

Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh trên mô hình thực nghiệm

EVALUATE THE ACUTE AND SUB-CHRONIC TOXICITIES OF DA DAY TUE TINH HARD CAPSULES ON EXPERIMENTAL MODEL

Phạm Thanh Tùng, Nguyễn Thị Vân Anh, Tô Lê Hồng, Phạm Quốc Sự

Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp của viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh trên động vật thực nghiệm. Đánh giá độc tính bán trường diễn của viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh trên động vật thực nghiệm.

Đối tượng và phương pháp: Đánh giá độc tính cấp của viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh trên chuột nhắt trắng theo đường uống bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon. Đánh giá độc tính bán trường diễn của viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh trên chuột cống trắng bằng đường uống theo quy định và hướng dẫn của Bộ Y tế.

Kết quả: Độc tính cấp: Chưa xác định được LD50 của viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh trên chuột nhắt trắng theo đường uống. Chuột được uống liều cao nhất có thể là 19,375 mg dược liệu/kg/ngày (liều gấp 43,4 lần liều dùng dự kiến trên người) không thấy có biểu hiện ngộ độc và không có chuột nào chết. Độc tính bán trường diễn: Trên các lô chuột uống viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh liều 260,4mg/kg/ngày và lô uống 781,2mg/kg/ngày liên tục trong 4 tuần, kết quả cho thấy: chuột khỏe mạnh, tăng trọng tốt, đều; không làm thay đổi các chỉ số huyết học; không làm thay đổi các chỉ tiêu sinh hóa máu đánh giá chức năng gan, thận; Không gây tổn thương mô bệnh học gan, thận. Như vậy viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh an toàn ở các mức liều và thời gian đã dùng.

Kết luận: Viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh không gây độc tính cấp và bán trường diễn trên động vật thử nghiệm.

Từ khóa: Viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh, Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn.

SUMMARY

Objectives: To evaluate the acute toxicity of Da day Tue Tinh hard capsules on an experimental model. To evaluate the sub-chronic toxicity of Da day Tue Tinh hard capsules on an experimental model.

Subjects and methods: Orally evaluate the acute toxicity of Da day Tue Tinh hard capsules on white mice using the Litchfield - Wilcoxon method. Evaluate the sub-chronic toxicity of Da day



Tue Tinh hard capsules on white rats following the Ministry of Health guidelines orally.

Results: Accurate toxicity: The LD50 of Da day Tue Tinh hard capsules was not determined. Mice were given the highest dose of 19.375 mg/kg/day (43,4 times the estimated effective dose for humans) and did not show acute toxicity symptoms; no mice died. Sub-chronic toxicity: After being given Da day Tue Tinh hard capsules at the doses of 260,4mg /kg/day and 781,2mg /kg/day continuously for four weeks, rats were still healthy and gained weight. Da day Tue Tinh hard capsules did not alter the haematological index, liver and kidney function biochemical indexes, or histology. Therefore, Da day Tue Tinh is safe at the used dosage and intervals.

Conclusions: Da day Tue Tinh hard capsules did not cause acute or sub-chronic toxicity in experimental animals.

Keywords: Da day Tue Tinh hard capsules; Acute toxicity; Sub-chronic toxicity; Experimental animal.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm loét dạ dày tá tràng (VLDDTT) là một bệnh khá phổ biến trong cộng đồng ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Theo thống kê tỷ lệ mắc bệnh loét dạ dày, hành tá tràng chiếm khoảng 10% dân số ở nhiều quốc gia. Ở Việt Nam con số này chiếm khoảng 6-7%[1].

Đặc điểm chính của bệnh là một bệnh mạn tính, diễn biến có chu kỳ, xu hướng hay tái phát và dễ gây biến chứng nguy hiểm như chảy máu hay thủng, ung thư dạ dày... Bệnh gặp ở mọi lứa tuổi, thường kéo dài khiến người bệnh khó chịu, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống và công việc, làm giảm sút sức lao động của toàn xã hội. Từ năm 1983 đến nay, người ta đã xác nhận vi khuẩn *Helicobacter pylori* (HP) là thủ phạm chính gây loét dạ dày, hành tá tràng.

Để điều trị VLDDTT do HP, y học hiện đại thường được sử dụng kháng sinh kết hợp với thuốc khác nhằm đem lại hiệu quả cao trong điều trị. Tuy nhiên sau một thời gian điều trị hiện tượng kháng kháng sinh của HP ngày càng tăng. Ngoài ra các thuốc điều trị kết hợp khác còn có tác dụng không mong muốn và giá thành đắt. Chính vì vậy, việc sưu tầm, tìm kiếm, nghiên cứu các bài thuốc từ nguồn dược liệu trong nước có tác dụng điều trị VLDDTT hiệu quả nhưng an toàn, phù hợp với điều kiện kinh tế của đa số

người bệnh luôn là vấn đề cấp thiết hiện nay. Với mong muốn tăng cường tác dụng điều trị viêm loét dạ dày, hành tá tràng, giảm acid dịch vị và khả năng diệt HP của các dược liệu thuốc nam, viện Nghiên cứu Y dược cổ truyền Tuệ Tĩnh đã dựa trên bài thuốc kinh nghiệm (đã dùng tại khoa Nội Bệnh viện Tuệ Tĩnh dưới dạng thuốc sắc) nghiên cứu bào chế sản xuất dạng dùng viên nang cứng, với sự kết hợp 3 dược liệu Chè dây, lá Khôi, Hậu phác cùng một số dược liệu khác như Chỉ thực, Xuyên luyện tử, Bạch linh... và đặt tên là "Dạ dày Tuệ Tĩnh" được cấp phép lưu hành số 481/2019/ĐKSP (TPCN). Để đánh giá chế phẩm viên nang cứng "Dạ dày Tuệ Tĩnh" một cách đồng bộ khoa học chính xác từ thực nghiệm đến lâm sàng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: *Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh trên mô hình thực nghiệm.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Chế phẩm nghiên cứu:

Viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh được cấp phép lưu hành số 481/2019/ĐKSP (TPCN)

Thành phần gồm: Bột cao Lá Khôi 100mg; Bột cao Chè Dây 80mg; Bột cao Hậu Phác 40mg; Bột cao Chỉ thực 40mg; Bột cao Xuyên luyện tử

30mg; Bột cao Cam Thảo 20mg;

Phụ liệu: Tinh bột, chất chống đông vón, bột talc, chất bảo quản sodium benzoate vđ 1 viên: 480mg. Các dược liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng cao dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam V.

Liều dùng dự kiến trên người lớn: Uống 2-3 viên/ lần, 2 lần/ ngày, uống lúc đói, trước ăn 60 phút. Đợt sử dụng tối thiểu 1 tháng liên tục.

Động vật nghiên cứu: Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g, do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm 3 - 5 ngày trước khi nghiên cứu bằng thức ăn do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương sản xuất, uống nước tự do. Chuột cống trắng Ratus norvegicus có trọng lượng từ 140 - 180g/con, khỏe mạnh, 8 tuần tuổi, do Học viện Quân y cung cấp. Tất cả số chuột này được nuôi trong lồng, điều kiện phòng ổn định với nhiệt độ trung bình 25 - 27°C, chu kỳ 12 giờ sáng 12 giờ tối. Chuột được cho ăn và uống tự do theo nhu cầu, 02 lần/ngày.

Dụng cụ máy móc và hóa chất nghiên cứu

Hóa chất phục vụ nghiên cứu: Kít định lượng các enzym và chất chuyển hóa trong máu: TC, TG, HDL-C, ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase) của hãng Hospitex Diagnostics (Italy) và hãng DIALAB GmbH (Áo); Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX- Diagnostic; Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học; Các hóa chất khác đủ tiêu chuẩn phòng thí nghiệm.

Máy móc, dụng cụ nghiên cứu: Máy xét nghiệm sinh hóa máu XC-55 Chemistry Analyzer của hãng Meikang medical (Trung Quốc); Máy xét nghiệm sinh hóa máu XC-55 Chemistry Analyzer của hãng Meikang medical (Trung Quốc); Máy IR- HALOGEN, hãng sản xuất UGO-Basile, Itali; Máy huyết học Vet abcTM Animal Blood Counter; Kim công đầu tù dùng cho chuột uống thuốc, sản xuất

tại Nhật; Ống micropipette chuyên dụng; Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon [2], [3], [5], [6].

Chuột nhắt trắng trọng lượng $28 \pm 2g$ được chia thành từng lô, mỗi lô 10 con. Cho từng lô chuột uống thuốc thử với liều từ liều cao nhất không gây chết tới liều thấp nhất gây chết 100% chuột. Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Theo dõi số chuột chết trong 72 giờ đầu và tình trạng chung của chuột trong 7 ngày sau khi uống thuốc (ăn uống, hoạt động thần kinh, đi lại, leo trèo, bài tiết, ...). Nếu chuột chết, mổ chuột để đánh giá đại thể các tổn thương của các cơ quan.

Theo dõi số chuột chết trong 72 giờ đầu và tình trạng chung của chuột trong 7 ngày sau khi uống thuốc (ăn uống, hoạt động thần kinh, đi lại, leo trèo, bài tiết). Nếu chuột chết, mổ chuột để đánh giá đại thể các tổn thương của các cơ quan.

Xác định liều chết 50% (LD50) theo tỷ lệ chuột chết trong vòng 72 giờ đầu.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn[5], [6]

Lô chứng: Uống nước cất 1 ml/100 g/ngày.

Lô trị 1: Uống viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh liều 260,4mg cao khô/kg (là liều dùng dự kiến tương đương trên người, tính theo hệ số ngoại suy trên chuột cống là 7) uống 1 ml/100 g/ngày

Lô trị 2: Uống viên nang dạ dày Tuệ Tĩnh liều 781,2mg/kg (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người), uống 1 ml/100 g/ngày.

Chuột được uống nước và thuốc thử liên tục trong 4 tuần, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

Tình trạng chung, thể trọng của chuột.



Đánh giá chức phận tạo máu thông qua 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.

Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.

Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: ALT, AST.

Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc.

Mô bệnh học:

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 ở mỗi lô.

Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo T-test-Student và test trước-sau (Avant-après). Kết quả được trình bày dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại Viện nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh Học Viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam thời gian từ tháng 11 đến tháng 12 năm 2022.

Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột cống trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo "Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế" của Bộ Y tế.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Chuột nhắt trắng được uống viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc nhất có thể cho uống, theo dõi thấy các liều viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử.

Bảng 1. Kết quả độc tính cấp của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh

Lô chuột	n	Liều (Viên/kg)	Liều (mg dược liệu/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	25,0	7.750	0	Không
Lô 2	10	37,5	11.625	0	Không
Lô 3	10	50,0	15.500	0	Không
Lô 4	10	62,5	19.375	0	Không

Các lô chuột uống viên nang dạ dày Tuệ Tĩnh liều từ 30 ml/kg tương đương 25,0 viên/kg (tương đương 7.750mg cao dược liệu) đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 62,5 viên/kg (tương đương 19.375mg cao dược liệu) không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh là: 62,5 viên/kg.

Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Ảnh hưởng của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh đến một số chỉ số huyết học

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh đến số lượng hồng cầu

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	8,56 ± 0,43	8,49 ± 0,76	8,08 ± 0,99	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	9,10 ± 0,53	8,71 ± 0,63	8,69 ± 0,52	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	8,67 ± 0,61	8,84 ± 0,62	8,35 ± 0,62	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, số lượng hồng cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử (p > 0,05).

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh đến số lượng bạch cầu

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	13,19 ± 2,96	12,41 ± 2,88	12,73 ± 2,37	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	12,62 ± 5,38	11,10 ± 4,75	12,76 ± 1,92	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	13,10 ± 2,99	12,83 ± 2,06	12,23 ± 2,29	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, số lượng bạch cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử (p > 0,05).

Đánh giá mức độ hoại tử tế bào gan:

Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh đến hoạt độ AST

Thời gian	Hoạt độ AST (UI/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	159,79 ± 35,89	157,66 ± 28,33	179,4 ± 19,29	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	155,27 ± 34,62	152,59 ± 75,64	177,06 ± 33,60	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	153,85 ± 18,28	141,53 ± 44,14	164,93 ± 31,60	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	



Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, hoạt độ AST ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Bảng 5. Ảnh hưởng của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh đến hoạt độ ALT

Thời gian	Hoạt độ ALT (UI/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	69,51 ± 23,05	63,99 ± 21,40	68,47 ± 12,67	> 0,05
Sau uống thuốc 2 tuần	68,85 ± 13,54	68,22 ± 11,95	69,55 ± 24,64	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau uống thuốc 4 tuần	64,40 ± 16,41	65,03 ± 29,92	64,9 ± 19,03	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc thử, hoạt độ ALT ở lô trị 1 và lô trị 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Đánh giá chức năng thận:

Bảng 6. Ảnh hưởng của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh đến nồng độ creatinin

Thời gian	Nồng độ creatinin (mg/L) ($\bar{X} \pm SD$)			p (so với chứng)
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	69,02 ± 14,06	67,69 ± 18,92	60,95 ± 9,19	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	69,35 ± 8,25	66,11 ± 15,64	61,61 ± 10,14	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	65,81 ± 5,09	58,76 ± 11,12	59,02 ± 11,51	> 0,05
p (test trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 2 tuần và 4 tuần uống viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh, ở cả lô trị 1 (uống viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh liều 260,4mg cao dược liệu /kg /ngày) và lô trị 2 (uống viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh liều 781,2mg cao dược liệu/kg /ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự thay đổi 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 ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới, ngoại trừ các bài thuốc cổ phương được chiết xuất theo phương pháp truyền thống, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đều phải đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên

động vật thực nghiệm trước khi đưa vào thử nghiệm trên người.

Kết quả nghiên cứu không xác định được LD50 của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong

24h là 19.375 mg cao dược liệu/kg thể trọng không xuất hiện độc tính cấp.

Liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhắt là 446,4 mg cao dược liệu /kg/24h (tương đương liều dự kiến trên người với hệ số 12). Chuột đã uống đến liều 19.375mg/kg, gấp 18,38 lần liều dự kiến có tác dụng mà chuột không có con nào chết, cũng như không thấy có biểu hiện bất thường nào. Kết quả này chứng tỏ viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh có tính an toàn trong nghiên cứu đánh giá độc tính cấp trên đường uống ở chuột nhắt trắng.

Độc tính bán trường diễn của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh được thực hiện trên chuột cống trắng, số lượng chuột mỗi lô là 10 và gồm 3 lô: một lô chứng sinh lý; một lô dùng thuốc với mức liều tương đương mức liều dự kiến điều trị (quy đổi theo hệ số liều ở chuột cống trắng gấp 7 lần liều ở người khi tính theo thể trọng); và một lô dùng liều gấp 3 lần liều 1. Việc thiết kế các mức liều và số lượng như vậy nhằm đảm bảo độ tin cậy của nghiên cứu và tuân theo qui định của Bộ Y tế trong đánh giá tính an toàn của thuốc. Thời gian uống thuốc 30 ngày đủ cho phép xác định tính an toàn của chế phẩm nghiên cứu khi xem xét điều kiện đánh giá lâm sàng giai đoạn I, II. Các chỉ tiêu để đánh giá độc tính bán trường diễn bao gồm: tình trạng chung và thay đổi thể trọng, các chỉ số huyết học, các chỉ số sinh hoá đánh giá chức năng gan, thận và đặc điểm giải phẫu bệnh của gan, lách, thận. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn sau 30 ngày trên chuột cống trắng cho thấy:

Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng: Trong suốt thời gian nghiên cứu, chuột ở cả ba lô đều hoạt động bình thường, lông mượt, da niêm mạc bình thường, ăn uống bình thường, phân thành khuôn. Sự phát triển cân nặng của chuột ở các lô bình thường.

Ảnh hưởng của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh đến chỉ số huyết học toàn phần (công thức máu ngoại vi): Kết quả nghiên cứu cho thấy không

có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so với trước khi dùng thuốc ở tất cả các chỉ số nghiên cứu bao gồm hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hematocrit, huyết sắc tố ($p > 0,05$). Các kết quả này bước đầu cho phép khẳng định chưa thấy có độc tính trên tuỷ xương và các tế bào máu ngoại vi.

Ảnh hưởng của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh đến gan, thận: các chỉ số nghiên cứu: ALT, AST, Albumin, Bilirubin, cholesterol, creatinin trong máu chuột ở hai lô uống viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và khi so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử 14 và 28 ngày, chứng tỏ cả 2 liều dùng của viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh trong nghiên cứu đều không gây tổn thương hủy hoại các tế bào gan, thận. Kết quả mô bệnh học cũng phù hợp với kết quả xét nghiệm hóa sinh máu. Hình ảnh đại thể và vi thể gan, thận ở cả hai lô uống thuốc thử đều có cấu trúc tế bào gan, thận bình thường giống như lô chứng, không thấy hình ảnh tổn thương vi thể gan, thận.

Dạ dày Tuệ Tĩnh với các thành phần dược liệu ít độc, được phối kết hợp với nhau hợp lý theo lý luận của y học cổ truyền giúp giảm độc tính, tăng tác dụng điều trị. Kết quả thực nghiệm cho thấy với các mức liều và thời gian điều trị, viên nang cứng Dạ dày Tuệ Tĩnh an toàn và phù hợp với các nghiên cứu của Vũ Minh Hoàn và cộng sự trong nghiên cứu ảnh hưởng của cao Vị quản kháng đối với chức năng gan, thận trên động vật thực nghiệm và tác dụng kháng khuẩn *Helicobacter pylori* trên in vitro. Kết quả này bước đầu cho thấy sự hợp lý trong phối hợp các vị thuốc trong bài thuốc.

KẾT LUẬN

1. Độc tính cấp: viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh với liều lên tới 19,375mg dược liệu /kg (gấp 43,4 lần liều điều trị dự kiến trên người) trên chuột nhắt trắng không thấy có biểu hiện ngộ



độc và không có chuột nào chết. Do đó chưa xác định được LD50 của bài thuốc TD1 trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

2. Độc tính bán trường diễn của viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh trên chuột cống trắng

Trên cả hai lô chuột, một lô uống viên nang Dạ dày Tuệ Tĩnh liều 260,4/kg/ngày và một lô uống liều cao gấp 3 lần (781,2mg /kg/ngày) liên tục trong 4 tuần, kết quả cho thấy: Chuột khỏe mạnh, tăng trọng tốt, đều; Không làm thay đổi cá chỉ số huyết học; Không làm thay đổi kết quả các xét nghiệm đánh giá chức năng tế bào gan (hoạt độ AST, ALT), thận (creatinine); Không gây tổn thương rõ rệt về mặt hình thái khi quan sát đại thể các cơ quan của chuột; Không có hình ảnh tổn thương về vi thể cấu trúc thận. Cấu trúc vi thể gan có sự tổn thương ở mức độ vừa, xuất hiện ở cả 2 liều thuốc sau 4 tuần uống liên tục.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Châu Ngọc Hoa.** *Điều trị học nội khoa. Trường Đại học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh, Nhà xuất bản y học, 2012, tr.209-232.*
- 2. Bộ Y tế.** *Quyết định số 01/2007/ QĐ-BYT về việc ban hành Quy định về thuốc thử trên lâm sàng, 2007.*
- 3. Đỗ Trung Đàm.** *Phương pháp Litchfield – Wilcoxon. Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, Nhà xuất bản Y học, 1996, tr.101-112.*
- 4. Hải Thượng Lãn Ông.** *Hải Thượng Y tông tâm lĩnh, quyển 1, 2, Nhà xuất bản Y học, 1997.*
- 5. OECD.** *Drug safety evaluation I: Acute and subchronic toxicity assessment. USA Academy Press, 2012.*
- 6. World Health Organization.** *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine. Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization, 2013.*