

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA VIÊN NANG KIỆN TỖ TIÊU TÍCH ĐỐI VỚI TRẠNG THÁI CHUNG VÀ CHỈ SỐ HUYẾT HỌC Ở ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

NGÔ DANH LỤC, NGUYỄN MINH HÀ
Viện YHCT Quân đội

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viên nang kiện tỳ tiêu tích được bào chế từ các vị thuốc: Đảng sâm, đương quy, phục linh, bạch truật, bạch thược, trần bì, tiểu hồi, hoàng kỳ, trạch tả, hậu phác, chỉ xác, hoài sơn, sinh ngải diệp vắt nước vừa đủ, kết hợp với những kinh nghiệm dân gian về bào chế vị thuốc Thần khúc. Đây là bài thuốc dựa trên cơ sở của bài thuốc Kiện tỳ dưỡng vị (Thương khoa bổ yếu) gia thêm hậu phác, chỉ xác, hoài sơn, sinh ngải diệp, để điều trị tỳ vị hư nhược, ăn ít, đau bụng đi ngoài [6]. Để có cơ sở khoa học chắc chắn về độ an toàn của viên nang kiện tỳ tiêu tích, trước khi tiến hành nghiên cứu và đánh giá hiệu quả của thuốc trên lâm sàng. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu độc tính cấp và ảnh hưởng của viên nang kiện tỳ tiêu tích lên thể trạng và hệ thống tạo máu ở động vật thực nghiệm [2].

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu và đối tượng nghiên cứu.

* **Nguyên liệu:** các vị thuốc được bào chế theo qui trình thống nhất tại khoa dược Viện Y học cổ truyền Quân đội theo tiêu chuẩn Dược điển VNIII, kết hợp với

những kinh nghiệm dân gian về bào chế vị thuốc Thần khúc [1], [3]. Sau khi bào chế, thuốc được đóng dưới dạng viên nang, trước khi dùng hòa với nước ấm đến dạng lỏng thích hợp cho thí nghiệm.

* **Động vật thực nghiệm:**

- Chuột nhắt trắng trọng lượng $20 \pm 2g$ do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp.

- Thỏ trọng lượng từ 1,8-2,5kg do Trung tâm Chăn nuôi Viện Kiểm nghiệm Bộ Y tế cung cấp.

Động vật thực nghiệm cả hai giống, khoẻ mạnh được nuôi tại phòng thí nghiệm. Bộ môn Dược lý Trường Đại học Y Hà Nội, bằng thức ăn chuẩn dành cho mỗi loại, uống nước tự do.

- Hóa chất và thiết bị: dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX Diagnostics, định lượng trên máy Vet ABC TM Animal Blood Counter.

2. Phương pháp nghiên cứu.

2.1. Nghiên cứu độc tính cấp.

Chuột được chia thành từng lô, mỗi lô 10 con cho uống thuốc theo liều tăng dần từ 6g/kg đến 15g/kg,

với thể tích thuốc hằng định mỗi lần 0,2ml/10g cân nặng, để xác định liều thấp nhất chết 100% và cao nhất chết 0%.

Chuột được theo dõi tình trạng chung và tỷ lệ chết ở mỗi lô trong 72 giờ sau khi uống thuốc. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống thuốc. Những chuột chết được mổ để quan sát mô bệnh học [2].

Dựa vào tỷ lệ chuột chết tính LD₅₀ của viên nang nghiên cứu theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon.

2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của viên nang KTTT đối với thể trạng và hệ thống tạo máu

Thỏ được chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con, mỗi con một riêng một chuồng.

Lô chứng (n=10): uống dung dịch NaCl 0,9% liều 3ml/kg/ngày.

Lô trị 1 (n=10): uống thuốc thử viên nang kiện tỳ tiêu tích liều 0,32g/kg/ngày (tương đương với liều dùng cho người, tính theo hệ số 3).

Lô trị 2 (n=10): uống thuốc thử viên nang kiện tỳ tiêu tích liều 0,96g/kg/ngày (gấp 3 lần liều ở lô trị 1).

Thỏ ở cả 3 lô được uống dung dịch NaCl 0,9% hoặc thuốc nghiên cứu trong 4 tuần liền, mỗi ngày một lần vào 8 giờ sáng với thể tích 3ml/kg. Thỏ được theo dõi tình trạng chung, trọng lượng cơ thể và các

chỉ số đánh giá chức phận tạo máu: số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu. ở 4 thời điểm: Trước lúc uống thuốc, sau 2 tuần, 4 tuần uống thuốc và sau ngừng uống thuốc 2 tuần (hồi phục)[2], [7].

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test Student và test trước sau (Avant-Près). Sự khác biệt có ý nghĩa khi p<0,05.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Độc tính cấp.

Sau khi cho các lô chuột uống thuốc thử theo liều tăng dần từ 6g/kg đến 15g/kg cân nặng, theo dõi 72 giờ không thấy có chuột chết ở tất cả các lô thí nghiệm. Qua quan sát chúng tôi nhận thấy chuột vẫn ăn, uống, hoạt động và bài tiết bình thường, không có biểu hiện gì khác lạ so với lô chứng và so với trước trong suốt 7 ngày theo dõi.

2. Tình trạng chung và sự thay đổi trọng lượng của thỏ sau uống thuốc.

2.1. Tình trạng chung.

Trong suốt thời gian thí nghiệm, thỏ ở cả 3 lô vẫn ăn uống, hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, lông mượt, mắt sáng, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô thỏ trong suốt thời gian nghiên cứu.

2.2. Ảnh hưởng của viên nang KTTT đến trọng lượng thỏ

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang KTTT đến trọng lượng thỏ

Thời gian	Lô chứng		Lô trị 1 (0,32g/kg)		Lô trị 2(0,96g/kg)		p so với chứng
	Trọng lượng $\bar{X}\pm SD$	% tăng trọng lượng	Trọng lượng $\bar{X}\pm SD$	% tăng trọng lượng	Trọng lượng $\bar{X}\pm SD$	% tăng trọng lượng	
Trước uống thuốc	1,90±0,11		1,91±0,14		1,80±0,14		>0,05
Sau 2 tuần	2,22±0,15	17,14%	2,18±0,18	14,34%	2,00±0,19	21,75	>0,05
p (trước- sau)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		
Sau 4 tuần	2,32±0,24	22,45%	2,34±0,14	22,81%	2,26±0,17	30,70	>0,05
p (trước- sau)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		
Sau ngừng thuốc 2 tuần	2,54±0,25		2,60±0,21		2,33±0,33		>0,05
p (trước- sau)	< 0,05		< 0,05		< 0,05		

Kết quả bảng 1 cho thấy: sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc, trọng lượng thỏ ở cả 3 lô (1 lô chứng và 2 lô trị) đều tăng so với trước khi dùng thuốc mức độ tăng cân có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Không có sự khác biệt về mức độ gia tăng trọng lượng thỏ giữa lô chứng và các lô dùng thuốc (p >0,05).

2.3. Ảnh hưởng của viên nang KTTT lên một số chỉ số huyết học của thỏ

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang KTTT đến số lượng hồng cầu trong máu thỏ

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/ L)			p (so với chứng)
	Lô chứng $\bar{X}\pm SD$	Lô trị 1 (0,32g/ kg) $\bar{X}\pm SD$	Lô trị 2 (0,96g/ kg) $\bar{X}\pm SD$	
Trước uống thuốc	5,33 ± 0,67	5,42 ± 0,45	5,36 ± 0,45	> 0,05

Sau 2 tuần uống thuốc	5,17 ± 0,36	5,24 ± 0,37	5,40 ± 0,38	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	5,39 ± 0,19	5,56 ± 0,41	5,56 ± 0,34	> 0,05
p (test trước - sau)	>0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau ngừng uống thuốc 2 tuần	5,44 ± 0,36	5,61 ± 0,58	5,81 ± 0,56	> 0,05
P (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả bảng 2 cho thấy, sau 2 tuần, 4 tuần uống viên nang kiện tỳ tiêu tích và 2 tuần ngừng thuốc, số lượng hồng cầu trong máu thỏ ở các lô thay đổi không

có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống thuốc và so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nang KTTT đến hàm lượng huyết sắc tố trong máu thỏ

Thời gian	Huyết sắc tố (g/dl)			p (so với chứng)
	Lô chứng $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 1 (0,32g/kg) $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 2 (0,96g/kg) $\bar{X} \pm SD$	
Trước uống thuốc	11,38 ± 1,21	11,27 ± 0,37	11,15 ± 0,74	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	10,72 ± 0,58	10,84 ± 0,34	11,37 ± 0,47	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	11,68 ± 0,60	11,62 ± 0,79	11,73 ± 1,00	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau ngừng uống thuốc 2 tuần	11,48 ± 0,38	11,30 ± 0,80	11,58 ± 1,13	> 0,05
P (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, sau 2 tuần, 4 tuần uống viên nang kiện tỳ tiêu tích và 2 tuần ngừng thuốc, hàm lượng huyết sắc tố trong máu thỏ ở các lô thử thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống thuốc và so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nang KTTT đến hematocrit trong máu thỏ

Thời gian	Hematocrit (%)			p (so với chứng)
	Lô chứng $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 1 (0,32g/kg) $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 2 (0,96g/kg) $\bar{X} \pm SD$	
Trước uống thuốc	34,58 ± 3,84	35,13 ± 2,10	33,17 ± 2,49	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	32,87 ± 1,79	33,45 ± 1,38	34,49 ± 1,97	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	34,14 ± 1,74	35,09 ± 2,13	35,20 ± 1,49	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau ngừng uống thuốc 2 tuần	33,43 ± 1,17	35,00 ± 3,32	35,26 ± 2,91	> 0,05
P (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, sau 2 tuần, 4 tuần uống viên nang kiện tỳ tiêu tích và 2 tuần ngừng thuốc, tỷ lệ hematocrit trong máu thỏ ở các lô thử thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống thuốc và so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 5. Ảnh hưởng của viên nang KTTT đến số lượng bạch cầu trong máu thỏ

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/L)			p (so với chứng)
	Lô chứng $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 1 (0,32g/kg) $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 2 (0,96g/kg) $\bar{X} \pm SD$	
Trước uống thuốc	10,06 ± 2,28	10,42 ± 3,04	10,96 ± 1,64	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	9,43 ± 3,15	6,93 ± 2,13	10,80 ± 3,77	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	8,10 ± 2,38	10,92 ± 3,00	10,44 ± 3,59	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau ngừng uống thuốc 2 tuần	8,25 ± 3,26	9,35 ± 2,09	9,26 ± 2,90	> 0,05
P (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả bảng 5 cho thấy, sau 15 sau 2 tuần, 4 tuần uống viên nang kiện tỳ tiêu tích và 2 tuần ngừng thuốc, số lượng bạch cầu trong máu thỏ ở các lô thử thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống thuốc và so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 6. Ảnh hưởng của viên nang KTTT đến công thức bạch cầu trong máu thỏ

Thời gian	Thành phần	Công thức bạch cầu (%)			p (so với chứng)
		Lô chứng $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 1 (0,32g/kg) $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 2 (0,96g/kg) $\bar{X} \pm SD$	
Trước uống thuốc	Lym pho trung tính	76,78 ± 7,38 23,22 ± 7,38	74,20 ± 11,01 25,80 ± 11,01	80,87 ± 4,69 19,30 ± 4,69	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	Lym pho trung tính	75,89 ± 14,33 24,11 ± 14,33	79,00 ± 8,76 21,00 ± 8,76	77,70 ± 9,07 22,33 ± 9,07	> 0,05
p (test trước - sau)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	Lym pho trung tính	78,11 ± 7,85 21,89 ± 7,85	80,00 ± 13,88 20,00 ± 13,88	77,67 ± 10,82 22,33 ± 10,82	> 0,05
p (test trước - sau)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Sau ngừng uống thuốc 2 tuần	Lym pho trung tính	77,22 ± 8,91 22,78 ± 8,91	79,50 ± 7,16 20,50 ± 7,16	80,20 ± 8,23 19,80 ± 8,23	> 0,05
p (test trước - sau)		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Kết quả bảng 6 cho thấy, sau 2 tuần, 4 tuần uống viên nang kiện tỳ tiêu tích và 2 tuần ngừng thuốc, tỷ lệ bạch cầu lympho và đa nhân trung tính trong máu thỏ ở các lô thử thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc và so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 7. Ảnh hưởng của viên nang KTTT đến số lượng tiểu cầu trong máu thỏ

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/L)			p (so với chứng)
	Lô chứng $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 1 (0,32g/kg) $\bar{X} \pm SD$	Lô trị 2 (0,96g/kg) $\bar{X} \pm SD$	
Trước uống thuốc	296,33± 63,55	309,89± 48,74	310,80± 54,92	> 0,05
Sau 2 tuần uống thuốc	280,89± 99,30	249,25 ± 52,41	344,10± 75,65	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 4 tuần uống thuốc	279,56± 36,77	310,67± 77,07	329,33± 67,02	> 0,05
p (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau ngừng uống thuốc 2 tuần	328,67± 110,62	309,40± 20,71	308,80± 66,50	> 0,05
P (test trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, sau 2 tuần, 4 tuần uống viên nang kiện tỳ tiêu tích và 2 tuần ngừng thuốc, số lượng tiểu cầu trong máu thỏ ở các lô thử thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống thuốc và so với lô chứng ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

1. Độc tính cấp của viên nang kiện tỳ tiêu tích.

Cho chuột uống thuốc thử đến liều cao nhất có thể được (nồng độ và thể tích tối đa cho phép) là 15g/kg thể trọng nhưng chưa thấy biểu hiện ngộ độc và không có chuột nào chết trong vòng 72 giờ, vì vậy chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

Liều 15g/kg chuột nhắt trắng tương đương trên người 1,5/kg(tính theo hệ số 10). Như vậy với nếu so với liều thường dùng trên người theo kinh nghiệm dân gian là 0,3g/kg thì liều gấp 5 lần vẫn chưa gây độc. Điều này cho thấy mẫu thử viên nang kiện tỳ tiêu tích có độc tính rất thấp.

2. Tình trạng chung và trọng lượng cơ thể

Các kết quả nghiên cứu thu được cho thấy sau 2 tuần và 4 tuần uống thuốc liên tục thỏ ở tất cả các lô đều ăn uống, hoạt động bình thường, lông mượt, phân không thay đổi. Trọng lượng thỏ ở cả 3 lô (1 lô chứng và 2 lô trị) đều tăng so với trước khi dùng thuốc, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), tuy nhiên sự tăng cân ở nhóm chứng ít hơn so với nhóm dùng viên nang kiện tỳ tiêu tích liều 0,96g/kg . sở dĩ thuốc có tác dụng làm tăng trọng lượng thỏ là vì trong bài thuốc có những vị thuốc như đẳng sâm, hoàng kỳ, bạch truật, hoài sơn. Theo Y học cổ truyền những vị thuốc này có tác dụng bổ khí, kiện tỳ. Do có tác dụng bổ tỳ, tăng

cường tiêu hóa nên làm tăng hấp thu các chất dinh dưỡng dẫn đến làm tăng trọng lượng thỏ nhiều hơn so với nhóm chứng [3],[4],[5].

3. Ảnh hưởng trên cơ quan tạo máu.

Kết quả thu được ở các bảng từ 2 đến 7 cho thấy các chỉ số dùng để đánh giá chức năng hệ thống tạo máu của cơ thể như số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu đều không thay đổi có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) ở hai lô dùng viên nang kiện tỳ tiêu tích liên tục 2 tuần, 4 tuần và sau 2 tuần ngừng thuốc, so với trước khi dùng thuốc và so với lô chứng. Điều đó chứng tỏ viên nang kiện tỳ tiêu tích với liều 0,32g/kg và 0,96g/kg không làm ảnh hưởng tới chức phận của hệ thống tạo máu của thỏ thực nghiệm.

KẾT LUẬN

- Viên nang kiện tỳ tiêu tích liều 15g/kg chuột nhắt là liều gấp 5 lần liều thường dùng trên người không gây độc tính cấp.

- Viên nang kiện tỳ tiêu tích liều 0,32g/kg và 0,96g/kg thể trọng thỏ sau 2 tuần và 4 tuần dùng liên tục làm tăng trọng lượng thỏ so với trước nghiên cứu, không ảnh hưởng tới thể trạng và chức năng hệ thống tạo máu của thỏ thực nghiệm.

SUMMARY

We evaluated the acute toxicity on white mice and semi-polychronic toxicity on rabbits of the Kien ty tieu tích capsule (invigorating spleen and eliminating mass capsule). The result showed that, with the dose of 15g/kg body weight of white mice (5 times more than the dose for human), the acute toxicity (LD 50) of the Kien ty tieu tích capsule with the dose of 0.32 and 0.96g/kg, rabbits' body weight increased comparing to that before experiment, but normal status and hematogenic function of rabbits were not affected.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế (2002), *Dược điển Việt Nam III*, NXB y học, tr. 318 - 319; 328 - 329; 356; 365 - 366; 368 - 369; 375 - 376; 428 - 429; 432 - 433; 441 - 442; 443 - 444; 481; 501- 503.
- Bộ y tế (1996), Hướng dẫn kèm theo quyết định số 371/BYT-QĐ ngày 12/3/1996 về xác định độ an toàn cho thuốc cổ truyền Bộ Y tế.
- Đỗ Tất Lợi (2003), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB khoa học và kỹ thuật, tr. 36- 37; 55 - 59; 65 - 67; 217- 218; 222 - 223; 363 - 365; 372- 374; 384 - 385; 391 - 392; 811 - 813; 848 - 850; 887 - 889.
- Cao Học Mẫn. Trung dược học (quyển thượng). NXB Vệ sinh nhân dân, 2003: 720- 725; 745-748; 752- 755; 819- 822; 837- 844; 851- 859; 1043- 1048. (Tiếng Trung).
- Cao Học Mẫn. Trung dược học (quyển hạ). Vệ sinh nhân dân 2003: 1552-1561; 1571-1596, 1597-1604; 1605-1609; 1752-1774; 1776-1784. (Tiếng Trung).
- Lý Phi. Phương Tế Học (quyển thượng). NXB Vệ sinh nhân dân, 2003: 868-874 (Tiếng Trung). Sarah wolfensohn et al (1998), Small Laboratory Animal, Hand book of Laboratory Animal Management and welfare 2nd Edition, pp. 206-216.