

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG TĂNG LỰC CỦA VIÊN NANG MỀM SÂM NGỌC LINH TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Tống Thị Ngọc Lệ ; Nguyễn Văn Thu*
Nguyễn Văn Long* ; Vũ Bình Dương**

TÓM TẮT

Viên nang mềm sâm Ngọc Linh được bào chế từ sinh khối tế bào sâm Ngọc Linh. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng tăng lực của viên nang mềm sâm Ngọc Linh cho thấy:

Cho chuột nhắt trắng (CNT) uống viên nang mềm với thể tích cao nhất vào dạ dày không gây chết chuột thí nghiệm.

Viên nang mềm sâm Ngọc Linh có tác dụng tăng lực rõ sau 7 ngày cho chuột uống. Tuy nhiên, tại thời điểm sau uống thuốc 60 phút chưa thể hiện rõ tác dụng tăng lực. Tác dụng này tương đương với viên nang mềm alka.

* Từ khoá: Sâm Ngọc Linh; Độc tính cấp; Tác dụng tăng lực.

STUDY ON THE ACUTE TOXICITY AND ENHANCING EFFECTS ON PHYSICAL STRENGTH OF “SAM NGOC LINH” SOFT CAPSULE IN EXPERIMENTAL ANIMALS

SUMMARY

“Sam Ngoc Linh” soft capsules are made from biomass cells of Vietnamese ginseng. Study on the acute toxicity and enhancing effects on physical strength of sam Ngoc Linh soft capsule, the experimental results showed that:

- Sam Ngoc Linh soft capsule when is drank by white mice with maximum volume can put in his stomach, it do not make any mice died.

- Sam Ngoc Linh soft capsule exhibits enhancing effects on physical strength clearly on mice after 7 days drinking but not on mice drink it at the time before testing 60 minutes. This effect is similar to alka soft capsule.

** Key words: Sam Ngoc Linh; Acute toxicity; Physical strength.*

* Bệnh viện 103

** Học viện Quân y

Phản biện khoa học: PGS. TS. Nguyễn Văn Minh

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv., *Araliaceae*) là cây thuốc quý của Việt Nam. Các nghiên cứu cho thấy sâm Ngọc Linh có 52 ginsenoside trong đó 26 loại không có trong các loài sâm khác [8]. Nhờ vậy, sâm Ngọc Linh có nhiều tác dụng quý như: tăng cường sinh lực, chống oxy hóa và bảo vệ tế bào gan, chống stress... [1, 4, 5]. Học viện Quân y đã nghiên cứu thành công công nghệ sinh khối tế bào rễ sâm Ngọc Linh, có thể đảm bảo đủ nguồn nguyên liệu phục vụ sản xuất công nghiệp. Dịch chiết từ sinh khối tế bào sâm Ngọc Linh đã được đánh giá trên động vật thực nghiệm cho thấy có tính an toàn cao, có tác dụng tăng lực, chống oxy hóa... Từ những kết quả đạt được, Học viện Quân y đã triển khai nghiên cứu bào chế một số chế phẩm từ sinh khối tế bào sâm Ngọc Linh, trong đó có viên nang mềm. Trong bài này, chúng tôi thông báo kết quả đánh giá độc tính cấp và tác dụng tăng lực của viên nang mềm sâm Ngọc Linh.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu.

* Nguyên liệu:

- Viên nang mềm sâm Ngọc Linh chứa 250 mg dịch chiết từ sinh khối tế bào sâm Ngọc Linh, do Học viện Quân y bào chế, đạt tiêu chuẩn cơ sở.
- Viên nang mềm alka chứa 174 mg dịch chiết Hồng sâm Triều Tiên.

* Động vật thực nghiệm:

CNT chủng Swiss trọng lượng 20 ± 2 g do Viện Vệ sinh dịch tễ TW cung cấp. Động vật nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm, ăn theo tiêu chuẩn dành cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do.

2. Phương pháp nghiên cứu.

* Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang mềm sâm Ngọc Linh:

Theo phương pháp của Abrhams W. B và Turner A, quy định của Tổ chức Y tế Thế giới và của Bộ Y tế Việt Nam về nghiên cứu tính an toàn và hiệu lực của thuốc y học cổ truyền và các chất có nguồn gốc thiên nhiên [2, 3, 6, 7].

Thí nghiệm được tiến hành với 3 lô CNT, mỗi lô 12 con. Chuột bị bỏ đói 16 giờ trước khi thí nghiệm, cho thuốc qua sonde dạ dày với mức liều tăng dần. Sau khi uống thuốc, chuột được nuôi dưỡng và theo dõi liên tục trong 72 giờ. Đếm số lượng chuột chết theo từng lô.

Trong các mức liều đem thử, khoảng cách giữa các mức liều thấp nhất không gây chết một con chuột nào và mức liều cao nhất gây chết 100% số chuột trong lô được sử dụng để tính toán.

Tính toán LD₅₀ theo phương pháp cải tiến của Livschitch P. Z (1986).

* Nghiên cứu tác dụng tăng lực của viên nang mềm sâm Ngọc Linh:

Mô hình nghiên cứu theo phương pháp chuột bơi kiệt sức của Brekhman [9].

Cho chuột nuôi gia trọng bằng 5% thể trọng, chuột bơi trong thùng nước có dung tích 20 lít, nhiệt độ $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Cho chuột bơi lần 1, thời gian bơi lần 1 (T1) tính từ khi chuột được thả vào thùng nước, bơi đến khi chìm khỏi mặt nước 20 giây và không trôi lên được, vớt chuột ra thấm khô. Cho chuột nghỉ 5 phút, chia lô thí nghiệm:

- Lô 1: chứng sinh học, uống nước muối sinh lý, liều 0,15 ml/10 g trọng lượng cơ thể (TLCT).

- Lô 2: lô chứng dương, uống nhũ dịch trong viên nang mềm alka, liều 0,15 ml/10 g TLCT.

- Lô 3: lô thử, uống nhũ dịch trong viên nang mềm sâm Ngọc Linh liều 0,15 ml/10 g TLCT.

Sau uống 60 phút, cho chuột bơi lần 2 (T2). Ghi nhận thời gian bơi lần 2.

Tiếp tục cho chuột uống trong 7 ngày, mỗi ngày 1 lần vào một giờ nhất định. Đến ngày thứ 7, sau khi cho uống 60 phút, cho chuột bơi lần 3 (T3).

So sánh giữa các lô, đánh giá tác dụng tăng lực khi % thời gian bơi so với lần 1 của lô thử lớn hơn của lô chứng sinh học.

3. Phương pháp xử lý thống kê.

Xử lý số liệu theo phương pháp thống kê y sinh học, dùng test T-student, tính toán bằng Microsoft excel. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp đường uống của viên nang mềm sâm Ngọc Linh sinh khối.

Bảng 1:

LÔ NGHIÊN CỨU	n	LIỀU (g/kg)	SAU 72 GIỜ			
			Số chuột chết			Chuột sống
			Sau 24 giờ	Sau 48 giờ	Sau 72 giờ	
Lô 1	12	15	0	0	0	12
Lô 2	12	20	0	0	0	12
Lô 3	12	25	0	0	0	12

Với 3 lô nghiên cứu, mỗi lô 12 CNT uống thuốc với các mức liều cao, đến mức liều cao nhất (25 g/kg TLCT) CNT. Sau uống thuốc, chuột thí nghiệm ở cả 3 lô đều ăn uống, đi lại, hoạt động bình thường, tình trạng phân, nước tiểu không có gì đặc biệt. Sau 72 giờ, không có con nào bị chết. Như vậy, chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nang mềm sâm Ngọc Linh trên CNT theo đường uống, với mức liều cao nhất có thể đưa vào dạ dày trong 24 giờ.

Mức liều 25 g/kg TLCT CNT, tương ứng với liều trên người là 2,08 g/kg TLCT. So với mức liều dự kiến dùng cho người để có tác dụng dược lý rõ là 1 g/50 kg TLCT hay 0,02 g/kg TLCT thì mức liều đã dùng cho nghiên cứu độc tính cấp cao gấp 104 lần. Điều này cho thấy viên nang mềm sâm Ngọc Linh có độ an toàn cao.

2. Kết quả nghiên cứu tác dụng tăng lực của viên nang mềm sâm Ngọc Linh.

Bảng 2: Kết quả nghiên cứu tác dụng tăng lực sau 60 phút uống thuốc.

LÔ NGHIÊN CỨU	THỜI GIAN BƠI LẦN 1 (phút)	BƠI LẦN 2 (sau uống thuốc 60 phút)		
		Thời gian (phút)	Tăng so với trước	Tăng so với chứng
Lô dùng nước muối sinh lý (1) (n =12)	40,74 ± 3,28	20,48 ± 2,08	50,53 ± 6,23	-
Lô dùng viên nang mềm alka (2) (n =12)	40,46 ± 3,57	21,88 ± 2,17	54,34 ± 5,74	7,54
Lô dùng viên nang mềm sâm Ngọc Linh sinh khối (3) (n =12)	40,21 ± 3,89	20,81 ± 1,91	52,10 ± 5,93	3,11
p > 0,05				

- Sau bơi lần 1, cho uống thuốc và nghỉ 60 phút rồi bơi lần 2, thời gian bơi của chuột ở tất cả các lô đều giảm so với bơi lần 1, chứng tỏ sau khi bơi kiệt sức lần 1, chuột chưa hồi phục sức lực sau nghỉ 60 phút.

- So sánh % thời gian bơi lần 2 so với lần 1 giữa các lô uống thuốc nghiên cứu và thuốc đối chiếu so với lô chứng uống nước muối sinh lý thấy có tăng nhẹ (tương ứng 7,54% và 3,11%), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Viên nang mềm sâm Ngọc Linh và viên nang mềm alka không thể hiện tác dụng tăng lực tức thì trong mô hình chuột bơi. Có thể do ở dạng nhũ dịch, thuốc chưa thể hấp thu nhanh vào máu, đủ để thể hiện tác dụng trong điều kiện chuột đã kiệt sức sau bơi lần 1.

Bảng 3: Kết quả nghiên cứu tác dụng tăng lực sau 7 ngày uống thuốc.

LÔ NGHIÊN CỨU	THỜI GIAN BƠI LẦN 1 (phút)	BƠI LẦN 3 (sau 7 ngày uống thuốc)		
		Thời gian (phút)	Tăng so với trước	Tăng so với chứng
Lô dùng nước muối sinh lý (1) (n =12)	40,74 ± 3,28	41,53 ± 3,95	103,04 ± 17,14	-
Lô dùng viên nang mềm alka (2) (n =12)	40,21 ± 3,89	70,04 ± 6,72	175,58 ± 23,50	70,39
Lô dùng viên nang mềm sâm Ngọc Linh sinh khối (3) (n =12)	40,46 ± 3,57	80,95 ± 5,92	201,97 ± 27,27	96,01
p		p2-1 < 0,05; p3-1 < 0,05; p3-2 > 0,05		

- So với lần bơi 1, thời gian bơi lần 3 ở lô uống nước muối sinh lý không thay đổi ($p > 0,05$), lô uống viên nang mềm sâm Ngọc Linh và lô uống viên nang mềm alka, thời gian bơi lần 3 tăng có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So với lô chứng uống nước muối sinh lý, lô uống viên nang mềm sâm Ngọc Linh và lô uống viên nang mềm alka có % thời gian bơi lần 3 so với lần 1 tăng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- So sánh giữa lô dùng viên nang mềm sâm Ngọc Linh và lô dùng viên nang mềm alka, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Viên nang mềm sâm Ngọc Linh đã thể hiện rõ tác dụng tăng lực sau uống thuốc 7 ngày. Tác dụng này tương đương với viên nang mềm alka.

KẾT LUẬN

- Về độc tính cấp: chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nang mềm sâm Ngọc Linh trên CNT dùng đường uống. Ở mức liều 25 g/kg TLCT CNT không có chuột thí nghiệm nào chết. Điều này chứng tỏ viên nang mềm sâm Ngọc Linh có độ an toàn cao.

- Về tác dụng tăng lực: với mức liều 0,15 ml nhũ dịch/10 g TLCT CNT, viên nang mềm sâm Ngọc Linh đã thể hiện rõ tác dụng tăng lực trên mô hình chuột bơi sau 7 ngày uống thuốc. Tuy nhiên, thuốc chưa thể hiện tác dụng này khi cho bơi kiệt sức lần 1, cho uống thuốc và cho bơi lần 2 sau 60 phút. Tác dụng tăng lực của viên nang mềm sâm Ngọc Linh tương đương với viên nang mềm alka.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Đỗ Tất Lợi*. Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam NXB Y học, 1999.
2. *Bộ Y tế*. Hướng dẫn nghiên cứu đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền Việt Nam. Chiến lược phát triển khoa học, công nghệ Ngành Y tế đến năm 2020, tr.140-145, 158-162.
3. *Đỗ Trung Đàm*. Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 1996, tr.7-11.
4. *Nguyễn Văn Long, Vũ Bình Dương, Đào Văn Đôn, Chử Văn Mến, Nguyễn Hoàng Ngân, Sang Yo Byun*. Ứng dụng công nghệ biomass tạo sinh khối tế bào rễ sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv). Tạp chí Y học thực hành. 2008, số 606-607, (709-716).
5. *Vũ Bình Dương, Đào Văn Đôn, Nguyễn Văn Long, Hoàng Văn Lương*. Nghiên cứu định lượng các ginsenosid trong sinh khối tế bào sâm Ngọc Linh. Tạp chí Dược học. 2008, Số 390, tr.41-43.
6. *Abraham W.B*. Techniques of animal and clinical toxicology. Med. Pub. Chicago. 1978. pp.55-68.
7. *Turner A*. Screening methods in pharmacology. Academic Press. New York and London. 1965, pp.60-68.
8. *Nguyen MD, Kasai R, Ohtani K, Ito A, Nguyen TN, Yamasaki K, Tanaka O*. Saponins from Vietnamese Ginseng, *Panax vietnamensis* HA et Grushv. Collected in central Vietnam. II. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1994, Jan, 42 (1), pp.115-122.
9. *Brekhman I.I*. *Eleutherococcus senticosus*, The new medicinal herb of the Araliaceae Family. In: Proceeding II International Pharmacological Meeting. Prague. 1976, Vol 7, pp.97-102.