Roxb. leaves in rats, *J. Sci. Technol.*, 29(6), 2007, pp. 1519-1526.
- [9] Zakaria H, Patahuddin AS, Mohamad DA et al., In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the leaves of *Piper sarmentosum*, *Journal of Ethnopharmacology*, 128(1), 2010, pp. 42-48.