

ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA VIÊN HOÀN TD0015 LÊN TRỌNG LƯỢNG VÀ XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thị Thanh Hà¹, Nguyễn Thị Hương Liên²
Phạm Thị Vân Anh¹ và Trần Quỳnh Trang^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Công ty cổ phần Sao Thái Dương

Viên hoàn TD0015 chứa các vị dược liệu có tác dụng giảm đau, chống viêm, và ức chế hủy sụn khớp. Do đó, TD0015 hướng đến chỉ định hỗ trợ điều trị các bệnh lý xương khớp. Nghiên cứu này được thực hiện theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới, nhằm đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn lên trọng lượng và chức năng tạo máu của TD0015 trên động vật thực nghiệm, theo đường uống. Độc tính cấp được đánh giá trên chuột nhắt trắng chủng Swiss và liều gây chết 50% chuột (LD50) được xác định theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn sử dụng chuột cống trắng chủng Wistar. Chuột được uống nước hoặc TD0015 liều 1,2 g/kg/ngày và 3,6 g/kg/ngày trong 90 ngày liên tục. Kết quả cho thấy, TD0015 có liều dung nạp tối đa là 37,5 g/kg/ngày, không gây độc tính cấp. Chưa xác định được LD50 của TD0015. Ngoài ra, sau 90 ngày, viên hoàn TD0015 ở cả hai liều không làm ảnh hưởng đến tình trạng chung, trọng lượng và các chỉ số huyết học ở chuột.

Từ khóa: TD0015, độc tính cấp, trọng lượng, chức năng tạo máu, động vật thực nghiệm.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viên hoàn TD0015 là sản phẩm kết hợp nhiều vị dược liệu như: Hoàng bá, Sinh địa, Tri mẫu, Bạch thược, Phòng phong, Tang ký sinh, Tàn giao, Độc hoạt, Tế tân... Phối hợp này đã được gia giảm dựa trên bài cổ phương Độc hoạt tang ký sinh, với các vị dược liệu đã được chứng minh có tác dụng giảm đau, chống viêm, ức chế hủy sụn khớp...¹⁻⁶ Do đó, TD0015 đã được phát triển với mục đích hỗ trợ điều trị các bệnh xương khớp, bao gồm thoái hóa khớp trên lâm sàng.

Bệnh lý xương khớp thường là các bệnh mạn tính, có thời gian sử dụng thuốc kéo dài. Vì vậy, việc xác định ảnh hưởng toàn thân, bao gồm độc tính cấp, trọng lượng, hoạt động

hàng ngày và chức năng tạo máu của viên hoàn TD0015 là rất quan trọng, góp phần phát hiện các tác dụng không mong muốn hoặc độc tính của sản phẩm khi sử dụng trên lâm sàng. Các vị dược liệu có trong TD0015 đều đã được chứng minh tính an toàn khi sử dụng riêng rẽ, tuy nhiên đến nay chưa có nghiên cứu vào đánh giá ảnh hưởng lên toàn thân khi phối hợp các thành phần này với nhau.

Để tạo cơ sở khoa học cho việc xác định tính an toàn của TD0015, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: *Xác định độc tính cấp và ảnh hưởng của viên hoàn TD0015 lên trọng lượng và một số xét nghiệm huyết học trên động vật thực nghiệm.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Chế phẩm nghiên cứu

TD0015 dạng hoàn cứng, gồm: Hoàng

Tác giả liên hệ: Trần Quỳnh Trang

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tranquynhtrang@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 26/07/2024

Ngày được chấp nhận: 16/08/2024

bá 2,26g; Sinh địa 0,7g; Tri mẫu 0,31g; Bạch thược 0,77g; Quy bản 2,97g; Phục linh 0,47g; Đỗ trọng 0,47g; Cao xương hổn hợp 0,7g; Đương quy 0,34g; Đảng sâm 0,34g; Phòng phong 0,23g; Tang ký sinh 0,23g; Tần giao 0,23g; Ngưu tất 0,03g; Trần bì 0,22g; Xuyên khung 0,17g; Cam thảo 0,12g; Độc hoạt 0,17g; Quế chi 0,08g; Tế tân 0,08g. Sản phẩm được sản xuất theo tiêu chuẩn cơ sở tại công ty cổ phần Sao Thái Dương, với các thành phần đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V, đóng thành dạng gói với 5 g/gói.

Liều dùng trên người dự kiến là 10g hoàn/ngày, tương đương 2 gói/ngày. Thuốc được nghiền trong cối sứ, pha với nước cất trước khi cho động vật uống.

Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 20 ± 2 g, do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột cống trắng chủng *Wistar*, 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 200 ± 20 g, do Học viện Quân y cung cấp. Chuột được nuôi 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn, nước uống tự do, với điều kiện nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng thích hợp tại bộ môn Dược lý - Trường Đại học Y Hà Nội.

2. Phương pháp

Đánh giá độc tính cấp của viên hoàn TD0015

Nghiên cứu được tiến hành theo hướng dẫn của Tổ chức y tế thế giới và của Bộ y tế Việt Nam về thuốc có nguồn gốc dược liệu.⁷ Liều gây chết 50% chuột (LD_{50}) của TD0015 được xác định bằng đường uống theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon.⁸

Trước nghiên cứu, chuột nhắt trắng được nhịn ăn qua đêm. Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con, và được uống thuốc thử theo liều tăng dần. Sau uống, tiến hành xác định liều cao nhất không gây chết chuột (0%),

liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100%) và các liều trung gian. Theo dõi tình trạng chung của chuột và số lượng chuột chết ở các lô trong 72 giờ sau khi uống thuốc thử. Chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó, tiến hành xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD_{50} của thuốc thử. Tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi dùng thuốc nghiên cứu.

Đánh giá ảnh hưởng của viên hoàn TD0015 lên trọng lượng và một số chỉ số xét nghiệm huyết học phản ánh chức phận tạo máu

Nghiên cứu được tiến hành theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới về thuốc có nguồn gốc dược liệu.⁹ Theo đó, chuột cống trắng được chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô chứng: uống nước cất 1 ml/100 g/ngày.
- Lô trị 1: uống TD0015 liều 1,2 g/kg/ngày (tương đương liều lâm sàng dự kiến, tính trên chuột cống với hệ số 6).
- Lô trị 2: uống TD0015 liều 3,6 g/kg/ngày (gấp 3 liều lâm sàng dự kiến).

Chuột được uống nước cất hoặc thuốc trong 90 ngày, mỗi ngày một lần vào buổi sáng. Ảnh hưởng lên trọng lượng, chức năng tạo máu của viên hoàn cứng TD0015 liều 1,2 g/kg/ngày và liều 3,6 g/kg/ngày dùng theo đường uống, liên tục trong 90 ngày trên chuột cống trắng được đánh giá thông qua các chỉ số sau:

- Đánh giá tình trạng toàn thân và cân nặng chuột.
- Chức phận tạo máu gồm:
 - + Số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu.
 - + Số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu.
 - + Số lượng tiểu cầu.

Các thông số được đánh giá tại các thời điểm: trước khi uống thuốc, sau 30 ngày, 60 ngày, và 90 ngày uống thuốc. Máu được lấy

từ tĩnh mạch đùi và được phân tích các chỉ số huyết học bằng máy Veterinary Hematology Analyzer (Exigo-Boule Medical AB, Thụy Điển).

Xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Excel 2019 và SPSS 20.0. Sử dụng test kiểm định One-way ANOVA và hậu kiểm TUKEY, Paired-samples t-test. Số liệu biểu diễn dưới dạng $\bar{x} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Dụng cụ, trang thiết bị và hóa chất nghiên cứu

- Hóa chất phục vụ nghiên cứu
- Nước cất (VietChem, Việt Nam).

Các dung dịch xét nghiệm máu của hãng Exigo-Boule Medical AB (Thụy Điển).

- Trang thiết bị phục vụ nghiên cứu
- + Máy xét nghiệm huyết học Veterinary Hematology Analyzer của hãng Exigo-Boule Medical AB (Thụy Điển).
- + Cân phân tích LX220A Precisa (Thụy Sĩ).

+ Cân kỹ thuật Precisa LX2200c (Thụy Sĩ).

III. KẾT QUẢ

1. Độc tính cấp của TD0015 theo đường uống

Chuột nhất trắng được uống thuốc thử TD0015 từ liều thấp nhất đến liều cao nhất có thể cho uống bằng kim chuyên dụng. Lô chuột đã uống đến liều 37,5 g/kg thể trọng chuột. Theo dõi thấy các lô không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử và sau 7 ngày.

Mối tương quan giữa liều dùng TD0015 và tỷ lệ chuột chết ở các lô tương ứng được thể hiện trong Bảng 1. Kết quả cho thấy các lô chuột uống TD0015 từ liều thấp nhất đến liều cao nhất có thể cho uống đều không có biểu hiện độc tính cấp. Do đó, chưa xác định được LD₅₀ của TD0015 trên chuột nhất trắng theo đường uống bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon.

Bảng 1. Mối tương quan giữa liều dùng TD0015 và tỷ lệ chuột chết

Lô chuột	n	Liều (g được liều/kg thể trọng)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	15,0	0	Không
Lô 2	10	22,5	0	Không
Lô 3	10	30,0	0	Không
Lô 4	10	37,5	0	Không

2. Ảnh hưởng của TD0015 lên tình trạng chung và một số xét nghiệm huyết học

Tình trạng chung và trọng lượng của chuột

Trong thời gian nghiên cứu, chuột ở lô chứng sinh học và lô uống TD0015 cả 2 liều đều hoạt động bình thường, ăn uống tốt, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, phân khô. Không thấy biểu hiện bất thường ở cả 3 lô chuột trong suốt thời gian nghiên cứu.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy: Sau 30 ngày, 60

ngày và 90 ngày, trọng lượng chuột ở lô chứng sinh học đều tăng lên rõ rệt so với trước khi nghiên cứu ($p < 0,05$). Sau 30 ngày uống thuốc thử, cân nặng của chuột uống TD0015 liều 1,2 g/kg và 3,6 g/kg tăng có ý nghĩa so với trước nghiên cứu, không có sự khác biệt so với lô chứng. Ở thời điểm sau 60 ngày và 90 ngày uống thuốc, cả 2 lô uống TD0015 đều giảm cân so với thời điểm sau 30 ngày và chỉ tăng nhẹ so với trước khi nghiên cứu ($p > 0,05$). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của TD0015 lên thể trọng chuột cống trắng

Thời gian	Lô chứng (n = 10)		Lô trị 1 (n = 10)		Lô trị 2 (n = 10)		p giữa các lô
	Trọng lượng (g)	% tăng	Trọng lượng (g)	% tăng	Trọng lượng (g)	% tăng	
Trước uống thuốc	186,50 ± 21,35	-	184,50 ± 21,66	-	187,00 ± 20,58		> 0,05
Sau 30 ngày uống thuốc	202,00 ± 16,87*	8,3	198,00 ± 27,41*	7,3	200,00 ± 25,50*	7,0	> 0,05
Sau 60 ngày uống thuốc	205,00 ± 13,54*	9,9	189,50 ± 20,61	2,7	190,50 ± 26,92	1,9	> 0,05
Sau 90 ngày uống thuốc	219,00 ± 12,87*	17,4	191,00 ± 32,81	3,5	188,00 ± 31,55	0,5	< 0,05

*p < 0,05: p so với trước khi uống thuốc

Một số xét nghiệm huyết học phản ánh chức phận tạo máu của chuột

Bảng 3. Ảnh hưởng của TD0015 lên số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố ở chuột cống trắng

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/l)			Hàm lượng huyết sắc tố (G/l)			p giữa các lô
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
	Trước uống thuốc	7,43 ± 0,61	7,48 ± 0,52	7,26 ± 0,91	12,62 ± 1,57	12,84 ± 1,13	
Sau 30 ngày	7,50 ± 0,82	7,06 ± 0,60	7,20 ± 0,78	12,17 ± 1,05	12,20 ± 1,01	11,55 ± 0,71	> 0,05
Sau 60 ngày	7,71 ± 0,75	7,96 ± 0,75	7,59 ± 0,75	13,05 ± 0,78	12,61 ± 1,36	12,14 ± 1,32	> 0,05
Sau 90 ngày	7,72 ± 0,82	7,94 ± 0,78	7,51 ± 0,85	12,66 ± 0,56	12,53 ± 1,21	12,37 ± 1,13	> 0,05

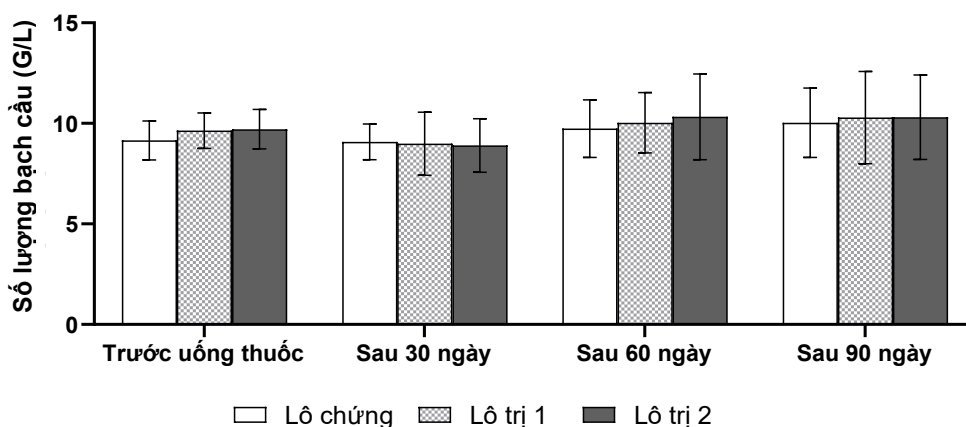
Bảng 4. Ảnh hưởng của TD0015 lên hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu ở chuột cống trắng

Thời gian	Hematocrit (%)			Thể tích trung bình hồng cầu (fl)			p giữa các lô
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	36,09 ± 4,75	37,66 ± 3,38	36,06 ± 3,71	48,84 ± 1,47	47,75 ± 4,38	48,61 ± 2,96	

Thời gian	Hematocrit (%)			Thể tích trung bình hồng cầu (fl)			p giữa các lô
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Sau 30 ngày	35,20 ± 3,17	34,86 ± 2,21	33,75 ± 2,37	47,24 ± 4,64	48,18 ± 3,14	45,18 ± 5,49	> 0,05
Sau 60 ngày	38,08 ± 2,18	36,86 ± 3,97	35,99 ± 3,86	46,64 ± 3,17	46,25 ± 1,76	47,13 ± 2,26	> 0,05
Sau 90 ngày	37,17 ± 3,50	36,90 ± 3,70	35,79 ± 3,09	47,40 ± 1,78	46,50 ± 2,17	47,42 ± 1,73	> 0,05

Kết quả ở Bảng 3 và 4 cho thấy: Sau 30 ngày, 60 ngày và 90 ngày uống thuốc liên tục, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu

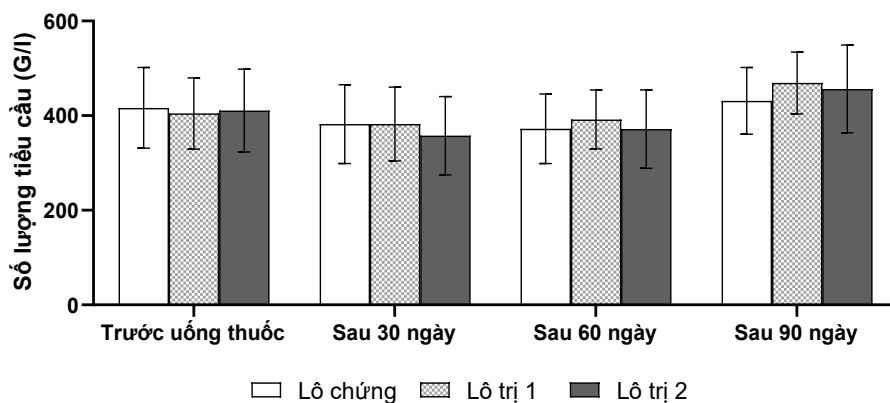
ở chuột cống trắng cả lô trị 1 và lô trị 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với trước khi dùng thuốc (p > 0,05).



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của TD0015 lên số lượng bạch cầu ở chuột cống trắng

Bảng 5. Ảnh hưởng của TD0015 lên công thức bạch cầu ở chuột cống trắng

Thời gian	% bạch cầu lympho			% bạch cầu trung tính			p giữa các lô
	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)	
Trước uống thuốc	71,44 ± 9,83	66,98 ± 7,24	65,07 ± 6,46	28,56 ± 9,83	33,02 ± 7,24	34,93 ± 6,46	
Sau 30 ngày	70,75 ± 8,94	66,36 ± 6,87	66,73 ± 7,86	29,25 ± 8,94	33,64 ± 6,87	33,27 ± 7,86	> 0,05
Sau 60 ngày	69,24 ± 7,97	65,71 ± 9,31	63,92 ± 8,23	30,76 ± 7,97	34,29 ± 9,31	36,08 ± 8,23	> 0,05
Sau 90 ngày	74,70 ± 7,86	73,50 ± 8,00	72,60 ± 7,97	25,30 ± 7,86	26,50 ± 8,00	27,40 ± 7,97	> 0,05



Biểu đồ 2. Ảnh hưởng của TD0015 lên số lượng tiểu cầu ở chuột cống trắng

Kết quả ở các Biểu đồ 1, 2 và Bảng 5 cho thấy: sau 30 ngày, 60 ngày và 90 ngày uống thuốc liên tục, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, và số lượng tiểu cầu ở chuột cống trắng cả lô trị 1 và lô trị 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so với trước khi uống thuốc ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

TD0015 là một phối hợp chứa nhiều vị dược liệu hứa hẹn khả năng hỗ trợ điều trị các bệnh lý cơ xương khớp, đặc biệt là các tình trạng mạn tính. Trên cơ sở đó, nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện nhằm cung cấp thêm thông tin về tính an toàn của TD0015, tạo tiền đề cho việc sử dụng sản phẩm trên lâm sàng.

Xác định độc tính cấp của một thuốc mới, dược liệu mới hay phối hợp dược liệu là rất cần thiết, góp phần xác định triệu chứng ngộ độc, thời gian ngộ độc, từ đó ước tính được mức độ gây độc của thuốc thử sau khi sử dụng. Nghiên cứu độc tính cấp thường sử dụng đường dùng giống với đường dùng dự kiến trên lâm sàng, để xác định các chỉ số bao gồm: liều an toàn; liều dung nạp tối đa; liều gây ra độc tính có thể quan sát được; liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có); LD_{50} (liều gây chết 50% số động vật thực nghiệm) gần, và những tác dụng không mong muốn điển hình

có thể quan sát được trên động vật cũng như khả năng hồi phục nếu có.⁸

Động vật được sử dụng trong nghiên cứu độc tính cấp là chuột nhắt trưởng thành, 2 giống, với phương pháp tiến hành được thực hiện theo Litchfield - Wilcoxon.⁸ Độc tính của TD0015 có thể bị ảnh hưởng bởi độc tính của từng thành phần hay tương tác của các vị dược liệu trong bài. Một số nghiên cứu trên thế giới đã công bố LD_{50} của một vài hoạt chất, nhóm hoạt chất, dược liệu là thành phần trong TD0015.¹⁰ Nghiên cứu cho thấy hầu hết các vị thuốc trong TD0015 đều có LD_{50} lớn, ngay cả với đường dùng là đường tiêm. Khi phối hợp các vị thuốc này với nhau, không thể hiện độc tính cấp trên chuột nhắt trắng ở liều đã dùng, có thể do số lượng mỗi vị trong bài thuốc thấp hoặc tương tác giữa các vị thuốc đã làm giảm độc tính của mỗi vị.

Chuột nhắt uống TD0015 với liều tăng dần từ 15 g/kg/ngày đến 37,5 g/kg/ngày (liều lớn nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống được bằng kim đầu tù), nhưng không có chuột nào chết và không thấy biểu hiện bất thường nào ở chuột. Giá trị LD_{50} của TD0015 được ước tính > 37,5 g/kg thể trọng. Liều dùng khuyến cáo trên người là 10 g/ngày, liều ngoại suy tương đương sang chuột nhắt được tính ở trên là 2,4 g/kg/ngày. Như vậy, chuột nhắt trắng đã được uống

đến liều gấp 15,625 lần liều dùng trên người nhưng không có biểu hiện độc tính cấp.

Trong các dược liệu Y học cổ truyền, phần lớn các dược liệu phải dùng thời gian dài mới biểu hiện tác dụng hoặc tác dụng không mong muốn. Vì vậy, khi sử dụng các thuốc có nguồn gốc dược liệu kéo dài trên lâm sàng, việc nghiên cứu độc tính dài ngày là cần thiết và là yêu cầu bắt buộc để đảm bảo vấn đề đạo đức trong nghiên cứu y sinh. Theo hướng dẫn của Bộ Y tế, khi thuốc thử không thể hiện độc tính cấp, có thể tiến hành đánh giá độc tính khi dùng dài ngày (trường điển hoặc bán trường điển) trên một loài động vật (gặm nhấm).⁷ TD0015 có tính an toàn chấp nhận được, do vậy có thể tiếp tục đánh giá độc tính bán trường điển trên một loài động vật, cụ thể là chuột cống.

Dựa trên hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới, chúng tôi tiến hành đánh giá độc tính bán trường điển của TD0015 trên chuột cống trắng với hai liều⁹: 1,2 g/kg/ngày là liều có tác dụng tương đương trên người (tính theo hệ số 6) và một liều cao hơn gấp 3 lần liều trên (3,6 g/kg/ngày), uống liên tục trong 90 ngày. Bài báo này sẽ tập trung phân tích ảnh hưởng của thuốc thử lên tình trạng chung, thay đổi trọng lượng và các chỉ số huyết học của chuột.

Khi nghiên cứu độc tính, dù là độc tính cấp hay độc tính dài ngày, tình trạng chung của động vật nghiên cứu là một chỉ số quan trọng, bắt buộc phải đánh giá.⁹ Trong 90 ngày nghiên cứu, chuột cống uống viên hoàn cứng TD0015 ở cả 2 liều đều không có biểu hiện bất thường về khả năng vận động cũng như bài tiết. Tuy nhiên, từ thời điểm sau 60 ngày uống thuốc, chuột cống uống TD0015 ở cả 2 liều có giảm lượng thức ăn tiêu thụ so với lô chứng sinh học nhưng không có biểu hiện bất thường đi kèm. Sự giảm lượng ăn vào của chuột uống TD0015 dẫn đến sự giảm gia tăng trọng lượng của chuột tương ứng từ sau 60 ngày, nhưng trọng lượng

giữ ổn định, không giảm so với trước nghiên cứu. Đối chiếu với nồng độ albumin trong máu chuột thấy không có hiện tượng giảm, như vậy sơ bộ nhận định dinh dưỡng của chuột vẫn được đảm bảo.

Sự giảm lượng tiêu thụ thức ăn có thể do nhiều nguyên nhân như: thức ăn không hấp dẫn, giảm cảm giác thèm ăn, chậm tháo rỗng dạ dày... Trong số các vị dược liệu có trong thành phần TD0015, Đảng sâm và Quế chi đã được báo cáo về tác dụng giảm sự gia tăng trọng lượng của chuột cống nhưng cơ chế chưa được làm rõ.¹⁰ Dù không làm tăng cân so với lô chứng sinh học nhưng TD0015 ở các mức liều 1,2 g/kg/ngày và 3,6 g/kg/ngày không làm ảnh hưởng xấu tới tình trạng chung và trọng lượng của chuột trong 90 ngày uống thuốc liên tục.

Trong cơ thể, máu là một thành phần quan trọng, nhạy cảm cao với các hợp chất có độc.¹¹ Các chỉ số thuộc hệ tạo máu có thể phản ánh một phần tình trạng sinh lý và bệnh lý của cơ thể, sẽ thay đổi đầu tiên nếu thuốc thử có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu. Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới, càng nhiều thông số của máu được đánh giá, khả năng xác định độc tính của thuốc thử càng chính xác.^{7,9} Trong nghiên cứu này, các thành phần của máu, gồm: số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu, đã được định lượng để tìm hiểu ảnh hưởng của TD0015 lên chức phận tạo máu.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chỉ số về hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu tại các thời điểm đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các lô uống TD0015 và lô chứng sinh học. Các chỉ số đều nằm trong giới hạn bình thường, thay đổi không rõ rệt so với trước nghiên cứu. Như vậy, TD0015 ở cả hai liều 1,2 g/kg/ngày và 3,6 g/kg/ngày uống liên tục trong

90 ngày không gây ảnh hưởng đến hệ thống tạo máu của chuột, không gây thiếu máu hay ảnh hưởng đến số lượng bạch cầu và quá trình sản xuất tiểu cầu, không làm tăng phá hủy tiểu cầu trong máu ngoại vi.

Từ các kết quả trên có thể kết luận rằng, TD0015 liều 1,2 g dược liệu/kg/ngày và 3,6 g dược liệu/kg/ngày uống liên tục trong 90 ngày không có tác động có xấu đến thể trạng chung, trọng lượng, cũng như chức năng của cơ quan tạo máu trên động vật thực nghiệm. Như vậy, TD0015 có thể được coi là không có độc tính khi sử dụng liều lặp lại dài ngày (90 ngày). Kết luận này phù hợp với một số nghiên cứu trên thế giới về độc tính dài ngày của từng vị dược liệu có trong TD0015 dùng theo đường uống ở các mức liều khác nhau, ví dụ như Đương quy, Xuyên khung, Ngưu tất, Đỗ trọng, Đảng sâm.^{10,12,13}

V. KẾT LUẬN

TD0015 có liều dung nạp tối đa là 37,5 g/kg/ngày, không có biểu hiện độc tính cấp và chưa xác định được LD₅₀ theo đường uống. Mặt khác, TD0015 liều 1,2 g/kg/ngày và 3,6 g/kg/ngày uống liên tục trong 90 ngày không gây ảnh hưởng lên trọng lượng chung và chức phận tạo máu của chuột cống trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yu XY ZS, Yang HM, Ma HJ, et al. Study on the anti-inflammatory and analgesic effects of white peony root and mucuna pruriens and their combinations in vivo. *Drug Combination Therapy*. 2022;
2. Wang QS, Gao T, Cui YL, et al. Comparative studies of paeoniflorin and albiflorin from *Paeonia lactiflora* on anti-inflammatory activities. *Pharm Biol*. Sep 2014;52(9):1189-95. doi:10.3109/13880209.2014.880490
3. Sun Y, Lenon GB, Yang AWH. *Phellodendri Cortex: A Phytochemical, Pharmacological, and Pharmacokinetic Review*. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019;2019:7621929. doi:10.1155/2019/7621929
4. Li X, Wang J, Gao L. Anti-inflammatory and analgesic activity of R.A.P. (*Radix Angelicae Pubescentis*) ethanol extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2013;10(3):422-6.
5. Zhang L, Wei W. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of paeoniflorin and total glucosides of paeony. *Pharmacol Ther*. Mar 2020;207:107452. doi:10.1016/j.pharmthera.2019.107452
6. Chen CW, Sun J, Li YM, et al. Action mechanisms of du-huo-ji-sheng-tang on cartilage degradation in a rabbit model of osteoarthritis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011;2011:571479. doi:10.1093/ecam/neaq002
7. Bộ Y tế. Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT về Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu, ban hành ngày 27/10/2015. 2015.
8. Litchfield JT Jr, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther*. Jun 1949;96(2):99-113.
9. World Health Organization. Programme on Traditional M. General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. Geneva: World Health Organization; 2000.
10. Gardner Z, McGuffin M. *American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook*. 2013:1072.
11. Dean L. Chapter 1: Blood and the cells it contains. *Blood Groups and Red Cell Antigens*. National Center for Biotechnology Information (USA); 2005.
12. Lim DW, Kim YT. Anti-osteoporotic effects of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels extract on ovariectomized rats and its oral toxicity in rats. *Nutrients*. Oct 16 2014;6(10):4362-72. doi:10.3390/nu6104362

13. Lee JS, Kim YH, Kim DB, et al. Acute and subchronic (28 days) oral toxicity studies of *Codonopsis lanceolata* extract in Sprague-Dawley rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* Apr 2015;71(3):491-7. doi:10.1016/j.yrtph.2015.02.014

Summary

ACUTE TOXICITY AND EFFECTS OF TD0015 ON BODY WEIGHT AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

TD0015 pills contain ingredients that have displayed analgesic, anti-inflammatory properties and can inhibit articular cartilage destruction. Therefore, it has been developed to manage bone and joint conditions. This study aimed to evaluate the oral acute toxicity and sub-chronic toxicity focusing on the impacts of TD0015 on body weight and hematopoietic function in experimental animals. The acute toxicity was conducted in *Swiss* mice to determine the lethal dose 50 (LD₅₀) using the Litchfield-Wilcoxon method. The sub-chronic toxicity study was conducted in *Wistar* rats orally administered TD0015 at two doses: 1.2 g/kg/day and 3.6 g/kg/day for 90 days consecutively. Our findings indicated that TD0015 has the maximal tolerated dose of 37.5 g/kg/day, causing no acute toxicity. The LD₅₀ of TD0015 has not been determined. Additionally, after 90 days, TD0015 pills at both doses did not affect the general condition, body weight and hematological indicators in mice.

Keywords: TD0015, acute toxicity, body weight, hematopoietic function, experimental animals.