

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN HOÀN MỀM TINH KỲ TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Tuấn Lượng², Nguyễn Trung Quân² và Lê Thị Minh Phương^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Viện Y học cổ truyền Quân đội

Viên hoàn mềm Tinh Kỳ có thành phần gồm Hoàng tinh (*Rhizoma Polygonati*), Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei*), Sâm cau (*Rhizoma Curculiginis*), và Tỏa dương (*Cynomorium songaricum*). Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của viên hoàn mềm Tinh Kỳ trên thực nghiệm. Nghiên cứu độc tính cấp được thực hiện trên 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. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn được thực hiện trên 30 chuột cống trắng chủng Wistar được chia thành 3 lô: lô chứng uống nước cất 2 ml/kg thể trọng, lô trị 1 uống hoàn mềm Tinh Kỳ liều 4,08 g/kg/ngày, lô trị 2 uống hoàn mềm Tinh Kỳ liều 12,24 g/kg/ngày trong 90 ngày và được theo dõi cân nặng, tình trạng chung, các chỉ số huyết học, sinh hóa và vi thể gan thận. Không xác định được liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm (LD_{50}) của hoàn mềm Tinh Kỳ, mặc dù cho chuột uống với thể tích và liều cao nhất có thể uống là 51 g/kg thể trọng chuột. Không thấy độc tính bán trường diễn của hoàn mềm Tinh Kỳ trên chuột cống trắng khi cho chuột cống trắng uống liều 4,08 g/kg thể trọng và một lô uống liều 12,24 g/kg thể trọng chuột/ngày trong 90 ngày liên tục uống thuốc.

Từ khóa: Viên hoàn mềm Tinh Kỳ, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, chuột nhắt trắng chủng Swiss, chuột cống trắng chủng Wistar.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viên hoàn mềm Tinh Kỳ là chế phẩm thuốc cổ truyền có thành phần chế phẩm gồm cao khô toàn phần Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei*), cao khô toàn phần Hoàng tinh (*Rhizoma Polygonati*), cao khô toàn phần Sâm cau (*Rhizoma Curculiginis*) và bột Tỏa dương (*Balanophora laxiflora*). Đây là những vị thuốc có tác dụng cải thiện chất lượng, số lượng tinh trùng để hướng tới điều trị vô sinh nam do suy giảm chất lượng và số lượng tinh trùng hoặc để hỗ trợ cho sự thành công của các phương pháp hỗ trợ sinh sản.¹⁻³ Các nghiên cứu đánh giá về độc tính của từng dược liệu có trong viên hoàn mềm Tinh Kỳ thấy Hoàng kỳ an toàn mà

không có bất kỳ độc tính hay tác dụng phụ nào, phạm vi liều dùng an toàn là 5,7 - 39,9 g/kg đối với chuột, tương đương với 70 hoặc 35 lần liều dùng cho người khi dùng liên tục trong 3 tháng.⁴ Hoàng tinh không gây ra các dấu hiệu bất thường nghiêm trọng hoặc tử vong cho động vật trong nghiên cứu độc tính cấp tính và độc tính trường diễn kéo dài 6 tháng.⁵ Sâm cau với liều rất cao, gấp 60 lần liều tương đương liều lâm sàng là 120 g/kg thể trọng chuột, sau khi cho chuột uống liên tục trong 180 ngày có thể gây tổn thương gan và thận⁶. Trong nghiên cứu độc tính cấp với liều tối đa chiết xuất của Tỏa dương là 5000 mg/kg cũng không xác định được liều tối đa gây chết 50% động vật thí nghiệm (Lethal dose 50% - LD_{50}).⁷ Các kết quả trên cho thấy đây là các vị thuốc an toàn với liều điều trị thường dùng trên lâm sàng. Tuy nhiên còn thiếu các thông tin về tính an toàn khi

Tác giả liên hệ: Lê Thị Minh Phương

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: lethiminhphuong@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 22/07/2025

Ngày được chấp nhận: 07/08/2025

phối hợp các vị thuốc trên trong một bài thuốc ở dạng bào chế viên hoàn mềm. Để cung cấp bằng chứng khoa học cho tính an toàn trên thực nghiệm, đồng thời cũng làm cơ sở để thực hiện các nghiên cứu về tác dụng của chế phẩm trên thực nghiệm và tiến tới nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn của viên hoàn mềm Tinh Kỳ trên thực nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Chất liệu nghiên cứu

Viên hoàn mềm Tinh Kỳ do Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng sản xuất thuốc đông y, Viện Y học cổ truyền Quân đội sản xuất. Đạt tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần công thức 1 viên hoàn mềm 8,5g gồm 2,25g cao khô Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei*), 1,5g cao khô Hoàng tinh (*Rhizoma Polygonati*), 0,5g cao khô toàn phần Sâm cau (*Rhizoma Curculiginis*) và 0,75g bột Tỏa dương (*Balanophora laxiflora*), tá dược (Mật ong) vừa đủ. Chế phẩm nghiên cứu được pha trong nước cất trước khi cho động vật thực nghiệm uống.

Động vật nghiên cứu

Chuột cống trắng trưởng thành dòng Wistar, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng trung bình mỗi con 160 - 180g. Chuột nhắt trắng trưởng thành dòng Swiss, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng trung bình mỗi con 18 - 22g. Do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương và Trung tâm chăn nuôi (Viện Kiểm nghiệm) cung cấp. Động vật được nuôi 3 - 5 ngày trước khi nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho từng loại động, uống nước tự do trong phòng thí nghiệm của Khoa Nghiên cứu Thực nghiệm Viện Y học cổ truyền Quân đội.

Hoá chất nghiên cứu

Kit định lượng ALT (alanin aminotransferase); AST (aspartat aminotransferase); bilirubin toàn phần; albumin, ure và creatinin máu của Beckman Coulter, máy xét nghiệm sinh hóa tự động AU-680 Beckman Coulter. Dung dịch xét nghiệm máu (hãng Abbott cell-dyn ruby), máy xét nghiệm huyết học hãng Abbott cell-dyn ruby. Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

2. Phương pháp

Nghiên cứu độc tính cấp

Độc tính cấp LD₅₀ của viên hoàn mềm Tinh Kỳ được xác định trên chuột nhắt trắng theo đường uống bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon.⁸ Chuột nhắt trắng nhện đói 12 giờ trước khi thí nghiệm, được phân chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con, uống thuốc thử với liều tăng dần để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất gây chết 0%. Chuột được theo dõi tình trạng chung, 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. Xây dựng đồ thị xác định LD₅₀ của chế phẩm nghiên cứu. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống viên hoàn mềm Tinh Kỳ.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên hoàn mềm Tinh Kỳ được tiến hành trên chuột cống trắng theo đường uống.⁸ Chuột được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con, các lô chuột cống trắng được uống nước cất hoặc thuốc nghiên cứu 90 ngày liên tục. Viên hoàn Tinh Kỳ có khối lượng 8,5 g/viên, liều dự kiến trên người là 4 viên/ngày (0,567 g/kg/ngày với người 60kg). Áp dụng hệ số quy đổi theo diện tích bề mặt cơ thể (Km người = 37, Km chuột = 6), liều tương đương trên chuột là khoảng 3,5 g/kg/ngày. Để đảm bảo đánh giá tối ưu hiệu

quả điều trị, liều được hiệu chỉnh tăng 1 - 1,5 lần, chọn liều thử nghiệm là 4,08 g/kg/ngày và liều gấp 3 lần tương ứng là 12,24 g/kg/ngày. Lô chứng: uống nước cất 2ml /kg thể trọng. Lô trị 1: uống hoàn mềm Tinh Kỳ liều 4,08 g/kg/ ngày (tương đương với liều dùng trên lâm sàng, hệ số 6). Lô trị 2: uống hoàn mềm Tinh Kỳ liều 12,24 g/kg/ngày (liều dùng gấp 3 liều lô 1).

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

- (1) Tình trạng chung, thể trọng của chuột.
- (2) Đánh giá chức năng tạo máu: theo dõi số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.
- (3) Đánh giá chức năng gan, thận: ALT, AST, ure, creatinin, billirubin, albumin trong máu được đánh giá vào trước lúc uống thuốc, sau 45 ngày và 90 ngày uống thuốc.
- (4) Mô bệnh học: cấu trúc đại thể, vi thể của gan thận được đánh giá sau 90 ngày uống thuốc.

Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập, xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học bằng phần mềm SPSS 20.0. Các biến được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (Mean $\pm$ SD), tỉ lệ %. So sánh sự khác biệt trung bình giữa các nhóm được thực hiện bằng test T Student cho hai mẫu độc lập. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

Nghiên cứu độc tính cấp

Sau khi cho chuột uống hoàn mềm Tinh Kỳ tới liều cao nhất tới 51g/kg chuột nhất trắng nhận thấy các chuột hoạt động bình thường, lông mượt, phân khô. Không nhận thấy biểu hiện ngộ độc nào trên chuột thí nghiệm trong thời gian theo dõi. Sau 72 giờ, các lô thí nghiệm đều không có chuột chết. Mỗi chuột các lô thấy tim, gan, thận, phổi tươi nhuận; dạ dày, ruột hết thuốc. Không xác định được LD₅₀ của hoàn mềm Tinh Kỳ với liều 51g/kg chuột nhất trắng (gấp 6,8 lần liều dự kiến dùng trên lâm sàng).

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên hoàn mềm Tinh Kỳ

Lô	Số lượng	Liều (g/kg)	Tỉ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường
1	10	10,2	0	Không
2	10	20,4	0	Không
3	10	30,6	0	Không
4	10	40,8	0	Không
5	10	51	0	Không

Các lô chuột uống viên hoàn mềm Tinh Kỳ với liều tăng dần từ 10,2g/kg tới tới 51g/kg không có biểu hiện độc tính cấp. Liều tối đa dung nạp viên hoàn mềm Tinh Kỳ trên chuột nhất trắng là 51g/kg chuột.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Kết quả theo dõi tình trạng chung và sự thay đổi trọng lượng của chuột

Trong suốt thời gian thí nghiệm, chuột ở cả 3 lô ăn uống, hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô chuột trong suốt thời gian nghiên cứu. Sau 45 ngày và 90 ngày uống hoàn mềm Tinh Kỳ, trọng lượng chuột ở cả 3 lô đều tăng so với trước khi uống thuốc ($p < 0,01$). Không có sự khác biệt về

mức độ tăng trọng lượng chuột giữa lô chứng và các lô dùng thuốc thử tại cùng thời điểm ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của hoàn mềm Tinh Kỳ đến chức năng tạo máu

Bảng 2. Ảnh hưởng của hoàn mềm Tinh Kỳ đến các chỉ số tế bào máu ngoại vi

Thời gian	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô trị 1 (2) (n = 10)	Lô trị 2 (3) (n = 10)	p
Số lượng hồng cầu (T/l)				
Trước uống	7,52 ± 0,85	7,65 ± 0,57	7,32 ± 0,74	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	8,04 ± 0,50	7,76 ± 0,42	7,73 ± 0,52	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	7,72 ± 0,50	7,70 ± 0,53	7,61 ± 0,58	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Hàm lượng huyết sắc tố (g/dl)				
Trước uống	13,96 ± 1,57	13,91 ± 1,18	14,07 ± 1,20	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	14,49 ± 0,87	14,55 ± 0,65	14,52 ± 0,62	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	14,04 ± 0,88	14,01 ± 0,88	14,34 ± 1,12	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Hematocrit (%)				
Trước uống	39,58 ± 4,71	38,84 ± 4,53	41,12 ± 3,30	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	42,35 ± 2,94	40,68 ± 3,99	41,46 ± 3,68	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	41,06 ± 3,97	38,59 ± 2,48	39,43 ± 3,01	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Thể tích trung bình hồng cầu (fl)				
Trước uống	53,36 ± 1,96	55,01 ± 1,74	55,24 ± 5,49	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	52,66 ± 2,55	54,11 ± 2,35	54,04 ± 2,17	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	53,16 ± 3,26	53,12 ± 3,61	52,84 ± 4 37	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Số lượng bạch cầu (G/l)				
Trước uống	11,70 ± 2,05	10,28 ± 3,06	10,17 ± 2,69	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	11,97 ± 2,17	12,39 ± 4,52	10,67 ± 2,87	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	10,85 ± 2,58	11,51 ± 2,66	10,40 ± 3,76	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Tỉ lệ bạch cầu trung tính (%)				
Trước uống	23,63 ± 4,96	20,39 ± 5,30	22,20 ± 4,94	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	20,84 ± 5,24	21,76 ± 6,12	23,49 ± 3,87	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	20,95 ± 4,41	22,87 ± 3,61	23,63 ± 3,87	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$

Thời gian	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô trị 1 (2) (n = 10)	Lô trị 2 (3) (n = 10)	p
Tỉ lệ bạch cầu lympho (%)				
Trước uống	72,87 ± 7,30	74,35 ± 5,41	72,44 ± 6,27	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	75,23 ± 5,42	73,30 ± 6,45	71,72 ± 4,29	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	74,10 ± 6,41	72,70 ± 3,78	69,44 ± 6,25	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Số lượng tiểu cầu (G/l)				
Trước uống	329,90 ± 71,65	356,80 ± 73,04	367,50 ± 69,88	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	313,60 ± 74,60	361,90 ± 75,21	343,80 ± 73,75	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	315,70 ± 71,81	351,60 ± 76,49	330,10 ± 79,82	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$

Sau 45 ngày và 90 ngày uống hoàn mềm Tinh Kỳ, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu ở cả lô trị 1 và lô trị 2 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô

chứng và so sánh giữa các thời điểm ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của hoàn mềm Tinh Kỳ đến chức năng gan thận

Bảng 3. Ảnh hưởng của hoàn mềm Tinh Kỳ đến các chỉ số sinh hóa trong máu chuột

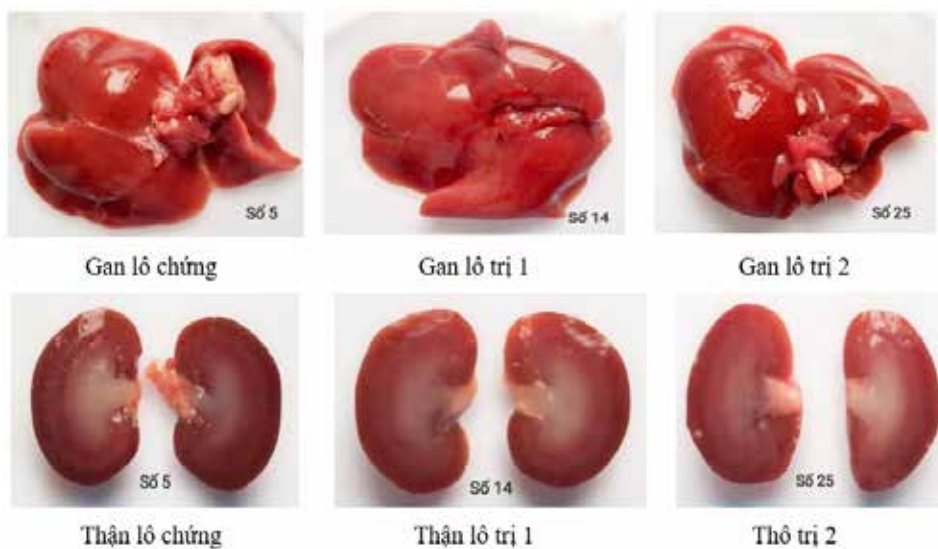
Thời gian	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô trị 1 (2) (n = 10)	Lô trị 2 (3) (n = 10)	p
Hoạt độ AST (U/l)				
Trước uống	146,13 ± 22,31	148,54 ± 24,94	152,10 ± 19,75	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	148,23 ± 22,29	141,50 ± 26,47	144,58 ± 20,52	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	132,84 ± 17,96	138,60 ± 20,73	143,77 ± 22,25	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Hoạt độ ALT (U/l)				
Trước uống	46,55 ± 9,42	49,27 ± 8,61	45,70 ± 7,00	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	51,72 ± 5,61	52,07 ± 5,17	49,83 ± 9,67	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	51,29 ± 8,07	50,68 ± 9,39	47,12 ± 6,97	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Bilirubin (μmol/L)				
Trước uống	14,68 ± 3,70	12,33 ± 3,77	12,72 ± 3,40	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	13,93 ± 3,47	11,78 ± 4,48	11,15 ± 4,47	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	13,55 ± 3,56	11,13 ± 4,91	11,99 ± 5,49	$p_{1-2}; p_{1-3}; p_{2-3} > 0,05$

Thời gian	Lô chứng (1) (n = 10)	Lô trị 1 (2) (n = 10)	Lô trị 2 (3) (n = 10)	p
Albumin (g/L)				
Trước uống	35,13 ± 2,77	33,99 ± 2,57	34,43 ± 5,04	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	34,94 ± 1,15	33,35 ± 3,35	33,64 ± 3,43	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	34,13 ± 2,95	34,88 ± 2,59	33,32 ± 2,93	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)				
Trước uống	68,89 ± 5,13	71,68 ± 6,41	72,28 ± 7,25	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	72,45 ± 5,60	75,15 ± 7,40	74,81 ± 8,35	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	73,58 ± 6,84	74,17 ± 6,52	75,44 ± 8,73	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Ure (mmol/L)				
Trước uống	5,79 ± 0,70	6,13 ± 1,00	6,17 ± 0,75	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 45 ngày	5,48 ± 0,57	5,85 ± 0,48	5,83 ± 0,50	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$
Sau 90 ngày	6,00 ± 0,76	5,98 ± 1,03	5,72 ± 1,20	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} > 0,05$

Sau 45 ngày và 90 ngày uống hoàn mềm Tinh Kỳ, các xét nghiệm hoạt độ AST, ALT, nồng độ bilirubin, albumin, nồng độ creatinin và ure trong máu chuột ở cả cá lô trị 1 và lô trị 2 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô

chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước, sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$).

Nghiên cứu ảnh hưởng của hoàn mềm Tinh Kỳ đến hình thái, cấu trúc vi thể gan thận Đại thể

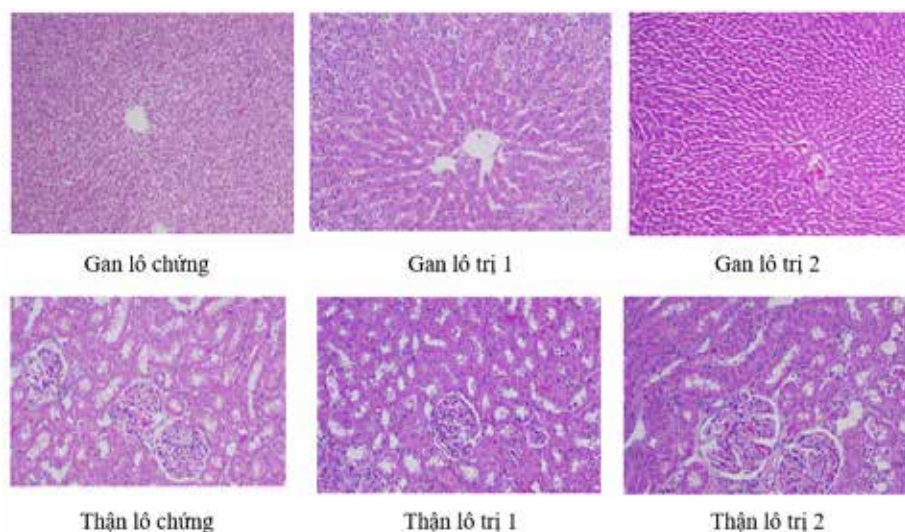


Hình 1. Hình ảnh đại thể gan, thận các lô chuột

Sau 90 ngày nghiên cứu, trên tất cả các chuột thực nghiệm gồm cả lô chứng, lô trị 1 và lô trị 2 không 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 cống. Không thấy sự khác biệt hình ảnh đại thể gan,

thận ở các chuột tại các lô đối chứng, lô trị 1 và lô trị 2 uống hoàn mềm Tinh Kỳ với liều có tác dụng tương đương trên người và liều gấp 3 lần liều tương đương liều điều trị trên người.

Vi thể



Hình 2. Hình ảnh vi thể gan, thận các lô chuột

Sau 90 ngày uống viên hoàn mềm Tinh Kỳ cả lô trị 1 (uống thuốc liều 4,08 g/kg thể trọng) và lô trị 2 (uống thuốc liều 12,24 g/kg thể trọng) cấu trúc vi thể gan, thận của lô trị 1 và lô trị 2 không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu độc tính cấp

Xác định độc tính cấp là thử nghiệm bắt buộc trong quy trình nghiên cứu tính an toàn của thuốc.⁸ Xác định LD₅₀ bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon được lựa chọn vì đây là phương pháp tính nhanh, kết quả có độ chính xác cao.⁸ Kết quả nghiên cứu cho thấy sau khi cho chuột uống hoàn mềm Tinh Kỳ với liều tăng dần từ 10,2g/kg tới 51g/kg chuột nhất trắng nhận thấy các chuột hoạt động bình thường, lông mượt, phân khô. Không nhận thấy biểu hiện ngộ độc nào trên chuột thí nghiệm trong

thời gian theo dõi. Sau 72 giờ, các lô thí nghiệm đều không có chuột chết. Mổ chuột các lô thấy tim, gan, thận, phổi tươi nhuận; dạ dày, ruột hết thuốc. Không xác định được LD₅₀ của hoàn mềm Tinh Kỳ với liều 51g/kg chuột nhất trắng. Khi quy đổi liều theo hệ số giữa người và chuột nhất, liều dùng tối đa an toàn ở người là 231g/người/ngày (gấp 6,8 liều dự kiến trên lâm sàng).

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Thời gian nghiên cứu độc tính bán trường diễn trong nghiên cứu là 90 ngày liên tục do quá trình sinh tinh trung bình của người là xấp xỉ 70 ngày, dự kiến thời gian sử dụng hoàn Tinh Kỳ trên lâm sàng là 70 ngày.⁹ Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của chuột: trong suốt thời gian thí nghiệm, chuột ở cả 3 lô vẫn ăn uống, hoạt động bình thường, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Trọng lượng chuột ở cả 3 lô (lô chứng và hai lô nghiên cứu) đều tăng so

với thời điểm trước khi nghiên cứu ($p < 0,01$). Không có sự khác biệt về mức độ tăng trọng lượng giữa lô chứng và các lô dùng thuốc tại cùng thời điểm theo dõi ($p > 0,05$). Như vậy, hoàn mềm Tinh Kỳ không ảnh hưởng đến đến toàn trạng chung và sự phát triển của chuột.

Các tế bào máu ngoại vi phản ánh tình trạng hoạt động của cơ quan tạo máu.¹⁰ Kết quả ở các bảng 2 cho thấy sau 45 ngày và 90 ngày uống viên mềm Tinh Kỳ, 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 ở cả lô trị 1 (uống liều 4,08 g/kg thể trọng tương đương liều dùng trên người và lô trị 2 (uống liều 12,24 g/kg thể trọng gấp 3 lần liều dùng trên người) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước, sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$). Như vậy, hoàn mềm Tinh Kỳ với liều nghiên cứu không làm thay đổi một số chỉ số huyết học đánh giá chức năng tạo máu.

Gan là cơ quan quan trọng của cơ thể, với nhiều chức năng trong đó có chức năng chuyển hóa và thải độc, khi độc tố xâm nhập vào cơ thể sẽ làm ảnh hưởng chức năng cũng như cấu trúc của gan.¹⁰ Kết quả ở các bảng 3 cho thấy sau 45 ngày và 90 ngày uống hoàn mềm Tinh Kỳ, các xét nghiệm đánh giá chức năng gan (hoạt độ AST, ALT, bilirubin, albumin) trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống thuốc liều 4,08 g/kg thể trọng) và lô trị 2 (uống thuốc liều 12,24 g/kg thể trọng) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước, sau khi uống thuốc thử ($p > 0,05$). Trên hình ảnh đại thể (hình 1) và vi thể (hình 2) chưa nhận thấy sự khác biệt hình ảnh đại thể và vi thể gan ở các chuột tại các lô đối chứng uống nước cất, lô thử 1 và lô thử 2. Như vậy, qua kết quả nghiên cứu cho thấy hoàn mềm Tinh Kỳ không làm thay đổi hình thái cũng như một số chỉ số đánh giá chức năng gan.

Thận là cơ quan bài tiết quan trọng của cơ thể. Khi nhu mô thận bị tổn thương, chức năng bài tiết của thận cũng bị suy giảm, nồng độ các chất đào thải qua thận trong máu tăng cao.¹⁰ Kết quả ở bảng 2 cho thấy sau 45 ngày và 90 ngày uống hoàn mềm Tinh Kỳ, ở cả lô trị 1 (uống thuốc liều 4,08 g/kg) và lô trị 2 (uống thuốc liều 12,24 g/kg) nồng độ creatinin và ure trong máu chuột không có sự thay đổi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước, sau uống thuốc thử ($p > 0,05$). Trên hình ảnh đại thể (hình 1) và vi thể (hình 2) chưa nhận thấy sự khác biệt hình ảnh đại thể thận ở các chuột tại các lô đối chứng uống nước cất, lô trị 1 và lô trị 2. Như vậy, qua kết quả nghiên cứu cho thấy, hoàn mềm Tinh Kỳ không ảnh hưởng đến hình thái cũng như chức năng thận.

Viên hoàn mềm Tinh Kỳ có thành phần gồm cao khô toàn phần Hoàng kỳ, cao khô toàn phần Hoàng tinh, cao khô toàn phần Sâm cau và bột Tỏa dương được ứng dụng trong điều trị vô sinh nam do suy giảm tinh trùng.¹⁻³ Các nghiên cứu đánh giá về độc tính riêng lẻ của từng dược liệu có trong viên hoàn mềm Tinh Kỳ đã được triển khai cho thấy có tính an toàn.^{4,5,7} Khi kết hợp các dược liệu này trong viên hoàn mềm Tinh Kỳ cũng cho thấy chế phẩm có tính an toàn. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn trên chuột cống trắng bằng đường uống trong thời gian 90 ngày của hoàn mềm Tinh Kỳ không thể hiện độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng khi cho chuột cống trắng uống liều 4,08 g/kg thể trọng/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dùng trên người) và liều 12,24 g/kg thể trọng/ngày (cao gấp 3 lần liều tương đương liều lâm sàng dùng cho người). 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 rõ rệt so với lô chứng.

V. KẾT LUẬN

Không xác định được liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm (LD_{50}) của viên hoàn mềm Tinh kỳ, mặc dù cho chuột uống với thể tích và liều cao nhất có thể uống là 51g /kg thể trọng chuột. Viên hoàn mềm Tinh Kỳ không thể hiện độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng khi cho chuột cống trắng uống liều 4,08 g/kg thể trọng (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến dùng trên lâm sàng) và một lô uống liều 12,24 g/kg thể trọng chuột/ngày (cao gấp 3 lần liều dự kiến dùng cho lâm sàng) trong 90 ngày liên tục uống thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kim W, Kim DR, Park SK, et al. Astragalus membranaceus augment sperm parameters in male mice associated with cAMP-responsive element modulator and activator of CREM in testis. *J Tradit Complement Med*. 2016; 6(3): 294-298.
2. Chen XJ, Duan JF, Liu KQ, et al. Botany, Traditional Uses, and Pharmacology of Polygonati Rhizoma. *Chinese Medicine and Culture*. 2021; 4(4): 251-259.
3. Đỗ Tất Lợi. *Những Cây Thuốc và vị Thuốc Việt Nam*. 21st ed. Nhà xuất bản Y học; 2022.
4. Yu SY, OuYang HT, Yang JY, et al. Subchronic toxicity studies of Radix Astragali extract in rats and dogs. *J Ethnopharmacol*. 2007; 110(2): 352-355.
5. Chen H, Feng R, , Jiang J, et al. Toxicity studies of Rhizoma Polygonati Odorati. *J Ethnopharmacol*. 2001; 74(3): 221-224.
6. Nie Y, Dong X, He Y, et al. Medicinal plants of genus Curculigo: Traditional uses and a phytochemical and ethnopharmacological review. *J Ethnopharmacol*. 2013; 147(3): 547-563.
7. Phuc NTH, Hai PD, , Minh Quan D, et al. Acute toxicity evaluation of methanol, ethanol and aqueous extracts of Balanophora latisepala (V.Tiegh.) Lec. *Veterinary Integrative Sciences*. 2022; 20(3): 669-681.
8. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. Springer International Publishing; 2016. doi:10.1007/978-3-319-05392-9.
9. Bergmann M. Physiology of Spermatogenesis. In: *Andrology for the Clinician*. Springer Berlin Heidelberg: 272-281. doi:10.1007/3-540-33713-X_58
10. Nguyễn Thế Khánh. *Xét Nghiệm Sử Dụng Trong Lâm Sàng*. Nhà xuất bản Y học; 2015.

Summary

EXPERIMENTAL EVALUATION OF ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY OF TINH KY

Tinh Ky soft pill formulation composed of Rhizoma Polygonati (Hoàng tinh), Radix Astragali membranacei (Hoàng kỳ), Rhizoma Curculiginis (Sâm cau), and Cynomorium songaricum (Tỏa dương) is used in traditional medicine for the treatment of male infertility. This study was conducted to evaluate the acute and subchronic toxicity of Tinh Ky soft pills in experimental models. The acute toxicity study was conducted on Swiss mice. The animals were administered increasing oral doses to determine the lowest dose causing 100% mortality and the highest dose causing no mortality. The subchronic toxicity study was conducted on Wistar rats, divided into three groups: the control group received distilled water at 2 ml/kg body weight. The treatment group 1 received Tinh Ky at 4.08 g/kg/day. The treatment group 2 received Tinh Ky 12.24 g/kg/day for 90 days. Body weight, general condition, hematological and biochemical parameters, and histopathological changes in the liver and kidney were monitored thorough the study period. No lethal dose (LD_{50}) could be determined for Tinh Ky soft pills, even at the maximum administrable oral dose of 51 g/kg body weight in mice. No subchronic toxicity was observed in Wistar rats administered 4.08 g/kg and 12.24 g/kg of Tinh Ky soft pills daily for 90 days.

Keywords: Tinh Ky soft pills, acute toxicity, subchronic toxicity, Swiss mice, Wistar rats.