

ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN NÉN VƯƠNG ĐƯỜNG KHANG TRÊN THỰC NGHIỆM

Vũ Minh Hoàn¹ và Nguyễn Thị Thanh Tú^{2,✉}

¹Bệnh viện Y học cổ truyền Hà Nội

²Trường Đại học Y Hà Nội

Nghiên cứu nhằm xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nén Vương Đường Khang trên thực nghiệm. Nghiên cứu độc tính cấp trên chuột nhắt chủng Swiss bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng chủng Wistar theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới. Kết quả nghiên cứu cho thấy với liều cao nhất chuột có thể dung nạp được (liều 26,25 g/kg thể trọng chuột - gấp 36,45 lần liều dùng dự kiến trên người) chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng bằng đường uống. Viên nén Vương Đường Khang không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng với liều 0,36 g/kg/ngày (liều tương đương liều lâm sàng) và liều 1,08 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều lâm sàng) trong 90 ngày liên tục uống thuốc. Tất cả các chỉ số theo dõi về tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, chức năng gan, chức năng thận đều nằm trong giới hạn bình thường, mô bệnh học gan, thận không có sự khác biệt so với lô chứng.

Từ khóa: Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, động vật thực nghiệm, viên nén Vương Đường Khang.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường (ĐTĐ) là một bệnh rối loạn chuyển hóa đặc trưng bởi nồng độ glucose trong máu tăng cao.¹ Trong đó, ĐTĐ typ 2 là căn bệnh phổ biến, thường xảy ra ở người lớn khi cơ thể đề kháng với insulin hoặc không sản xuất đủ insulin.² Theo thống kê của Liên đoàn Đái tháo đường quốc tế (IDF- International Diabetes Federation), toàn thế giới ước tính có 537 triệu người mắc bệnh ĐTĐ vào năm 2021 và con số này dự kiến sẽ tăng lên 643 triệu vào năm 2030 và 783 triệu vào năm 2045.³ Chi phí y tế trực tiếp do bệnh ĐTĐ đã lên tới gần một nghìn tỷ đô la và sẽ vượt con số này vào năm 2030.³ Tại Việt Nam, với tỷ lệ mắc bệnh ĐTĐ ngày càng tăng, có khoảng 5,76 triệu người mắc bệnh ĐTĐ, chiếm 6% dân số vào năm 2017.⁴ Theo thống kê của IDF, tỷ lệ người ở độ

tuổi 20 đến 79 tuổi bị mắc ĐTĐ trong năm 2021 là 6,1%, ước tính đến năm 2030 là 6,7% và đến năm 2045 là 7,1%.⁵

ĐTĐ là căn bệnh về lâu dài làm tổn thương nghiêm trọng đến tim, mạch máu, mắt, thận và dây thần kinh.² Việc quản lý bệnh ĐTĐ tập trung vào giáo dục bệnh nhân, tư vấn chế độ ăn uống, quản lý nguy cơ tim mạch, quản lý lượng đường trong máu cũng như xác định và quản lý các biến chứng lâu dài.⁶ Hiện nay, bên cạnh sự phát triển của các thuốc hóa dược trong điều trị ĐTĐ typ 2, các thuốc có nguồn gốc thảo dược cũng được quan tâm phát triển. Thuốc thảo dược chủ yếu được sử dụng để điều trị bệnh ĐTĐ typ 2 thông qua các đặc tính chống viêm, chống oxy hóa, điều hòa lipid máu và chống tăng đường huyết.⁷

Với mong muốn tạo ra chế phẩm y học cổ truyền có tác dụng hỗ trợ điều trị ĐTĐ typ 2 và tiện lợi cho người bệnh khi sử dụng, viên nén Vương Đường Khang được bào chế từ các dược liệu đã được nghiên cứu trên thực nghiệm

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Tú

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: thanhtu@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 08/01/2024

Ngày được chấp nhận: 30/01/2024

có tác dụng cải thiện đường huyết.⁸⁻¹³ Vương Đường Khang được sản xuất tại Công ty TNHH Công nghệ Dược phẩm Lotus, kiểm nghiệm đạt tiêu chuẩn cơ sở và được cấp số TNCB: 8678/2020/ĐKSP dưới dạng thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Để khẳng định tính an toàn của viên nén Vương Đường Khang, từ đó có cơ sở để sử dụng chế phẩm trên người bệnh, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: *Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của viên nén Vương Đường Khang trên thực nghiệm.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Chất liệu nghiên cứu

Thành phần trong 1 viên nén Vương Đường Khang gồm: cao thạch斛 (*dendrobium sp*) 120mg; cao giảo cổ lam (*gynostemma sp*) 100mg; cao đơn kim (*bidens pilosa*) 100mg; cao bông ổi (*lantana camara*) 80mg; cao bọ mảy (*clerodendrum cyrtophyllum*) 80mg; cao bông bong (*lygodium flexuosum*) 60mg; cao dây thìa canh (*gymnema sylvestris*): 40mg; Phụ liệu: Tinh bột, Lactose, Cellulose vi tinh thể, chất chống dính (magnesi stearat, bột talc) vừa đủ 1 viên. Khối lượng viên nén 750mg ($\pm 7,5\%$).

Liều dùng dự kiến trên người: 4 viên/ngày (tương đương 3.000 mg/ngày).

2. Đối tượng

Nghiên cứu độc tính cấp: Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng $20 \pm 2g$ do Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm 7 ngày trước khi nghiên cứu tại Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột, uống nước tự do.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn: Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng $180 \pm 20g$ do Viện vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Động vật thí

nghiệm được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống tại Bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

3. Phương pháp

Nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Vương Đường Khang theo đường uống trên chuột nhắt trắng theo hướng dẫn của WHO và xác định LD₅₀ theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon.^{14,15} Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm. Chuột được chia thành 10 lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống viên nén Vương Đường Khang với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột. Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó, xây dựng đồ thị để xác định LD₅₀ của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống viên nén Vương Đường Khang.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nén Vương Đường Khang trên chuột cống trắng theo đường uống theo hướng dẫn của WHO về thuốc có nguồn gốc dược liệu.¹⁵ Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 3 lô: Lô chứng (n = 10): Uống nước cất 10 ml/kg/ngày. Lô trị 1 (n = 10): Uống viên nén Vương Đường Khang liều 0,36 g/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến trên người, tính theo hệ số 6). Lô trị 2 (n = 10): Uống viên nén Vương Đường Khang liều 1,08 g/kg/ngày (gấp 3 lần lô trị 1). Chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử trong 90 ngày liên tục, mỗi ngày 1 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 hóa trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần; Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzyme alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) trong máu; Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh. Các thông số được kiểm tra vào thời điểm trước lúc uống (T0), sau 30 ngày (T30), sau 60 ngày (T60) và sau 90 ngày (T90) uống nước cất hoặc thuốc

thử. Đánh giá mô bệnh học được thực hiện tại T90. 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. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện 103.

Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo thuật toán thống kê t-test Student và test trước – sau. Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Vương Đường Khang

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Vương Đường Khang

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (Viên/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	30	14	0	Không
Lô 2	10	45	21	0	Không
Lô 3	10	60	28	0	Không
Lô 4	10	75	35	0	Không

Chuột được uống viên nén Vương Đường Khang liều từ 30 ml/kg tương đương 14 viên/kg đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 26,25 g/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

2. Kết quả độc tính bán trường diễn của viên nén Vương Đường Khang

Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nén Vương Đường Khang đến thể trọng chuột

Thời gian	Lô chứng (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	p
T0	190,00 ± 8,16	191,50 ± 8,83	194,00 ± 6,99	> 0,05
T30	214,00 ± 14,30	207,50 ± 17,52	212,00 ± 18,14	> 0,05
p (T0 - T30)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

của chuột

- *Tình trạng chung của chuột:* Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở cả 3 lô hoạt động bình thường, ăn uống tốt, nhanh nhẹn, lông mượt, mắt sáng, phân khô.

- *Sự thay đổi thể trọng chuột:*

Thời gian	Lô chứng (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	p
T60	228,00 ± 19,47	216,50 ± 25,17	223,50 ± 20,28	> 0,05
p (T0 - T60)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	
Sau 90 ngày	242,50 ± 23,24	239,50 ± 27,13	238,50 ± 21,09	> 0,05
p (T0 - T90)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

Sau 30 ngày, 60 ngày và 90 ngày uống Vương Đường Khang, trọng lượng chuột ở cả ở lô chứng và lô nghiên cứu tăng so với trước

khi nghiên cứu. Sự khác biệt về trọng lượng giữa lô chứng và các lô nghiên cứu không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Đánh giá chức năng tạo máu

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nén Vương Đường Khang đến chức năng tạo máu

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	p
Số lượng hồng cầu (T/l)	T0	8,54 ± 1,17	8,71 ± 1,15	8,75 ± 1,42	> 0,05
	T30	8,54 ± 1,17	8,71 ± 1,15	8,75 ± 1,42	> 0,05
	T60	8,09 ± 1,18	8,12 ± 1,02	8,33 ± 1,30	> 0,05
	T90	9,03 ± 1,28	9,16 ± 0,81	9,21 ± 1,13	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Số lượng bạch cầu (G/l)	T0	6,74 ± 1,52	6,21 ± 1,33	6,13 ± 1,11	> 0,05
	T30	6,32 ± 1,65	6,08 ± 1,08	5,67 ± 1,04	> 0,05
	T60	6,63 ± 1,34	6,14 ± 1,18	5,71 ± 1,17	> 0,05
	T90	7,51 ± 1,63	6,58 ± 0,90	6,60 ± 1,35	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Số lượng tiểu cầu (G/l)	T0	528,60 ± 90,20	519,80 ± 83,42	531,50 ± 99,72	> 0,05
	T30	582,80 ± 82,41	518,60 ± 93,10	546,40 ± 119,06	> 0,05
	T60	615,60 ± 18,90	525,10 ± 92,05	524,00 ± 97,86	> 0,05
	T90	519,40 ± 85,77	564,50 ± 98,75	568,40 ± 98,79	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 30 ngày, 60 ngày và 90 ngày, số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu ở cả 2 lô nghiên cứu khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với trước khi uống thuốc thử ($p > 0,05$). Ngoài ra, hàm lượng huyết sắc tố,

hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, công thức bạch cầu ở cả 2 lô nghiên cứu khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với trước khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan**Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nén Vương Đường Khang đến hoạt độ AST, ALT trong máu chuột**

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	p
Hoạt độ AST(U/l)	T0	76,80 ± 7,83	75,40 ± 11,66	78,10 ± 10,56	> 0,05
	T30	72,30 ± 8,97	68,70 ± 9,86	73,90 ± 9,10	> 0,05
	T60	71,80 ± 10,13	69,00 ± 11,37	70,40 ± 8,77	> 0,05
	T90	80,70 ± 11,03	79,30 ± 9,90	79,70 ± 9,76	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Hoạt độ ALT(U/l)	T0	31,20 ± 4,96	29,10 ± 3,67	32,30 ± 4,85	> 0,05
	T30	30,30 ± 6,68	29,50 ± 4,20	27,10 ± 5,95	> 0,05
	T60	31,80 ± 5,22	34,20 ± 7,38	32,80 ± 5,73	> 0,05
	T90	33,90 ± 7,14	32,00 ± 2,87	33,30 ± 4,08	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 30 ngày, 60 ngày và 90 ngày, hoạt độ AST và hoạt độ ALT ở cả 2 lô nghiên cứu đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô

chứng và so với thời điểm trước khi uống thuốc thử (p > 0,05).

Đánh giá chức năng gan, chức năng thận

Bảng 5. Ảnh hưởng của viên nén Vương Đường Khang đến nồng độ bilirubin toàn phần, albumin, creatinin trong máu chuột

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	p
Bilirubin toàn phần (mmol/l)	T0	10,62 ± 1,30	10,67 ± 1,46	10,53 ± 1,55	> 0,05
	T30	11,07 ± 1,44	10,57 ± 1,19	10,03 ± 1,06	> 0,05
	T60	10,15 ± 1,23	9,93 ± 1,17	10,25 ± 1,03	> 0,05
	T90	10,48 ± 1,17	9,90 ± 0,89	9,96 ± 1,26	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Albumin (g/dl)	T0	2,63 ± 0,15	2,70 ± 0,18	2,60 ± 0,32	> 0,05
	T30	2,53 ± 0,18	2,68 ± 0,20	2,67 ± 0,22	> 0,05
	T60	2,47 ± 0,23	2,55 ± 0,26	2,32 ± 0,22	> 0,05
	T90	2,66 ± 0,19	2,72 ± 0,21	2,65 ± 0,20	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Chỉ số	Thời gian	Lô chứng (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 1 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	Lô trị 2 (n = 10; $\bar{X} \pm SD$)	p
Cholesterol toàn phần (mmol/l)	T0	1,22 ± 0,19	1,20 ± 0,18	1,23 ± 0,19	> 0,05
	T30	1,25 ± 0,13	1,21 ± 0,26	1,18 ± 0,17	> 0,05
	T60	1,28 ± 0,16	1,16 ± 0,13	1,31 ± 0,19	> 0,05
	T90	1,32 ± 0,17	1,29 ± 0,14	1,40 ± 0,21	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Creatinin (mg/dl)	T0	0,82 ± 0,12	0,80 ± 0,12	0,86 ± 0,17	> 0,05
	T30	0,84 ± 0,10	0,87 ± 0,13	0,83 ± 0,13	> 0,05
	T60	0,83 ± 0,16	0,85 ± 0,19	0,80 ± 0,16	> 0,05
	T90	0,80 ± 0,14	0,81 ± 0,13	0,84 ± 0,17	> 0,05
	p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 30 ngày, 60 ngày và 90 ngày, nồng độ bilirubin toàn phần, nồng độ cholesterol toàn phần, hàm lượng albumin và creatinin trong máu chuột ở cả 2 lô nghiên cứu đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với thời điểm trước khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Hình ảnh đại thể và vi thể sau 90 ngày nghiên cứu

Hình ảnh đại thể: Trên tất cả các chuột nghiên cứu (cả lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hoá của chuột.

Hình ảnh vi thể: Sau 90 ngày uống viên nén Vương Đường Khang liều 0,36 g/kg/ngày và liều 1,08 g/kg/ngày, cấu trúc vi thể gan, thận của 2 lô chuột uống thuốc thử đều không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng.

IV. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu từ bảng 1 cho thấy, chuột nhất được uống viên nén Vương Đường Khang với liều tăng dần đến liều tối đa có thể dung nạp được nhằm nghiên cứu độc tính cấp và xác định

LD_{50} của chế phẩm. Với liều dung nạp tối đa của viên nén Vương Đường Khang là 26,25 g/kg, không có chuột nào có biểu hiện bất thường. Như vậy, tính trên người trưởng thành 50kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhất trắng là 12, liều tối đa 3 g/ngày/người, cho chuột uống Viên nén Vương Đường Khang ở liều gấp 36,45 lần liều trên người nhưng không có độc tính cấp và không xác định được LD_{50} . Một số thành phần của viên nén Vương Đường Khang đã được nghiên cứu về độc tính cấp với các dạng chiết xuất khác nhau. Dịch chiết nước của giảo cổ lam đã được điều chế và chuẩn hóa, bột khô thu được 6% gypenosides. Trong thử nghiệm độc tính cấp tính qua đường miệng, liều uống duy nhất 5000 mg/kg chiết xuất giảo cổ lam được dùng cho chuột cái *Sprague-Dawley* không gây tử vong hoặc bất kỳ dấu hiệu độc hại nào.¹⁶ Nghiên cứu độc tính của dịch chiết metanol của các bộ phận khác nhau (rễ, thân, lá, hoa và quả) của bông ổi. Tất cả các dịch chiết được thử nghiệm đều cho thấy độc tính rất thấp đối với ấu trùng tôm ngâm nước muối. Đồng thời, kết quả cho thấy chiết xuất từ rễ của bông ổi có thể có tiềm năng làm chất chống ung thư.¹⁷ Nghiên

cứu độc tính cấp của chiết xuất metanol từ dây thìa canh cho thấy các phần metanol thô, etyl axetat và n-hexan của dây thìa canh có LD50 lớn hơn 5000 mg/kg trong thử nghiệm độc tính cấp tính qua đường miệng.¹⁸ Trong nghiên cứu của chúng tôi, với lượng thuốc tối đa chuột có thể dung nạp được (26,25 g/kg, với hàm lượng cao dây thìa canh toàn phần là 1400 mg/kg) không có chuột nào có biểu hiện độc tính cấp và không tính được LD50.

Khi đánh giá tính an toàn của thuốc cổ truyền trên thực nghiệm thì tình trạng chung, trọng lượng cơ thể và các chỉ số huyết học là những xét nghiệm bắt buộc khi đánh giá độc tính của thuốc thử.^{15,19} Kết quả nghiên cứu cho thấy, viên nén Vương Đường Khang không làm ảnh hưởng đến tình trạng chung và sự thay đổi trọng lượng của chuột.

Máu là một tổ chức rất quan trọng vì máu liên quan mật thiết với mọi bộ phận, cơ quan trong cơ thể. Về mặt bệnh lý, máu chịu ảnh hưởng của tất cả các tổ chức đó nhưng đồng thời cũng bị ảnh hưởng và phản ánh tình trạng riêng của cơ quan tạo máu.¹⁵ Nếu thuốc có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết các thành phần của máu sẽ bị thay đổi. Vì vậy, các xét nghiệm về số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, công thức bạch cầu chuột cống trắng thí nghiệm được xác định. Sau 90 ngày được uống viên nén Vương Đường Khang liên tục, các chỉ số trên của chuột cống ở cả hai lô trị đều thay đổi không có ý nghĩa so với trước khi dùng thuốc ($p > 0,05$) và so với lô chứng ở cùng thời điểm. Như vậy, viên nén Vương Đường Khang không thể hiện độc tính trên cơ quan tạo máu.

Trong cơ thể, gan là cơ quan lớn nhất đảm nhận nhiều chức năng quan trọng như chuyển hóa, hóa sinh, tiêu hóa, khử độc và loại bỏ các sản phẩm chuyển hóa ra khỏi cơ thể. Do đảm

nhận nhiều chức phận chuyển hóa, là cửa ngõ của các chất vào cơ thể qua bộ máy tiêu hóa nên gan là một cơ quan dễ bị nhiễm bệnh. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết.¹⁵ Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh được định lượng và đánh giá. Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan. Trong nghiên cứu của chúng tôi, sau 90 ngày chuột được cho uống thuốc, hoạt độ ALT, AST và các chỉ số đánh giá chức năng gan (bilirubin toàn phần, cholesterol toàn phần và albumin) ở cả 2 lô nghiên cứu đều nằm trong giới hạn bình thường.

Thận là cơ quan tiết niệu, có vai trò quan trọng bậc nhất để đảm bảo sự hằng tính nội môi. Nhu mô thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh.¹⁵ Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể thuốc có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. Nồng độ creatinin trong máu chuột cống trắng sau uống viên nén Vương Đường Khang không có sự thay đổi khác biệt với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Viên nén Vương Đường Khang được bào chế từ nhiều vị thuốc có tác dụng hạ đường huyết trên thực nghiệm. Một số vị thuốc trong viên nén Vương Đường Khang đã được nghiên cứu độc tính bán cấp. Nghiên cứu chiết xuất nước của giao cổ lam trên chuột *Wistar* trong thời gian 24 tuần với liều 6, 30, 150, 750 và 750 mg/kg/ngày trong 24 tuần. Kết quả cho thấy giao cổ lam không tạo ra bất kỳ thay đổi đáng kể nào liên quan đến liều lượng.²¹ Bên cạnh đó, vị thuốc đơn kim trong Vương Đường Khang cũng được nghiên cứu bằng đường uống trên

chuột trong 24 tuần ở liều 0%, 0,5%, 2,5%, 5% và 10% thực phẩm. Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về tỷ lệ tử vong, trọng lượng cơ thể, trọng lượng cơ quan, lượng thức ăn, lượng nước tiêu thụ, huyết học, sinh hóa, nước tiểu, nhiễm độc gen và mô bệnh học giữa chuột lô chứng sinh lý và chuột các lô nghiên cứu ngoại trừ trọng lượng cơ thể và lượng thức ăn ăn vào thấp hơn đáng kể ở những con đực cho ăn đơn kim với 10% thực phẩm.²² Ngoài ra, đơn kim cũng được nghiên cứu cho thấy có tác dụng bảo vệ gan, thận của chuột bị nhiễm độc do carbon tetrachloride gây ra.²³ Nghiên cứu độc tính bán cấp được phân lập từ lá bông ổi trên mô hình động vật thí nghiệm ở chuột lang trong 28 ngày với các liều 100, 50, 25 và 12,5 mg/kg. Kết quả nghiên cứu cho thấy chiết xuất từ bông ổi tạo ra độc tính phụ thuộc vào liều lượng và mức liều 25 mg/kg trọng lượng cơ thể là liều độc tính bán cấp gây ra tình trạng xơ hóa và hoại tử đáng kể ở gan của chuột lang.²⁴ Bên cạnh đó, nghiên cứu độc tính bán cấp của chiết xuất thô từ dây thìa canh cho thấy dịch chiết và các phần phân đoạn ở liều 300 và 600 mg/kg làm giảm trọng lượng cơ thể của chuột, làm thay đổi đáng kể mức độ của các chỉ số sinh hóa bao gồm AST, ALT, phosphat kiềm, bilirubin, protein, urê, creatinine và số lượng bạch cầu khi so sánh với nhóm đối chứng không được điều trị. Tuy nhiên, dịch chiết và các phần phân đoạn ở mức 100 mg/kg BW không gây ra bất kỳ thay đổi đáng kể nào đối với các thông số sinh hóa và huyết học khi so sánh với đối chứng. Nghiên cứu đã đề xuất sử dụng dây thìa canh để điều trị bằng đường uống với liều 100 mg/kg hoặc thấp hơn.¹⁸

V. KẾT LUẬN

Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng của Viên nén Vương Đường Khang trên đường uống. Viên nén Vương Đường Khang ở liều 26,25 g/kg (liều gấp 36,45 lần liều dùng

dự kiến trên người) không có độc tính cấp trên chuột nhắt theo đường uống.

Viên nén Vương Đường Khang không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng khi uống viên nén Vương Đường Khang liều 0,36 g/kg/ngày và liều 1,08 g/kg/ngày liên tục trong 90 ngày. Tất cả các chỉ số theo dõi về tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, chức năng gan, mức độ hủy hoại tế bào gan, chức năng thận, nồng độ glucose máu và mô bệnh học gan, thận đều nằm trong giới hạn bình thường, không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Banday MZ, Sameer AS, Nissar S. Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna J Med.* 2020; 10(4): 174-188. doi:10.4103/ajm.ajm_53_20.
2. Diabetes. Accessed January 8, 2024. <https://www.who.int/health-topics/diabetes>.
3. Magliano DJ, Boyko EJ, IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee. *IDF DIABETES ATLAS*. 10th ed. International Diabetes Federation; 2021. Accessed January 5, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK581934/>.
4. Ngoc NB, Lin ZL, Ahmed W. Diabetes: What Challenges Lie Ahead for Vietnam? *Ann Glob Health.* 86(1):1. doi:10.5334/aogh.2526
5. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*. International Diabetes Federation; 2015.
6. Overview | Type 2 diabetes in adults: management | Guidance | NICE. Published December 2, 2015. Accessed January 6, 2024. <https://www.nice.org.uk/guidance/ng28>.
7. Pang GM, Li FX, Yan Y, et al. Herbal medicine in the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus. *Chin Med J*

- (Engl). 2019; 132(1): 78-85. doi:10.1097/CM9.0000000000000006.
8. Park M ji, Lee YJ. A study on Anti-diabetic Mechanism of Ethanol Extract of Dendrobii Herba. *J Digit Converg*. 2019; 17(7): 275-284. doi:10.14400/JDC.2019.17.7.275.
9. Pothuraju R, Sharma RK, Chagalamarri J, Jangra S, Kumar Kavadi P. A systematic review of *Gymnema sylvestre* in obesity and diabetes management. *J Sci Food Agric*. 2014; 94(5): 834-840. doi:10.1002/jsfa.6458.
10. Nath A, Shibli M, Arumugam S. Anti-hyperglycemic and Anti-oxidant activities of Ethanolic extract of *Lantana camara* Leaves. *Int J Front Life Sci Res*. 2021; 1:5-15. doi:10.53294/ijflsr.2021.1.2.0043.
11. Hsu YJ, Lee TH, Chang CLT, Huang YT, Yang WC. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. *J Ethnopharmacol*. 2009; 122(2): 379-383. doi:10.1016/j.jep.2008.12.027.
12. Yang WC. Botanical, Pharmacological, Phytochemical, and Toxicological Aspects of the Antidiabetic Plant *Bidens pilosa* L. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014; 2014: e698617. doi:10.1155/2014/698617.
13. Chen Y, Yang Q, Zhang Y. *Lycopodium japonicum*: A comprehensive review on its phytochemicals and biological activities. *Arab J Chem*. 2020; 13. doi:10.1016/j.arabjc.2020.03.023.
14. Litchfield J T & Wilcoxon F A. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 96:99-113, 1949.
15. Organization WH. Working group on the safety and efficacy of herbal medicine. *Rep Reg Off West Pac World Health Organ*. Published online 2000.
16. Chiranthanut N, Teekachunhatean S, Panthong A, Khonsung P, Kanjanapothi D, Lertprasertsuk N. Toxicity Evaluation of Standardized Extract of *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *J Ethnopharmacol*. 2013; 149. doi:10.1016/j.jep.2013.06.027.
17. Pour BM, Sasidharan S. In vivo toxicity study of *Lantana camara*. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2011; 1(3): 230-232. doi:10.1016/S2221-1691(11)60033-6.
18. Raji RO, Muhammad HL, Abubakar A, Maikai SS, Raji HF. Acute and sub-acute toxicity profile of crude extract and fractions of *Gymnema sylvestre*. *Clin Phytoscience*. 2021; 7(1): 56. doi:10.1186/s40816-021-00290-4.
19. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Accessed September 29, 2022. <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9290611103>.
20. Kim YG, Yang GH, Cho SI. Anti-oxidative Effects of *Dendrobii Herba* on Toxic Agent Induced Kidney Cell Injury. *Korea J Herbol*. 2005; 20(4): 53-60.
21. Attawish A, Chivapat S, Phadungpat S, et al. Chronic toxicity of *Gynostemma pentaphyllum*. *Fitoterapia*. 2004; 75(6): 539-551. doi:10.1016/j.fitote.2004.04.010.
22. Liang YC, Lin CJ, Yang CY, et al. Toxicity study of *Bidens pilosa* in animals. *J Tradit Complement Med*. 2020; 10(2): 150-157. doi:10.1016/j.jtcme.2019.04.002.
23. Pegoraro CMR, Nai GA, Garcia LA, et al. Protective effects of *Bidens pilosa* on hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by carbon tetrachloride in rats. *Drug Chem Toxicol*. 2021; 44(1): 64-74. doi:10.1080/01480545.2018.1526182.
24. Sub-acute toxicity of lantadenes isolated from *Lantana camara* leaves in guinea pig animal model | Comparative Clinical Pathology. Accessed January 7, 2024. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00580-015-2114-z>.

Summary

ACUTE AND SUB-CHRONIC TOXICITY OF VUONG DUONG KHANG TABLET

This study aimed to evaluate the acute and sub-chronic toxicity of Vuong Duong Khang tablet in the experimental animals. The acute toxicity was performed in Swiss mice based on the Litchfield - Wilcoxon method. The sub-chronic toxicity was evaluated in Wistar rats according to the World Health Organization's guidance. The results showed that the highest dose of Vuong Duong Khang tablet (26.25 g/kg b.w./day, 36.45 times as high as the maximal recommended human dose) did not show the acute oral toxicity in mice and the median lethal dose (LD50) was not determined. Administration of Vuong Duong Khang tablet at two doses: 0.36 g/kg b.w./day (equivalent to clinical dose) and 1.08 g/kg body weight (three times as high as the clinical dose) in 90 days did not produce any significant detrimental effect on the body weight, hematological and biochemical parameters, as well as the gross and microscopic images of the rats' liver and kidney, compared to the control group.

Keywords: Acute toxicity, sub - chronic toxicity, experimental animals, Vuong Duong Khang tablet.