

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN NANG CỨNG TD.HLM01 TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thanh Thủy¹, Đinh Thị Thu Hằng², Nguyễn Thị Hương Liên³
Nguyễn Thị Thu Hà¹ và Phạm Thị Vân Anh^{2,✉}

¹Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội

²Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội

³Công ty cổ phần Sao Thái Dương

Nghiên cứu đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn qua đường uống của viên nang cứng TD.HLM01 trên động vật thực nghiệm. Nghiên cứu độc tính cấp của viên TD.HLM01 trên chuột nhắt theo hướng dẫn của WHO và tính LD₅₀ theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nang trên chuột cống trắng theo hướng dẫn của WHO. Kết quả cho thấy viên TD.HLM01 với liều cao nhất là 37,5 g/kg/ngày – gấp 104 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng không gây độc tính cấp, không xác định được LD₅₀ của viên TD.HLM01. Viên TD.HLM01 liều 0,18 g/kg/ngày và 0,54 g/kg/ngày không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng trong 12 tuần uống thuốc liên tục. Thuốc không ảnh hưởng đến tình trạng chung, thể trọng, chức phận tạo máu, mức độ hủy hoại tế bào gan, chức năng gan, thận, hình thái đại thể và cấu trúc vi thể gan, thận chuột. Viên nang cứng TD.HLM01 không có độc tính cấp và bán trường diễn qua đường uống trên động vật thực nghiệm.

Từ khóa: Độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, viên nang cứng TD.HLM01.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn lipid máu có liên quan chặt chẽ với tăng nguy cơ mắc bệnh tim mạch, thậm chí đe dọa đến tính mạng con người. Hiện có hàng triệu người trên thế giới mắc rối loạn lipid máu, ước tính ở 9 quốc gia lớn tỷ lệ bệnh tăng 1,76%/năm.¹ Nhóm thuốc statin là một trong những nhóm thuốc hiệu quả nhất và được kê đơn rộng rãi nhất trên thế giới để giảm cholesterol lipoprotein tỷ trọng thấp gây xơ vữa động mạch.² Tuy vậy, để tăng cường hiệu quả điều trị và hạn chế tác dụng không mong muốn khi sử dụng lâu dài, nhiều loại thuốc điều trị rối loạn lipid máu mới vẫn đang tiếp tục được nghiên cứu, trong đó phải kể đến thuốc dược liệu cổ truyền. Mặc dù các sản phẩm thuốc thảo dược thường được coi là có rủi ro thấp nhưng vẫn

cần đánh giá cẩn thận các rủi ro tiềm ẩn đối với sức khỏe.³

Tại Việt Nam và Trung Quốc, Bán hạ bạch truat thiên ma thang trích từ sách “Y học tâm ngộ” của Chu Đan Khê, đã có nhiều nghiên cứu đã chứng minh tính an toàn và hiệu quả điều trị rối loạn lipid máu, xơ vữa động mạch.^{4,5} Mặt khác, hai vị thuốc nam Ba chạc (*Folium et Radix Euodiae Leptae*) và Bứa (*Cortex Garcinia*) đã nghiên cứu có tác dụng giảm cân, hạ lipid máu và không có độc tính.⁶⁻⁹ Với mong muốn tăng hiệu quả điều trị rối loạn lipid máu, tận dụng nguồn dược liệu sẵn có và thuận tiện sử dụng, bảo quản lâu dài, bài thuốc Bán hạ bạch truat thiên ma được phối ngũ với Bứa, Ba chạc và chuyển dạng bào chế thành dạng viên nang cứng. Viên nang cứng TD.HLM01 được coi như là thuốc mới và cần được đánh giá độc tính trước khi sử dụng trên người bệnh. Theo Thông tư 29/2018/TT-BYT Quy định về thử thuốc trên lâm sàng, thuốc dược cổ truyền cần thử độc

Tác giả liên hệ: Phạm Thị Vân Anh

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: phamvananh@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 14/05/2025

Ngày được chấp nhận: 06/06/2025

tính cấp và độc tính bán trường diễn trước khi thử nghiệm trên lâm sàng.¹⁰ Chính vì vậy, nhằm mục đích đưa ra bằng chứng cụ thể về độc tính của viên TD.HLM01, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: **Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn qua đường uống của viên nang cứng TD.HLM01 trên động vật thực nghiệm.**

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Chất liệu nghiên cứu

Thuốc nghiên cứu: Viên nang cứng TD.HLM01 chứa 750mg cao khô dược liệu gồm có: Bán hạ (*Rhizoma Pinelliae*) 66mg, Bạch truật (*Rhizoma Atractylodis macrocephalae* Koidz) 130mg, Thiên ma (*Rhizoma Gastrodiae elatae*) 44mg, Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*) 44mg, Phục linh (*Poria*) 44mg, Cam thảo (*Radix et Rhizoma Glycyrrhiza*) 22mg, Ba chạc (*Folium et Radix Euodiae Leptae*) 200mg, Bứa (*Cortex Garcinia*) 200mg.

Các vị thuốc đảm bảo đạt tiêu chuẩn theo Dược điển Việt Nam V, riêng vị Bứa đạt tiêu chuẩn cơ sở. Bột mịn cao hỗn hợp dược liệu đạt tiêu chuẩn cơ sở 01NC/TCCS/SPTG-22 và viên nang cứng TD.HLM.01 đạt tiêu chuẩn cơ sở số 01NC/TCCS/TPT-22 do Công ty cổ phần Sao Thái Dương sản xuất. Liều dự kiến trên lâm sàng là 2 viên nang cứng/ngày, tương đương 1,5g cao khô dược liệu/ngày.

Hóa 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, creatinin của hãng Erba - Đức, định lượng trên máy sinh hóa bán tự động Erba (Ấn Độ). Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX - Diagnostics, định lượng trên máy Vet abcTM Animal Blood Counter. Các hoá chất

xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

Động vật thí nghiệm

- Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22g, của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

- Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khỏe mạnh, thuần chủng, cân nặng 160 ± 20 g, do Trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng - Hà Nội cung cấp.

- Động vật được nuôi từ 5 - 10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn riêng, nước uống tự do.

2. Phương pháp

Mô hình nghiên cứu độc tính cấp: theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organization - WHO) và xác định LD₅₀ theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon.^{11,12}

Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu: Lấy 50 viên, bỏ nang, hòa trong nước vừa đủ 75 ml. Dung dịch đậm đặc trên có thể cho chuột nhắt trắng uống bằng kim chuyên dụng.

Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Chuột được nhịn đói qua đêm và uống TD.HLM01 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 vòng 72 giờ sau uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xác định LD₅₀ của thuốc thử TD.HLM01. Tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống.

Mô hình nghiên cứu độc tính bán trường diễn: theo hướng dẫn của WHO và hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng lâm sàng thuốc đông y của Bộ Y tế Việt Nam.^{11,13}

Chuột cống trắng, cả 2 giống, được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được uống nước và thuốc thử liên tục trong 12 tuần, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

- Lô chứng: uống nước cất 1 mL/100 g/ngày.

- Lô trị 1: Uống TD.HLM01 liều 0,18g/kg/ngày (tương đương liều điều trị dự kiến trên người, hệ số ngoại suy trên chuột cống là 6), uống 1 mL/100 g/ngày.

- Lô trị 2: Uống TD.HLM01 liều 0,54g/kg/ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị dự kiến trên người), uống 1 mL/100 g/ngày.

Các chỉ tiêu theo dõi trước nghiên cứu và sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống thuốc:

- Tình trạng chung, thể trọng của chuột.

- Đánh giá chức phận tạo máu: số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu.

- Đánh giá chức năng gan: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan: ALT, AST.

- Đánh giá chức năng thận: creatinin huyết thanh.

- Mô bệnh học: Sau 12 tuần uống thuốc, chuột được mổ 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

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo t- test - Student và test trước sau (Avant-après) sử dụng phần mềm Microsoft Excel software 2010. Biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

Quy ước (so với lô chứng): *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Quy ước (so với trước điều trị): *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Các nghiên cứu được tiến hành tại Bộ môn Dược lý – Trường Đại học Y Hà Nội từ 8/2023 - 01/2024. Các xét nghiệm huyết học, sinh hóa được thực hiện tại phòng xét nghiệm, Bộ môn Dược lý – Đại học Y Hà Nội.

III. KẾT QUẢ

1. Kết quả độc tính cấp của viên nang cứng TD.HLM01 trên động vật thực nghiệm

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang cứng TD.HLM01

Lô chuột	n	Liều (g/kg)	Liều (ml/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	22,5	45	0	Không
Lô 2	10	30	60	0	Không
Lô 3	10	37,5	75	0	Không

Chuột nhắt trắng uống TD.HLM01 liều từ 22,5 g/kg/ngày đến liều tối đa 37,5 g/kg/ngày không có biểu hiện độc tính cấp và không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong vòng 72 giờ sau dùng thuốc. Trong 7 ngày sau uống thuốc, chuột không xuất hiện triệu chứng bất thường nào. Liều dung nạp tối đa

của TD.HLM01 là liều 37,5 g/kg/ngày, chưa xác định được LD_{50} trên chuột nhắt trắng của viên nang cứng TD.HLM01 theo đường uống.

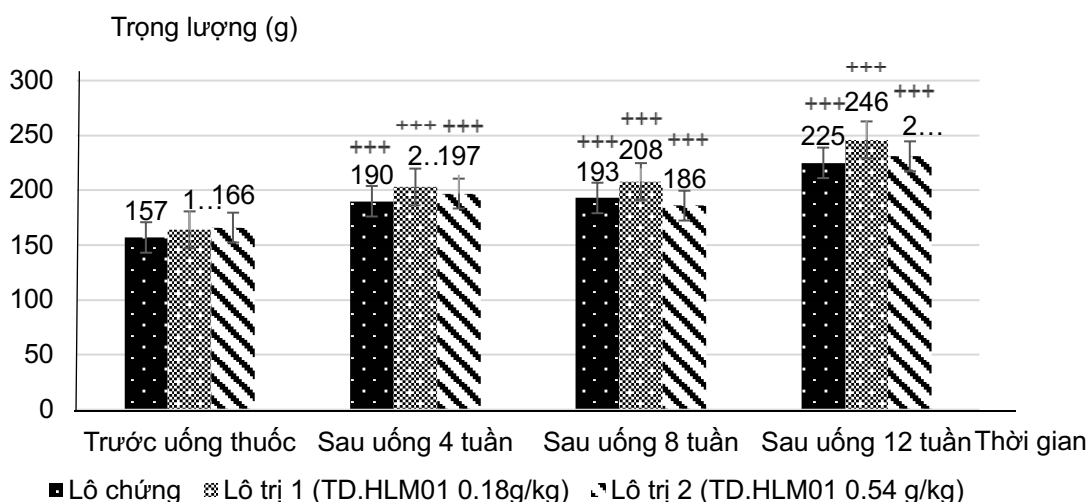
2. Kết quả độc tính bán trường diễn của viên nang cứng TD.HLM01 trên động vật thực nghiệm

Sự thay đổi tình trạng chung và trọng lượng chuột

- **Tình trạng chung của chuột:** Trong thí nghiệm, chuột ở lô chứng và 2 lô uống thuốc

thử hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô.

- **Sự thay đổi cân nặng chuột cống trắng:**



Biểu đồ 1. Ảnh hưởng của TD.HLM01 đến trọng lượng chuột cống trắng

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần, trọng lượng chuột ở lô chứng sinh học, lô trị 1 và lô trị 2 đều tăng rõ rệt so với trước uống thuốc thử ($p < 0,001$) và có sự khác biệt không có ý nghĩa

thống kê giữa các lô ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của TD.HLM01 lên chức phận tạo máu

Bảng 2. Ảnh hưởng của TD.HLM01 đến chỉ số hồng cầu của chuột cống trắng

Chỉ số	Nhóm (n = 10)	Trước uống thuốc ($\bar{X} \pm SD$)	Sau uống thuốc			p
			4 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	8 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	12 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	
Số lượng hồng cầu (T/l)	Lô chứng	9,3 $\pm$ 1,4	8,7 $\pm$ 1,1	8,3 $\pm$ 0,7	8,2 $\pm$ 1,0	> 0,05
	Lô trị 1	9,1 $\pm$ 1,2	9,1 $\pm$ 0,9	9,3 $\pm$ 1,6	7,6 $\pm$ 2,3	> 0,05
	Lô trị 2	9,0 $\pm$ 2,1	8,2 $\pm$ 1,0	7,9 $\pm$ 0,9	7,4 $\pm$ 1,4	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Hàm lượng hemoglobin (g/dl)	Lô chứng	12,7 $\pm$ 2,2	12,0 $\pm$ 1,2	11,3 $\pm$ 1,0	11,1 $\pm$ 1,1	> 0,05
	Lô trị 1	13,4 $\pm$ 1,6	12,8 $\pm$ 1,0	12,4 $\pm$ 1,9	11,4 $\pm$ 2,9	> 0,05
	Lô trị 2	13,4 $\pm$ 3,3	11,5 $\pm$ 1,5	11,0 $\pm$ 1,8	10,8 $\pm$ 1,9	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Chỉ số	Nhóm (n = 10)	Trước uống thuốc ($\bar{X} \pm SD$)	Sau uống thuốc			p
			4 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	8 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	12 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	
Hematocrit (%)	Lô chứng	46,7 $\pm$ 7,2	41,8 $\pm$ 4,6	40,2 $\pm$ 7,3	40,3 $\pm$ 8,0	> 0,05
	Lô trị 1	46,0 $\pm$ 6,3	44,5 $\pm$ 3,7	45,1 $\pm$ 7,8	37,2 $\pm$ 12,6	> 0,05
	Lô trị 2	47,1 $\pm$ 12,1	40,2 $\pm$ 6,0	38,7 $\pm$ 5,2	37,5 $\pm$ 10,0	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Thể tích trung bình hồng cầu (fL)	Lô chứng	50,1 $\pm$ 2,8	48,5 $\pm$ 2,2	48,3 $\pm$ 2,6	46,7 $\pm$ 4,5	> 0,05
	Lô trị 1	50,6 $\pm$ 2,1	48,8 $\pm$ 2,3	48,7 $\pm$ 2,3	48,2 $\pm$ 3,0	> 0,05
	Lô trị 2	50,5 $\pm$ 3,3	48,0 $\pm$ 2,0	48,0 $\pm$ 2,7	47,7 $\pm$ 3,7	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống thuốc thử TD.HLM01, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit ở lô trị 1 và lô trị 2 có

sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với trước uống thuốc và so với lô chứng sinh học (p > 0,05).

Bảng 3. Ảnh hưởng của TD.HLM01 đến chỉ số bạch cầu và tiểu cầu trong máu của chuột cống trắng

Chỉ số	Nhóm (n = 10)	Trước uống thuốc ($\bar{X} \pm SD$)	Sau uống thuốc			p
			4 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	8 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	12 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	
Số lượng bạch cầu (G/L)	Lô chứng	9,8 $\pm$ 3,6	8,6 $\pm$ 1,8	11,6 $\pm$ 3,0	8,0 $\pm$ 1,6	> 0,05
	Lô trị 1	7,0 $\pm$ 2,7	9,8 $\pm$ 3,9	9,6 $\pm$ 3,0	7,1 $\pm$ 2,2	> 0,05
	Lô trị 2	7,8 $\pm$ 3,6	7,9 $\pm$ 2,2	9,2 $\pm$ 2,3	9,7 $\pm$ 2,2	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Bạch cầu lympho (%)	Lô chứng	80,8 $\pm$ 5,3	80,0 $\pm$ 6,4	76,6 $\pm$ 4,2	81,1 $\pm$ 7,2	> 0,05
	Lô trị 1	73,6 $\pm$ 10,8	73,3 $\pm$ 9,1	70,9 $\pm$ 8,7	75,8 $\pm$ 10,0	> 0,05
	Lô trị 2	72,6 $\pm$ 13,4	74,9 $\pm$ 5,3	68,7 $\pm$ 11,7	75,3 $\pm$ 5,2	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Bạch cầu trung tính (%)	Lô chứng	7,5 $\pm$ 3,2	6,8 $\pm$ 3,0	6,6 $\pm$ 2,5	6,5 $\pm$ 3,4	> 0,05
	Lô trị 1	10,4 $\pm$ 3,5	9,2 $\pm$ 2,6	8,8 $\pm$ 2,3	8,5 $\pm$ 0,7	> 0,05
	Lô trị 2	11,8 $\pm$ 7,9	9,2 $\pm$ 2,5	8,7 $\pm$ 2,0	9,4 $\pm$ 3,0	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Chỉ số	Nhóm (n = 10)	Trước uống thuốc ($\bar{X} \pm SD$)	Sau uống thuốc			p
			4 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	8 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	12 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	
Số lượng tiểu cầu (G/L)	Lô chứng	521,9 $\pm$ 172,9	518,8 $\pm$ 147,8	522,1 $\pm$ 155,4	559,1 $\pm$ 124,8	> 0,05
	Lô trị 1	512,9 $\pm$ 157,6	542,3 $\pm$ 195,7	449,4 $\pm$ 154,9	465,7 $\pm$ 97,5	> 0,05
	Lô trị 2	436,8 $\pm$ 188,9	567,6 $\pm$ 185,7	563,3 $\pm$ 156,2	538,7 $\pm$ 113,8	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống thuốc thử TD.HLM01, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu ở lô trị 1 và lô trị 2 có khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với

trước uống thuốc và so với lô chứng sinh học (p > 0,05).

Ảnh hưởng của TD.HLM01 lên mức độ hủy hoại tế bào gan, chức năng gan và thận

Bảng 4. Ảnh hưởng của TD.HLM01 lên mức độ hủy hoại tế bào gan, chức năng gan và thận của chuột cống trắng

Chỉ số	Nhóm (n = 10)	Trước uống thuốc ($\bar{X} \pm SD$)	Sau uống thuốc			p
			4 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	8 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	12 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	
Bilirubin toàn phần (mmol/L)	Lô chứng	9,6 $\pm$ 0,7	9,2 $\pm$ 0,9	9,3 $\pm$ 0,6	9,1 $\pm$ 1,0	> 0,05
	Lô trị 1	9,4 $\pm$ 0,9	9,2 $\pm$ 0,5	8,9 $\pm$ 0,7	8,7 $\pm$ 0,5	> 0,05
	Lô trị 2	9,7 $\pm$ 0,7	9,5 $\pm$ 0,5	9,2 $\pm$ 0,6	9,2 $\pm$ 0,5	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Albumin (g/dL)	Lô chứng	3,3 $\pm$ 0,2	3,0 $\pm$ 0,3	2,9 $\pm$ 0,6	3,1 $\pm$ 0,2	> 0,05
	Lô trị 1	3,3 $\pm$ 0,2	3,1 $\pm$ 0,3	3,0 $\pm$ 0,4	2,8 $\pm$ 0,8	> 0,05
	Lô trị 2	3,3 $\pm$ 0,3	3,3 $\pm$ 0,4	2,9 $\pm$ 0,5	2,9 $\pm$ 0,6	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Cholesterol toàn phần (mmol/L)	Lô chứng	58,7 $\pm$ 6,4	49,4 $\pm$ 14,3	47,1 $\pm$ 17,9	48,1 $\pm$ 16,6	> 0,05
	Lô trị 1	58,9 $\pm$ 8,5	52,2 $\pm$ 6,2	46,8 $\pm$ 16,7	47,8 $\pm$ 15,5	> 0,05
	Lô trị 2	58,1 $\pm$ 18,1	45,6 $\pm$ 6,8	44,9 $\pm$ 8,5	45,3 $\pm$ 7,0	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

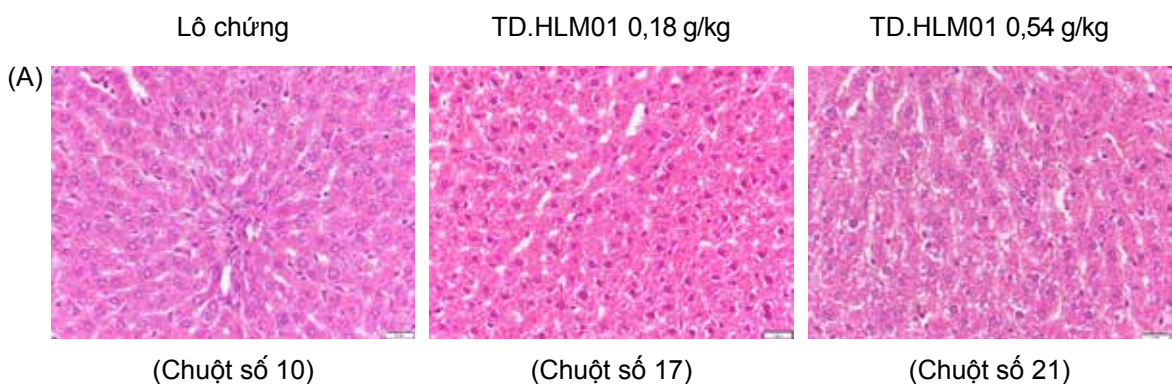
Chỉ số	Nhóm (n = 10)	Trước uống thuốc ($\bar{X} \pm SD$)	Sau uống thuốc			p
			4 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	8 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	12 tuần ($\bar{X} \pm SD$)	
AST (U/L)	Lô chứng	93,2 $\pm$ 21,9	86,5 $\pm$ 14,3	74,8 $\pm$ 17,0	76,3 $\pm$ 17,3	> 0,05
	Lô trị 1	113,6 $\pm$ 28,4	102,0 $\pm$ 20,4	96,0 $\pm$ 30,6	87,5 $\pm$ 28,6	> 0,05
	Lô trị 2	116,9 $\pm$ 40,8	98,2 $\pm$ 16,8	101,3 $\pm$ 36,7	90,0 $\pm$ 11,9	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
ALT (U/L)	Lô chứng	44,4 $\pm$ 9,4	38,4 $\pm$ 13,9	36,4 $\pm$ 13,6	37,0 $\pm$ 14,1	> 0,05
	Lô trị 1	49,2 $\pm$ 12,4	41,0 $\pm$ 6,4	40,6 $\pm$ 5,8	36,8 $\pm$ 14,6	> 0,05
	Lô trị 2	53,6 $\pm$ 17,0	41,2 $\pm$ 8,4	40,6 $\pm$ 10,9	36,6 $\pm$ 19,5	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Creatinin (mg/dL)	Lô chứng	70,6 $\pm$ 5,9	77,7 $\pm$ 9,0	65,5 $\pm$ 5,1	67,3 $\pm$ 3,7	> 0,05
	Lô trị 1	71,1 $\pm$ 5,3	72,6 $\pm$ 5,3	66,0 $\pm$ 5,7	69,3 $\pm$ 10,5	> 0,05
	Lô trị 2	72,9 $\pm$ 6,4	72,1 $\pm$ 6,4	66,7 $\pm$ 7,2	67,8 $\pm$ 5,4	> 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống thuốc thử TD.HLM01, nồng độ Bilirubin toàn phần, Albumin và Cholesterol toàn phần, hoạt độ AST, ALT và hàm lượng Creatinin trong máu của chuột cống trắng ở lô trị 1 và lô trị 2 có sự khác biệt không ý nghĩa thống kê so trước uống thuốc và so với lô chứng sinh học ($p > 0,05$).

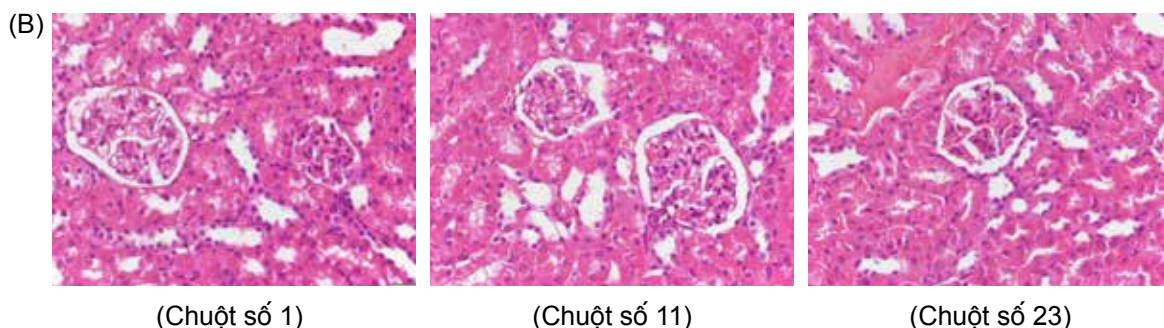
Ảnh hưởng của TD.HLM01 lên hình thái đại thể, cấu trúc vi thể gan và thận

- ***Hình thái đại thể của gan và thận:*** Trên tất cả các chuột thực nghiệm ở lô chứng và 2 lô trị, không quan sát thấy thay đổi bệnh lý nào về hình thái đại thể của gan và thận.

- ***Hình thái vi thể của gan và thận:***



Hình 1. Hình ảnh vi thể gan chuột (A) và thận chuột (B) ở các lô sau 12 tuần uống thuốc thử (HE x 400)



Hình 1. Hình ảnh vi thể gan chuột (A) và thận chuột (B) ở các lô sau 12 tuần uống thuốc thử (HE x 400)

Sau 12 tuần uống thuốc thử, cấu trúc vi thể gan và thận dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 và lô trị 2 không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng sinh học.

IV. BÀN LUẬN

Theo WHO, định nghĩa độc tính cấp tính là các tác dụng phụ xảy ra trong thời gian ngắn sau khi sử dụng một liều duy nhất của một chất hoặc nhiều liều được đưa ra trong vòng 24 giờ.^{3,11} Qua nghiên cứu, viên nang cứng TD.HLM01 được uống liều dung nạp tối đa là 37,5 g/kg không gây độc tính cấp. Ở liều cao nhất được sử dụng không có chuột nào chết trong vòng 72 giờ nên không xác định được LD₅₀ của thuốc. Viên nang cứng TD.HLM01 có nguồn gốc, thành phần và công thức theo đúng tỷ lệ các vị của Bán hạ bạch truật thiên ma thang – bài thuốc đã sử dụng an toàn rộng rãi trên lâm sàng tại Trung Quốc và Việt Nam.¹⁴ Bài thuốc chỉ có Bán hạ *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit., họ Ráy (Araceae) là dược liệu độc cần phải được chế biến theo đúng phương pháp chế biến do Bộ Y tế Việt Nam quy định.¹⁵ Zou T và cộng sự (2023) cho thấy độc tính cấp qua đường uống của Bán hạ với LD₅₀ là 397,24 g/kg.¹⁶ Tuy nhiên, liều này vượt xa so với liều lượng dự kiến dùng trên lâm sàng của Bán hạ trong chế phẩm TD.HLM01. Bên cạnh đó, Yao Q và cộng sự (2020) nghiên cứu thấy chiết xuất nước của Ba

chạc với liều tối đa 168,0 g/kg không gây độc tính cấp.⁶ Đào Hùng Cường và cộng sự (2015) nghiên cứu chiết xuất axit hydroxycitric và các muối của nó từ vỏ và lá quả Bứa tròn cho thấy không có độc tính cấp.⁸ Như vậy, chuột nhất trắng được dùng liều TD.HLM01 gấp 104 lần liều dự kiến dùng trên người nhưng không có biểu hiện độc tính cấp và theo WHO, viên nang cứng TD.HLM01 là thuốc thử nguồn gốc dược liệu có tính an toàn.¹³

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn, động vật được tiếp xúc nhiều lần với các thuốc thử hàng ngày trong một khoảng thời gian thay đổi.^{3,11} Sau 12 tuần, chúng tôi đánh giá tình trạng sức khỏe của chuột cống kết quả không quan sát thấy hoạt động bất thường nào của chuột và không thấy chuột tử vong. Trọng lượng chuột ở cả 3 lô đều tăng rõ rệt so với trước uống thuốc và có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các lô ở các thời điểm nghiên cứu. Jiang YH và cộng sự (2021) nghiên cứu thấy bài thuốc Bán hạ bạch truật thiên ma (17,8 g/kg) được uống trong 8 tuần có tác dụng giảm cân trên chuột béo phì.¹⁴ Ngoài ra, Gogoi A (2015) chứng minh rằng Bứa làm giảm cân do chiết xuất axit hydroxycitric làm tăng nồng độ serotonin, kiểm soát sự thèm ăn và ức chế enzym citrate lyase giúp giảm chuyển carbohydrate dư thừa thành axit béo nên giảm tích tụ mỡ thừa.⁷ Mặc dù, nghiên cứu này chưa

thấy tác dụng giảm cân của thuốc thử nhưng cũng khẳng định viên nang TD.HLM01 không có ảnh hưởng xấu tới tình trạng chung và thể trọng của chuột khi uống thuốc liên tục.

Theo WHO, chỉ số huyết học, chức năng gan và thận là các xét nghiệm bắt buộc để đánh giá độc tính của thuốc thử. Các tế bào máu là những tế bào nhân lên nhanh chóng và đời sống ngắn nên rất nhạy cảm với tác nhân độc hại. Gan, thận là cơ quan chuyển hóa và bài tiết của cơ thể nên khi nhiễm độc nhu mô rất dễ bị tổn thương. Qua nghiên cứu, viên nang TD.TLM01 không ảnh hưởng đến chức phận tạo máu thông qua các chỉ số số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu, số lượng bạch cầu, bạch cầu lympho, bạch cầu trung tính, số lượng tiểu cầu nằm trong giá trị bình thường ở tất cả thời điểm nghiên cứu và giữa các lô trị và lô chứng có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Đồng thời, viên nang cứng TD.HLM01 cũng không ảnh hưởng đến mức độ hủy hoại tế bào gan và chức năng gan. Nồng độ enzym ALT và AST có nguồn gốc từ gan trong huyết thanh thường tăng lên trong quá trình tổn thương tế bào gan. Bên cạnh đó, gan còn tham gia vào quá trình chuyển hóa bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần. Thêm vào đó, sau 12 tuần, hình ảnh mô bệnh học đại thể và vi thể gan chuột có sự thay đổi không đáng kể ở lô trị so với lô chứng sinh học. Mặt khác, viên nang TD.HLM01 ở cả hai liều 0,18 và 0,54 g/kg sau 12 tuần cũng không ảnh hưởng đến chức năng thận thông qua không làm thay đổi nồng độ creatinin huyết thanh trong máu chuột cống trắng và không có khác biệt rõ rệt về hình thái đại thể thận và cấu trúc vi thể cầu thận, ống thận ở tất cả các lô.

Bài thuốc Bán hạ bạch truật thiên ma đã có lịch sử ứng dụng lâm sàng hơn 300 năm.⁵ Zou T và cộng sự (2023) đã chỉ ra chiết xuất nước Bán

hạ (62,5 g/kg) có độc tính với gan gây tăng ALT, AST và tổn thương mô gan. Chiết xuất nước Bán hạ (2,275 g/kg) uống trong 14 ngày làm thoái hóa tế bào ống thận và bột Bán hạ (25g/kg) uống trong 10 ngày gây ra sự thâm nhiễm tế bào lympho khu trú rải rác trong nhu mô thận và hình thành ống trong ống thận. Tuy nhiên, nghiên cứu đã chứng minh rằng phương pháp chế biến có thể làm giảm độc tính và tăng hiệu quả của Bán hạ.¹⁶ Lê Thị Tuyết Anh và cộng sự (2017) nghiên cứu cho thấy axit hydroxycitric (hoạt chất chính chiết xuất từ quả Bứa) trên thỏ với liều 80 mg/kg (tương đương liều 1500 mg/ngày trên người) và liều cao 240 mg/kg không gây độc tính bán trường diễn.⁹ Như vậy, liều Bán hạ và Bứa được sử dụng dự kiến trên lâm sàng của viên TD.HLM01 thấp hơn nhiều liều trong nghiên cứu của Zou T, Lê Thị Tuyết Anh. Thêm vào đó, Yao Q (2020) nghiên cứu thấy Ba chạc có tác dụng bảo vệ tế bào gan.⁶ Tóm lại, viên nang cứng TD.HLM01 liều 0,18 và 0,54 g/kg/ngày không gây độc tính bán trường diễn.

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của viên nang cứng TD.HLM01, kết quả cho thấy:

- Viên nang cứng TD.HLM01 ở liều 37,5g/kg/ngày, gấp 104 lần liều dùng trên người không gây độc tính cấp. Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng của viên nang cứng TD.HLM01 theo đường uống.

- Viên nang TD.HLM01 khi dùng đường uống trong 12 tuần liên tục với 2 mức liều 0,18 g/kg/ngày và 0,54 g/kg/ngày không gây độc tính bán trường diễn: viên TD.HLM01 không ảnh hưởng đến tình trạng chung, thể trọng, chức phận tạo máu, mức độ hủy hoại tế bào gan, chức năng gan, thận, hình thái đại thể và cấu trúc vi thể gan, thận chuột cống.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Công ty cổ phần Sao Thái dương đã tài trợ nghiên cứu này. Các tác giả khẳng định không có bất kỳ xung đột lợi ích nào liên quan đến nghiên cứu này, cũng như không có lợi ích tài chính hoặc mối quan hệ cá nhân nào ảnh hưởng đến kết quả hoặc nội dung của bài báo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Virani Ss, Alonso A, Benjamin Ej, et al. Heart disease and stroke statistics-2020 update: A report from the american heart association. *Circulation*. 2020; 141(9). doi:10.1161/CIR.0000000000000757.
2. Ray S. Role of statins in the management of dyslipidaemia. *Indian Heart J*. 2024; 76 (Suppl 1): S33-S37. doi:10.1016/j.ihj.2023.11.267.
3. Jitäreanu A, Trifan A, Vieriu M, Caba IC, Mătu I, Agoroaei L. Current trends in toxicity assessment of herbal medicines: A narrative review. *Processes*. 2023; 11(1): 83. doi:10.3390/pr11010083.
4. Viện Y học Trung y Bắc Kinh. *Phương tế học giảng nghĩa*. Nhà xuất bản Y học; 1994: 496-7.
5. Zhang H, Sun Y, Zou Y, Chen C, Wang S. Stigmasterol and gastrodin, two major components of banxia-baizhu-tianma decoction, alleviated the excessive phlegm-dampness hypertension by reducing lipid accumulation. *J Ethnopharmacol*. 2024; 319: 117193. doi:10.1016/j.jep.2023.117193.
6. Yao Q, Gao Y, Lai C, et al. The phytochemistry, pharmacology and applications of *Melicope pteleifolia*: A review. *J Ethnopharmacol*. 2020; 251: 112546. doi:10.1016/j.jep.2020.112546.
7. Gogoi A, Gogoi N, Neog B. Dubious anti-obesity agent HCA from *Garcinia*: A systematic review. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2015; 7(7): 1-8. <https://journals.innovareacademics.in/index.php/ijpps/article/view/5131>.
8. Đào Hùng Cường, Phan Thảo Thơ, Vũ Thị Hạnh Yến. Nghiên cứu độc tính cấp các sản phẩm giảm cân của axit hydroxycitric. *Tạp chí Khoa học công nghệ - Đại học Đà Nẵng*. 2015; 03(88): 99.
9. Lê Thị Tuyết Anh, Phan Thảo Thơ, Đào Hùng Cường. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn các chế phẩm của axit hydroxycitric làm thực phẩm chức năng giảm cân. *Kỷ yếu Hội thảo Khoa học toàn quốc - Hội Hóa học Việt Nam*. Published online 2017: 82-89.
10. Bộ Y Tế. Quy định về thử thuốc trên lâm sàng. Quyết định 29/2018/TT-BYT về Quy định về thử thuốc trên lâm sàng. <https://vbpl.vn/boyte/Pages/vbpq-toanvan.aspx?ItemID=132229>.
11. 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.
12. Litchfield JT, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther*. 1949; 96(2): 99-113.
13. Bộ Y Tế, Cục khoa học công nghệ và đào tạo. Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu. Quyết định 141/QĐ-K2ĐT 2015 về Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu. <https://vanbanphapluat.co/quyet-dinh-141-qd-k2dt-2015-huong-dan-thu-nghiem-tien-lam-sang-lam-sang-thuoc-dong-y>.
14. Jiang YH, Zhang P, Tao Y, et al. Banxia baizhu tianma decoction attenuates obesity-related hypertension. *J Ethnopharmacol*. 2021; 266: 113453. doi:10.1016/j.jep.2020.113453.
15. Bộ Y Tế. Danh mục dược liệu độc làm thuốc. Thông tư 42/2017/TT-BYT về Danh mục dược liệu độc làm thuốc. <http://lawnet.vn/vb/Thong-tu-42-2017-TT-BYT-Danh-muc-duoc>.

lieu-doc-su-dung-lam-thuoc-53AD9.html

16. Zou T, Wang J, Wu X, et al. A review of the research progress on *Pinellia ternata* (Thunb.)

Breit.: Botany, traditional uses, phytochemistry,

pharmacology, toxicity and quality control.

Heliyon. 2023; 9(11): e22153. doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22153>.

Summary

STUDY ON ACUTE AND SUB-CHRONIC TOXICITY OF TD.HLM01 HARD CAPSULE IN EXPERIMENTAL ANIMALS

The study aimed to evaluate the acute and sub-chronic oral toxicity of TD.HLM01 hard capsule in experimental animals according to the WHO guidelines and LD50 calculated according to the Litchfield-Wilcoxon method. The result showed that TD.HLM01 hard capsules at the highest dose of 37.5 g/kg b.w./day - 104 times higher than the expected clinical dose - did not cause acute toxicity and the LD50 of TD.HLM01 capsule could not be determined. TD.HLM01 hard capsule at 0.18 g/kg b.w./day and 0.54 g/kg b.w./day did not cause subchronic toxicity in white rats over 12 consecutive weeks of oral administration. The drug had no effect on the general condition, body weight, hematopoietic function, liver cell damage, liver and kidney functions, as well as the macroscopic morphology and microscopic structure of the liver and kidneys in rats. Current findings show TD.HLM01 hard capsule had no acute and sub-chronic oral toxicity in experimental animals.

Keywords: Acute toxicity, sub-chronic toxicity, TD.HLM01 hard capsule.