



# Đánh giá độc tính cấp của viên nang Gydenphy trên động vật thực nghiệm

## EVALUATE THE ACUTE TOXICITY GYDENPHY CAPSULE ON EXPERIMENTAL ANIMAL

Trịnh Thị Vân Anh<sup>1</sup>, Lê Hồng Phú<sup>2</sup>, Nguyễn Hoàng Ngân<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Học Viện Y Dược học cổ truyền Việt nam

<sup>2</sup>Bệnh viện Y học cổ truyền Quân đội

<sup>3</sup>Học viện Quân y

### TÓM TẮT

Viên nang cứng Gydenphy là sản phẩm để tài cấp tỉnh Cao Bằng, được Học viện Quân y nghiên cứu bào chế từ quả me rừng (*Phyllanthus emblica* L.), Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb)), và Thạch斛 tía (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo). Một trong các tác dụng định hướng của viên nang là tác dụng bảo vệ gan. Trước khi đánh giá tác dụng của viên nang, tính an toàn của viên nang cần được đánh giá. Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng của viên nang Gydenphy. Kết quả: Độc tính cấp chưa xác định được LD50 của viên nang Gydenphy trên chuột nhắt trắng, mặc dù chuột đã uống đến liều tối đa 17,5 g/kg.

**Từ khóa:** Gydenphy, độc tính cấp, chuột nhắt trắng.

### ABSTRACT

Hard capsule Gydenphy is the product of the project of Cao Bang province. It was researched and prepared by Vietnam Military Medical University, made from *Phyllanthus emblica* L., *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb), and *Dendrobium officinale* Kimura et Migo. One of the directional effects of the capsule is the hepatoprotective effect. Before evaluating the effects of capsules, the safety of capsules needs to be evaluated. The study was conducted to evaluate the acute toxicity on Swiss mice of Gydenphy capsule. The results: The acute toxicity not identify the LD50 on mice although they were oral administrated the highest dose of 17.5 g/kg body weight.

**Key words:** Gydenphy, acute toxicity, mice.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh gan đang ngày một gia tăng và là gánh nặng bệnh tật lớn ở nhiều quốc gia trên thế giới [1]. Nhiều nguyên nhân được biết đến có thể gây tổn thương gan, bao gồm nhiễm virus viêm gan, nhiễm HIV, gan nhiễm mỡ do chế độ ăn giàu chất béo, sử

dụng rượu quá mức, rối loạn tự miễn, rối loạn lipid máu, nhiễm nấm, phơi nhiễm các chất hóa học và các loại thuốc gây độc gan... [2]. Để điều trị viêm gan, chỉ một số trường hợp dùng được thuốc đặc trị theo nguyên nhân, còn đa số các trường hợp, việc sử dụng các thuốc làm tăng cường khả năng hồi

Ngày nhận bài: 18/08/2022

Ngày phân biện: 22/08/2022

Ngày chấp nhận đăng: 15/09/2022



phục và bảo vệ tế bào gan [3]. Thạch học tía, giảo cổ lam, me rừng ở Cao Bằng đã được một số tác giả báo cáo có hàm lượng hoạt chất cao, có giá trị trong làm dược liệu điều trị bệnh. Dịch chiết quả me rừng đã được chứng minh có tác dụng hạ men gan, phục hồi gan bị tổn thương [4]. Giảo cổ lam chứa các hợp chất flavonoid, được chứng minh có tác dụng ức chế viêm tốt, có tác dụng bảo vệ gan, lợi mật, hạ cholesterol [5]. Thạch học tía là dược liệu quý, có nhiều tác dụng tốt, trong đó tác dụng bảo vệ gan của các polysaccharides chiết xuất từ thạch học đã được nhiều nghiên cứu chứng minh [6]. Để có cơ sở khoa học về độ an toàn của viên nang Gydenphy bào chế từ ba dược liệu trên trước khi tiến hành nghiên cứu trên lâm sàng, đề tài này được tiến hành nghiên cứu với mục tiêu đánh giá độc tính cấp của viên nang cứng Gydenphy trên động vật thực nghiệm.

## CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Chất liệu, đối tượng và thiết bị nghiên cứu

#### Thuốc nghiên cứu

Viên nang cứng Gydenphy có chứa 400mg cao khô dược liệu gồm cao khô me rừng 224mg, cao khô Giảo cổ lam 90 mg, cao khô Thạch học tía 86mg.

- Liều dùng được tính theo g bột cao khô dược liệu/kg. Liều dự kiến sử dụng trên người là 6 viên nang/người/ngày, tương ứng 2400mg/người/ngày. Tính quân bình một người 50kg thì liều dùng dự kiến trên người sẽ là 48mg/kg/ngày. Quy đổi theo hệ số quy đổi từ người sang động vật thực nghiệm, liều tương đương trên chuột nhất với hệ số quy đổi là 12 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột là 576mg/kg/ngày. Bột trong viên nang được cân chính xác trên cân 10-4, được hòa tan trong nước cất, cho chuột uống bằng kim chuyên dụng (kim cong đầu tù).

#### Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng trưởng thành, dòng Swiss,

số lượng 60 con, không phân biệt giống, cân nặng 18 - 22g. Động vật do Ban chăn nuôi động vật thí nghiệm – Học viện Quân y cung cấp, được nuôi trong phòng nuôi động vật thí nghiệm một tuần trước khi nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành cho động vật nghiên cứu, nước sạch uống tự do

#### Thiết bị dùng trong nghiên cứu

- Kim đầu tù chuyên dụng của Nhật Bản, dùng để cho chuột uống thuốc.

- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác.

#### Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp của Gydenphy trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam [7], tiến hành theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon [8].

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn 12 giờ, nước uống tự do. Sau 12 giờ, chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con. Các lô thử được cho uống Gydenphy HV” với thể tích 0,2 ml/10g/lần, 3 lần/24 giờ, mỗi lần cách nhau 3 giờ. Mức liều cho uống ở mỗi lô tăng dần.

Theo dõi tình trạng chung của chuột và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột (0%), liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100%) và các liều trung gian. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD<sub>50</sub> của thuốc thử (nếu có). Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột (hoạt động, ăn uống, bài tiết ...) ở mỗi lô cho đến hết 7 ngày sau khi uống thuốc. Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có chuột chết (nếu có) để xác định nguyên nhân gây độc.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột

Tình trạng chung của chuột được đánh giá liên



tục trong 72 giờ sau uống thuốc và tiếp tục được theo dõi đánh giá cho đến hết 07 ngày sau uống thuốc.

Kết quả quan sát, đánh giá cho thấy:

- *Kết quả về tình trạng hoạt động, vận động của chuột:* Các chuột ở tất cả các lô hoạt động, vận động bình thường. Không có chuột nào có biểu hiện của các trạng thái kích thích hoặc ức chế thần kinh; Không có chuột nào có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động.

- *Lông mượt, không bị xù lông, ứt lông.*

- *Kết quả về ảnh hưởng tới thần kinh thực vật:* Các chuột ở tất cả các lô đều không thấy có biểu hiện về ảnh hưởng của thuốc lên tình trạng thần kinh thực vật; Không có chuột nào có tình trạng bị ra mồ hôi hoặc bị khô đỏ da; Đồng tử mắt của các chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bị bị co, giãn đồng tử.

- *Kết quả về ảnh hưởng tới tình trạng hô hấp:* Các chuột ở tất cả các lô đều có tình trạng hô hấp bình thường. Chuột không có biểu hiện gì của khó thở. Không thấy có tím tái. Không có bất thường trong hô hấp.

- *Kết quả về tình trạng ăn uống của chuột:* Do ngày đầu chuột uống thuốc cưỡng bức, lượng thuốc đưa

vào dạ dày nhiều, liên tục trong ngày nên tình trạng ăn uống của chuột được đánh giá bắt đầu từ ngày thứ 2 trở đi. Quan sát các chuột ở tất cả các lô thấy chuột ăn uống bình thường, không có biểu hiện của việc bỏ ăn cũng như không có biểu hiện của việc ăn uống tăng lên.

- *Kết quả về tình trạng chất thải của chuột:* Quan sát phân của chuột bình thường, không bị nhào nát, không biến đổi màu sắc phân. Kiểm tra hậu môn của tất cả các chuột hàng ngày thấy hậu môn khô, không bị dính bết phân.

- *Kết quả về đánh giá những biểu hiện bất thường khác:* Không có biểu hiện của dấu hiệu bị đau (như cơn đau quận bụng...). Không có biểu hiện của dấu hiệu dị ứng, kích ứng như chảy nước mũi, bị ngứa đưa chân lên gãi... Các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường gì khác.

**Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô**

Chuột nhắt trắng được uống thuốc thử với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 5,0 g/kg thể trọng đến liều cao nhất là 17,5 g/kg thể trọng, 0,2mL/10g, 3 lần trong 24 giờ. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô

Lô chuột	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống (Nồng độ dung dịch thuốc)	Số chuột sống/ chết sau 72 giờ	Số chuột sống/ chết sau 7 ngày
Lô 1	10	5,0	0,2 mL/10g x 3 lần (0,25 g/1ml)	10 / 0	10 / 0
Lô 2	10	7,5	0,2 mL/10g x 3 lần (0,30 g/1ml)	10 / 0	10 / 0
Lô 3	10	10,0	0,2 mL/10g x 3 lần (0,35 g/1ml)	10 / 0	10 / 0
Lô 4	10	12,5	0,2 mL/10g x 3 lần (0,4 g/1ml)	10 / 0	10 / 0
Lô 5	10	15,0	0,2 mL/10g x 3 lần (0,45 g/1ml)	10 / 0	10 / 0
Lô 6	10	17,5	0,2 mL/10g x 3 lần (0,50 g/1ml)	10 / 0	10 / 0



Kết quả theo dõi cả trong 72 giờ sau uống thuốc cũng như trong 7 ngày sau uống thuốc cho thấy chuột đã uống đến liều 17,5 g/kg thể trọng là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử nhưng không có chuột nào chết ở tất cả các lô.

Do không có chuột nào chết khi cho chuột uống đến mức liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống cho chuột trong 24h (mức 17,5 g/kg thể trọng, chia ra thành 3 lần, mỗi lần 0,2 mL) để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử, chúng tôi kết luận chưa tìm thấy LD<sub>50</sub> của Gydenphy theo đường uống trên chuột nhắt trắng khi chuột đã dùng đến mức liều tối đa có thể của thử nghiệm.

## BÀN LUẬN

Theo quy định của Bộ y tế [7], 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 về tính an toàn trên động vật thực nghiệm trước khi đưa vào thử nghiệm trên người, trong đó đánh giá độc tính cấp là một nội dung quan trọng cần được đánh giá thử nghiệm. Viên nang cứng Gydenphy là sản phẩm bào chế hiện đại hóa từ dược liệu, do đó là đối tượng cần được đánh giá về độc tính cấp.

Chuột nghiên cứu được lựa chọn bao gồm cả chuột đực và chuột cái, kết quả nghiên cứu vì thế bao hàm cho cả 2 giống. Đường đưa thuốc sử dụng là đường uống, theo đúng như đường dự kiến sử dụng trên người. Kết quả theo dõi số chuột chết ở mỗi lô được đánh giá trong thời gian 72 giờ sau uống thuốc là cơ sở để tính toán LD<sub>50</sub> của chế phẩm. Đồng thời, số chuột chết ở mỗi lô cũng được đánh giá trong thời gian 7 ngày sau uống thuốc, là cơ sở đánh giá xem thuốc có gây độc muộn trên động vật hay không.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy chuột nhắt trắng đã uống đến liều tối đa là 17,5 g/kg thể trọng chuột (so với liều dự kiến có tác dụng, liều tối

đa trên gấp  $17,5/0,576 = 30,38$  lần), mà không thấy xuất hiện dấu hiệu của độc tính. Vì không có chuột chết nên chưa xác định được LD<sub>50</sub> của Gydenphy trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon. Kết quả này cho thấy viên nang cứng Gydenphy có tính an toàn cao trong thử nghiệm độc tính cấp, hay khoảng an toàn điều trị rộng [7], [9]. Viên trị HV có thành phần gồm 3 vị dược liệu đều là các dược liệu được dân gian sử dụng nhiều, sử dụng từ lâu và hầu như chưa thấy báo cáo về độc tính của các dược liệu này, phù hợp với kết quả nghiên cứu mà chúng tôi có được.

## KẾT LUẬN

Viên nang cứng Gydenphy an toàn khi đánh giá độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng. Chưa xác định được LD<sub>50</sub> của viên nang cứng Gydenphy trên chuột nhắt trắng, mặc dù chuột đã uống đến liều tối đa 17,5 g/kg/24h, gấp trên 30 lần liều dự kiến có tác dụng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Asrani, S. K., Devarbhavi, H., Eaton, J., & Kamath, P. S. (2019).** *Burden of liver diseases in the world.* Journal of hepatology, 70(1), 151–171.
2. **American Sharma A, Nagalli S.(2021).** *Chronic Liver Disease StatPearls. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing*
3. **Guiqiang Wang , Zhongping Duan (2021).** *Guidelines for Prevention and Treatment of Chronic Hepatitis B.* Journal of Clinical and Translational Hepatology 2021;9(5):769-791.
4. **Tewari, D., Mocan, A., Parvanov, E. D., Sah, A. N., Nabavi, S. M., Huminiecki, L., Ma, Z. F., Lee, Y. Y., Horbańczuk, J. O., & Atanasov, A. G. (2017).** *Ethnopharmacological Approaches for Therapy of Jaundice: Part II. Highly Used Plant Species from Acanthaceae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Combretaceae, and Fabaceae Families.* Frontiers in pharmacology, 8, 519.