

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN
CỦA CAO KHÔ HÀNH ĐEN

Phạm Văn Hiến^{1*}, Nguyễn Hồng Sơn^{1,2}, Nguyễn Trọng Điệp¹
Lê Đức Hùng², Nguyễn Thị Thủy³, Vũ Bình Dương¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của cao khô hành đen trên mô hình động vật thực nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Độc tính cấp của cao khô hành đen được đánh giá trên chuột nhắt trắng Swiss theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon. Độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen được đánh giá trên thỏ New Zealand White với liều lượng 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày và dựa vào các chỉ tiêu thường quy về xét nghiệm huyết học, sinh hoá máu và hình ảnh mô bệnh học. **Kết quả:** Chưa xác định được LD₅₀ của cao khô hành đen tới mức liều cao nhất có thể cho chuột uống. Cao khô hành đen không gây độc với liều tối đa 3000 mg/kg ở chuột nhắt trắng. Cao khô hành đen cho thỏ uống ở các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày không quan sát thấy sự thay đổi về tình trạng chung, không gây ra sự thay đổi về sự phát triển trọng lượng cơ thể thỏ; không quan sát thấy sự thay đổi có ý nghĩa về chỉ số hồng cầu, bạch cầu huyết sắc tố, nồng độ AST, ALT, creatinine và ure. Trên mô bệnh học, không thấy sự khác biệt giữa các lô thử và lô chứng về màu sắc, hình thái của gan, thận và lách. **Kết luận:** Cao khô hành đen không gây độc cấp tính với liều tối đa 3000 mg/kg trên chuột nhắt trắng và không gây độc bán trường diễn tới 28 ngày trên thỏ khi uống các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày.

Từ khóa: Độc tính cấp; Bán trường diễn; Cao khô hành đen.

¹Học viện Quân y

²Viện Y học Cổ truyền Quân đội

³Viện Kiểm nghiệm Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội, Cục Quân y

*Tác giả liên hệ: Phạm Văn Hiến (phamvanhien181288@gmail.com)

Ngày nhận bài: 17/8/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 28/9/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.461>

STUDY ON THE ACUTE AND SUB-CHRONIC TOXICITY
OF BLACK SHALLOT DRY EXTRACT

Abstract

Objectives: To investigate the acute and subchronic toxicity of black shallot dry extract. **Methods:** The acute toxicity of black shallot was determined on Swiss mice according to Litchfield - Wilcoxon's method. The subchronic toxicity of black shallot was investigated on New Zealand White rabbits with the doses of 375 mg/kg/day and 750 mg/kg/day using biochemical, hematology test, and histopathology. **Results:** We had not found the maximum oral dose of LD₅₀ of black shallot dry extract. At the highest oral single dose of 3000 mg/kg, black shallot dry extract was not toxic to experimental mice. At dosage of 375 mg/kg/day and 750 mg/kg/day, black shallot dry extract did not affect the general condition and body weight of experimental rabbits. We did not find any significant change in the amount of red and white blood cells, hemoglobin, concentration of AST, ALT, creatinine, and urea between the control group and the treated group. On histopathologic images, there was no difference in the colour, morphology of liver, renal, and spleen between the control group and the treated group. **Conclusion:** Black shallot dry extract was not acute toxic at the highest oral dose of 3000 mg/kg in mice and not subchronic toxic at dose of 375 mg/kg/day and 750 mg/kg/day during 28 days.

Keywords: Acute toxicity; Subchronic toxicity; Black shallot dry extract.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hành ta (*Allium ascalonicum* L.) là loại gia vị thường dùng, đồng thời là vị dược liệu được sử dụng trong dân gian để điều trị nhiều chứng bệnh liên quan đến tim mạch, giun sán, đau đầu và hen suyễn [1]. Theo một số nghiên cứu, hành ta sở hữu một số tác dụng sinh học quan trọng như tăng cường miễn dịch, điều hoà lipid máu, điều hoà đường máu và điều trị rối loạn trào ngược dạ dày [2].

Trong những năm gần đây, công nghệ lên men tự thân (self-fermentation) là một ứng dụng mới trong công nghệ sinh học để tạo ra các loại nguyên liệu và sản phẩm phục vụ cho việc chăm sóc và bảo vệ sức khỏe của con người. Đây là quá trình biến đổi tự chuyển hoá trong dược liệu giúp biến đổi các thành phần hoá học sẵn có trong dược liệu thành các phân tử mới, có hoạt tính tốt hơn so với nguyên liệu ban đầu [3]. Hiện nay, công nghệ lên men tự thân được ứng dụng để sản xuất nhiều

sản phẩm tốt cho sức khoẻ như tỏi đen (black garlic), trà đen (black tea), gừng đen (black ginger) và nhân sâm đen (black ginseng). Đây là công nghệ xanh, thân thiện môi trường, tạo ra nhiều sản phẩm thiết thực phục vụ chăm sóc và bảo vệ sức khoẻ. Ngoài ra, công nghệ này còn giúp biến đổi, khắc phục một số nhược điểm vốn có của các loại nguyên liệu thiên nhiên. Đặc biệt là đối với các nguyên liệu họ Hành (*Araliaceae*), công nghệ lên men giúp che dấu mùi vị khó chịu ở dạng tươi, thay đổi vị giác nhờ quá trình lên men phân các phân tử polysaccharid thành các dạng đường đơn, đường đa có vị ngọt, dễ chịu.

Trong các sản phẩm tạo ra bằng công nghệ lên men tự thân, hành đen là một loại dược liệu tương đối mới. Theo nhiều nghiên cứu, hành đen có nhiều tác dụng sinh học và thành phần hoá học tiềm năng hơn so với hành ta [4]. Từ hành đen, Nguyễn Hồng Sơn và CS đã bào chế được cao khô hành đen nhằm mục đích tạo ra dạng bán thành phẩm để phục vụ cho việc chuyển dạng bào chế tiện sử dụng (viên nén, viên nang) [5]. Để cao khô hành đen có thể đưa vào các dạng bào chế tạo ra các sản phẩm để phục vụ chăm sóc, bảo vệ sức khoẻ, các nghiên cứu về tính an toàn của cao khô hành đen cần được thực hiện. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu:

Xác định độc tính cấp và bán trường diễn của cao khô hành đen.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu, dụng cụ, thiết bị

* Nguyên liệu, động vật thí nghiệm:

Cao khô hành đen được bào chế tại Trung tâm Nghiên cứu, Ứng dụng và Sản xuất Thuốc, Học viện Quân y đạt TCCS, hàm lượng cycloalliin đạt $134,81 \pm 5,11 \mu\text{g/g}$ tính theo khối lượng khô.

Chuột nhắt trắng chủng Swiss trưởng thành, khỏe mạnh, không phân biệt giống, cân nặng 20 - 25g. Thỏ trắng chủng New Zealand White trưởng thành, khỏe mạnh, không phân biệt giống, cân nặng 2,0 - 2,5kg. Các động vật do Ban Cung cấp Động vật Thí nghiệm, Học viện Quân y cung cấp, được nuôi trong phòng thí nghiệm, ánh sáng tự nhiên, uống nước và ăn thức ăn bảo đảm theo nhu cầu.

Dụng cụ, thiết bị sử dụng gồm máy huyết học Celtas (hãng Nihon Kohden, Nhật Bản); máy xét nghiệm sinh hóa Cobas 8000 (hãng Roche - Hitachi, Đức); kính hiển vi huỳnh quang DM1000 LED (hãng Leica, Đức); kim đầu tù, xylanh, cốc mỏ, ống đong, kim tiêm, ống lấy máu chứa chất chống đông EDTA, bộ dụng cụ phẫu tích và các thiết bị, dụng cụ thường quy khác.

** Địa điểm và thời gian thí nghiệm:*

Nghiên cứu được thực hiện ở Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y. Các tiêu bản gan, lách, thận được chuẩn bị và phân tích tại Bộ môn - Khoa Giải phẫu bệnh, Pháp y, Bệnh viện Quân y 103.

Thời điểm xét nghiệm: Thời điểm ban đầu, 14 ngày và 28 ngày. Riêng xét nghiệm mô bệnh học được thực hiện vào ngày cuối cùng của thí nghiệm.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp:*

Độc tính cấp của cao khô hành đen được đánh giá trên mô hình chuột nhắt trắng theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới về xác định độc tính cấp của thuốc có nguồn gốc dược liệu [6]. Cụ thể, chuột nhắt trắng nặng 20 - 25g, được chia thành 07 lô, mỗi lô 10 con. Trước ngày thử nghiệm, chuột được nhịn ăn 12 giờ, uống nước theo nhu cầu. Cao khô hành đen được phân tán trong nước cất và lắc đều trên máy Vortex để có thể đạt được độ tan tối đa, sau đó được pha loãng dần để thu được các liều khác nhau. Chuột nhắt thường được cho uống với liều là 0,1 mL/10g cân nặng (hay 10 mL/kg cân nặng) x 3 lần trong ngày. Với lượng thể tích này, mức liều tối đa có thể cho chuột uống là 3000 mg/kg/ngày. Chuột được cố định trên tay và cho uống chế

phẩm thử bằng kim đầu tù để đảm bảo toàn bộ chế phẩm được đưa vào dạ dày chuột. Theo dõi trong 72 giờ sau khi uống chế phẩm thử. Đánh giá tình trạng chung (cảm quan, màu lông, phân) và tỷ lệ sống/chết. Xác định LD50 của thuốc thử (nếu có) theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon.

** Phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn:*

Độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen trên thỏ được thực hiện theo hướng dẫn của WHO về thuốc có nguồn gốc dược liệu [6]. Trong đó, thỏ được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 10 con (5 đực và 5 cái), mỗi con nhốt riêng một chuồng, được uống nước hoặc chế phẩm thử liên tục vào các buổi sáng sau khi ăn 1 - 2 giờ trong 28 ngày. Lô chứng sinh lý uống nước cất. Lô thử liều 1 và lô thử liều 2 được uống cao hành khô hành đen với mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày. Đánh giá dựa trên các chỉ tiêu:

- Theo dõi tình trạng chung, hoạt động, ăn uống, khối lượng cơ thể của thỏ.

- Huyết học: Số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, hàm lượng hemoglobin.

- Sinh hóa: Ure, creatinine, AST, ALT trong máu.

- Mô bệnh học: Làm chết thỏ vào ngày thứ 28 bằng cách bơm khí vào tĩnh mạch tai. Tiến hành mổ thỏ, quan sát và chụp ảnh các tạng gồm: Gan,

thận, lách ngay sau khi mổ chết. Sau quan sát, toàn bộ tạng được ngâm trong formon 10%. Các mô được khử nước trong các dung dịch ethanol tăng dần nồng độ (70, 80, 96 và 100%). Sau khi nhúng parafin, các phần ngang có độ dày 5µm được nhuộm bằng hematoxylin-eosin, và kiểm tra mô học

được tiến hành bằng kính hiển vi ánh sáng có độ phóng đại 400 lần (BX-50 Olympus Corporation, Tokyo, Nhật Bản)

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh trên động vật thực nghiệm.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao khô hành đen

Đối với cao khô hành đen, liều tối đa có thể uống là 3000 mg/kg cân nặng. Từ liều tối đa này mẫu thử đã được pha loãng dần và cho 7 lô chuột uống. Kết quả xác định tỷ lệ sống chết ở các mức liều sau khi uống cao khô hành đen được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ chuột sống, chết sau 72 giờ uống cao khô hành đen.

Lô chuột	Liều (mg mẫu thử/kg chuột)	Số chuột thí nghiệm	Số chuột chết	Tỷ lệ chuột chết (%)
1	3000	10	0	0
2	2000	10	0	0
3	1500	10	0	0
4	1200	10	0	0
5	1000	10	0	0
6	857	10	0	0
7	750	10	0	0

Kết quả từ bảng 1 cho thấy, sau 72 giờ uống thuốc, không có chuột nào chết khi uống cao khô hành đen với liều từ 750 mg/kg - 3000 mg/kg trong thời gian theo dõi nên chưa xác định được LD₅₀ của cao khô hành đen. Theo dõi về tình trạng chung cho thấy chuột hoạt động và ăn uống bình thường, lông mượt, mắt trong, không bị khó thở, đi ngoài phân thành khuôn, hậu môn sạch. Như vậy, cao khô hành đen không gây độc với liều tối đa 3000 mg/kg cân nặng trên chuột nhắt trắng.

2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen

* Ảnh hưởng của cao khô hành đen lên tình trạng chung và khối lượng cơ thể thỏ:

Về tình trạng chung: Trong thời gian 28 ngày thử nghiệm, thỏ lô chứng và 2 lô thử nghiệm đều hoạt động bình thường, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô, nhanh nhẹn, mắt sáng.

Về trọng lượng cơ thể thỏ: Đánh giá sự thay đổi trọng lượng cơ thể thỏ tại các thời điểm trước thí nghiệm (T_0), sau 14 ngày (T_{14}) và sau 28 ngày (T_{28}). Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của cao khô hành đen đến trọng lượng thỏ ($\bar{X} \pm SD$, $n = 10$).

Thời điểm nghiên cứu	Trọng lượng cơ thể thỏ (kg) ở các lô nghiên cứu			P
	Chứng	Cao khô hành đen liều 1	Cao khô hành đen liều 2	
T_0	$2,04 \pm 0,14$	$2,04 \pm 0,13$	$2,05 \pm 0,19^{ab}$	$> 0,05$
T_{14}	$2,03 \pm 0,22$	$1,99 \pm 0,20$	$2,00 \pm 0,18^a$	$> 0,05$
T_{28}	$2,14 \pm 0,20$	$2,10 \pm 0,15$	$2,14 \pm 0,12^b$	$> 0,05$

*Giá trị trong cùng cột có cùng ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), không ghi ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả từ bảng 2 cho thấy, trọng lượng cơ thể của thỏ ở hai lô cho uống cao khô hành đen và lô chứng tại cùng thời điểm có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trọng lượng thỏ ở lô uống cao khô hành đen liều 2 sau 28 ngày tăng so với thời điểm 14 ngày ($p < 0,05$); tuy nhiên, so với thời điểm ban đầu sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy, cao khô hành đen với các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày sử dụng trong 28 ngày liên tục chưa thấy gây ra các thay đổi trên sự phát triển trọng lượng cơ thể thỏ.

* Ảnh hưởng của cao khô hành đen đến một số chỉ tiêu huyết học thỏ:

Kết quả đánh giá các chỉ số về huyết học của thỏ được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xét nghiệm chỉ số hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu, tiểu cầu ở các lô thỏ nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$, n = 10).

Chỉ số	Thời điểm	Chứng (1)	Cao khô hành đen liều 1 (2)	Cao khô hành đen liều 2 (3)	p
Bạch cầu (10^9 g/L)	T ₀	10,71 ± 3,20 ^{ab}	13,68 ± 5,22 ^b	14,14 ± 5,38 ^b	> 0,05
	T ₁₄	11,03 ± 2,30 ^b	13,31 ± 3,26 ^b	10,14 ± 2,2 ^{ab}	> 0,05
	T ₂₈	8,27 ± 1,38 ^a	8,78 ± 2,18 ^a	8,18 ± 1,55 ^a	> 0,05
Hồng cầu (10^{12} g/L)	T ₀	5,15 ± 0,83	5,52 ± 0,52 ^{ab}	5,19 ± 0,37	
	T ₁₄	5,26 ± 0,87	5,46 ± 0,47 ^b	5,21 ± 0,34	> 0,05
	T ₂₈	4,87 ± 0,50	5,13 ± 0,37 ^a	4,95 ± 0,71	
HST (g/L)	T ₀	108,20 ± 14,37 ^b	115,80 ± 10,75 ^b	108,60 ± 8,24	
	T ₁₄	103,70 ± 14,58 ^{ab}	109,10 ± 8,40 ^b	106,10 ± 5,99	> 0,05
	T ₂₈	98,20 ± 9,04 ^a	100,30 ± 6,38 ^a	99,50 ± 13,95	
Tiểu cầu (10^3 g/uL)	T ₀	317,60 ± 51,01 ^b	400,30 ± 41,72 ^b	435,60 ± 135,14 ^b	p ₂₋₁ < 0,05
	T ₁₄	332,00 ± 104,72 ^b	391,60 ± 92,08 ^{ab}	317,10 ± 137,32 ^a	> 0,05
	T ₂₈	246,70 ± 87,32 ^a	326,90 ± 93,48 ^a	336,20 ± 85,68 ^{ab}	p ₃₋₁ < 0,05

*Giá trị trong cùng một cột có cùng ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), không ghi chú ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Khi so sánh ở cùng thời điểm, chỉ số tiểu cầu ở lô cao khô hành đen liều 1 cao hơn lô chứng ở thời điểm ban đầu ($p < 0,05$) và lô cao khô hành đen liều 2 cao hơn lô chứng ở thời điểm sau 28 ngày ($p < 0,05$). Còn lại là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Khi so sánh ở các thời điểm khác nhau của cùng một lô, chỉ số bạch cầu cả 2 lô cao khô hành đen liều 1 và liều 2 ở thời điểm sau 28 ngày đều giảm so với ban đầu, nhưng so với lô chứng thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Chỉ số hồng cầu lô uống cao khô hành đen liều 1 ở thời điểm sau 28 ngày thấp hơn thời điểm sau 14 ngày ($p < 0,05$), nhưng so với thời điểm ban đầu thì sự khác

biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở lô uống cao khô hành đen liều 1 sau 28 ngày có huyết sắc tố thấp hơn so với sau 14 ngày và ban đầu, nhưng so với lô chứng thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Lô uống cao khô hành đen liều 1 sau 28 ngày có tiểu cầu thấp hơn so với ban đầu ($p < 0,05$), còn lô cao khô hành đen liều 2 sau 14 ngày tiểu cầu giảm so với ban đầu, nhưng sau 28 ngày lại tăng và sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với ban đầu ($p > 0,05$).

* Ảnh hưởng của cao khô hành đen lên chức năng gan, thận thử thực nghiệm:

Kết quả kiểm tra các chỉ số sinh hoá máu của thử nghiệm cứu được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Nồng độ AST, ALT, creatinine và ure của các lô thử ($\bar{X} \pm SD$, n = 10).

Chỉ tiêu	Thời điểm	Chứng	Cao khô hành đen liều 1	Cao khô hành đen liều 2	P
AST (U/L)	T ₀	24,02 ± 13,22 ^b	36,14 ± 29,57	34,91 ± 21,95	> 0,05
	T ₁₄	44,54 ± 21,81 ^a	54,22 ± 33,35	42,15 ± 26,71	
	T ₂₈	52,07 ± 26,82 ^a	43,74 ± 27,03	44,19 ± 25,93	
ALT (U/L)	T ₀	31,77 ± 9,14 ^c	37,33 ± 15,85 ^b	32,51 ± 8,61 ^b	> 0,05
	T ₁₄	43,52 ± 8,44 ^b	50,79 ± 16,06 ^{ab}	41,68 ± 10,07 ^b	
	T ₂₈	63,55 ± 19,90 ^a	56,07 ± 17,30 ^a	56,46 ± 22,31 ^a	
Creatinine (mmol/L)	T ₀	77,49 ± 21,44 ^b	79,76 ± 15,69	77,85 ± 18,34 ^b	> 0,05
	T ₁₄	90,15 ± 21,78 ^{ab}	95,84 ± 25,62	88,24 ± 15,31 ^{ab}	
	T ₂₈	92,53 ± 20,59 ^a	85,52 ± 31,73	90,40 ± 17,63 ^a	
Ure (mmol/L)	T ₀	6,40 ± 1,84	6,53 ± 1,54	5,92 ± 1,18	> 0,05
	T ₁₄	5,98 ± 0,83	6,04 ± 1,21	6,42 ± 2,24	
	T ₂₈	5,64 ± 2,31	5,37 ± 1,16	5,20 ± 0,94	

*Giá trị trong cùng một cột có cùng ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), không ghi chú ký tự là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

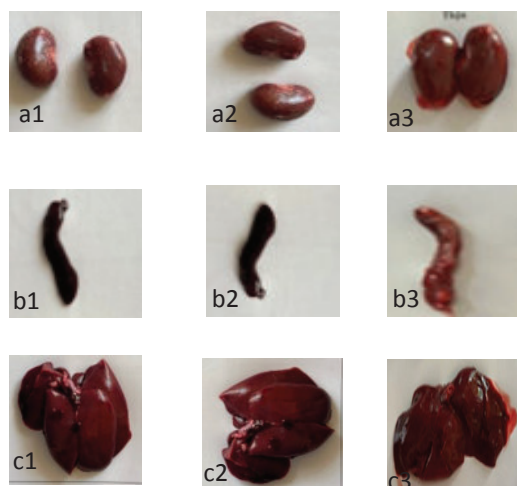
Khi so sánh ở cùng thời điểm thì hoạt độ enzyme AST, ALT và hàm lượng creatinine, ure máu của cả 2 lô uống cao khô hành đen liều 1, liều 2 không có sự thay đổi khác biệt so với lô chứng ($p > 0,05$).

Khi so sánh ở các thời điểm khác nhau của cùng một lô thì lô uống cao khô hành đen liều 1 và liều 2 sau 28 ngày có hàm lượng ALT cao hơn thời điểm ban đầu ($p < 0,05$), nhưng so với lô chứng là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở lô uống cao khô hành đen liều 2, hàm lượng creatinine máu sau 28 ngày tăng so với thời điểm ban đầu ($p < 0,05$). Tuy nhiên, hàm lượng creatinine máu sau 28 ngày tăng lên so với thời điểm sau 14 ngày không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

* *Kết quả phân tích đại thể và mô bệnh học:*

- Kết quả phân tích đại thể:

Quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần cho thấy: Màu sắc, hình thái của gan, thận và lách ở hai lô dùng cao khô hành đen không khác so với lô chứng. Hình ảnh đại thể và mô bệnh học gan, thận, lách được trình bày trong hình 1.



Hình 1. Hình ảnh đại thể các mô thận, lách, gan của các nhóm động vật thí nghiệm.

a1, b1, c1: Thận, lách, gan của nhóm chứng

a2, b2, c2: Thận, lách, gan của uống cao khô hành đen 375 mg/kg/ngày

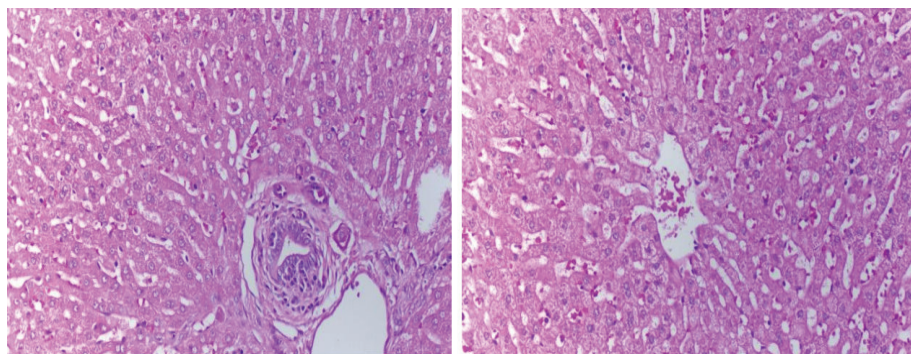
a3, b3, c3: Thận, lách, gan của uống cao khô hành đen 750 mg/kg/ngày

- Kết quả phân tích mô bệnh học:

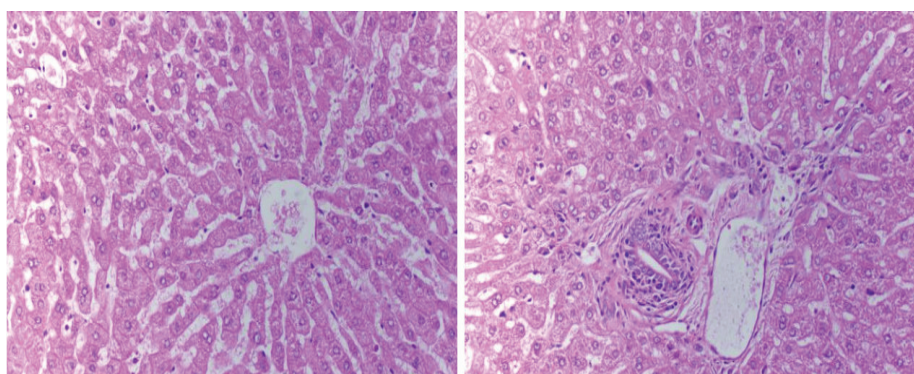
Kết quả nhận xét mô bệnh học được trình bày ở bảng 5. Hình ảnh tiêu bản mô bệnh học của các tạng gan, lách, thận được trình bày ở các hình 2, 3, 4.

Bảng 5. Nhận xét mô bệnh học gan, thận, lách thử thí nghiệm.

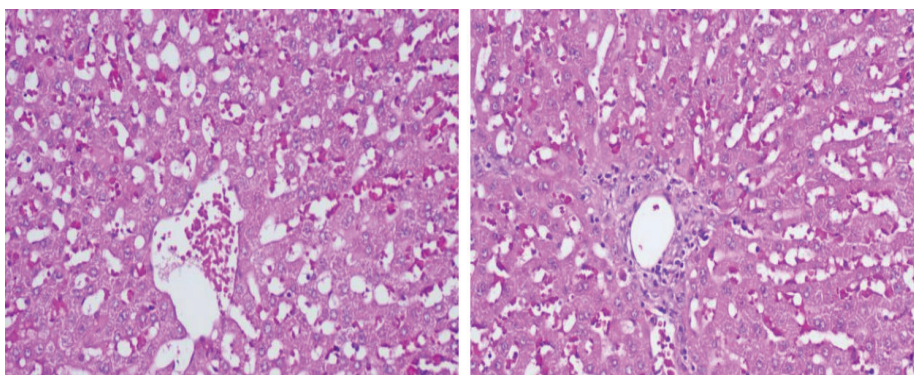
Lô NC	Vi thể
Lô 1: Chứng sinh học	<p>Gan: Các tế bào gan sắp xếp thành bè, thành dải, xen giữa là các xoang mạch. Các tế bào gan không bị thoái hóa.</p> <p>Thận: Vỏ thận có ống thận, cầu thận. Giữa các ống thận có các mạch máu. Các tế bào biểu mô ống thận không bị thoái hóa.</p> <p>Lách: Nhu mô lách có vùng tủy trắng và tủy đỏ. Vùng tủy trắng có các nang lympho khá đồng đều với động mạch bút lông ở trung tâm. Vùng tủy đỏ có dây Billroth và các xoang mạch giãn rộng chứa nhiều tế bào máu</p>
Lô 2: Uống cao khô hành đen liều 1	<p>Gan: Các tế bào gan xếp thành bè, thành dải. Có các xoang mạch giữa các tế bào. Các tế bào gan không bị thoái hóa. Các xoang mạch bị sung huyết nhẹ.</p> <p>Thận: Vỏ thận có cầu thận, ống thận. Giữa các ống thận có các mạch máu. Các tế bào biểu mô ống thận không bị thoái hóa. Các mạch máu sung huyết nhẹ.</p> <p>Lách: Nhu mô lách với vùng tủy trắng và tủy đỏ. Vùng tủy trắng có các nang lympho đồng đều với động mạch bút lông ở trung tâm. Vùng tủy đỏ có dây Billroth và các xoang mạch giãn rộng chứa nhiều tế bào máu</p>
Lô 3: Uống cao khô hành đen liều 2	<p>Gan: Các tế bào gan xếp thành bè, thành dải, ở giữa có xoang mạch. Các tế bào gan không bị thoái hóa. Các xoang mạch bị sung huyết nhẹ.</p> <p>Thận: Vỏ thận có cầu thận, ống thận. Giữa các ống thận có các mạch máu. Các tế bào biểu mô ống thận không bị thoái hóa. Các mạch máu sung huyết nhẹ.</p> <p>Lách: Nhu mô lách với vùng tủy trắng và tủy đỏ. Vùng tủy trắng có các nang lympho đồng đều với động mạch bút lông ở trung tâm. Vùng tủy đỏ có dây Billroth và các xoang mạch giãn rộng chứa nhiều tế bào máu</p>



(a)



(b)



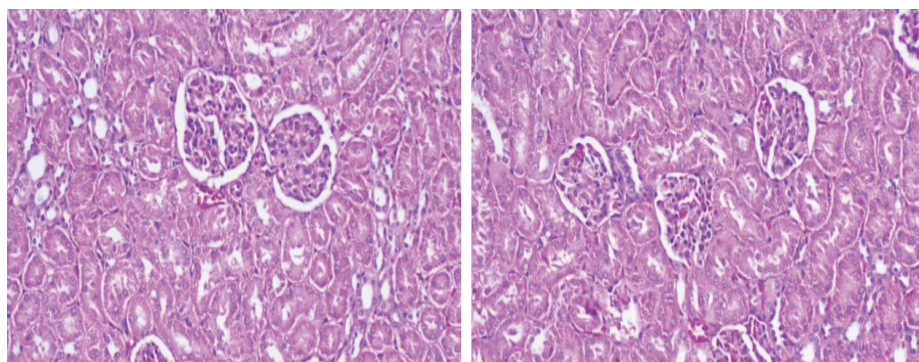
(c)

Hình 2. Hình ảnh vi thể gan thỏ ở các lô nghiên cứu.

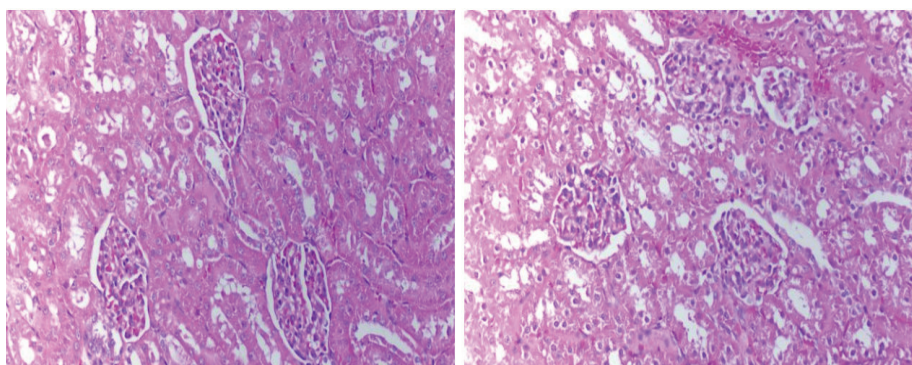
(a) Lô chứng sinh học;

(b) Lô uống cao khô hành đen liều 1;

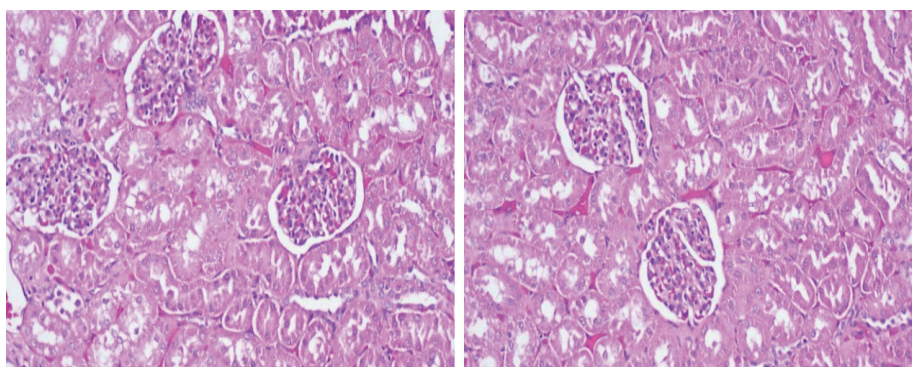
(c) Lô uống cao khô hành đen liều 2 (HE x 400).



(a)



(b)



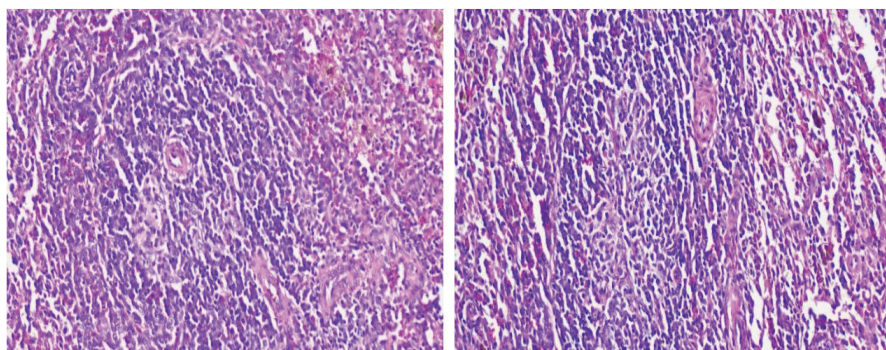
(c)

Hình 3. Hình ảnh vi thể thận thỏ ở các lô nghiên cứu.

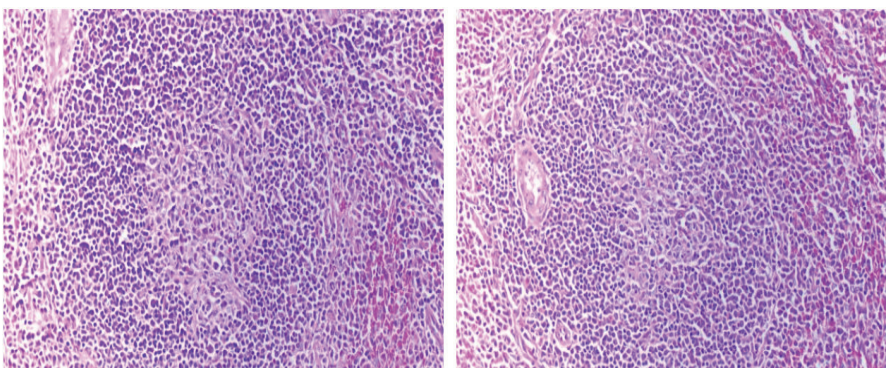
(a) Lô chứng sinh học;

(b) Lô uống cao khô hành đen liều 1;

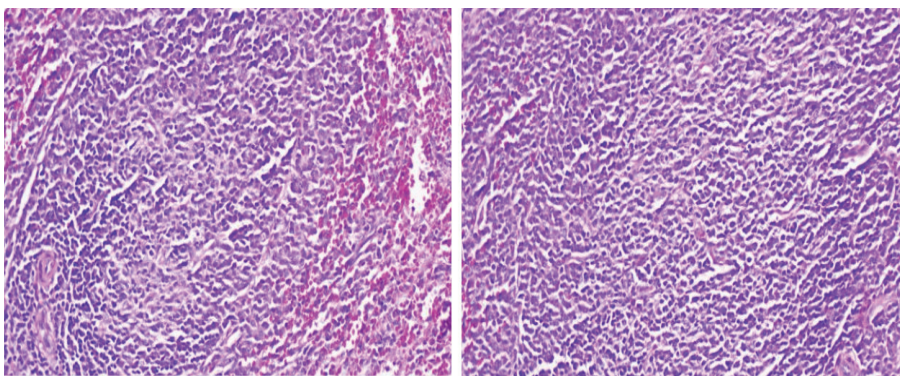
(c) Lô uống cao khô hành đen liều 2. (HE x 400).



(a)



(b)



(c)

Hình 4. Hình ảnh vi thể lách thỏ ở các lô nghiên cứu.

(a) Lô chứng sinh học;

(b) Lô uống cao khô hành đen liều 1;

(c) Lô uống cao khô hành đen liều 2 (HE x 400).

BÀN LUẬN

1. Về độc tính cấp

Đánh giá độc tính cấp là dữ liệu ban đầu về tính an toàn của cao khô hành đen và là cơ sở để chọn liều thử tác dụng. Cao khô hành đen được bào chế từ dịch chiết EtOH hành đen đã được chứng minh là an toàn cho động vật thực nghiệm. Nghiên cứu của Trần Thị Phương Nhung đã chỉ ra dịch chiết EtOH hành đen liều 1000 - 3000 mg/kg không gây chết và không có biểu hiện nhiễm độc cấp trên chuột nhắt trắng [7]. Kết quả thử nghiệm độc tính cấp của cao khô hành đen trong nghiên cứu này cho thấy, liều tối đa có thể cho chuột uống là 3000 mg/kg cân nặng. Tương ứng với liều sử dụng trên người là 250 mg/kg, nếu người nặng 60kg thì tương đương 15.000mg cao khô hành đen. Đây là mức liều tối đa có thể bơm thuốc trực tiếp vào dạ dày chuột qua kim đầu tù. Với các mức liều từ 750 - 3000 mg/kg quan sát trong 72 giờ sau khi uống, chuột vẫn bình thường, không thấy có biểu hiện ngộ độc và không có chuột nào bị chết. Vì vậy, tới mức liều tối đa có thể cho chuột uống, chưa xác định được LD₅₀ của cao khô hành đen trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Lichthfield - Wilcoxon. Từ đó, có

thể khẳng định cao khô hành đen không gây độc với liều tối đa 3000 mg/kg chuột.

2. Về độc tính bán trường diễn

Độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen trên thỏ trắng được đánh giá ở hai mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày liên tục. Về mức liều sử dụng này được căn cứ theo mức liều có tác dụng trên thử nghiệm sàng lọc tác dụng hạ lipid máu và tác dụng hạ glucose máu. Theo thực tế sàng lọc liều của chúng tôi để đánh giá tác dụng hạ lipid máu trên mô hình chuột nhắt trắng gây béo phì và đánh giá tác dụng hạ glucose máu trên mô hình chuột nhắt trắng gây tăng đường huyết bằng streptozocin, liều cao khô hành đen có tác dụng trên chuột nhắt trắng là 1000 và 1500 mg/kg/ngày. Theo công thức quy đổi giữa liều thử trên động vật và liều tương ứng trên người [8], các mức liều này quy đổi về liều trên thỏ sẽ là 250 mg/kg/ngày và 375 mg/kg/ngày. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn liều thử độc tính ở mức thấp áp dụng cho thỏ là 375 mg/kg/ngày (tương ứng với mức liều cao nhất có tác dụng hạ lipid máu và hạ glucose máu) và liều thử độc tính bán trường diễn ở mức cao là 750 mg/kg/ngày (cao gấp 2 lần liều cao nhất có tác dụng).

Sự phát triển trọng lượng cơ thể ở hai lô dùng cao khô hành đen là bình thường, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với lô chứng sinh học. Như vậy, tình trạng chung và khối lượng cơ thể thỏ giai đoạn trưởng thành không bị ảnh hưởng khi sử dụng cao khô hành đen với các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày.

Ở lô chứng và các lô uống cao khô hành đen các mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày trong 28 ngày, các chỉ số xét nghiệm sinh hoá và huyết học như AST, ALT, creatinine máu, ure máu, số lượng hồng cầu, bạch cầu, huyết sắc tố khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Chỉ số tiểu cầu ở nhóm sử dụng cao khô hành đen liều 750 mg/kg/ngày cao hơn lô chứng ở thời điểm 28 ngày ($p < 0,05$); tuy nhiên, so với thời điểm ban đầu thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Đối với kết quả tăng tiểu cầu này, ở đây mới chỉ thực hiện với cỡ mẫu nhỏ (3 thỏ/lô thử) có thể gặp sai số mang tính cá thể. Tuy nhiên, theo một số nghiên cứu về ảnh hưởng của các dịch chiết họ Hành (Alliaceae) đến các chỉ số huyết học, việc sử dụng liều cao có thể gây tăng nhẹ số lượng tiểu cầu [9, 10].

Kết quả quan sát đại thể và phân tích giải phẫu bệnh mô gan, thận, lách

của hai lô dùng cao khô hành đen không khác so với lô chứng. Như vậy, cao khô hành đen không làm ảnh hưởng đến chức năng gan, thận và tạo máu của thỏ.

KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu được độc tính cấp của cao khô hành đen trên chuột nhắt trắng và độc tính bán trường diễn của cao khô hành đen trên thỏ.

Về độc tính cấp, ở mức liều cao nhất có thể cho chuột nhắt uống là 3000 mg/kg không thấy biểu hiện độc cấp tính, chưa xác định được liều LD_{50} của cao khô hành đen trên chuột nhắt.

Về độc tính bán trường diễn, cao khô hành đen khi cho thỏ uống với mức liều 375 mg/kg/ngày và 750 mg/kg/ngày chưa thấy gây độc tính bán trường diễn. Ở các mức liều kể trên, không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa lô chứng và lô sử dụng thuốc ở các chỉ số huyết học (hồng cầu, bạch cầu, huyết sắc tố), ở các chỉ số sinh hoá máu (ALT, AST, creatinine, ure). Quan sát hình ảnh mô bệnh học ở đại thể và vi thể của các tạng gan, thận, lách thỏ ở ngày thứ 28 sau khi sử dụng thuốc không thấy có sự khác biệt, không thấy xuất hiện tổn thương giữa nhóm đối chứng sinh lý và các nhóm sử dụng thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 2009; 1071.
2. Fattorusso E, et al. Chemical composition of shallot (*Allium ascalonicum* Hort.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50(20):5686-5690.
3. Parvez S, et al. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*. 2006; 100(6):1171-1185.
4. Tran GB and Ngo TTM. Hepatoprotective effect of black shallot (*Allium ascalonicum*) against alcohol-induced hepatic damage in Swiss albino mice. *The 2nd International Conference on Advanced Technology & Sustainable Development (ICATSD 2022)*. 2022; 5-13.
5. Nguyen Hong Son, et al. Study on preparation of black shallot dried extracts by spray drying method. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*. 2022; 5:167-180.
6. World Health Organization. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. *Geneva*. 2000; 28-31.
7. Trần Thị Phương Nhung. Đánh giá độc tính cấp tính và bán mãn tính của chiết xuất etanol hành đen (*Allium ascalonicum* L.) trên chuột Swiss albino. *Journal of Science and Technology-IUH*. 2021; 53(5):24-36.
8. USA Food & Drug Administration. Guidance for industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. *Center for Drug Evaluation and Research (CDER)*. 2005; 7(0.001).
9. Al-Jowari SA. Effect of garlic powder (*Allium sativum*) on blood constituents in male rabbits. *Al-Nahrain Journal of Science*. 2014; 17(3):132-137.
10. Owoyele BV, et al. Haematological evaluation of ethanolic extract of *Allium ascalonicum* in male Albino rats. *Fitoterapia*. 2004; 75(3-4):322-326.