

ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG DIỄN 90 NGÀY ĐƯỜNG UỐNG CỦA VIÊN NANG LINH PHỤ KHANG TUỆ TĨNH TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Phạm Tiến Dũng¹, Đặng Thành Chung², Đoàn Minh Thụy¹, Nguyễn Hoàng Ngân²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá được độc tính bán trường diễn đường uống 90 ngày trên chuột cống trắng của viên nang Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh. **Phương pháp:** Chuột cống trắng chia ngẫu nhiên thành 3 lô: lô chứng uống nước cất, lô trị 1 và lô trị 2 uống Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh liều 289,8 và 869,4 mg/kg/ngày (tương ứng). Đánh giá ảnh hưởng lên thể trạng, cân nặng, các chỉ số huyết học, sinh hóa máu và mô bệnh học gan, lách, thận. **Kết quả:** thể trạng, cân nặng, các chỉ số huyết học, sinh hóa máu và mô bệnh học gan, lách, thận của chuột ở hai lô dùng Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh đều bình thường, không khác biệt so với lô chứng. **Kết luận:** Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh không gây độc tính bán trường diễn khi đánh giá trên chuột cống trắng uống các mức liều 289,8 và 869,4 mg/kg/ngày trong 90 ngày.

Từ khóa: Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh, độc tính bán trường diễn, chuột cống trắng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tăng sản lành tính tuyến tiền liệt (TSLT-TTL) là bệnh hay gặp nhất ở nam giới trung niên và tăng dần theo tuổi, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của người bệnh. Hiện nay có nhiều phương pháp khác nhau để điều trị TSLT-TTL với mục đích phục hồi chức năng chức năng bài xuất nước tiểu hơn là giảm kích thích tiền liệt tuyến [2]. Theo các khuyến cáo hiện tại vẫn nên điều trị nội khoa ban đầu, nếu thất bại thì sẽ được điều trị phẫu thuật tiếp theo. Điều trị nội khoa bằng nhóm thuốc ức chế thụ thể anpha, nhóm ức chế enzym 5 alpha reductase... đang được ứng dụng rộng rãi nhưng cũng có những tác dụng không mong muốn như chóng mặt, đau đầu, mệt nhẹ, hạ huyết áp tư thế, rối loạn cương dương, giảm ham muốn tình dục và giảm lượng tinh dịch... Y học cổ truyền có nhiều cây thuốc, bài thuốc có hiệu quả và an

toàn trong điều trị TSLT-TTL, rất cần được nghiên cứu đánh giá. Viên nang Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh do Viện nghiên cứu Tuệ Tĩnh - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam bào chế từ các dược liệu Náng hoa trắng, Cốt khí củ, Hoa xà thiệt thảo, Tam thất, bước đầu sử dụng tại bệnh viện Tuệ Tĩnh cho thấy có hiệu quả và an toàn trên bệnh nhân TSLT-TTL. Để có cơ sở khoa học cho việc ứng dụng rộng rãi chế phẩm trong công tác chăm sóc sức khỏe, nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá độc tính bán trường diễn của chế phẩm trên chuột cống trắng.

2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

* **Chế phẩm nghiên cứu:** Viên nang Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh do Viện nghiên cứu Tuệ Tĩnh - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam cung cấp, đạt tiêu chuẩn cơ sở, thành phần gồm: bột alcaloid toàn phần Náng hoa trắng 5,0mg; bột cao Cốt khí củ 100,0mg; bột cao Hoa xà thiệt thảo 90,0mg; bột Tam thất 150,0mg; tá dược (avicel aerosol) vừa đủ 1 viên. Liều dùng tính theo liều bột dược liệu trong viên nang. Mỗi viên nang chứa 345mg bột dược liệu. Liều dự kiến sử dụng trên người là 6 viên nang/người/ngày, tương ứng 2070mg/người/ngày. Tính quân bình một

¹ Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam

² Học viện Quân y

* Tác giả thực hiện chính:

Phạm Tiến Dũng

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học

Nguyễn Hoàng Ngân

Email: nganvnu@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 23/10/2019

Ngày phản biện: 25/10/2019

Ngày chấp nhận đăng: 18/12/2019

người 50kg thì liều dùng dự kiến trên người sẽ là 41,4 mg/kg/ngày. Quy đổi theo hệ số quy đổi từ người sang động vật thực nghiệm [11], thì liều dùng dự kiến có tác dụng trên chuột cống là 289,8 mg/kg/ngày (hệ số quy đổi là 07). Bột thuốc được hòa tan trong nước cất và cho chuột uống bằng kim cong đầu tù.

*** Động vật thí nghiệm:** Chuột cống trắng trưởng thành, dòng Wistar, số lượng 24 con, không phân biệt giống, cân nặng 160 - 180g, do Ban cung cấp động vật thí nghiệm - HVQY 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.

*** Dụng cụ thí nghiệm:** Máy xét nghiệm sinh hoá 3000 Evolution (công ty Biochemical Systems International Srl, Italia), hóa chất của hãng; Máy phân tích huyết học Humancout 30TS (Human, Đức), sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm, hóa chất của hãng; Cân phân tích 10-4, model CP224S (Sartorius - Đức); Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ và các dụng cụ thí nghiệm khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Theo qui định của Bộ Y tế Việt Nam [1], hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới [3], [5] và hướng dẫn của OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [4] về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc Y học cổ truyền.

Chuột cống trắng được chia thành 3 lô, mỗi lô 8 con. Chuột được cho uống thuốc thử hoặc nước cất liên tục trong 90 ngày, thể tích cho uống là 5ml/kg/24h.

- **Lô chứng sinh lý:** uống nước cất.

- **Lô trị 1:** uống Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh, liều 289,8 mg/kg/ngày.

- **Lô trị 2:** uống Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh, liều 869,4 mg/kg/ngày

Các chỉ tiêu đánh giá:

- **Sinh lý - dược lý:** theo dõi hoạt động, ăn uống, cân nặng của chuột.

- **Huyết học:** hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu.

- **Sinh hóa máu:** nồng độ AST, ALT, creatinin, cholesterol TP, albumin huyết tương.

- **Mô bệnh học:** vào ngày thứ 90, giết chuột, quan sát hình ảnh đại thể gan, lách, thận. Làm tiêu bản nhuộm HE đánh giá hình ảnh mô bệnh học của các chuột. Tiêu bản mô bệnh học được thực hiện và đọc kết quả tại Khoa Giải phẫu bệnh và Pháp y (Bệnh viện Quân y 103).

Lấy máu xét nghiệm các chỉ số sinh hóa, huyết học, xác định cân nặng của chuột tại 3 thời điểm: xuất phát điểm, sau 45 ngày, sau 90 ngày uống thuốc.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý theo các phương pháp thống kê y sinh học, sử dụng phần mềm SPSS 16.0. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh lên tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của chuột cống trắng khi dùng dài ngày.

a. Tình trạng chung: Chuột cống trắng được theo dõi hàng ngày về tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết. Các chuột ở cả lô chứng và các lô uống Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh đều hoạt động bình thường. Chuột lông mượt, da niêm mạc bình thường, ăn uống bình thường, phân thành khuôn.

b. Sự thay đổi thể trọng của chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.1. So sánh giữa các thời điểm sau so với trước thấy cân nặng chuột của cả ba lô nghiên cứu đều tăng (bảng 3.1), sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. So sánh tại cùng thời điểm đo, cân nặng của chuột ở hai lô uống Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh so với cân nặng của chuột ở lô chứng sinh lý không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên sự phát triển thể trọng của chuột.

3.2. Ảnh hưởng của Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh đối với một số chỉ tiêu huyết học

Kết quả được trình bày ở bảng 3.2. So sánh các lô với nhau trong cùng một thời

điểm, cũng như so sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, các chỉ số huyết học của chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa gây ra các thay đổi về chỉ số huyết học của chuột.

3.2. Ảnh hưởng của Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh đối với một số chỉ tiêu sinh hóa máu của chuột.

Kết quả được trình bày ở 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, các chỉ số sinh hóa máu của chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa gây ra các thay đổi về chỉ số sinh hóa máu của chuột.

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh đối với cân nặng chuột (n = 8)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	p
Trước TN	169,88 ± 4,29	169,13 ± 3,18	169,75 ± 3,77	$p_{2-1} > 0,05$
(a)				$p_{3-2} > 0,05$
Sau 45 ngày (b)	191,75 ± 5,99	192,13 ± 6,85	192,75 ± 5,60	$p_{3-1} > 0,05$
Sau 90 ngày (c)	211,88 ± 6,36	212,38 ± 7,27	212,50 ± 5,76	
p	$p_{b-a} < 0,01$; $p_{c-b} < 0,01$; $p_{c-a} < 0,01$			-

XN: xét nghiệm; TN: thí nghiệm

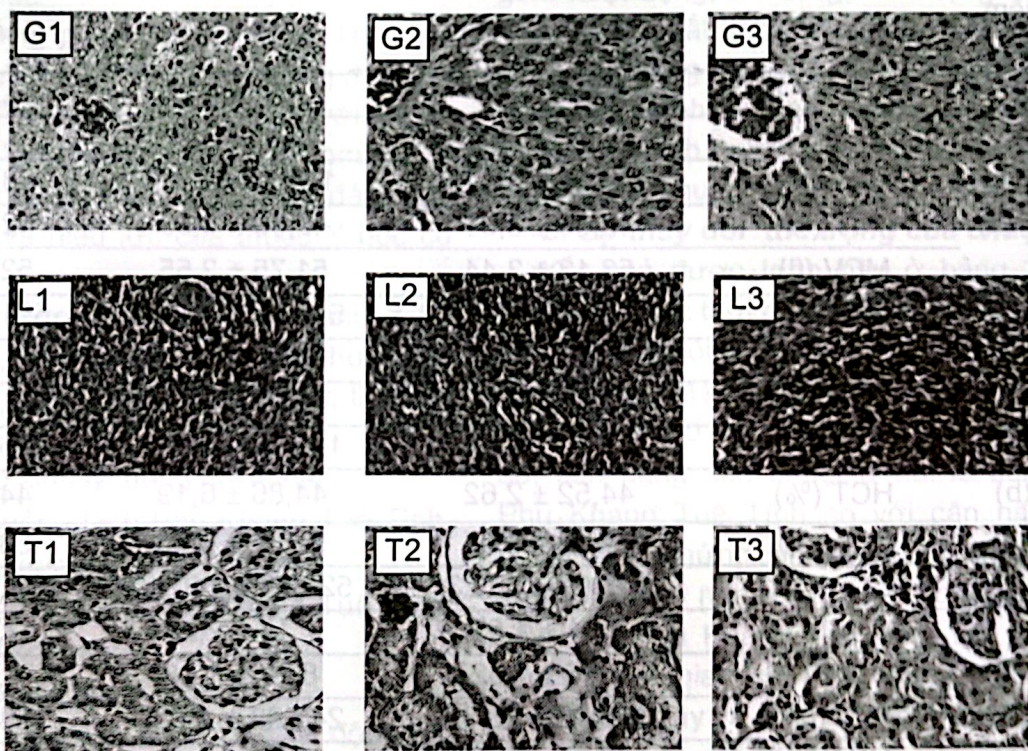
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh đối với một số chỉ tiêu huyết học của chuột (n = 8)

Thời điểm XN	Chỉ số XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)
Trước thí nghiệm (a)	BC x 10^9 /L	6,85 ± 1,31	7,06 ± 1,55	7,28 ± 1,36
	RBC (10^{12} /L)	8,11 ± 0,89	8,08 ± 1,59	8,04 ± 0,68
	HGB (g/L)	154,13 ± 21,92	144,25 ± 3,65	143,00 ± 11,70
	HCT (%)	42,06 ± 3,81	42,96 ± 3,53	42,87 ± 3,89
	MCV (fl)	53,13 ± 3,44	51,75 ± 2,55	52,13 ± 3,27
	TC x 10^9 /L	598,38 ± 87,75	577,50 ± 81,80	551,25 ± 76,40
Sau 45 ngày (b)	BC x 10^9 /L	7,04 ± 1,42	7,32 ± 1,84	7,33 ± 1,78
	RBC (10^{12} /L)	8,28 ± 1,20	8,33 ± 1,87	8,29 ± 0,66
	HGB (g/L)	160,13 ± 11,43	143,75 ± 27,16	145,00 ± 25,92
	HCT (%)	44,52 ± 2,62	44,86 ± 6,19	44,86 ± 6,91
	MCV (fl)	52,13 ± 3,87	51,38 ± 2,45	53,50 ± 3,89
	TC x 10^9 /L	528,00 ± 78,23	523,38 ± 140,19	565,75 ± 140,21
Sau 90 ngày (c)	BC x 10^9 /L	7,01 ± 1,53	7,15 ± 2,26	7,25 ± 1,91
	RBC (10^{12} /L)	8,35 ± 1,62	8,29 ± 1,78	8,25 ± 1,67
	HGB (g/L)	158,38 ± 28,65	246,88 ± 26,21	144,75 ± 29,18
	HCT (%)	46,25 ± 9,02	45,44 ± 4,89	45,82 ± 5,91
	MCV (fl)	53,00 ± 1,69	52,25 ± 4,06	52,38 ± 2,62
	TC x 10^9 /L	586,63 ± 148,26	548,50 ± 191,62	511,88 ± 148,57

XN: xét nghiệm

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Linh Phụ Khang Tuột Tĩnh đối với chỉ tiêu sinh hóa máu (n = 8)

Thời điểm XN	Chỉ số xét nghiệm	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)
Trước thí nghiệm (a)	AST (UI/l)	96,88 ± 26,39	97,25 ± 12,98	99,63 ± 13,95
	ALT (UI/l)	90,50 ± 21,50	89,50 ± 11,69	91,25 ± 22,19
	Creatinin (μmol/l)	43,50 ± 6,09	46,25 ± 4,10	46,88 ± 5,89
	Albumin (g/l)	27,75 ± 2,12	28,38 ± 0,92	28,00 ± 2,00
	Cholesterol TP (mmol/l)	0,96 ± 0,32	1,04 ± 0,09	1,03 ± 0,24
Sau 45 ngày (b)	AST (UI/l)	92,75 ± 22,59	93,50 ± 11,45	93,63 ± 20,04
	ALT (UI/l)	81,38 ± 18,09	88,00 ± 5,15	89,13 ± 19,38
	Creatinin (μmol/l)	46,25 ± 3,33	43,63 ± 6,41	45,75 ± 3,58
	Albumin (g/l)	27,75 ± 2,66	27,50 ± 2,20	28,13 ± 2,90
	Cholesterol TP (mmol/l)	1,03 ± 0,28	0,95 ± 0,14	0,94 ± 0,19
Sau 90 ngày (c)	AST (UI/l)	95,00 ± 24,61	99,88 ± 12,36	95,13 ± 12,80
	ALT (UI/l)	86,50 ± 13,43	92,13 ± 9,92	92,38 ± 16,61
	Creatinin (μmol/l)	47,38 ± 4,41	48,88 ± 5,87	47,75 ± 5,31
	Albumin (g/l)	27,63 ± 1,60	29,13 ± 2,36	28,63 ± 1,60
	Cholesterol TP (mmol/l)	0,93 ± 0,14	0,99 ± 0,23	0,95 ± 0,21

**Ảnh 3.1.** Hình ảnh mô bệnh học gan, lách, thận các lô chuột nghiên cứu

G1, G2, G3: mô bệnh học gan lô chứng, trị 1, trị 2, tương ứng; L1, L2, L3: mô bệnh học lách lô chứng, trị 1, trị 2, tương ứng; T1, T2, T3: mô bệnh học thận lô chứng, trị 1, trị 2, tương ứng.

3.3. Kết quả đại thể và mô bệnh học gan, lách, thận của chuột thí nghiệm.

Các tiêu bản mô bệnh học độc tại khoa hình thái giải phẫu bệnh, bệnh viện 103. Kết quả nghiên cứu về mô bệnh học gan, lách, thận chuột cho thấy Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh dùng đường uống với liều 289,8 mg/kg/ngày và liều 869,4 mg/kg/ngày liên tục trong 90 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột (ảnh 3.1).

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 Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh không khác so với ở lô chứng.

4. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh, chúng tôi đánh giá về tình trạng chung (gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết) và sự phát triển cân nặng của chuột, là những chỉ số cơ bản dễ dàng quan sát và đo được, nhưng có ý nghĩa trong đánh giá về tính an toàn của thuốc [8], [7]. Ngoài ra, nghiên cứu cũng chú trọng đánh giá các cơ quan dễ bị tổn thương (nên dễ quan sát thấy độc tính của thuốc nếu có) là gan, thận và cơ quan tạo máu [3]. Hoạt độ các enzym AST, ALT trong máu nhằm đánh giá sự tổn thương tế bào gan. Albumin huyết tương và cholesterol toàn phần nhằm đánh giá thêm về chức năng gan [5]. Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh không làm tăng AST, ALT, không ảnh hưởng đến albumin huyết tương và cholesterol toàn phần trong máu, chứng tỏ thuốc không gây tổn thương tế bào gan, không ảnh hưởng đến chức năng tổng hợp của gan. Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể, khi thận bị tổn thương thì nồng độ creatinin tăng sớm [5], [8]. Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh cho chuột uống không gây ảnh hưởng đến creatinin máu, chứng tỏ thuốc không gây tổn hại đến thận. Kết quả được khẳng định thêm khi hình ảnh đại thể và mô bệnh học của gan, thận bình thường. Cơ quan tạo máu được đánh giá thông qua các chỉ số huyết học và đánh giá

đại thể, mô bệnh học lách [5], [8] cũng cho thấy không có biến đổi gì khác biệt, chứng tỏ Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh cho chuột uống không ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu. Các được liệu trong viên nang Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh đều hầu như không thấy báo cáo về độc tính [4], do đó kết quả nghiên cứu không thấy độc tính bán trường diễn của viên nang Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh là hoàn toàn phù hợp.

5. KẾT LUẬN

Trên các lô chuột cống trắng cho uống Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh liều 289,8 mg/kg/ngày và liều 869,4 mg/kg/ngày liên tục trong 90 ngày, cho thấy:

- Tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết của chuột bình thường.
- Không làm ảnh hưởng đến sự tăng trọng lượng cơ thể.
- Không làm thay đổi các chỉ số huyết học (hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu).
- Không làm thay đổi các chỉ tiêu sinh hóa máu bao gồm hoạt độ các enzym AST, ALT, creatinin, albumin và cholesterol toàn phần.
- Không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận.

Như vậy, Linh Phụ Khang Tuệ Tĩnh không gây độc tính bán trường diễn khi cho chuột cống trắng uống các mức liều 289,8 và 869,4 mg/kg/ngày trong 90 ngày.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn cán bộ, nhân viên Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y Tế (2018)**, Quy định về thử thuốc trên lâm sàng. Thông tư số: 29/2018/TT-BYT, ban hành ngày 29 tháng 10 năm 2018.
2. **Bùi Văn Lệnh, Lê Tuấn Linh (2016)**, Cập nhật chẩn đoán và điều trị tăng

sân tiền liệt tuyến, tạp chí nghiên cứu y học, 101 (số 3) tr.200-212.

3. **Đỗ Trung Đàm (2014)**, Phương pháp xác định độc tính của thuốc, Nhà xuất bản Y học, Hà nội.
4. **Võ Văn Chi (2012)**, Từ điển cây thuốc Việt Nam – tập 2, Nhà xuất bản Y học, Hà nội, tr.940-941.
5. **OECD (2002)**, Drug Safety Evaluation I: Acute and subchronic toxicity

6. assesment; USA Academy Press.
7. **WHO (2000)**, General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine, EDM/TRM, Geneva, Switzerland.
8. **WHO (2000)**, Research Guidelines For Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines, ROWP, Manila, Philippines.

SUMMARY

SUBCHRONIC TOXICITY OF LINH PHU KHANG TUE TINH CAPSULE ON EXPERIMENTAL ANIMALS

Pham Tien Dung¹, Dang Thanh Chung²,

Doan Minh Thuy¹, Nguyen Hoang Ngan²

¹Vietnam University Of Traditional Medicine

²Military Medical University

Objective: To evaluate the 90-day oral subchronic toxicity on Wistar rats of Linh Phu Khang Tue Tinh capsule. **Methods:** Wistar rats randomly divided into 3 groups: control group drinking distilled water, treatment group 1 and treatment group 2 oral administration of Linh Phu Khang Tue Tinh at doses of 289.8 and 869.4 mg/kg/day (respectively). Assess effects on physical condition, weight, hematological indexes, blood biochemistry and histopathology of liver, spleen, kidney. **Results:** physical condition, weight, hematological indicators, blood biochemistry and histopathology of liver, spleen, kidney of rats in two groups using Linh Phu Khang Tue Tinh were normal, no difference compared to control group. **Conclusion:** Linh Phu Khang Tue Tinh was safe when evaluating on Wistar rats oral administration with doses of 289.8 and 869.4 mg/kg/day for 90 days.

Key words: Linh Phu Khang Tue Tinh, chronic toxicity, Wistar rats.