

Tác dụng bảo vệ gan của cao rễ cây Xáo tam phân (*Paramignya Trimeria*) trên mô hình chuột bị gây tổn thương gan bằng paracetamol

Đỗ Thị Thảo¹, Nguyễn Thị Cúc¹

Trần Thu Hường², Phạm Ngọc Khanh², Ninh Thế Sơn², Nguyễn Mạnh Cường²

¹ Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

² Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Nghiên cứu này đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao methanol và cao nước cây Xáo tam phân (*Paramignya Trimeria*) trên mô hình tổn thương gan ở chuột, gây ra bởi paracetamol. Kết quả cho thấy, ở liều 10 g/kgP, cao nước Xáo tam phân làm giảm nồng độ enzym AST, ALT huyết thanh và hạn chế tổn thương gan gây ra bởi paracetamol liều 400 mg/kgP trên chuột; còn cao methanol Xáo tam phân, ở liều 10 g/kgP có tác dụng bảo vệ gan tương đương với sylimarin ở mức liều 50 mg/kgP.

Từ khóa: bảo vệ gan, paracetamol, *Paramignya Trimeria*, Xáo tam phân.

Chỉ số phân loại 3.4

HEPATOPROTECTIVE ACTIVITIES OF PARAMIGNYA TRIMERIA ROOT EXTRACT ON THE MOUSE MODEL WITH THE LIVER INJURY CAUSED BY PARACETAMOL

Summary

The study has evaluated the hepatoprotective activities of the extract from the *Paramignya trimeria* root on the liver damage induced by paracetamol in mouse experiment. The results indicate that at the daily dose of 10 g/kgP in the course of 7 consecutive days, the liquid extract has shown promising effect through decreasing serum AST and ALT concentrations, reducing the liver histopathological injury induced by paracetamol. The methanol extract has given strong protective effect on hepatotoxicity tests at the dose of 10 g/kgP, equivalent to those of sylimarin at the dose of 50 mg/kgP.

Keywords: hepatoprotective, paracetamol, *Paramignya Trimeria*.

Classification number 3.4

Đặt vấn đề

Gan là một cơ quan quan trọng, có vai trò chuyển hóa các chất của cơ thể. Một trong những chức năng chủ yếu của gan là tham gia vào quá trình giải độc các chất nội sinh và ngoại sinh. Trong các trường hợp bệnh lý hay có sự quá tải về lượng của các chất độc ở gan sẽ khiến các tế bào trong gan bị huỷ hoại dần, dẫn tới các tổn thương trên gan, thậm chí là hình thành các tổn thương không hồi phục, xơ gan và làm mất chức năng giải độc của gan [1]. Bệnh gan là một trong những bệnh thường gặp trong cộng đồng. Có nhiều loại bệnh gan, trong đó thường gặp là những tổn thương gan gây ra bệnh viêm gan dẫn đến xơ gan và ung thư gan, cuối cùng là gây tử vong với nguyên nhân chủ yếu là do virus và nhiễm độc. Phần lớn các chất gây độc cho gan có liên quan tới sự peroxid hóa lipid màng tế bào gan và các stress oxy hóa [2].

Để gây tổn thương gan trên chuột, người ta dùng nhiều loại hóa chất khác nhau như: paracetamol, carbontetraclohid, D-galactosamin, ethanol, erythromycin estolat, aflatoxin B... [3-8]. Mỗi mô hình tổn thương gan đều có cơ chế đặc hiệu [3-8]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn paracetamol, tác nhân tổn thương gan do sinh ra gốc tự do gây peroxy hóa màng tế bào gan. Ngoài cơ chế sinh ra gốc tự do tương tự như tác nhân truyền thống gây độc gan cấp tính là CCl₄, paracetamol liều cao còn làm suy kiệt hệ

thống chống oxy hóa của cơ thể (hệ thống các chất thiol). Paracetamol sau khi vào cơ thể, một phần sẽ bị chuyển hóa bởi các cytochrom P450 tạo thành N-acetyl para-benzoquinonimin (NAPQI), một gốc tự do gây peroxy hóa lipid và sinh ra MDA, dẫn đến tổn thương các tế bào gan, làm tăng AST, ALT và làm biến đổi cấu trúc gan [9].

Cây Xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Guillaum) thuộc họ cam chanh (Rutaceae), là cây thuốc được sử dụng chữa trị bệnh xơ gan ở xã Ninh Vân, tỉnh Khánh Hòa. Về thành phần hóa học, bước đầu một số hợp chất coumarin đã được phân lập từ cao chiết methanol của rễ cây Xáo tam phân [10]. Để góp phần làm sáng tỏ tác dụng bảo vệ gan của loài cây này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của cao methanol và cao nước rễ cây Xáo tam phân trên mô hình chuột bị gây tổn thương gan thực nghiệm bằng paracetamol.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Rễ cây Xáo tam phân (*Paramignya trimera* (Oliv.) Guillaum) được thu hái vào tháng 2.2013 tại xã Ninh Vân, tỉnh Khánh Hòa (số tiêu bản C-499). Tên cây do nhà thực vật học Ngô Văn Trại - Viện Dược liệu giám định. Mẫu rễ cây lấy về được rửa sạch, loại bỏ phần hư hỏng, sấy khô trong râm ở nhiệt độ 40°C, xay nhỏ thành bột. Lấy 300 g bột rễ đem chiết nguội với MeOH (300 ml x 2 lần), sau đó quay cô ở áp suất giảm thu được cao chiết MeOH. Tiến hành đun hồi lưu 300 g bột rễ với nước cất trong 1h (300 ml x 2 lần), sau đó quay cô ở áp suất giảm thu được cao chiết nước.

Động vật thực nghiệm

Chuột thuần chủng dòng BALB/c khỏe mạnh, 6-8 tuần tuổi, không phân biệt giống, khối lượng 26±2 g, được nuôi tại khu nuôi động vật của Viện Công nghệ sinh học. Chuột được nuôi trong điều kiện cung cấp đầy đủ ăn thức ăn tiêu chuẩn và nước uống tự do tại khu nuôi động vật của Viện Công nghệ sinh học trong suốt thời gian thí nghiệm.

Phương tiện và hóa chất nghiên cứu

- Hệ thống định lượng sinh hoá bán tự động AU680 của Beckman Coulter được sử dụng để định lượng AST, ALT, cholesterol và protein toàn phần trong mẫu huyết thanh.

- Các thuốc dùng trong nghiên cứu: silymarin (Legalon) dạng viên nén, hàm lượng 70 mg của Công ty Madaus (Hàn Quốc) và paracetamol (A7085 - Sigma Aldrich) dạng bột tinh khiết.

- Hóa chất, dụng cụ và kính hiển vi quang học.

Phương pháp nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của cao chiết khi gây độc bằng paracetamol

Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan của cao chiết Xáo tam phân trên mô hình gây độc cho gan chuột bằng paracetamol [11, 12]. Bố trí thí nghiệm như sau: 25 chuột được chia làm 5 lô (5 con/lô). Lô 1 (chứng sinh lý): uống nước cất 0,2 ml/con/ngày; lô 2 (chứng bệnh lý): uống nước cất và uống paracetamol; lô 3: uống cao methanol Xáo tam phân, liều 10 g/kg thể trọng (kgP)/ngày và uống paracetamol; lô 4: uống cao nước Xáo tam phân, liều 10 g/kgP/ngày và uống paracetamol; lô 5 (chứng tham khảo): uống silymarin liều 50 mg/kgP/ngày [13] và uống paracetamol.

Chuột ở tất cả các lô được uống cao chiết và thuốc thử 1 lần vào buổi sáng, liên tục 7 ngày trước và 2 ngày sau khi gây độc cho gan. Ngày thứ 7 sau uống mẫu 1 giờ, nhịn đói 14-16 giờ trước đó, gây độc gan bằng cách cho uống paracetamol pha trong nước cất (chỉ cho các lô 2, 3, 4, 5) với liều 400 mg/kgP/1 lần duy nhất. Sau 48 giờ uống paracetamol, lấy máu thu huyết thanh định lượng aminotransferase (AST, ALT), cholesterol và protein toàn phần, đồng thời giết chuột, quan sát trực quan mô bệnh học của gan. Paracetamol liều 400 mg/kgP được lựa chọn để gây độc cho gan vì nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng đây là mức liều có thể gây ra những tổn thương nhất định đối với gan mà không làm chết động vật thí nghiệm. Trong khi đó nếu thử nghiệm ở mức liều cao hơn có thể gây chết động vật, còn nếu thử nghiệm ở mức liều thấp hơn thì không hình thành tổn thương cho gan [11, 12].

Phương pháp xác định chức năng gan: xác định chức năng gan thông qua định lượng aminotransferase (AST, ALT), cholesterol toàn phần và protein toàn phần trong huyết thanh chuột như sau: lấy máu chuột, ly tâm 10000 vòng trong 10 phút, thu huyết thanh, đọc kết quả trên hệ thống AU680 của hãng Beckman Coulter.

Phương pháp kiểm tra trực quan gan: sau quá trình thí nghiệm, chuột được giết bằng cách kéo giãn đốt sống cổ, mổ nhanh để kiểm tra trực quan gan.

Phương pháp xử lý số liệu: các số liệu được xử lý trên Excell, thuật toán thống kê student t' test, F'test và phương pháp phân tích phương sai một nhân tố ngẫu nhiên (one way ANOVA) và sử dụng hệ số LSD (least-significant difference) để kiểm tra sự sai khác có ý nghĩa so với đối chứng sinh lý, với

đối chứng bệnh lý (PAR), với đối chứng tham khảo (silymarin). Nếu $p < 0,05$ được coi là sai khác có ý nghĩa, nếu $p > 0,05$ thì sự sai khác là không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả và bàn luận

Bước đầu đánh giá tác dụng bảo vệ gan của rễ cây Xáo tam phân, chúng tôi tiến hành nghiên cứu cao methanol và cao nước trên mô hình gan bị tổn thương bằng paracetamol với một liều duy nhất 400 mg/kgP trên chuột thuần chủng dòng BALB/c. Trên mô hình này, các mẫu thử được đánh giá khả năng bảo vệ gan qua 5 chỉ tiêu sau: 1 - Nồng độ aminotransferase (AST, ALT) trong huyết thanh; 2 - Nồng độ cholesterol toàn phần; 3 - Nồng độ protein toàn phần; 4 - Khối lượng gan; 5 - Kết quả kiểm tra trực quan tổn thương gan.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của cao methanol và cao nước rễ Xáo tam phân lên nồng độ aminotransferase (AST, ALT) huyết thanh

ALT và AST là hai loại enzym aminotransferase được tìm thấy chủ yếu ở các tế bào của gan và thận. Khi gan khỏe mạnh, hàm lượng của hai chỉ số ALT và AST trong máu thấp. Ngược lại, khi gan bị tổn thương, mức độ ALT và AST sẽ tăng cao do được phóng thích vào trong máu. Sự tăng cao bất thường của hai chỉ số AST và ALT cho phép đánh giá và phát hiện mức độ tổn thương của gan. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của cao methanol và cao nước Xáo tam phân lên nồng độ aminotransferase huyết thanh được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1: ảnh hưởng của cao methanol và cao nước lên nồng độ aminotransferase huyết thanh chuột BALB/c bị nhiễm độc paracetamol (n=5)

Lô	Thuốc và liều lượng	AST (UI/l)	ALT (UI/l)
1	NaCl 0,9%	87,80±1,48	28,70±2,59
2	NaCl 0,9% +PRA 400 g/kgP	715,75±253,94 $p < 0,05$ so với (1)	558,25±296,54 $p < 0,05$ so với (1)
3	Cao methanol 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	116,50±34,65 $p < 0,05$ so với (2) $p > 0,05$ so với (5)	81,25±8,59 $p < 0,05$ so với (2) $p > 0,05$ so với (5)
4	Cao nước 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	266,00±170,92 $p < 0,05$ so với (2) $p < 0,05$ so với (5)	113,25±27,41 $p < 0,05$ so với (2) $p < 0,05$ so với (5)
5	Silymarin 50 mg/kgP + PRA 400 mg/kgP	101,33±23,03 $p < 0,05$ so với (1) $p < 0,05$ so với (2)	46,67±11,47 $p < 0,05$ so với (1) $p < 0,05$ so với (2)

Bảng 1 cho thấy, khi chuột được uống cao methanol, cao nước Xáo tam phân và silymarin (lô 3, 4, 5) thì các chỉ số AST và ALT đều thấp hơn so với đối chứng là lô không được sử dụng hoạt chất bảo vệ (lô 2). Như vậy, cao methanol, cao nước và silymarin đều cho thấy tác dụng bảo vệ gan khi các phân tích cho thấy sự sai khác về chỉ số enzym gan cơ bản là có ý nghĩa thống kê so với lô 2 (đối chứng), $p < 0,05$.

Kết quả ở bảng 1 cũng cho thấy, chuột uống cao methanol (lô 3) liều 10 g/kgP đã có các chỉ số enzym AST và ALT tương đương với các chuột được uống silymarin 50 mg/kgP. Phân tích cho thấy, các chỉ số này không có sự sai khác thống kê khi $p > 0,05$, dẫn tới lập luận rằng cao methanol ở nồng độ 10 g/kgP/ngày có tác dụng bảo vệ gan khá tốt, tương đương với silymarin liều 50 mg/kgP/ngày.

Các chuột uống cao nước liều 10 g/kgP có các chỉ số enzym chức năng gan còn cao và khi so sánh chúng với các chuột uống silymarin 50 mg/kgP thì có sự sai khác thống kê ($p < 0,05$). Kết quả này cho thấy, cao nước ở nồng độ 10 g/kgP/ngày có khả năng bảo vệ gan kém hơn so với silymarin liều 50 mg/kgP/ngày.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của cao methanol và cao nước Xáo tam phân lên nồng độ cholesterol toàn phần

Ảnh hưởng của cao methanol và cao nước Xáo tam phân lên nồng độ cholesterol toàn phần được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2: ảnh hưởng của cao methanol và cao nước lên nồng độ cholesterol toàn phần huyết thanh chuột BALB/c bị nhiễm độc paracetamol (n=5)

Lô	Thuốc và liều lượng	Cholesterol TP (mmol/l)	Giá trị p
1	NaCl 0,9%	2,38±0,08	
2	NaCl 0,9% +PRA 400 mg/kgP	3,43±0,54	$p < 0,05$ so với (1)
3	Cao methanol liều 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	2,78±0,49	$p > 0,05$ so với (1) $p < 0,05$ so với (2) $p > 0,05$ so với (5)
4	Cao nước liều 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	3,23±0,30	$p < 0,05$ so với (1) $p > 0,05$ so với (2)
5	Silymarin 50 mg/kgP +PRA 400 mg/kgP	2,80±0,44	$p > 0,05$ so với (1) $p < 0,05$ so với (2)

Bảng 2 cho thấy, khi chuột được uống cao methanol liều 10 g/kgP và silymarin 50 mg/kgP thì chỉ số cholesterol toàn phần đã được cải thiện gần bằng so với lô chứng 1 ($p>0,05$) và có sự sai khác thống kê so với lô chứng âm 2 ($p<0,05$). Trong khi đó, ở lô được uống cao nước liều 10 g/kgP thì không có sự sai khác thống kê so với lô chứng âm 2 ($p>0,05$). Như vậy, ở chỉ số cholesterol toàn phần, chuột được uống cao methanol của rễ cây Xáo tam phân liều 10 g/kgP đã cho thấy hoạt tính bảo vệ gan khi so sánh với tác dụng của silymarin 50 mg/kgP, trong khi cao chiết từ nước không thể hiện rõ khả năng này.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của cao methanol và cao nước rễ Xáo tam phân lên hàm lượng protein toàn phần trong mẫu huyết thanh

Anh hưởng của cao methanol và cao nước rễ Xáo tam phân lên hàm lượng protein toàn phần được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3: ảnh hưởng của cao methanol và cao nước lên hàm lượng protein toàn phần

Lô	Thuốc và liều lượng	Protein TP (mmol/l)	Giá trị p
1	NaCl 0,9%	49,80±0,84	
2	NaCl 0,9% +PRA 400 mg/kgP	61,67±2,08	$p<0,05$ so với (1)
3	Cao methanol liều 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	61,55±1,41	$p>0,05$ so với (2) $p<0,05$ so với (5)
4	Cao nước liều 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	57,75±1,69	$p>0,05$ so với (2) $p<0,05$ so với (5)
5	Silymarin 25 mg/kgP +PRA 400 mg/kgP	55,00±2,20	$p<0,05$ so với (1) $p<0,05$ so với (2)

Bảng 3 cho thấy, lô chuột uống cao methanol và cao nước nhưng không có sự sai khác thống kê so với lô chứng âm 2 ($p>0,05$) và so với đối chứng dương silymarin thì chỉ số protein toàn phần là có sự sai khác thống kê ($p<0,05$). Như vậy, cao methanol và cao nước Xáo tam phân ở liều 10 g/kgP không có tác dụng giảm protein toàn phần.

Khối lượng gan

Sau quá trình thí nghiệm, toàn bộ chuột được mổ để thu nhận gan và được xác định khối lượng theo phương pháp của Girish và đồng tác giả [11]. Kết quả thu được được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4: khối lượng gan chuột ở các lô thí nghiệm

Lô	Thuốc và liều lượng	Quan sát hình thái trực quan gan
1	NaCl 0,9%	Gan bình thường, nhu mô gan đồng nhất
2	NaCl 0,9% +PRA 400 mg/kgP	3/5 con gan bị hoại tử toàn bộ và xung huyết toàn bộ gan, gan to phù, nhu mô sần sùi không mịn
3	Cao methanol 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	Gan bình thường, nhu mô gan đồng nhất
4	Cao nước 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	1/5 con gan bị tổn thương, nhu mô gan không đều
5	Silymarin 50 mg/kgP +PRA 400 mg/kgP	Gan bình thường, nhu mô gan đồng nhất

Kết quả kiểm tra khối lượng gan cho thấy, gan ở lô đối chứng bệnh lý (không được sử dụng cao chiết Xáo tam phân) có khối lượng lớn nhất. Trong khi đó, ở các lô được sử dụng cao chiết Xáo tam phân, khối lượng gan nhỏ hơn so với đối chứng và sự sai khác này là có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$ khi so sánh với lô đối chứng (lô sử dụng cao methanol so với lô đối chứng dương Silymarin; lô sử dụng cao nước so với lô chứng âm 2).

Kết quả kiểm tra trực quan tổn thương gan

Kết quả giải phẫu bệnh học cho thấy, lô thí nghiệm có chuột uống cao methanol và cao nước liều 10 g/kgP cũng như lô uống silymarin 50 mg/kgP, về hình thái trực quan và đại thể gan thì biểu hiện tổn thương gan có giảm so với lô chứng bệnh lý (lô 2). Cụ thể là lô chuột uống cao methanol liều 10 g/kgP và lô uống silymarin 50 mg/kgP không thấy biểu hiện tổn thương gan (bảng 5).

Bảng 5: quan sát hình thái trực quan gan chuột ở các lô thí nghiệm

Lô	Thuốc và liều lượng	Khối lượng gan (g/10g cơ thể)	Giá trị p
1	NaCl 0,9%	0,381±0,009	
2	NaCl 0,9% +PRA 400 mg/kgP	0,567±0,033	$p<0,05$ so với (1)
3	Cao methanol 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	0,404±0,011	$p<0,05$ so với (5) $p>0,05$ so với (2)
4	Cao nước 10 g/kgP +PRA 400 mg/kgP	0,461±0,042	$p<0,05$ so với (2) $p>0,05$ so với (5)
5	Silymarin 50 mg/kgP +PRA 400 mg/kgP	0,490±0,067	$p<0,05$ so với (1)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, lô chuột uống paracetamol liều 400 mg/kgP/ngày có hoạt độ AST, ALT trong huyết thanh tăng cao và thể hiện tổn thương gan rõ rệt (về hình thái) so với lô chứng sinh học. Các lô chuột uống cao methanol và cao nước Xáo tam phân ở liều 10 g/kgP trong vòng 7 ngày đã làm giảm hoạt độ AST, ALT trong huyết thanh, giảm hàm lượng cholesterol toàn phần, giảm khối lượng gan và hạn chế tổn thương gan so với lô đối chứng âm 2. Trong đó, lô chuột uống cao methanol 10 g/kgP có tác dụng ngăn cản rõ rệt độc tính của paracetamol đối với gan, tương đương với đối chứng dương sylimarin 50 mg/kgP. Như vậy, cao methanol của rễ cây Xáo tam phân có khả năng bảo vệ gan tốt trên mô hình gan chuột bị tổn thương bằng paracetamol. Về mặt hóa học, từ cao methanol của rễ cây Xáo tam phân đã phân lập và xác định cấu trúc của 4 hợp chất coumarin [10]. Vấn đề đặt ra là, cần nghiên cứu phát hiện phân đoạn, nhóm hợp chất hoặc hợp chất có tác dụng bảo vệ gan trong cao chiết MeOH của rễ cây Xáo tam phân trên mô hình tổn thương gan bằng paracetamol.

Kết luận

Cao nước Xáo tam phân ở liều 10 g/kgP chuột có tác dụng bảo vệ gan thấp thông qua tác dụng làm giảm hoạt độ AST, ALT và hạn chế được một phần tổn thương gan gây bởi paracetamol liều 400 mg/kgP chuột.

Cao methanol Xáo tam phân ở liều 10 g/kgP chuột có tác dụng bảo vệ gan tốt gần tương đương so với chất đối chứng dương sylimarin 50 mg/kgP khi thử nghiệm trên chuột.

Tài liệu tham khảo

- [1] M.U Dianzani, G. Muzia, M.E Biocca, R.A Canuto (1991), "Lipid peroxidation in fatty liver induced by caffeine in rats", *Int. J. Tissue React*, **13**, 79-85.
- [2] S. Shahani (1999), "Evaluation of hepatoprotective efficacy of APCL - A polyherbal formulation in vivo in rats", *Indian Drugs*, **36**, 628-631.
- [3] Yanmang Cui, Xingbin Yang, Xinshan Lu, Jinwen Chen, Yan Zhao (2014), "Protective effects of polyphenols-enriched extract from Huangshan Maofeng green tea against CCl₄-induced liver injury in mice", *Chemico-Biol. Interact*, **220**, 75-83.
- [4] Mohanraj Subramanian, Sangameswaran Balakrishnan, Santhosh Kumar Chinnaiyan, Vinoth Kumar Sekar, Atul N. Chandu (2013), "Hepatoprotective effect of leaves of *Morinda tinctoria* Roxb. against paracetamol induced liver damage in rats", *Drug Invention Today*, **5(3)**, 223-228.
- [5] Yanling Shi, Jie Sun, Hui He, Hui Guo, Sheng Zhang (2008), "Hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* peptides against D-galactosamine-induced liver injury in mice", *J. Ethnopharmacol*, **117(3)**, 415-419.
- [6] Akiko Tamura, Mio Sasaki, Haruka Yamashita, Isao Matsui-Yuasa, Taro Saku, Tadamasu Hikima, Masaki Tabuchi, Hiroshi Munakata, Akiko Kojima-Yuasa (2013), "Yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents ethanol-induced liver injury in rats", *J. Funct. Foods*, **5(4)**, 1714-1723.
- [7] LPari, PMurugan (2004), "Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate-induced hepatotoxicity", *Pharmacol Res*, **49(5)**, 481-486.
- [8] K.C Choi, W.T Chung, J.K Kwon, J.Y Yu, Y.S Jang, S.M Park, S.Y Lee, J.C Lee (2010), "Inhibitory effects of quercetin on aflatoxin B₁-induced hepatic damage in mice", *Food Chem Toxicol*, **48(10)**, 2747-2753.
- [9] Sabina E, Jaisy Samuel, Segu Rajappa Ramya, Smita Patel, Niharika Mandal, Preety Pranatharthiiharan, Mishra P.P, MahaboobKhan Rasool (2009), "Hepatoprotective and antioxidant potential of *Spirulina fusiformis* on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice", *Int J Integr Biol*, **6(1)**, 1-5.
- [10] Nguyễn Mạnh Cường, Hồ Việt Đức, Nguyễn Văn Tài, Phạm Ngọc Khanh, Vũ Thị Hà, Trần Thu Hương, Nguyễn Duy Nhất (2013), "Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học cây Xáo tam phân, họ Rutaceae", *Tạp chí Hóa học*, **51(3)**, 294-298.
- [11] Girish C, Koner B.C, Jayanthi S, Rao K.R, Rajesh B, Pradhan S.C (2009), "Hepatoprotective activity of six polyherbal formulations in paracetamol induced liver toxicity in mice", *Indian J. Med. Res*, **129**, 569-578.
- [12] Pei-Ju Chen, Victor Fei Pang, Yung-Ming Jeng, Ting-Ju Chen, Fang-Ching Hu, Wei-Ting Chi, Hsiao-Yin Chou, Hsien-Chiao Chiu, Yu-Chun Lee and Lee-Yan Sheen (2012), "Establishment of a Standardized Animal Model of Chronic Hepatotoxicity Using Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in the Evaluation of Hepatoprotective Effects of Health Food", *J. Food Drug Anal*, **20(1)**, 41-47.
- [13] Tauqeer Hussain Mallhi, M. Imran Qadir, Yusra Habib Khan and Muhammad Ali (2014), "Hepatoprotective activity of aqueous methanolic extract of *Morus nigra* against paracetamol induced hepatotoxicity in mice", *Bangladesh J. Pharmacol*, **9**, 60-66.