

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA HOẠT HUYẾT NHẤT NHẤT TRÊN THỰC NGHIỆM

Phạm Thị Vân Anh, Đàm Thị Tú Anh
Đào Thị Ngoãn và Đậu Thùy Dương✉
Trường Đại học Y Hà Nội

Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất chứa cao khô chiết xuất từ hỗn hợp các dược liệu. Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất trên thực nghiệm. Chuột nhắt trắng chủng Swiss được cho uống liều tăng dần để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột, từ đó xác định độc tính cấp. Chuột cống trắng chủng Wistar được chia thành 3 lô: lô chứng sinh học, lô trị 1 uống liều 1,92 viên/kg/ngày và lô trị 2 uống liều 5,76 viên/kg/ngày trong 30 ngày để xác định độc tính bán trường diễn thông qua cân nặng, tình trạng chung, các chỉ số huyết học, sinh hóa và vi thể gan thận. Kết quả nghiên cứu cho thấy liều tối đa dung nạp được là 75 viên/kg (50.400mg cao khô chiết xuất từ hỗn hợp dược liệu) không gây chết chuột và độc tính cấp; liều 1,92 viên/kg/ngày (1.290mg cao khô) và 5,76 viên/kg/ngày (3.870mg cao khô) trong 30 ngày không làm ảnh hưởng đến các chỉ số nghiên cứu. Như vậy, viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất không gây độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm.

Từ khóa: Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, chuột nhắt trắng chủng Swiss, chuột cống trắng chủng Wistar.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam cũng như nhiều nước trên thế giới, dược liệu có vai trò quan trọng cuộc sống.¹ Cho đến nay, dù y học hiện đại đã đạt nhiều bước tiến trong phòng và điều trị bệnh, dược liệu vẫn được sử dụng khá rộng rãi trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe do kinh nghiệm sử dụng từ lâu đời trong dân gian, nguồn dược liệu sẵn có, giá thành rẻ cũng như do văn hóa, thói quen của người dân.² Ngoài ra, các dược liệu cũng có vai trò quan trọng trong lĩnh vực nghiên cứu, phát triển thuốc do nhiều quốc gia hiện nay có chiến lược tìm kiếm, phát hiện, nghiên cứu các thuốc mới từ dược liệu.²

Trong quá trình thực hiện các nghiên cứu

chứng minh hiệu quả, an toàn của các dược liệu, không thể thiếu các nghiên cứu độc tính. Trước đây, nghiên cứu độc tính được coi là không cần thiết đối với các dược liệu vì người ta cho rằng chúng được chiết xuất từ thực vật và được sử dụng dựa theo kinh nghiệm dân gian.³ Việc thiếu các phương pháp tiếp cận dựa trên bằng chứng và các dữ liệu về độc tính của dược liệu có thể mang lại mối lo ngại về tính an toàn của dược liệu khi sử dụng trên người.³ Trên thực tế, bên cạnh những lợi ích điều trị mang lại, một số loại dược liệu đã được chứng minh có khả năng gây độc. Quan niệm các sản phẩm tự nhiên có nguồn gốc từ thực vật không độc hại và không có tác dụng không mong muốn không còn đúng đối với mọi trường hợp.²

Độc tính của các sản phẩm từ dược liệu có liên quan chặt chẽ đến các hợp chất có hoạt tính sinh học có trong dược liệu đó và khả năng gây độc của chúng. Việc sử dụng các loại dược

Tác giả liên hệ: Đậu Thùy Dương

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: dauthuyduong@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 17/12/2024

Ngày được chấp nhận: 31/12/2024

liệu mà không đánh giá an toàn và hiệu quả của chúng có thể dẫn đến những tác dụng không lường trước hoặc độc tính có thể ảnh hưởng đến sinh lý của các cơ quan khác nhau trong cơ thể.⁴ Do đó, các nghiên cứu độc tính trên động vật thực nghiệm có vai trò rất quan trọng trong chương trình phát triển một sản phẩm từ dược liệu, đặc biệt các nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn.

Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất được chiết xuất từ hỗn hợp dược liệu bao gồm Đương quy (*Angelica sinensis*), Ích mẫu (*Herba Leonuri japonica*), Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae*), Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*), Xích thược (*Radix Paeoniae*) và Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*). Đây là những dược liệu đã được sử dụng từ lâu đời theo y học cổ truyền và một số nghiên cứu đã chứng minh tác dụng dược lý của từng thành phần dược liệu.⁵ Tuy nhiên, độc tính của chúng cũng có thể thay đổi khi các dược liệu được phối hợp với nhau trong cùng một sản phẩm do có thể xảy ra tương tác giữa các dược liệu.⁶ Do đó, để cung cấp bằng chứng khoa học cho tính an toàn trên thực nghiệm, làm cơ sở để thực hiện các nghiên cứu về tác dụng và tiến tới nghiên cứu trên lâm sàng, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất trên động vật thực nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Sản phẩm nghiên cứu

Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất được sản xuất bởi Công ty TNHH Dược phẩm Nhất Nhất, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần cho 1 viên nén bao phim chứa 672mg cao khô được chiết xuất hỗn hợp dược liệu bao gồm với Đương quy (*Angelica sinensis*) 1500mg; Ích mẫu

(*Herba Leonuri japonica*) 1500mg; Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae*) 1500mg; Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*) 1500mg; Xích thược (*Radix Paeoniae*) 750mg; Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*) 750mg. Sản phẩm nghiên cứu được pha trong nước cất trước khi cho động vật thực nghiệm uống.

Hoá chất nghiên cứu

Kit định lượng các enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT (alanin aminotransferase); AST (aspartat aminotransferase); bilirubin toàn phần; albumin; cholesterol toàn phần; và creatinin của hãng Erba, định lượng trên máy sinh hóa bán tự động Erba của Ấn Độ. Các dung dịch xét nghiệm máu của hãng Horiba Medical, định lượng trên máy phân tích huyết học ABX Micros 60 ES của hãng Horiba Medical (Pháp). Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

Động vật thực nghiệm

Động vật thực nghiệm bao gồm chuột nhắt trắng chủng *Swiss* (cân nặng 18 ± 2 g), chuột cống trắng chủng *Wistar* (cân nặng $180 \text{ g} \pm 20$ g), trưởng thành, cả hai giống, khoẻ mạnh được nuôi trong điều kiện chuẩn 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu tại Phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

2. Phương pháp

Nghiên cứu độc tính cấp

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD_{50} của Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất trên chuột nhắt trắng theo đường uống.^{7,8}

Trước khi tiến hành thí nghiệm, chuột được nhịn ăn qua đêm. Chuột được chia thành các lô khác nhau (10 chuột/lô) và được uống viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất 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 (gây chết 0% 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 vòng 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 sản phẩm nghiên cứu. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất được tiến hành trên chuột cống trắng theo đường uống.^{7,8}

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 Hoạt huyết Nhất Nhất liều 1,92 viên/kg/ngày (1.290mg cao khô chiết xuất từ hỗn hợp dược liệu) (*liều tương đương với liều dùng dự kiến dùng trên lâm sàng, tính theo hệ số 6*)

- Lô trị 2 (n = 10): Uống viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất liều 5,76 viên/kg/ngày (3.870mg cao khô chiết xuất từ hỗn hợp dược liệu) (*gấp 3 lần so với lô trị 1*).

Chuột được uống nước cất hoặc sản phẩm nghiên cứu 30 ngày liên tục, mỗi ngày vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:

- Tình trạng chung, cân nặng 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 hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.

- Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzym trong máu: ALT, AST.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống, sau 15 ngày, sau 30 ngày uống nước cất hoặc sản phẩm nghiên cứu.

Mô bệnh học: Sau 30 ngày uống thuốc, 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.

Xử lý số liệu

Số liệu được biểu diễn dưới dạng: Trung bình ± SD. Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel, sử dụng T-test Student. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Nghiên cứu độc tính cấp

Chuột nhất trắng được uống Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 mL/10g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc nhất có thể cho uống được, theo dõi thấy các lô chuột uống Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống sản phẩm nghiên cứu Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất.

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (viên/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường
Lô 1	10	45	45	0	Không
Lô 2	10	60	60	0	Không
Lô 3	10	75	75	0	Không

Kết quả bảng 1 cho thấy: các lô chuột uống Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất liều từ 45 mL/kg tương đương 45 viên/kg đến liều tối đa 75 mL/kg tương đương 75 viên/kg không có biểu hiện độc tính cấp. Từ bảng 1 tính được liều dung nạp tối đa của Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất là 75 viên/kg.

2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Tình trạng chung và sự thay đổi cân nặng của chuột

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở lô chứng

sinh học và 2 lô uống sản phẩm nghiên cứu hoạt động bình thường. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô chuột cống trắng trong suốt thời gian nghiên cứu. Sau 15 ngày và 30 ngày uống viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất, cân nặng chuột tăng có ý nghĩa so với trước khi nghiên cứu ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về mức độ thay đổi cân nặng chuột giữa lô chứng và các lô dùng sản phẩm nghiên cứu ($p > 0,05$).

Nghiên cứu ảnh hưởng của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất đến chức năng tạo máu

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất đến các chỉ số huyết học trong máu chuột

Chỉ số ($\bar{x} \pm SD$)	Thời điểm	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)
Số lượng hồng cầu (T/L)	Trước uống	8,33 \pm 1,29	8,26 \pm 1,32	8,08 \pm 0,71
	Sau 15 ngày	8,86 \pm 1,40	7,95 \pm 0,84	8,01 \pm 0,63
	Sau 30 ngày	8,65 \pm 1,14	8,05 \pm 1,20	8,68 \pm 0,79
Huyết sắc tố (g/dL)	Trước uống	11,07 \pm 1,90	11,29 \pm 1,05	10,34 \pm 1,69
	Sau 15 ngày	11,42 \pm 1,30	10,70 \pm 1,01	10,54 \pm 1,18
	Sau 30 ngày	11,64 \pm 1,23	10,65 \pm 1,56	10,95 \pm 1,03
Hematocrit (%)	Trước uống	44,40 \pm 4,91	46,19 \pm 3,56	42,16 \pm 4,93
	Sau 15 ngày	46,40 \pm 3,61	43,81 \pm 4,53	43,18 \pm 4,95
	Sau 30 ngày	46,17 \pm 4,59	42,87 \pm 4,39	45,06 \pm 4,52
Thể tích trung bình hồng cầu (fL)	Trước uống	53,40 \pm 2,63	54,50 \pm 2,27	54,10 \pm 1,45
	Sau 15 ngày	52,80 \pm 2,70	53,60 \pm 1,71	53,90 \pm 1,20
	Sau 30 ngày	52,40 \pm 2,27	53,10 \pm 1,29	53,70 \pm 1,64
Số lượng bạch cầu (G/L)	Trước uống	5,83 \pm 1,34	6,08 \pm 1,23	5,74 \pm 1,10
	Sau 15 ngày	6,15 \pm 1,55	6,12 \pm 1,06	6,05 \pm 1,15
	Sau 30 ngày	6,72 \pm 1,42	6,41 \pm 1,52	5,78 \pm 0,94
Tỉ lệ bạch cầu lympho (%)	Trước uống	77,76 \pm 3,37	79,48 \pm 4,78	79,07 \pm 3,92
	Sau 15 ngày	74,61 \pm 4,16	77,41 \pm 5,62	77,37 \pm 3,99
	Sau 30 ngày	74,38 \pm 4,62	77,38 \pm 4,60	77,54 \pm 3,06

Chỉ số ($\bar{x} \pm SD$)	Thời điểm	Lô chứng (n = 10)	Lô trị 1 (n = 10)	Lô trị 2 (n = 10)
Tỉ lệ bạch cầu trung tính (%)	Trước uống	10,34 \pm 2,13	10,67 \pm 3,36	10,19 \pm 2,76
	Sau 15 ngày	11,70 \pm 2,82	9,87 \pm 2,64	11,26 \pm 2,00
	Sau 30 ngày	11,19 \pm 2,14	11,08 \pm 2,98	11,94 \pm 3,15
Số lượng tiểu cầu (G/L)	Trước uống	517,70 \pm 85,17	457,30 \pm 86,93	449,50 \pm 84,98
	Sau 15 ngày	528,90 \pm 95,40	487,90 \pm 94,82	495,70 \pm 97,23
	Sau 30 ngày	541,50 \pm 76,13	508,30 \pm 91,32	522,30 \pm 81,97

Kết quả ở bảng 2 cho thấy: Sau 15 ngày và 30 ngày, ở cả 2 lô uống viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất liều 1,92 viên/kg/ngày và 5,76 viên/kg/ngày, các chỉ số xét nghiệm huyết học không khác biệt so với lô chứng và so sánh giữa 2 thời

điểm trước và sau khi uống sản phẩm nghiên cứu ($p > 0,05$).

Nghiên cứu ảnh hưởng của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất đến chức năng gan, thận

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất đến các chỉ số sinh hóa trong máu chuột

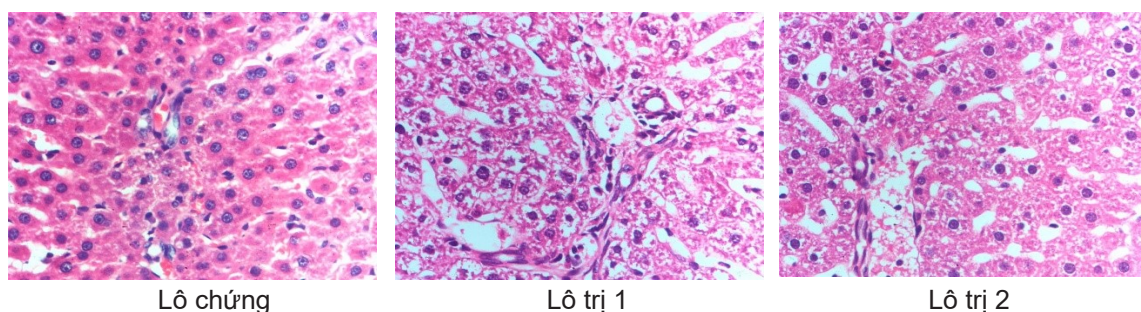
Chỉ số	Thời điểm	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2
Hoạt độ AST (U/L)	Trước uống	72,30 \pm 8,97	71,70 \pm 7,83	71,10 \pm 8,40
	Sau 15 ngày	70,60 \pm 8,15	70,20 \pm 10,25	72,20 \pm 8,75
	Sau 30 ngày	71,40 \pm 8,92	69,20 \pm 7,50	70,50 \pm 9,23
Hoạt độ ALT (U/L)	Trước uống	29,10 \pm 4,53	32,30 \pm 5,10	31,90 \pm 5,26
	Sau 15 ngày	27,10 \pm 5,02	29,50 \pm 6,65	28,70 \pm 4,52
	Sau 30 ngày	27,60 \pm 5,52	30,90 \pm 5,04	28,80 \pm 5,45
Bilirubin toàn phần (mmol/L)	Trước uống	10,76 \pm 1,45	10,80 \pm 1,08	10,50 \pm 1,44
	Sau 15 ngày	10,67 \pm 1,43	10,17 \pm 1,25	10,01 \pm 1,05
	Sau 30 ngày	10,09 \pm 1,07	10,36 \pm 0,87	10,27 \pm 1,53
Albumin (g/dL)	Trước uống	2,78 \pm 0,31	2,85 \pm 0,20	2,82 \pm 0,23
	Sau 15 ngày	2,75 \pm 0,30	2,73 \pm 0,18	2,79 \pm 0,24
	Sau 30 ngày	2,86 \pm 0,25	2,88 \pm 0,13	2,84 \pm 0,19
Cholesterol toàn phần (mmol/L)	Trước uống	1,24 \pm 0,16	1,31 \pm 0,17	1,33 \pm 0,11
	Sau 15 ngày	1,25 \pm 0,19	1,28 \pm 0,23	1,30 \pm 0,18
	Sau 30 ngày	1,28 \pm 0,12	1,30 \pm 0,16	1,32 \pm 0,15
Creatinin (mg/ dL)	Trước uống	0,81 \pm 0,17	0,79 \pm 0,16	0,82 \pm 0,19
	Sau 15 ngày	0,85 \pm 0,11	0,82 \pm 0,14	0,81 \pm 0,15
	Sau 30 ngày	0,83 \pm 0,13	0,81 \pm 0,14	0,79 \pm 0,14

Kết quả ở bảng 3 cho thấy: Sau 15 ngày và 30 ngày, ở cả 2 lô uống viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất liều 1,92 viên/kg/ngày và 5,76 viên/kg/ngày, các chỉ số xét nghiệm đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan, chức năng gan và chức năng thận không khác biệt so với lô chứng và so sánh giữa 2 thời điểm trước và sau khi uống sản phẩm nghiên cứu ($p > 0,05$).

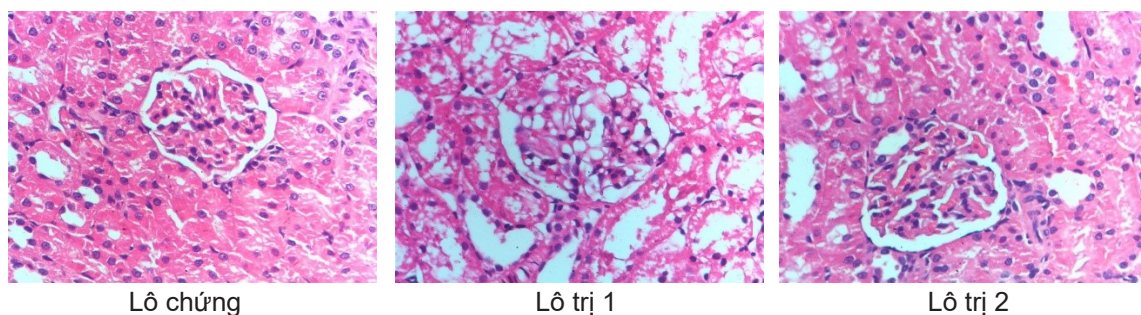
Nghiên cứu ảnh hưởng của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất đến hình thái và cấu trúc vi thể gan, thận

Trên tất cả các chuột thực nghiệm (cả lô chứng và 2 lô dùng sản phẩm nghiên cứu), không quan sát thấy thay đổi bệnh lý nào về đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hóa của chuột.

Trên đánh giá vi thể, sau 30 ngày uống viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất liều 1,92 viên/kg/ngày và liều 5,76 viên/kg/ngày, cấu trúc vi thể gan, thận của 2 lô chuột uống sản phẩm nghiên cứu không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng.



Hình 1. Hình thái vi thể gan chuột (HE x 400)



Hình 2. Hình thái vi thể thận chuột (HE x 400)

IV. BÀN LUẬN

Theo y học cổ truyền, việc kết hợp nhiều dược liệu với nhau trong điều trị bệnh đã được áp dụng từ hàng nghìn năm nay chủ yếu dựa trên lý luận và cơ sở y học cổ truyền. Tuy nhiên, cho đến nay, các nhà khoa học nhận thấy còn thiếu các phương pháp nghiên cứu đầy đủ và dữ liệu khoa học làm bằng chứng cho hiệu quả và an toàn cho sự kết hợp này. Do các cơ chế tương tác về dược động học hoặc dược lực học còn chưa được biết rõ, khi sử dụng kết hợp

nhiều loại dược liệu có thể làm giảm hiệu quả hoặc có thể làm thay đổi độc tính so với khi sử dụng dược liệu đơn độc.⁶ Một số cơ quan quản lý trên thế giới đã đưa ra cảnh báo về nguy cơ gây độc tiềm ẩn của một số loại dược liệu hoặc sản phẩm từ dược liệu.⁹ Do đó, các thử nghiệm đánh giá độc tính là rất cần thiết để đảm bảo khả năng chấp nhận được, tiêu chuẩn hóa và quản lý các sản phẩm từ dược liệu. Trước khi thực hiện các nghiên cứu đánh giá tác dụng

dược lý của một sản phẩm từ dược liệu, nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn có vai trò rất quan trọng.⁸ Kết quả của các nghiên cứu này không chỉ cung cấp thông tin về các nguy cơ gây độc cũng như các tác dụng không mong muốn có thể xảy ra của sản phẩm nghiên cứu mà còn góp phần vào việc xác định liều dùng trong các nghiên cứu tiền lâm sàng đánh giá tác dụng của sản phẩm đó.¹⁰

Trong nghiên cứu này, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất được đánh giá trên chuột nhắt trắng chủng Swiss và chuột cống trắng chủng *Wistar*. Nghiên cứu độc tính cấp là nghiên cứu mà mỗi động vật thực nghiệm được dùng thuốc trong vòng 24 giờ. Các dấu hiệu độc tính và tỷ lệ tử vong của động vật được ghi lại trong thời gian 7 ngày để xác định các thông số như liều tối đa được dung nạp (MTD) và liều gây chết 50% (LD_{50}). Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất cho thấy chuột nhắt trắng được uống tới liều tương đương 75 viên/kg cân nặng không có biểu hiện bất thường gì khi theo dõi trong vòng 7 ngày. Từ đó, tính được liều dung nạp tối đa (luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất là 75 viên/kg cân nặng, tương đương với 50.400 mg cao khô chiết xuất từ hỗn hợp dược liệu chứa trong thành phần viên nén. Theo phân loại các nhóm chất theo giá trị LD_{50} của Hệ thống Hòa hợp Toàn cầu, viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất được xếp vào nhóm không yêu cầu cảnh báo đặc biệt.¹¹ Liều dung nạp tối đa này gấp khoảng 20 lần so với liều tương đương liều dùng dự kiến trên lâm sàng. Như vậy, có thể nói viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất có phạm vi an toàn tương đối rộng.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn là nghiên cứu được thực hiện bằng cách cho động vật thí nghiệm uống thuốc thử hàng ngày liên tục trong một khoảng thời gian nhất định.

Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới, các chỉ tiêu để đánh giá độc tính bán trường diễn bao gồm: tình trạng chung và thay đổi cân nặng, các chỉ số huyết học, các chỉ số sinh hoá đánh giá chức năng gan thận và đặc điểm giải phẫu bệnh của gan, thận. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất liều 1,92 viên/kg/ngày và liều gấp 3 lần được cho chuột uống trong 30 ngày cho thấy sản phẩm nghiên cứu không gây ảnh hưởng đến tình trạng chung, cân nặng, các chỉ số xét nghiệm huyết học, các chỉ số xét nghiệm sinh hóa đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan, đánh giá chức năng gan, chức năng thận cũng như cấu trúc vi thể gan, thận của động vật nghiên cứu so với trước khi dùng sản phẩm nghiên cứu và so với lô chứng sinh học.

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất không gây độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng với các liều thử nghiệm.

Viên nén Hoạt huyết Nhất nhất là sự phối hợp của các dược liệu đã được dùng từ lâu theo y học cổ truyền, bao gồm Đương quy (*Angelica sinensis*), Ích mẫu (*Herba Leonuri japonica*), Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae*), Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*), Xích thược (*Radix Paeoniae*) và Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*) với ứng dụng điều trị dự kiến là hỗ trợ điều trị các chứng huyết hư, ứ trệ, các bệnh lý liên quan đến thiếu năng tuần hoàn não, thiếu năng tuần hoàn ngoại vi, xơ vữa động mạch, bệnh mạch vành, tai biến mạch máu não. Một số nghiên cứu cũng đã chứng minh các tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ trí nhớ, bảo vệ thần kinh, điều hòa miễn dịch, điều hòa tim mạch, phục hồi các tổn thương thần kinh, ức chế tăng sinh nội mô mạch máu, ức chế xơ vữa động mạch...¹²⁻¹⁷ Như vậy, việc phối hợp các dược liệu nói trên trong cùng một

sản phẩm là có cơ sở khoa học. Ngoài ra, việc kết hợp nhiều dược liệu trong một chế phẩm có dạng bào chế viên nén có ưu điểm là kết hợp được nhiều tác dụng khác nhau, tiện lợi cho người sử dụng, tăng khả năng tiếp cận và tuân thủ điều trị. Để có thêm bằng chứng về hiệu quả của sản phẩm này trong hỗ trợ điều trị các bệnh lý nêu trên, cần thực hiện các nghiên cứu đánh giá tác dụng trên các mô hình thực nghiệm phù hợp và tiến tới thực hiện các thử nghiệm lâm sàng trên người.

V. KẾT LUẬN

Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất liều 75 viên/kg (50.400mg cao khô chiết xuất từ hỗn hợp dược liệu), gấp khoảng 20 lần so với liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng không có biểu hiện độc tính cấp trên chuột nhắt trắng.

Viên nén Hoạt huyết Nhất Nhất liều 1,92 viên/kg/ngày (1.290mg cao khô chiết xuất từ hỗn hợp dược liệu), tương đương liều dự kiến trên lâm sàng và liều 5,76 viên/kg/ngày (3.870mg cao khô chiết xuất từ hỗn hợp dược liệu), gấp 3 lần liều dự kiến trên lâm sàng, uống liên tục trong 30 ngày không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. OE Kale, O Awodele, AJ Akindele. Subacute and subchronic oral toxicity assessments of *Acridocarpus smeathmannii* (DC.) Guill. & Perr. root in Wistar rats. *Toxicol. Rep.* 2019;6:161-175.
2. A Takke, P Shende. Nanotherapeutic silibinin: an insight of phytomedicine in healthcare reformation. *Nanomedicine.* 2019;21:102057.
3. L Ahmad, Y He, JC Hao, et al. Toxic pyrrolizidine alkaloids provide a warning sign to overuse of the ethnomedicine *Arnebia benthamii*. *J. Ethnopharmacol.* 2018;210:88-94.
4. Jitäreanu A, Trifan A, Vieriu M, et al. Current Trends in Toxicity Assessment of Herbal Medicines: A Narrative Review. *Processes.* 2023;11(1):83.
5. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam.* Nhà xuất bản Y học. 2004.
6. Che C-T, Wang ZJ, Chow MSS, et al. Herb-Herb Combination for Therapeutic Enhancement and Advancement: Theory, Practice and Future Perspectives. *Molecules.* 2013;18(5):5125-5141.
7. Gerhard Vogel H. *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays.* Springer. 2016.
8. World Health Organization. Working group on the safety and efficacy of herbal medicine. Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization. 2013.
9. PA De Smet. Health risks of herbal remedies: an update. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2004;76(1):1-17.
10. SA Jordan, DG Cunningham, RJ Marles. Assessment of herbal medicinal products: challenges, and opportunities to increase the knowledge base for safety assessment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010;243(2):198-216.
11. United Nations. Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), 4th edition. 2011.
12. Xiao-Peng CHEN, Wei LI, Xue-Feng XIAO, et al. Phytochemical and pharmacological studies on *Radix Angelica sinensis*. *Chinese Journal of Natural Medicines.* 2013;11(6):577-587.
13. Shang X, Pan H, Li M, et al. *Lonicera japonica* Thunb.: ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *J Ethnopharmacol.* 2011;138(1):1-21.
14. Yang Liu, Hou A-Jiao, Yan Mei-Ling, et al. Investigation of *radix achyranthis*

bidentatae phytochemistry and pharmacology. *World Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2019;5.50.10.4103.

15. Jia J, Chen J, Wang G, et al. Progress of research into the pharmacological effect and clinical application of the traditional Chinese medicine *Rehmanniae Radix*. *Biomed Pharmacother*. 2023;168:115809.

16. XueZhen Wang, PeiWei Su, Qian Hao, et al. A Chinese classical prescription Guizhi-

Fuling Wan in treatment of ovarian cancer: An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;153:113401.

17. Zhuang Zhuang, Zi-Hao Wang, Yue-Yue Huang, et al. Protective effect and possible mechanisms of ligustrazine isolated from *Ligusticum wallichii* on nephropathy in rats with diabetes: A preclinical systematic review and meta-analysis. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;252:112568.

Summary

EXPERIMENTAL EVALUATION OF ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY OF HOAT HUYET NHAT NHAT

Hoat Huyet Nhat Nhat tablets contain the extract from a mixture of medicinal herbs. The objective of this study was to evaluate the acute and subchronic toxicity of Hoat Huyet Nhat Nhat tablets in experimental animals. Swiss mice were given orally increasing doses to determine the dosage which would induced 100% and 0% mouse mortality, thereby determining acute toxicity. Wistar rats were divided into 3 groups: normal control group, 1.92 tablets/kg/day-treated group and 5.76 tablets/kg/day-treated group to determine subchronic toxicity after 30 days of treatment by evaluating the rats' weight, general conditions, hematological, biochemical parameters, and liver and kidney microscopic examinations. The study results showed that the maximum tolerated dose of 75 tablets/kg (50,400mg herbal mixture extract) did not cause mortality or any sign of acute toxicity in mice; two doses of 1.92 tablets/kg/day (1,290mg herbal mixture extract) and 5.76 tablets/kg/day (3,870mg herbal mixture extract) for 30 days did not affect the research indices in rats. Thus, Hoat Huyet Nhat Nhat tablets do not cause acute toxicity and subchronic toxicity in experimental animals.

Keywords: Hoat huyet Nhat Nhat tablets, acute toxicity, subchronic toxicity, Swiss mice, Wistar rats.