

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA CAO LỎNG HOẠT LẠC CHỈ THỐNG TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Lê Ngọc Bích Sơn¹, Nguyễn Thanh Hà Tuấn², Nguyễn Thị Như Quỳnh³

Lê Thị Thanh Nhạn³, Trần Ích Quân³

Nguyễn Thị Diệu Linh³, Đỗ Thị Hương Lan^{2}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định độc tính cấp, bán trường diễn của cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống.

Phương pháp nghiên cứu: Xác định độc tính cấp trên chuột nhắt trắng theo Litchfield - Wilcoxon, đánh giá độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng theo hướng dẫn của WHO, Bộ Y tế. **Kết quả:** Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng, với mức liều tối đa chuột có thể uống là 300mL cao lỏng/kg. Độc tính bán trường diễn trong 90 ngày: Tình trạng chung, các chỉ số huyết học, sinh hóa và mô học gan, lách, thận của chuột giữa lô chứng và hai lô dùng thuốc không có sự khác biệt ($p > 0,05$). **Kết luận:** Cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống không gây độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và an toàn với các mức liều dùng trong đánh giá độc tính bán trường diễn ở chuột cống trắng.

Từ khóa: Hoạt lạc chỉ thống; Độc tính cấp; Độc tính bán trường diễn.

EVALUATION OF ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY OF HOAT LAC CHI THONG LIQUID EXTRACT IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Abstract

Objectives: To evaluate the acute and sub-chronic toxicity of Hoat Lac Chi Thong liquid extract. **Methods:** The oral acute toxicity was studied in Swiss mice using the Litchfield-Wilcoxon method. The oral sub-chronic toxicity was studied in Wistar rats, following the guidelines of the WHO and the Ministry of Health. **Results:** The LD₅₀ could not be determined following oral administration in Swiss mice, even at the maximum administrable dose of 300 mL/kg body weight.

¹Cục Quản lý Y, Dược Cổ truyền

²Học viện Quân y

³Khoa Y, Trường Đại học Kinh doanh và Công nghệ Hà Nội

*Tác giả liên hệ: Đỗ Thị Hương Lan (huonglan1811@gmail.com)

Ngày nhận bài: 15/5/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 23/7/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i7.1357>

Subchronic toxicity for 90 days: General condition, hematological, biochemical, and histological indices of liver, spleen, and kidney of rats between the control group and the two groups using the drug had no difference ($p > 0.05$). **Conclusion:** Hoat lac chi thong liquid extract does not cause acute toxicity and is safe at the dose levels used in the 90-day subchronic toxicity evaluation in Wistar rats.

Keywords: Hoat lac chi thong; Acute toxicity; Sub-chronic toxicity.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Thoái hóa cột sống thắt lưng là bệnh xảy ra khi đĩa đệm và khớp bị tổn thương. Số người trẻ tuổi mắc bệnh thoái hóa cột sống ngày càng nhiều hơn, làm cho người bệnh đau, hạn chế vận động, ảnh hưởng chất lượng cuộc sống [1]. Điều trị đau do thoái hóa cột sống thắt lưng có thể nhờ nội, ngoại khoa hay vật lý trị liệu... giúp làm giảm triệu chứng, nhưng chức năng thắt lưng của bệnh nhân không được cải thiện nhiều, hiệu quả điều trị tổng thể còn những hạn chế nhất định [2].

Y học cổ truyền có nhiều bài thuốc từ thảo dược được coi là phương pháp tiềm năng để điều trị các chứng đau do thoái hóa. Nhóm tác giả đã phát triển bài thuốc Hoat lac chi thong nhằm điều trị hội chứng thoát vị lưng hông do thoái hóa cột sống. Để có cơ sở khoa học về tính an toàn của cao lỏng Hoat lac chi thong, nghiên cứu được tiến hành nhằm: *Xác định độc tính cấp và đánh giá độc tính bán trường diễn của cao lỏng trên chuột.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Cao lỏng Hoat lac chi thong do Viện Nghiên cứu Tuệ Tĩnh cung cấp, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Cao đóng chai 200mL, tương đương với 1 thang thuốc 200g dược liệu khô gồm các vị thuốc: Đương quy 15g, Đan sâm 30g, Nhũ hương 10g, Một dược 10g, Hoàng kỳ 30g, Ngưu tất 15g, Tục đoạn 15g, Độc hoạt 15g, Đỗ trọng 20g, Tang ký sinh 20g, Cốt khí củ 20g.

* *Động vật trong nghiên cứu:* Chuột nhắt trắng dòng Swiss, nặng 20 ± 2 g và chuột cống trắng dòng Wistar, nặng 200 ± 20 g, đủ tiêu chuẩn thí nghiệm. Chuột được nuôi trong điều kiện thí nghiệm 10 ngày trước nghiên cứu bằng thức ăn riêng, uống nước theo nhu cầu.

* *Thiết bị, hóa chất trong nghiên cứu:* Máy xét nghiệm sinh hoá 3000 Evolution, máy xét nghiệm huyết học Humancout 30TS và các hóa chất, dụng cụ thí nghiệm khác.

* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu:* Tại Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo

Dược, Học viện Quân y và Bộ môn - Khoa Giải phẫu bệnh - Pháp y, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y từ tháng 10/2022 - 02/2023.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Độc tính cấp*: Đánh giá độc tính cấp, xác định LD₅₀ của cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống theo đường uống ở chuột nhắt trắng dòng Swiss bằng phương pháp Litchfield - Wilcoxon [3].

Đầu tiên, chuột được chia ngẫu nhiên thành 2 lô; sau khi nhịn ăn 12 giờ, chuột ở lô 1 được uống cao lỏng 2:1 với thể tích 3 mL/ngày/con, đây là mức liều cao nhất chuột có thể uống, chuột ở lô 2 uống nước theo nhu cầu, (cao lỏng 2:1 thu được bằng cách cô cách thủy cao lỏng 1:1 ban đầu). Nếu ở mức liều cao nhất có chuột chết thì sẽ cho các lô chuột khác uống các mức liều khác nhau, để tìm mức liều thấp nhất gây chết 100% số chuột, liều cao nhất không gây chết chuột và các liều trung gian. Theo dõi chuột hết ngày thứ 7 sau khi uống cao lỏng lần đầu, nếu có chuột chết thì sẽ phẫu tích để quan sát các tạng.

* *Độc tính bán trường diễn*: Trên chuột cống trắng, theo hướng dẫn của Bộ Y tế, Tổ chức Y tế Thế giới và OECD [3 - 5].

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 10 con. Lô chứng: Chuột uống nước cất 10 mL/kg/ngày. Lô trị 1:

Chuột uống cao lỏng liều 8,4 mL/kg/ngày. Lô trị 2: Chuột uống cao lỏng liều 25,2 mL/kg/ngày trong 90 ngày.

Đánh giá tình trạng chung, chỉ số huyết học, sinh hóa máu tại 3 mốc thời gian: Xuất phát điểm, sau 45 ngày, sau 90 ngày uống thuốc. Vào ngày thứ 90, mổ ngẫu nhiên mỗi lô 5 chuột, quan sát đại thể, làm tiêu bản mô bệnh học gan, lách, thận.

* *Xử lý số liệu*: Bằng SPSS 20.0, so sánh các giá trị trung bình dùng One-way ANOVA. Số liệu được trình bày dưới dạng Mean $\pm$ SD. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ quy trình chặt chẽ về đạo đức trong nghiên cứu y học trên động vật thực nghiệm của Học viện Quân y. Số liệu nghiên cứu được Trường Đại học Kinh doanh và Công nghệ Hà Nội cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả độc tính cấp

Trong 72 giờ sau uống cao lỏng và đến hết 7 ngày, chuột ở các lô đều bình thường, không có dấu hiệu ngộ độc, không có chuột chết. Ở liều cao nhất có thể cho chuột uống là 300 mL/kg thể trọng, không xác định được độc tính cấp và LD₅₀ của cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống.

2. Kết quả độc tính bán trường diễn

* *Tình trạng chung*: Chuột ở các lô hoạt động, ăn uống bình thường, mắt trong, lông mượt, phân thành khuôn. Về cân nặng chuột, không có sự khác biệt đáng kể giữa các lô dùng cao lỏng với lô chứng tại các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

* *Kết quả đánh giá công thức máu chuột*:

Bảng 1. Kết quả đánh giá công thức máu chuột ($\bar{X} \pm SD$, $n = 10$ ở mỗi lô).

Chỉ số nghiên cứu	Lô	D0	D45	D90	$p_{\text{giữa các thời điểm}}$
Số lượng hồng cầu (T/L)	Lô chứng (1)	$7,16 \pm 0,91$	$7,24 \pm 1,06$	$7,12 \pm 0,88$	$p_{2-1} > 0,05$
	Lô 1 (2)	$7,09 \pm 0,85$	$7,19 \pm 0,97$	$7,15 \pm 1,12$	$p_{3-2} > 0,05$
	Lô 2 (3)	$8,01 \pm 0,72$	$7,15 \pm 1,12$	$7,17 \pm 1,01$	$p_{3-1} > 0,05$
	$p_{\text{giữa các lô}}$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
HL huyết sắc tố (g/dL)	Lô chứng (1)	$12,89 \pm 1,31$	$12,98 \pm 1,26$	$13,02 \pm 1,42$	$p_{2-1} > 0,05$
	Lô 1 (2)	$13,06 \pm 1,15$	$13,01 \pm 1,11$	$12,90 \pm 1,41$	$p_{3-2} > 0,05$
	Lô 2 (3)	$12,91 \pm 1,61$	$12,99 \pm 1,27$	$13,11 \pm 1,93$	$p_{3-1} > 0,05$
	$p_{\text{giữa các lô}}$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
HL hemotocrit (%)	Lô chứng (1)	$33,02 \pm 5,64$	$32,65 \pm 6,12$	$33,06 \pm 6,91$	$p_{2-1} > 0,05$
	Lô 1 (2)	$32,58 \pm 6,09$	$31,91 \pm 5,89$	$32,76 \pm 6,53$	$p_{3-2} > 0,05$
	Lô 2 (3)	$32,83 \pm 6,34$	$32,46 \pm 5,26$	$32,90 \pm 6,72$	$p_{3-1} > 0,05$
	$p_{\text{giữa các lô}}$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
TTTB hồng cầu (fL)	Lô chứng (1)	$46,32 \pm 3,85$	$45,34 \pm 5,96$	$46,01 \pm 4,25$	$p_{2-1} > 0,05$
	Lô 1 (2)	$45,89 \pm 4,21$	$45,26 \pm 3,96$	$46,31 \pm 5,89$	$p_{3-2} > 0,05$
	Lô 2 (3)	$46,52 \pm 5,66$	$45,95 \pm 4,45$	$46,39 \pm 5,56$	$p_{3-1} > 0,05$
	$p_{\text{giữa các lô}}$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
Số lượng tiểu cầu (G/L)	Lô chứng (1)	$563,60 \pm 163,41$	$581,20 \pm 147,39$	$516,30 \pm 160,12$	$p_{2-1} > 0,05$
	Lô 1 (2)	$528,10 \pm 153,11$	$484,70 \pm 113,64$	$463,40 \pm 132,82$	$p_{3-2} > 0,05$
	Lô 2 (3)	$591,80 \pm 135,29$	$582,60 \pm 119,58$	$577,50 \pm 126,43$	$p_{3-1} > 0,05$
	$p_{\text{giữa các lô}}$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	
Số lượng bạch cầu (G/L)	Lô chứng (1)	$7,04 \pm 1,15$	$6,96 \pm 1,06$	$6,81 \pm 1,24$	$p_{2-1} > 0,05$
	Lô 1 (2)	$6,97 \pm 1,49$	$6,86 \pm 1,25$	$6,75 \pm 1,31$	$p_{3-2} > 0,05$
	Lô 2 (3)	$7,10 \pm 1,68$	$7,01 \pm 1,42$	$6,92 \pm 1,17$	$p_{3-1} > 0,05$
	$p_{\text{giữa các lô}}$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	

(HL: Hàm lượng; TTTB: Thể tích trung bình)

Sau 45 ngày và 90 ngày dùng cao lỏng, các chỉ tiêu xét nghiệm công thức máu chuột ở lô 1 và lô 2 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và giữa các thời điểm nghiên cứu ở trong cùng 1 lô ($p > 0,05$).

* Kết quả sinh hóa máu đánh giá chức năng gan:

Bảng 2. Kết quả sinh hóa máu đánh giá chức năng gan ($\bar{X} \pm SD$, n = 10 ở mỗi lô).

Chỉ số	Lô	D0	D45	D90	p
Hoạt độ AST (UI/L)	Lô chứng (1)	99,25 $\pm$ 18,22	96,81 $\pm$ 18,40	95,49 $\pm$ 11,14	p ₂₋₁ > 0,05
	Lô 1 (2)	95,82 $\pm$ 17,74	97,44 $\pm$ 12,02	92,28 $\pm$ 17,26	p ₃₋₂ > 0,05
	Lô 2 (3)	96,93 $\pm$ 20,54	94,92 $\pm$ 14,25	98,01 $\pm$ 13,68	p ₃₋₁ > 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Hoạt độ ALT (UI/L)	Lô chứng (1)	75,47 $\pm$ 15,62	79,16 $\pm$ 17,93	74,69 $\pm$ 13,88	p ₂₋₁ > 0,05
	Lô 1 (2)	80,26 $\pm$ 12,73	83,81 $\pm$ 18,20	77,63 $\pm$ 15,22	p ₃₋₂ > 0,05
	Lô 2 (3)	71,96 $\pm$ 17,31	83,30 $\pm$ 14,07	71,15 $\pm$ 14,91	p ₃₋₁ > 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Albumin (g/dL)	Lô chứng (1)	22,18 $\pm$ 3,64	21,63 $\pm$ 2,93	22,80 $\pm$ 2,76	p ₂₋₁ > 0,05
	Lô 1 (2)	21,91 $\pm$ 2,82	22,16 $\pm$ 3,17	22,50 $\pm$ 3,03	p ₃₋₂ > 0,05
	Lô 2 (3)	20,99 $\pm$ 2,96	22,05 $\pm$ 2,81	22,12 $\pm$ 2,65	p ₃₋₁ > 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Bilirubin toàn phần (mmol/L)	Lô chứng (1)	51,32 $\pm$ 11,50	50,68 $\pm$ 16,40	52,75 $\pm$ 13,62	p ₂₋₁ > 0,05
	Lô 1 (2)	53,12 $\pm$ 9,98	51,84 $\pm$ 17,09	52,36 $\pm$ 13,27	p ₃₋₂ > 0,05
	Lô 2 (3)	53,41 $\pm$ 15,86	52,09 $\pm$ 14,29	52,19 $\pm$ 12,11	p ₃₋₁ > 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Cholesterol toàn phần (mmol/L)	Lô chứng (1)	2,01 $\pm$ 0,36	2,08 $\pm$ 0,46	1,92 $\pm$ 0,51	p ₂₋₁ > 0,05
	Lô 1 (2)	1,97 $\pm$ 0,43	2,04 $\pm$ 0,54	1,89 $\pm$ 0,62	p ₃₋₂ > 0,05
	Lô 2 (3)	2,04 $\pm$ 0,58	2,11 $\pm$ 0,46	1,95 $\pm$ 0,50	p ₃₋₁ > 0,05
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Các chỉ số xét nghiệm sinh hóa máu đánh giá chức năng gan của chuột ở lô 1 và 2 không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và giữa các thời điểm nghiên cứu ở trong cùng 1 lô (p > 0,05).

* Kết quả sinh hóa máu đánh giá chức năng thận:

Bảng 3. Kết quả creatinine máu đánh giá chức năng thận ($\bar{X} \pm SD$, n = 10 ở mỗi lô).

Chỉ tiêu nghiên cứu	Lô chứng (1)	Lô 1 (2)	Lô 2 (3)	p
Trước thí nghiệm (a)	85,04 $\pm$ 11,92	87,26 $\pm$ 12,26	86,44 $\pm$ 12,58	p ₂₋₁ > 0,05
Sau 45 ngày (b)	89,48 $\pm$ 11,89	85,80 $\pm$ 10,93	88,35 $\pm$ 12,41	p ₃₋₂ > 0,05
Sau 90 ngày (c)	86,66 $\pm$ 12,75	83,99 $\pm$ 12,02	83,01 $\pm$ 12,64	p ₃₋₁ > 0,05
p trong cùng lô	p _{b,c,d-a} > 0,05; p _{c,d-b} > 0,05; p _{d-c} > 0,05			-

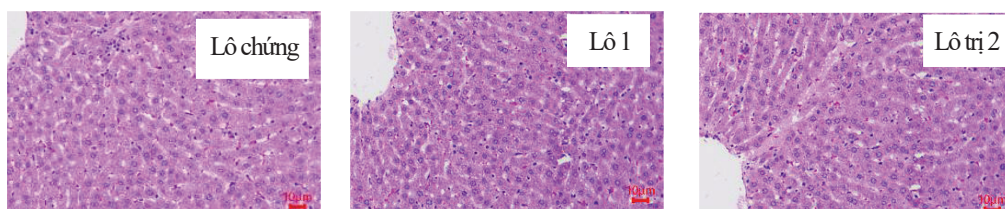
Creatinine máu chuột ở lô 1 và 2 không khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và giữa các thời điểm nghiên cứu ở trong cùng 1 lô (p > 0,05).

* Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm:

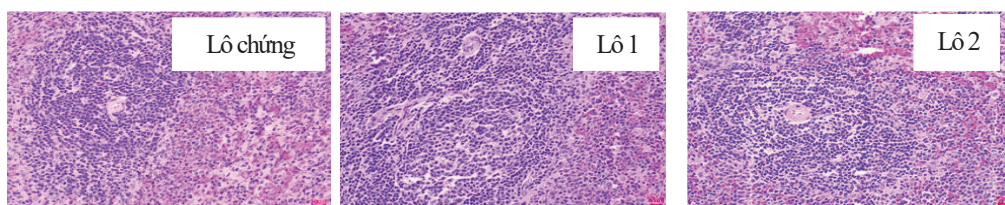


Hình 1. Hình ảnh đại thể gan, lách, thận của chuột ở các lô.

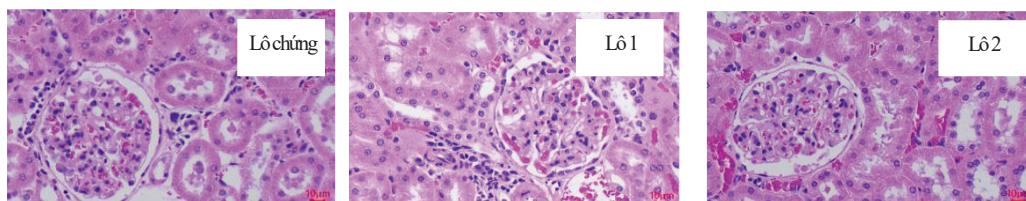
Các tạng ở lô 1, 2 có màu nâu đỏ thẫm đồng đều, không có bất thường, không khác biệt so với tạng của chuột ở lô chứng.



Hình 2. Hình ảnh mô bệnh học gan chuột nhuộm HE (x 400).



Hình 3. Hình ảnh mô bệnh học lách chuột nhuộm HE (x 400).



Hình 4. Hình ảnh mô bệnh học thận chuột nhuộm HE (x 400).

Vi thể gan, lách, thận của chuột ở lô 1, 2 không khác biệt so với ở lô chứng, không có ổ xuất huyết, hoại tử (tế bào gan không bị thoái hóa; lách chuột có vùng tủy trắng màu xanh đậm, tập trung nang lympho, vùng tủy đỏ màu xanh đỏ, với xoang nang có hồng cầu, đại thực bào; cấu trúc các vùng thận bình thường).

BÀN LUẬN

1. Độc tính cấp

Kết quả nghiên cứu cho thấy chưa xác định được LD₅₀ của cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống theo đường uống trên chuột nhắt trắng với liều cao nhất chuột có thể uống là 300 mL/kg/24 giờ, gấp 21 lần mức liều dự kiến có hiệu quả, không có bất cứ biểu hiện bất thường của tình trạng ngộ độc khi dùng mẫu thử liều cao. Như vậy, cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống có tính an toàn cao. Kết quả này phù hợp với việc sử dụng bài thuốc Hoạt lạc chỉ thống dạng cao lỏng, hiện chưa có bệnh nhân nào xuất hiện tác dụng không mong muốn [6].

2. Độc tính bán trường diễn

Theo hướng dẫn của Bộ Y tế (Việt Nam) và Tổ chức Y tế Thế giới, nếu mẫu thử dự kiến dùng trên người là sử dụng hàng ngày và > 30 ngày, thì thời

gian nghiên cứu bán trường diễn trên động vật là 3 tháng. Như vậy, nghiên cứu bán trường diễn mà nhóm tác giả thực hiện đã đảm bảo được quy định này [3, 4].

Nghiên cứu cho thấy các chỉ số huyết học, sinh hóa máu đánh giá chức năng gan, thận của chuột sau uống cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống trong thời gian 45 và 90 ngày không có khác biệt đáng kể so với lô chứng và giữa các thời điểm nghiên cứu ở trong cùng 1 lô ($p > 0,05$). Kết quả này phù hợp với hình ảnh mô bệnh học gan, lách, thận thu được, kết quả mô bệnh học cho thấy cấu trúc vi thể gan, lách, thận ở hai lô uống cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống không khác biệt so với lô chứng.

KẾT LUẬN

Cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống không gây độc tính cấp và an toàn ở các mức liều dùng 8,4 mL/kg/ngày và 25,2 mL/kg/ngày nhằm đánh giá độc tính bán trường diễn trong 90 ngày trên chuột cống trắng.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn Ban giám hiệu, Khoa Y, Trường Đại học Kinh doanh và Công nghệ Hà Nội; Bộ môn Dược lý, Viện đào tạo Dược, Học viện Quân y đã hỗ trợ chúng tôi thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ninh Thị Minh Thoa. Chăm sóc người bệnh thoát vị đĩa đệm cột sống thắt lưng và một số yếu tố liên quan tại Bệnh viện Tuệ Tĩnh năm 2019. *Luận văn Thạc sỹ Điều dưỡng*, Đại học Thăng Long. 2019.
2. Hồ Hữu Lương. Đau thắt lưng và thoát vị đĩa đệm. Nhà xuất bản Y học. 2006.
3. Bộ Y tế. Quyết định ban hành tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu”. 2015.
4. World Health Organization. General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. 2000.
5. OECD. Test No. 408: Repeated Dose 90-Day oral toxicity study in rodents, OECD guidelines for the testing of chemicals. 2018.
6. Lê Ngọc Phương và CS. Đánh giá tác dụng điều trị của cao lỏng Hoạt lạc chỉ thống điều trị hội chứng thắt lưng hông do thoái hóa cột sống. *Tạp chí Y Dược Cổ truyền Việt Nam*. 2023; 52(5):16-21.