

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CỦA VIÊN KHỚP VINTONG TRÊN THỰC NGHIỆM

Đậu Xuân Cảnh^{1,*}, Nguyễn Thị Ngọc^{1,**}, Nguyễn Duy Tuấn¹, Phạm Ngọc Thảo²,
Nguyễn Hoàng Ngân²

TÓM TẮT

Mục tiêu: 1) Nghiên cứu độc tính cấp của “Viên khớp VINTONG” trên động vật thực nghiệm. 2) Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của “Viên khớp VINTONG” trên động vật thực nghiệm. **Phương pháp:** Đánh giá độc tính cấp của “Viên khớp VINTONG” trên chuột nhắt trắng theo đường uống bằng phương pháp Litchfield–Wilcoxon. Đánh giá độc tính bán trường diễn của “Viên khớp VINTONG” trên chuột cống trắng bằng đường uống theo quy định và hướng dẫn của Bộ Y tế. **Kết quả:** Độc tính cấp: Chưa tìm thấy LD₅₀ của “Viên khớp VINTONG” theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 42g hoạt chất/kg thể trọng. Độc tính bán trường diễn: Trên các lô chuột dùng “Viên khớp VINTONG” liều 1,4g hoạt chất/kg/ngày, và liều 7,0g hoạt chất/kg/ngày, trong 90 ngày liên tục, 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, lách, thận. **Kết luận:** Viên khớp VINTONG an toàn ở các liều và thời gian đã dùng.

Từ khóa: Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, “Viên khớp VINTONG”.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thoái hóa khớp là hậu quả của quá trình cơ học và sinh học làm mất cân bằng giữa tổng hợp và huỷ hoại của sụn và xương dưới sụn kết hợp nhiều nguyên nhân và quá trình viêm gây nên. Bệnh rất thường gặp và là một trong những nguyên nhân chính gây giảm, mất khả năng vận động ở người cao tuổi. Trên thế giới thoái khớp chiếm tỷ lệ rất cao [7]. Ở Việt Nam chưa có thống kê chính xác nào nhưng thoái hóa khớp chiếm tỷ lệ cao trong các bệnh lý cơ xương khớp, đặc biệt là thoái hóa khớp gối. Việc điều trị bệnh hiện nay là gánh nặng rất tốn kém cho cá nhân người bệnh nói riêng và toàn xã hội nói chung

với chi phí điều trị cao, hiệu quả chưa đạt được như mong muốn trong khi có nhiều tai biến nặng nề, và tốn kém [7].

Theo y học cổ truyền, thoái hóa khớp thuộc phạm vi chứng tý. Nhiều bài thuốc y học cổ truyền đã được chứng minh có hiệu quả trong điều trị bệnh lý xương khớp [8]. “Viên khớp VINTONG” gồm mười bốn vị dược liệu, là bài thuốc nghiệm phương, dựa trên lý luận của y học cổ truyền trong điều trị chứng tý cũng như việc phối ngũ các vị thuốc theo pháp, phương và hài hòa các vị dược liệu để nâng cao chất lượng điều trị bệnh lý này. Để có cơ sở khoa học về tiêu chuẩn chất lượng và tính an toàn của bài thuốc, làm cơ sở cho những nghiên cứu phát triển hiện đại hóa Y học cổ truyền, tạo sản phẩm phục vụ rộng rãi cho cộng đồng, chúng tôi thực hiện đề tài với mục tiêu:

1) Đánh giá độc tính cấp của “Viên khớp VINTONG” trên động vật thực nghiệm.

2) Đánh giá độc tính bán trường diễn của “Viên khớp VINTONG” trên động vật thực nghiệm.

¹ Học viện Y học cổ truyền Việt Nam,

² Học viên Quân y

*Tác giả chính

Đậu Xuân Cảnh

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học

Nguyễn Thị Ngọc

Email: ngoc2788@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 20/8/2020

Ngày phản biện: 25/8/2020

Ngày chấp nhận đăng: 4/12/2020

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chế phẩm nghiên cứu

Chế phẩm nghiên cứu trong đề tài này là Viên Khớp Vintong.

Thành phần: Mỗi gói 5g có chứa dịch chiết tương đương với các dược liệu sống.

Bảng 2.1. Công thức bài thuốc bào chế viên khớp vintong

Độc hoạt (<i>Radix Angelicae Pubescentis.</i>)	05g
Phòng phong (<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae.</i>)	05g
Tần giao (<i>Radix Gentianae.</i>)	05g
Tang ký sinh (<i>Herba Loranthi Gracifolii</i>)	05g
Ngưu tất (<i>Radix Achyranthis bidentatae.</i>)	05g
Bạch thược (<i>Radix Paeoniae lactiflorae.</i>)	2,5g
Thục địa (<i>Radix Rehmanniae glutinosae praeparata</i>)	2,5g
Khương hoạt (<i>Rhizoma et radix Notopterygii</i>)	2,5g
Tế tân (<i>Radix et Rhizoma Asari</i>)	2,5g
Đẳng sâm (<i>Radix Codonopsis</i>)	05g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	2,5g
Đỗ trọng (<i>Eucommia ulmoides</i>)	2,5g
Xuyên khung (<i>Ligusticum wallichii Franch</i>)	2,5g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	01g
Tá dược vừa đủ 5g	

Thuốc do Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam cung cấp, thành phẩm được kiểm nghiệm và đạt tiêu chuẩn cơ sở. Tùy theo mức liều sử dụng cho chuột uống, “Viên khớp VINTONG” được hòa tan trong nước cất bằng siêu âm (Ultrasonication) thành các dung dịch có nồng độ khác nhau, dùng để đánh giá độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và tác dụng dược lý trên thực nghiệm. Liều dùng được tính theo số g “Viên khớp VINTONG”. Liều dự kiến trên người là 2 gói/ngày, tương đương 10g/người/ngày. Theo quy ước liều trên người là 50kg, ta có liều dự kiến trên người là 10g/50kg/ngày hay 0,2g/kg/ngày. Liều dự kiến trên chuột nhắt (hệ số 12) là 2,4g/kg/ngày, liều dự kiến trên chuột cống (hệ số 7) là 1,4g/kg/ngày [4].

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng trường thành dòng Swiss, 60 con, không phân biệt giống, cân

nặng mỗi con tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm là 18 - 22g. Chuột cống trắng trường thành, dòng Wistar, 30 con, không phân biệt giống, cân nặng mỗi con tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm là 160 - 180g. Động vật đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, do Ban chăn nuôi - Học viện Quân y cung cấp, ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do.

Thiết bị, hóa chất nghiên cứu

Thiết bị: Máy đo quang phổ UV-Vis UVD-2960 – Mỹ, hệ thống phân tích sắc ký, máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia, model 3000 Evolution, hóa chất của hãng; máy phân tích huyết học Humancout 30TS, hãng Human, Đức, sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm, hóa chất của hãng; máy điện tim Fukuda FX 7102 (Fukuda - Nhật Bản); Kim cong đầu tù dùng cho chuột uống

thuốc, sản xuất tại Nhật Bản; ống micropipette chuyên dụng để lấy máu hốc mắt; bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác

Hóa chất: Nước cất, Aceton- PA, Cloroform - PA, Amoniac - PA, Toluen - PA, Ethanol - PA; hóa chất xét nghiệm sinh hóa của hãng MEDIA, sản xuất tại Italia, hóa chất xét nghiệm huyết học của hãng Human, Đức; một số hóa chất khác.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp

Xác định LD₅₀ của “Viên khớp VINTONG” trên chuột nhắt trắng chủng Swiss đường uống bằng phương pháp của Litchfield – Wilcoxon [3].

Chuột nhắt trắng chủng Swiss gồm 60 con chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con. Trước khi thí nghiệm chuột nhịn ăn 12 giờ, cho uống nước bình thường. Sau 12 giờ nhịn ăn, cho chuột uống thuốc với thể tích 0,2ml/10g thể trọng/lần nhưng với các liều tăng dần, tối đa 3 lần/ 24 giờ, mỗi lần uống cách nhau 3 giờ. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột, liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và các liều trung gian. Chuột được uống thuốc cưỡng bức, thuốc thử được đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù. Theo dõi tình trạng chung và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong 72 giờ. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc thử lần đầu. Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có chuột chết để xác định nguyên nhân gây độc.

2.3.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Theo qui định của Bộ Y tế Việt Nam [1], [2], hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [10] và hướng dẫn của OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [9] về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc. Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 10 con. Các chuột được cho uống thuốc hoặc nước cất liên tục

trong 90 ngày, thể tích cho uống là 10ml/kg/24 h.

- Lô chứng sinh lý: uống nước cất.

- Lô trị 1: uống “Viên khớp VINTONG” liều 1,4g hoạt chất/kg/ngày (liều dự kiến tính theo hệ số quy đổi từ người sang chuột cống là 7)

- Lô trị 2: uống “Viên khớp VINTONG” liều 7,0g hoạt chất/kg/ngày (gấp 5 lần liều 1).

Các chỉ tiêu đánh giá: theo dõi tình trạng chung, hoạt động, ăn uống, cân nặng của chuột; Huyết học: hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu; Sinh hóa: nồng độ men gan AST, ALT trong máu, creatinin máu; Mô bệnh học: vào ngày thứ 90, giết 30% số chuột để mổ lấy gan, lách, thận đánh giá đại thể và mô bệnh học nhuộm HE. Các chỉ số được đánh giá tại 3 thời điểm: xuất phát điểm, 45 ngày, sau 90 ngày uống thuốc. Thời gian theo dõi: 90 ngày.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Bảng 3.1 cho thấy “Viên khớp VINTONG” được cho chuột ở các lô uống với các mức liều khác nhau, ở cùng thể tích 0,2 mL/10g/lần x 3 lần (tức 60mL/kg). Chuột được uống từ mức liều thấp nhất là 12,0g hoạt chất/kg thể trọng cho đến mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24 giờ là 42g hoạt chất/kg thể trọng, không có chuột thí nghiệm nào bị chết sau uống thuốc 72 giờ. Ở các mức liều cho uống, các chuột đi ngoài bình thường. Tất cả chuột thí nghiệm ở các lô đều ăn uống bình thường, nước tiểu bình thường, lông mượt, mắt trong, quan sát hoạt động của chuột thấy chuột bình thường.

Theo dõi tiếp các chuột cho đến hết 7 ngày (168 giờ) sau uống thuốc thấy các chuột hoạt động, ăn uống bình thường, chất thải bình thường, không có chuột nào chết.

3.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn

3.2.1. Sự thay đổi thể trọng của chuột

Bảng 3.2 cho thấy “Viên khớp VINTONG”

với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ảnh hưởng trên sự phát triển thể trọng của chuột.

3.2.2. Ảnh hưởng của “Viên khớp VINTONG” đối với một số chỉ tiêu huyết học của chuột.

Bảng 3.1. Độc tính cấp theo đường uống của “Viên khớp VINTONG” trên chuột nhắt trắng.

Lô	Số chuột	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Tỷ lệ sống/chết sau 72 giờ	Tỷ lệ sống/chết sau 168 giờ
Lô 1	10	12,0	10/0	10/0
Lô 2	10	18,0	10/0	10/0
Lô 3	10	24,0	10/0	10/0
Lô 4	10	30,0	10/0	10/0
Lô 5	10	36,0	10/0	10/0
Lô 6	10	42,0	10/0	10/0

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của “Viên khớp VINTONG” đối với thể trọng chuột

Thời điểm		Thể trọng (g)			p
		Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Trước (a)	$\bar{X} \pm SD$	165,16 $\pm$ 3,55	166,67 $\pm$ 4,04	167,57 $\pm$ 4,03	
Sau 45 ngày (b)	$\bar{X} \pm SD$	196,99 $\pm$ 4,97	197,60 $\pm$ 5,02	198,46 $\pm$ 6,81	$p_{2-1} > 0,05$
	% biến đổi	19,27 %	18,56 %	18,43 %	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	$\bar{X} \pm SD$	216,46 $\pm$ 4,01	215,50 $\pm$ 4,14	216,89 $\pm$ 5,61	$p_{3-1} > 0,05$
	% biến đổi (a)	31,06 %	29,30 %	29,43 %	
	% biến đổi (b)	9,88 %	9,06 %	9,29 %	
p		$p_{b-a} < 0,05$; $p_{c-b} < 0,05$; $p_{c-a} < 0,05$			-

So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, cũng như so sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, số lượng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột đều không có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (bảng 3.3).

So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, cũng như so sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hoạt độ các enzym AST và ALT không có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (bảng 3.4).

3.2.3. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng “Viên khớp VINTONG” dài ngày

So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, cũng như so sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, nồng độ creatinin máu chuột không có sự thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), bảng 5.

3.2.4. Kết quả đại thể và mô bệnh học các tạng (gan, lách, thận) của chuột thí nghiệm

* Kết quả đại thể các tạng (gan, lách, thận) của chuột thí nghiệm

Quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần thấy: màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở hai lô dùng “Viên khớp VINTONG” không khác so với chứng. Hình ảnh đại thể gan, lách, thận

của các chuột đại diện cho các lô chuột nghiên cứu được trình bày ở các ảnh 1, 2 và 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng đối với chỉ tiêu huyết học của chuột

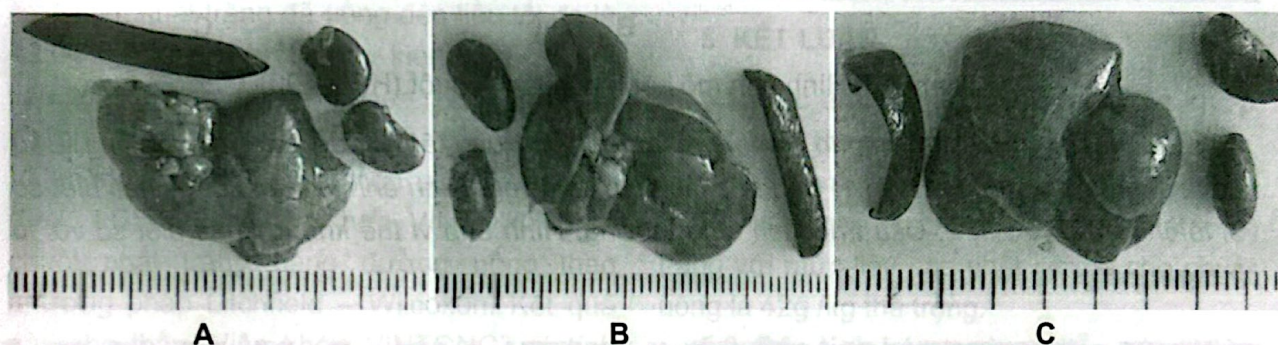
Thời điểm	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
Số lượng hồng cầu ($\times 10^{12}$ g/L)				
Trước (a)	8,15 $\pm$ 0,72	8,54 $\pm$ 0,47	8,33 $\pm$ 0,65	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	8,26 $\pm$ 0,75	8,45 $\pm$ 0,73	8,38 $\pm$ 0,95	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	8,26 $\pm$ 0,58	8,44 $\pm$ 1,02	8,30 $\pm$ 0,74	$p_{3-1} > 0,05$
p	$p_{b-a} > 0,05$; $p_{c-b} > 0,05$; $p_{c-a} > 0,05$			
Số lượng bạch cầu (G/L)				
Trước (a)	10,12 $\pm$ 1,73	10,22 $\pm$ 2,32	9,97 $\pm$ 2,37	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	10,55 $\pm$ 2,14	10,37 $\pm$ 1,94	11,03 $\pm$ 2,07	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	10,01 $\pm$ 2,95	11,19 $\pm$ 3,24	10,68 $\pm$ 2,73	$p_{3-1} > 0,05$
p	$p_{b-a} > 0,05$; $p_{c-b} > 0,05$; $p_{c-a} > 0,05$			-
Số lượng tiểu cầu (G/L)				
Trước (a)	620,00 $\pm$ 90,42	615,70 $\pm$ 115,77	608,80 $\pm$ 95,12	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	578,20 $\pm$ 87,79	602,50 $\pm$ 130,31	610,10 $\pm$ 71,11	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	595,33 $\pm$ 85,56	594,66 $\pm$ 85,33	614,40 $\pm$ 121,07	$p_{3-1} > 0,05$
p	$p_{b-a} > 0,05$; $p_{c-b} > 0,05$; $p_{c-a} > 0,05$			-

Bảng 4. Ảnh hưởng của Viên khớp VINTONG đối với hoạt độ AST và ALT

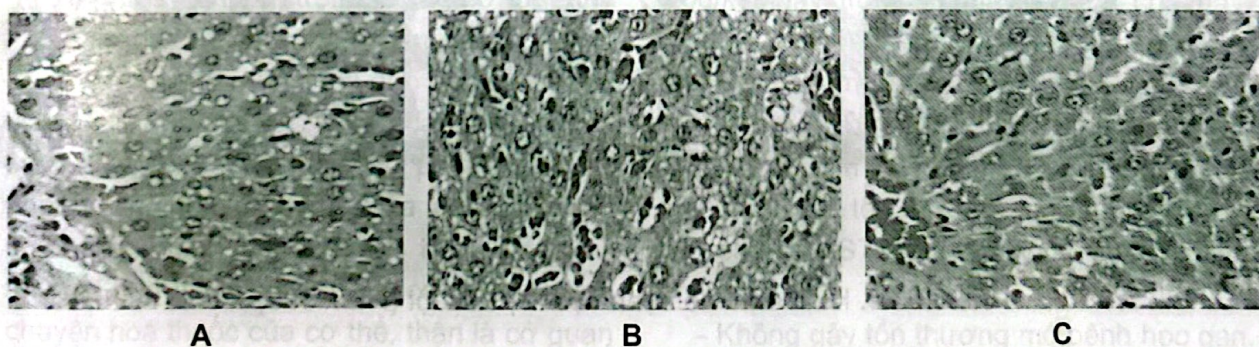
Thời điểm	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
Hoạt độ AST (UI/L)				
Trước (a)	82,20 ± 14,56	81,90 ± 12,55	84,06 ± 13,58	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	84,29 ± 13,05	84,10 ± 11,25	85,40 ± 18,42	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	91,60 ± 24,27	93,20 ± 13,00	83,33 ± 13,45	$p_{3-1} > 0,05$
p	$p_{b-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05; p_{c-a} > 0,05$			-
Hoạt độ ALT (UI/L)				
Trước (a)	66,80 ± 16,93	64,40 ± 12,38	68,40 ± 17,54	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	67,40 ± 23,59	66,00 ± 14,61	65,40 ± 14,33	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	61,20 ± 13,03	63,10 ± 15,47	65,20 ± 11,56	$p_{3-1} > 0,05$
p	$p_{b-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05; p_{c-a} > 0,05$			-

Bảng 5. Ảnh hưởng của “Viên khớp VINTONG” lên nồng độ creatinin máu chuột

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
Trước (a)	46,90 ± 7,16	47,60 ± 4,60	49,10 ± 5,36	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	48,20 ± 9,02	47,30 ± 5,14	48,80 ± 8,18	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	48,40 ± 12,05	46,90 ± 4,68	46,30 ± 8,11	$p_{3-1} > 0,05$
p	$p_{b-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05; p_{c-a} > 0,05$			-

**Hình 3.1.** Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 1

A: Lô chứng, B: Lô trị 1, C: Lô trị 2

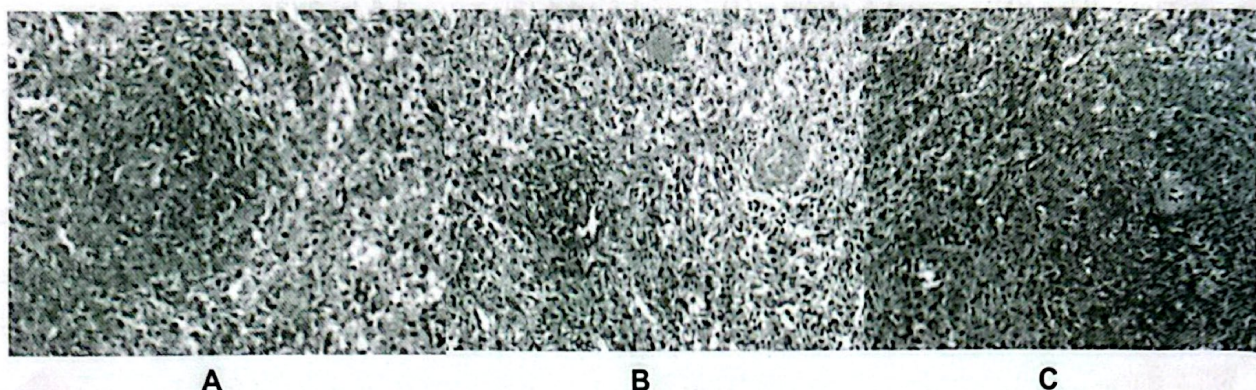
**Hình 3.2.** Hình ảnh mô bệnh học gan chuột (HE x 400)

A/ Lô chứng: các bè gan và tiểu thùy gan bình thường, không có , thoái hóa, xâm nhập viêm, tĩnh mạch trung tâm không giãn, không xung huyết. B/ Lô trị 2 (HE x 400): các bè gan và tiểu thùy gan, tế bào gan bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng. C/ Lô trị 1 (HE x 400): các bè gan và tiểu thùy gan, tế bào gan bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.

* Kết quả mô bệnh học các tạng (gan, lách, thận) của chuột thí nghiệm

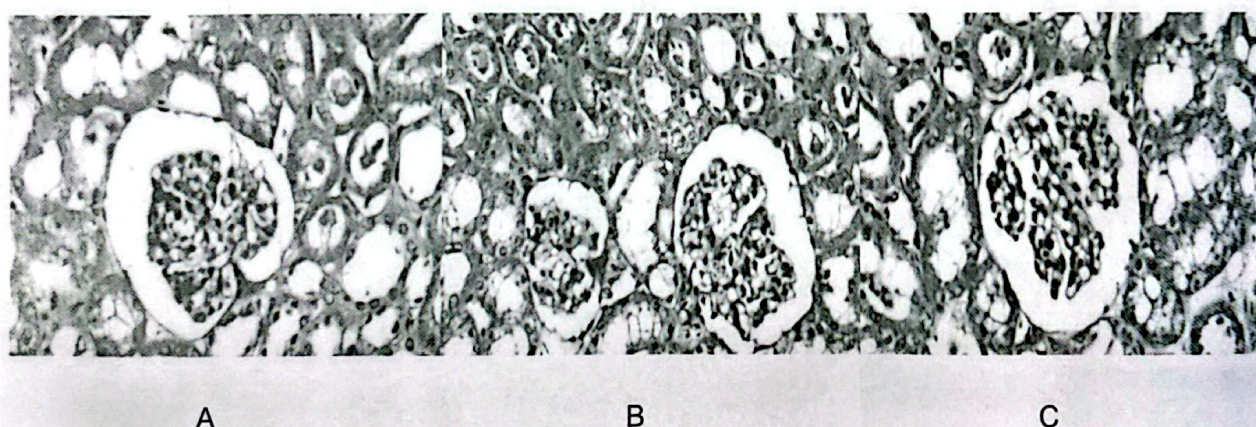
Hình ảnh mô bệnh học gan chuột đại diện cho các lô chuột nghiên cứu cho thấy các bè

gan và tiểu thùy gan bình thường, không thoái hóa, không có hiện tượng xâm nhiễm của viêm tế bào, tĩnh mạch trung tâm không giãn, không xung huyết.



Hình 3.3. Hình ảnh mô bệnh học lách chuột (HE x 400)

A/ Lô chứng: Các nang lympho với tâm mầm rộng và trung tâm có động mạch bút lông. Cấu trúc lách bình thường. B/ Lô trị 1: Cấu trúc lách bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng. C/ Lô trị 2: Cấu trúc lách bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.



Hình 3.4. Hình ảnh mô bệnh học thận chuột (HE x 400)

A: Chuột 9 lô chứng: Các mao mạch trong tiểu cầu và khe thận bình thường. Các tế bào biểu mô ống thận bình thường; B: Chuột 18 lô trị 1: các cấu trúc nhu mô thận bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng; C: Chuột 23 lô trị 2: các cấu trúc nhu mô thận bình thường. Hình ảnh vi thể không khác biệt so với lô chứng.

Hình 3.2 chỉ ra tế bào gan ở lô trị 1 (ảnh B) và lô trị 2 (ảnh C), là các lô cho uống “Viên khớp VINTONG”, không khác biệt so với hình ảnh vi thể gan chuột ở lô chứng (ảnh A). Trên hình ảnh không thấy ở xuất huyết hoặc ổ hoại tử, thoái hóa tế bào gan.

Hình 3.3 chỉ ra: Hình ảnh vi thể lách dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột

ở lô trị 1 (ảnh B) và lô trị 2 (ảnh C), là các lô cho uống “Viên khớp VINTONG”, không khác biệt so với hình ảnh vi thể lách chuột ở lô chứng (ảnh A). Trên hình ảnh thấy vùng tủy trắng bất màu xanh thẫm, tập trung các nang lympho lớn. Vùng tủy đỏ có màu xanh đỏ, với các xoang nang chứa nhiều hồng cầu và một số đại thực bào. Không thấy ở xuất huyết hoặc hoại tử.

Hình 3.4 chỉ ra: Hình ảnh vi thể thận dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh B) và lô trị 2 (ảnh C), là các lô cho uống “Viên khớp VINTONG”, không khác biệt so với hình ảnh vi thể thận chuột ở lô chứng (ảnh A). Cấu trúc các vùng chức năng thận bình thường.

4. BÀN LUẬN

4.1. Độc tính cấp

Chuột nhắt trắng đã uống đến liều tối đa là 42,0g/kg/24h (so với liều dự kiến có tác dụng, liều tối đa trên gấp $42/2,4 = 17,5$ lần), mà không thấy xuất hiện dấu hiệu của độc tính. Vì không có chuột chết nên chưa xác định được LD₅₀ của “Viên khớp VINTONG” trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon. Kết quả này cho thấy “Viên khớp VINTONG” có tính an toàn cao trong thử nghiệm độc tính cấp, hay khoảng an toàn điều trị rộng [9], [10].

4.2. Độc tính bán trường diễn

Tình trạng chung, trọng lượng cơ thể, tình trạng cơ quan tạo máu và gan, thận các chỉ số quan trọng khi đánh giá độc tính của thuốc thử. Hình ảnh mô bệnh học (cả đại thể và vi thể) của gan, lách, thận cho phép đánh giá ảnh hưởng lên cấu trúc của các cơ quan chính liên quan đến chuyển hóa, thải trừ thuốc [3], [9], [10]. Gan là cơ quan chính chuyển hoá thuốc của cơ thể, thận là cơ quan chính thải trừ thuốc của cơ thể [6]. Lách có cấu trúc gần giống như một hạch bạch huyết lớn, nó hoạt động chủ yếu như là một bộ lọc máu, do đó những biến đổi trong cơ thể đặc biệt các ảnh hưởng gây độc đến các tế bào hồng cầu và hệ bạch huyết nếu có đều dễ dàng được nhận thấy ở lách [5].

Kết quả nghiên cứu cho thấy tình trạng chung, sự phát triển trọng lượng cơ thể, các chỉ số tế bào máu (hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu), các chỉ số sinh hóa đánh giá tổn thương gan, thận (AST, ALT trong máu, creatinin máu), hình ảnh mô bệnh học gan, lách, thận

của các chuột nghiên cứu đều bình thường, cho thấy tính an toàn của bài thuốc “Viên khớp Vintong” khi cho chuột dùng liều lặp lại trong thời gian 90 ngày. Thuốc được dự kiến dùng trên người thời gian trên 30 ngày trong điều trị thoái hóa khớp. Thời gian đánh giá độc tính bán trường diễn được tiến hành trong 90 ngày là thời gian quy định cho đánh giá độc tính của chế phẩm khi dự kiến dùng trên lâm sàng trên 30 ngày.

5. KẾT LUẬN

5.1. Độc tính cấp (LD₅₀) của “Viên khớp VINTONG” theo đường uống

Chưa tìm thấy LD₅₀ của “Viên khớp VINTONG” theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 42g /kg thể trọng.

5.2. Độc tính bán trường diễn của “Viên khớp VINTONG”

Trên các lô chuột dùng “Viên khớp VINTONG” liều 1,4g/kg/ngày, và liều 7,0g/kg/ngày, trong 90 ngày liên tục, cho thấy:

- Chuột khỏe mạnh, tăng trọng tốt, đều.
- Không làm thay đổi số lượng các tế bào máu (hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu).
- Không làm thay đổi các chỉ tiêu sinh hóa máu đánh giá tổn thương gan, thận (hoạt độ các enzym AST, ALT và nồng độ Creatinin trong máu).
- Không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận.

Lời cảm ơn

Chúng tôi cảm ơn Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và Học viện Quân y đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế (2014), Công văn 19098/QLĐ-ĐK về việc lưu hành thuốc từ dược liệu có phối hợp mới thành phần dược liệu.
2. Bộ Y Tế (2018), Thông tư số

- 29/2018/TT-BYT quy định về thử thuốc trên lâm sàng.
3. **Đỗ Trung Đàm (2014)**, Phương pháp Litchfield Wilcoxon, Phương pháp xác định độc tính của thuốc, NXB Y học, tr. 101 – 112.
 4. **Đỗ Trung Đàm (2006)**, Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm, Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr.377 – 392.
 5. **Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương (2001)**, Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng, NXB Y học.
 6. **Vũ Đình Vinh (2001)**, Hướng dẫn sử dụng các xét nghiệm sinh hoá, NXB Y học, tr. 115-287.
 7. **Arthritis Foundation (2018)**, Arthritis By the Numbers, Book of Trusted Facts & Figures; v2, 4100.17.10445.
 8. **Long L, Soeken K, Ernst E (2001)**, Herbal Medicines for the treatment of osteoarthritis: a systematic review. *Rheumatology*, 40:779-793.
 9. **OECD (2018)**, Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris.
 10. **WHO (1993)**, Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines, ROWP, Manila, Philippines.

SUMMARY

RESEARCH OF TOXICITY OF “VIEN KHOP VINTONG” REMEDY IN EXPERIMENTAL STUDIES

Dau Xuan Canh¹, Nguyen Thi Ngoc¹, Nguyen Duy Tan¹, Pham Ngoc Thao², Nguyen Hoang Ngan²

¹Vietnam University of Traditional Medicine

²Vietnam Military Medical University

Objectives: 1) Study of the toxicity level of “Viên khớp VINTONG” remedy on experimental animals. 2) Study of the **Semi-Chronic** toxicity of “Viên khớp VINTONG” remedy on experimental animals. **Methods:** Evaluating the acute toxicity of “Viên khớp VINTONG” remedy in oral mice by Litchfield-Wilcoxon method. Evaluating the **Semi-Chronic** toxicity of “Viên khớp VINTONG” remedy on oral rat following the rules and guidelines of the Ministry of the Health. **Results:** Acute Toxicity: the LD50 of “Viên khớp VINTONG” extract was not found in oral mice. The mice were given the highest dose of 42.0 g/kg/day. **Semi-Chronic** toxicity: On the rat used “Viên khớp VINTONG” extract with dose of 1.40g/extract/day and dose of 7.0g/extract/day in 90 continuous days, it shows that: Rats are healthy and good weigh gain; not alter the hematological indexes; Not change the blood biochemical to evaluating the liver and kidney function; not damage histology of liver, spleen, kidney. Thus, “Viên khớp VINTONG” is safe at dosage and used intervals.

Keywords: Acute Toxicity, **Semi-Chronic** toxicity, “Viên khớp VINTONG”