



Original Article

Acute and Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Studies of Ich Tri Hadiphar Capsules

Nguyen Thi Lien*, Nguyen Thi Hang

National Institute of Drug Quality Control, 48 Hai Ba Trung, Hanoi, Vietnam

Received 10 May 2022

Revised 27 June 2022; Accepted 10 March 2023

Abstract: Ich tri Hadiphar capsules used for dementia treatment were evaluated for acute and repeated dose toxicities in mice and rabbits, respectively. The acute toxicity results indicated that LD₅₀ of Ich tri Hadiphar capsules in mice according to the method of Behrens is greater than 30 g/kg body weight. In the repeated dose toxicity study, rabbits were administrated Ich tri Hadiphar with doses of 186.5 and 560.0 mg/kg/day for 28 days (equivalent to the dose used on humans and the dose of 3 times more than one used on humans). Blood samples were taken on day 0, day 14, and day 28 of the experiment for hematological and biochemical analysis. Liver and kidney samples were taken on day 28 for histopathological determinations. The repeated dose toxicity results revealed that there were no significant differences in hematological and serum biochemical values between control and treatment animals. Furthermore, no histopathological changes in the liver and kidney of rabbits treated with Ich tri Hadiphar capsules were observed.

Keywords: Acute toxicity, repeated dose toxicity, Ich tri Hadiphar.

* Corresponding author.

E-mail address: nguyenlien.pharm@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4405>

Đánh giá độc tính cấp và độc tính liều lặp lại 28 ngày của viên nang Ích trí Hadiphar

Nguyễn Thị Liên*, Nguyễn Thị Hằng²

Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, 48 Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 10 tháng 5 năm 2022

Chỉnh sửa ngày 27 tháng 6 năm 2022; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 3 năm 2023

Tóm tắt: Viên nang Ích trí Hadiphar được đánh giá độc tính cấp và độc tính liều lặp lại trên chuột nhắt trắng và thỏ. Kết quả độc tính cấp đường uống theo phương pháp của Behrens cho thấy LD₅₀ của Ích trí Hadiphar lớn hơn 30 g/kg. Trong thử nghiệm độc tính liều lặp lại, thỏ được uống Ích trí Hadiphar với liều 186,5 và 560,0 mg/kg/ngày trong 28 ngày (tương đương với liều dùng tối đa trên người và liều gấp 3 lần liều dùng trên người). Mẫu máu được lấy vào ngày 0, 14 và 28 để kiểm tra các chỉ số sinh hóa và huyết học. Mẫu gan và thận được lấy vào ngày 28 để làm mô bệnh học. Kết quả thử nghiệm độc tính liều lặp lại cho thấy Ích trí Hadiphar không gây ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến chỉ số sinh hóa, huyết học cũng như mô bệnh học gan và thận của thỏ.

Từ khóa: Độc tính cấp, độc tính liều lặp lại, Ích trí Hadiphar.

1. Mở đầu

Sa sút trí tuệ là một hội chứng suy giảm trí nhớ, suy nghĩ, hành vi và khả năng thực hiện các hoạt động hàng ngày. Chứng sa sút trí tuệ không chỉ tác động xấu đến thể chất, tâm lý và kinh tế của người bệnh mà còn cả với người chăm sóc họ. Vì vậy việc nghiên cứu bào chế sản phẩm hỗ trợ điều trị chứng sa sút trí tuệ trở nên rất cần thiết cho cộng đồng. Viên nang Ích trí Hadiphar được phát triển dựa trên bài thuốc cổ truyền tứ vật thang, bao gồm: thực địa, đương quy, bạch thược, xuyên khung là bài thuốc được sử dụng từ lâu để bổ huyết, hoạt huyết,... kết hợp gia giảm thêm một số dược liệu quý như: địa long, viển chí, thông đất, thành ngạnh,... Sản phẩm sử dụng cho người bị suy giảm trí nhớ, thần kinh căng thẳng, kém tập trung, người bị thiếu năng tuần hoàn não. Nhằm đảm bảo tính an toàn của sản

phẩm trước khi sử dụng trên người, chúng tôi tiến hành đánh giá độc tính cấp và độc tính liều lặp lại của sản phẩm viên nang Ích trí Hadiphar trên động vật thí nghiệm.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Viên nang Ích trí Hadiphar do Công ty Cổ phần Dược Hà Tĩnh sản xuất đạt tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần 1 viên nang 500 mg bao gồm: xuyên khung 55,2 mg, đương quy 88,2 mg, bạch thược 69,0 mg, địa long 103,5 mg, đan sâm 82,8 mg, thông đất 82,8 mg, viển chí 69,0 mg, câu đằng 55,2 mg, trinh nữ 8 mg, thành ngạnh 55,2 mg, tá dược vừa đủ. Liều tối đa dự kiến dùng trên người là 6 viên/người/ngày.

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: nguyenlien.pharm@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4405>

2.2. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất

Máy xét nghiệm sinh hóa (Beckman Coulter AU 680, Mỹ);

Máy xét nghiệm huyết học (Sysmex XS-1000I, Nhật Bản);

Máy li tâm lạnh (Eppendorf 5804 R, Đức);

Máy cắt vi thể Microm HM315, Đức;

Kính hiển vi quang học gắn camera kết nối máy tính (Nikon, Nhật Bản);

Kim cong cho uống;

Xy lanh, găng cao su, cốc thủy tinh, chày cối sứ;

Bộ kit định lượng các chỉ số huyết học và sinh hóa (của Stromatolyser và Beckman Coulter);

Các hóa chất khác.

2.3. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng giống Swiss (đực và cái) khỏe mạnh, khoảng 5 - 6 tuần tuổi, trọng lượng 18-22 g do Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương cung cấp. Thỏ trắng New Zealand (đực và cái) trưởng thành khỏe mạnh, khoảng 12 tuần tuổi, cân nặng 1,8-2,2 kg do Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương cung cấp.

Động vật được nuôi trong phòng kiểm soát nhiệt độ từ 25 °C ± 3 °C, độ ẩm tương đối từ 30-70 %, chu kỳ 12 h sáng/tối. Động vật được ăn uống theo nhu cầu với thức ăn công thức phù hợp dành cho chuột và thỏ. Tất cả các qui trình thực hiện trên động vật đều được tuân theo hướng dẫn về chăm sóc và sử dụng động vật thí nghiệm của Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Đánh giá độc tính cấp theo phương pháp của Behrens [1-3]

Chuột được nhịn ăn 3-4 giờ trước khi thử nghiệm, nước uống theo nhu cầu.

Đường dùng thuốc: đường uống, cho chuột uống bằng cách dùng bơm tiêm kim cong đầu tù để đưa thẳng thuốc vào dạ dày chuột.

Cách xử lý và chuẩn bị mẫu thử: lấy bột thuốc trong nang, nghiền kỹ, trộn đều với nước

để thu được hỗn dịch thử có chứa 0,5 g mẫu thử/ml (hỗn dịch thử).

Chia chuột nhắt trắng thành các lô, mỗi lô 10 con. Tiến hành thử nghiệm sơ bộ xác định mức độ độc của mẫu. Thử nghiệm chính thức được tiến hành trên 6 nhóm chuột: 1 nhóm chứng và 5 nhóm thử với 5 mức liều: 10 g mẫu thử/kg chuột (mức liều 1), 15 g mẫu thử/kg chuột (mức liều 2), 20 g mẫu thử/kg chuột (mức liều 3), 25 g mẫu thử/kg chuột (mức liều 4), 30 g mẫu thử/kg chuột (mức liều 5) (mức liều 5 - liều tối đa có thể cho uống). Theo dõi biểu hiện của chuột (về thể trạng, hành vi, vận động, tình trạng ăn, uống, phân, nước tiểu,...) sau khi uống trong 24 giờ đầu và theo dõi hoạt động của chuột trong thời gian 7 ngày sau khi uống.

2.4.2. Đánh giá độc tính liều lặp lại [2, 4, 5]

Nghiên cứu độc tính liều lặp lại được tiến hành trên 3 nhóm thỏ gồm 1 nhóm chứng và 2 nhóm thử, mỗi nhóm 7 con. Hai nhóm thử được cho uống mẫu thử với liều 560,0 mg/kg thỏ (5 ml hỗn dịch A/kg thỏ) và 186,5 mg/kg thỏ (5 ml hỗn dịch B/kg thỏ). Nhóm chứng: uống nước. Cho thỏ uống bằng cách dùng xi lanh bơm thuốc qua ống thông (sonde) được luồn từ miệng vào thẳng dạ dày thỏ. Thời gian uống liên tục 28 ngày.

Mẫu thử: chuẩn bị 2 hỗn dịch có nồng độ khác nhau. Hỗn dịch A (nồng độ 112,0 mg/ml): Lấy bột thuốc trong 28 nang, nghiền kỹ, trộn đều với nước vừa đủ 125 ml (hỗn dịch A). Hỗn dịch B (nồng độ 37,3 mg/ml): pha loãng 40 ml hỗn dịch A với nước vừa đủ 120 ml (hỗn dịch B).

Theo dõi thỏ hàng ngày về mức độ tiêu thụ thức ăn, khả năng hoạt động, tình trạng phân, lông. Trước thí nghiệm, xác định cân nặng của thỏ, các dấu hiệu toàn thân, lấy máu xét nghiệm đánh giá các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, hemoglobin, hematocrit), các chỉ số sinh hóa (AST, ALT, cholesterol, bilirubin, creatinin, urea, protein toàn phần). Theo dõi cân nặng của thỏ hàng tuần. Sau 14 và 28 ngày uống thuốc, lấy máu thỏ để làm các xét nghiệm nêu trên. So sánh kết quả của nhóm thử và nhóm chứng theo phương pháp thống kê. Quan sát đại thể và vi thể một số tổ chức (gan và thận) sau khi kết thúc thí nghiệm.

2.4.3. Trình bày và xử lý số liệu

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình cộng trừ độ lệch chuẩn (mean \pm SD) và được xử lý thống kê bằng phép phân tích biến 1 chiều (one-way ANOVA) với hậu kiểm (post-hoc) Newman-Keuls test hoặc được xử lý thống kê bằng trắc nghiệm Student sử dụng phần mềm Prism phiên bản 8.0 (Graph Pad Software). Giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

2.5. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại khoa Dược lý - Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Độc tính cấp

Thử nghiệm độc tính cấp được tiến hành trên 5 mức liều thử. Kết quả thực nghiệm được thể hiện ở Bảng 1.

Sau thí nghiệm chuột ở các nhóm thử đều tăng cân, khối lượng chuột ở mỗi nhóm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với trước thử nghiệm ($p < 0,05$, Bảng 2). Không có sự khác biệt về cân nặng giữa nhóm thử và nhóm chứng ở các thời điểm theo dõi trong thử nghiệm.

Bảng 1. Kết quả quan sát biểu hiện chuột trong thử nghiệm độc tính cấp viên Ích trí Hadiphar

Nhóm	Số chuột	Liều mẫu thử	Kết quả
Chứng	10	-	Chuột ăn uống, hoạt động bình thường.
Thử 1	10	10 g/kg	Không có biểu hiện ngộ độc, chuột ăn uống hoạt động bình thường.
Thử 2	10	15 g/kg	Sau khi uống hỗn dịch thử khoảng 2 giờ, tất cả chuột có biểu hiện toàn thân và mồ hôi, giảm hoạt động, một số chuột nằm mết; Sau 24 giờ chuột ăn uống và hoạt động bình thường trở lại.
Thử 3	10	20 g/kg	
Thử 4	10	25 g/kg	
Thử 5	10	30 g/kg	Sau khi uống hỗn dịch thử khoảng 2 giờ, tất cả chuột có biểu hiện toàn thân và mồ hôi, giảm hoạt động, nằm mết; Có 2 chuột bị chết trong khoảng 6-24 giờ sau khi uống mẫu thử, mổ quan sát đại thể nhận thấy các tổ chức tim, gan, lách, thận, phổi bình thường nhưng dạ dày và ruột phình to; Số chuột không chết bắt đầu ăn uống, hoạt động bình thường sau 48 giờ uống mẫu thử.

Bảng 2. Khối lượng chuột trong thử nghiệm độc tính cấp viên Ích trí Hadiphar

Nhóm	Số chuột	Liều mẫu thử	Khối lượng chuột (g)		P _{trước-sau}
			Trước uống thuốc	Sau uống thuốc 7 ngày	
Chứng	10	-	19,59 \pm 0,63	29,57 \pm 1,07	$p < 0,001$
Thử 1	10	10 g/kg	19,25 \pm 0,83	29,35 \pm 1,43	$p < 0,001$
Thử 2	10	15 g/kg	19,19 \pm 0,92	28,40 \pm 1,51	$p < 0,001$
Thử 3	10	20 g/kg	19,71 \pm 0,67	28,02 \pm 2,34	$p < 0,001$
Thử 4	10	25 g/kg	19,84 \pm 0,63	28,55 \pm 1,47	$p < 0,001$
Thử 5	10	30 g/kg	20,14 \pm 0,69	28,11 \pm 3,06	$p < 0,001$
P _{ANOVA}			> 0,05	> 0,05	

3.2. Độc tính liều lặp lại

3.2.1. Kết quả theo dõi cân nặng thỏ

Trong thời gian thử nghiệm, tất cả các thỏ đều hoạt động bình thường, ăn uống tốt, mắt

sáng, lông mượt, phân khô. Không có biểu hiện bất thường về thể trạng, ăn uống cũng như vận động. Kết quả theo dõi cân nặng được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Số liệu cân nặng của thỏ

Nhóm (n = 7)	Khối lượng thỏ (kg)					P
	Trước TN	Ngày 7	Ngày 14	Ngày 21	Ngày 28	
Chứng	1,92 ± 0,08	2,04 ± 0,07	2,19 ± 0,06	2,34 ± 0,06	2,42 ± 0,09	P _{trước-sau} < 0,001
% so với trước thử nghiệm		106,3%	113,9%	122,0%	126,3%	
Thử 1 (liều 186,5 mg/kg)	1,88 ± 0,07	1,98 ± 0,18	2,10 ± 0,22	2,24 ± 0,27	2,39 ± 0,24	P _{trước-sau} < 0,001
% so với trước thử nghiệm		105,3%	111,2%	118,9%	126,8%	
Thử 2 (liều 560,0 mg/kg)	1,89 ± 0,06	1,99 ± 0,15	2,08 ± 0,17	2,23 ± 0,22	2,35 ± 0,25	P _{trước-sau} < 0,001
% so với trước thử nghiệm		105,7%	110,3%	118,2%	124,2%	
P _{ANOVA}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Ghi chú: TN là thử nghiệm.

Kết quả Bảng 3 cho thấy thỏ tăng cân ở nhóm chứng và hai nhóm thử, có sự khác biệt khi so sánh với trước thử nghiệm trong mỗi nhóm (p < 0,05). Trước thử nghiệm, trong thử nghiệm và sau thử nghiệm cân nặng trung bình của thỏ ở

các nhóm thử không có sự khác biệt so với nhóm chứng (p > 0,05).

3.2.2. Kết quả theo dõi các chỉ số huyết học

Kết quả theo dõi các chỉ số huyết học được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Các chỉ số huyết học của thỏ

Chi số	Nhóm (n=7)				P _{ANOVA}
	Chứng	Thử 1 (liều 186,5 mg/kg)	Thử 2 (liều 560,0 mg/kg)		
Hồng cầu (×10 ¹² / lit)	Trước TN	5,6 ± 0,5	5,6 ± 0,2	5,6 ± 0,4	> 0,05
	Sau 14 ngày	5,7 ± 0,3	5,5 ± 0,2	5,6 ± 0,2	> 0,05
	Sau 28 ngày	6,0 ± 0,3	5,8 ± 0,3	5,9 ± 0,4	> 0,05
Bạch cầu (×10 ⁹ / lit)	Trước TN	5,6 ± 0,5	5,6 ± 0,2	5,6 ± 0,4	> 0,05
	Sau 14 ngày	7,7 ± 1,4	7,1 ± 0,9	6,7 ± 0,4	> 0,05
	Sau 28 ngày	6,5 ± 2,0	7,5 ± 2,1	8,1 ± 0,9	> 0,05
Tiểu cầu (× 10 ⁹ / lit)	Trước TN	426,4 ± 93,6	342,4 ± 80,0	400,9 ± 134,1	> 0,05
	Sau 14 ngày	451,4 ± 59,2	438,0 ± 116,3	394,4 ± 77,3	> 0,05
	Sau 28 ngày	470,7 ± 107,8	457,7 ± 116,2	545,1 ± 94,5	> 0,05
Hematocrit (%)	Trước TN	11,3 ± 1,0	11,3 ± 1,0	11,3 ± 0,7	> 0,05
	Sau 14 ngày	39,9 ± 0,8	38,6 ± 2,1	38,9 ± 1,5	> 0,05
	Sau 28 ngày	41,3 ± 1,5	41,1 ± 1,3	39,7 ± 1,7	> 0,05
Hemoglobin (g/dl)	Trước TN	11,3 ± 1,0	11,3 ± 1,0	11,3 ± 0,7	> 0,05
	Sau 14 ngày	12,1 ± 0,3	11,9 ± 0,5	11,9 ± 0,4	> 0,05
	Sau 28 ngày	12,8 ± 0,4	12,9 ± 0,7	12,3 ± 0,5	> 0,05

Ghi chú: TN là thử nghiệm.

Kết quả Bảng 4 cho thấy chỉ số huyết học trước, giữa và sau thí nghiệm không có sự khác biệt giữa nhóm chứng và 2 nhóm thử ($p > 0,05$).

3.2.3. Kết quả theo dõi các chỉ số sinh hóa (liên quan đến chức năng gan và thận)

Kết quả theo dõi các chỉ số sinh hóa liên quan đến chức năng gan và thận được thể hiện ở Bảng 5.

Bảng 5. Các chỉ số sinh hóa (liên quan đến chức năng gan, thận) của thỏ

Chi số	Nhóm (n = 7)		Thử 1 (liều 186,5 mg/kg)	Thử 2 (liều 560,0 mg/kg)	PANOVA
	Chứng	Thử			
AST (U/lit)	Trước TN	72,3 ± 22,1	63,4 ± 29,0	62,0 ± 16,9	> 0,05
	Sau 14 ngày	54,5 ± 15,5	56,9 ± 24,6	66,3 ± 8,6	> 0,05
	Sau 28 ngày	40,5 ± 17,2	50,3 ± 17,8	42,5 ± 15,4	> 0,05
ALT (U/lit)	Trước TN	91,4 ± 16,5	79,4 ± 23,1	90,2 ± 7,4	> 0,05
	Sau 14 ngày	85,8 ± 10,9	79,5 ± 14,5	97,3 ± 15,9	> 0,05
	Sau 28 ngày	78,7 ± 21,1	81,9 ± 18,5	92,3 ± 19,1	> 0,05
Bilirubin toàn phần (μmol/lit)	Trước TN	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,7 ± 0,3	> 0,05
	Sau 14 ngày	1,5 ± 0,7	2,0 ± 0,9	2,0 ± 0,9	> 0,05
	Sau 28 ngày	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	> 0,05
Protein toàn phần (g/lit)	Trước TN	54,3 ± 4,9	52,1 ± 3,1	54,3 ± 5,1	> 0,05
	Sau 14 ngày	56,2 ± 3,0	54,3 ± 2,0	56,3 ± 2,8	> 0,05
	Sau 28 ngày	55,6 ± 2,5	55,3 ± 2,9	56,5 ± 4,2	> 0,05
Cholesterol (mmol/l)	Trước TN	2,0 ± 0,5	1,8 ± 0,4	2,2 ± 0,5	> 0,05
	Sau 14 ngày	2,6 ± 0,5	2,6 ± 0,8	2,7 ± 0,5	> 0,05
	Sau 28 ngày	1,6 ± 0,6	2,1 ± 1,0	1,8 ± 0,7	> 0,05
Urea (mmol/lit)	Trước TN	4,8 ± 0,4	4,6 ± 0,8	4,9 ± 0,9	> 0,05
	Sau 14 ngày	4,7 ± 0,5	4,2 ± 0,5	4,1 ± 0,7	> 0,05
	Sau 28 ngày	6,2 ± 0,8	5,3 ± 0,9	5,9 ± 1,3	> 0,05
Creatinin (μmol/lit)	Trước TN	82,8 ± 6,2	82,5 ± 8,0	85,7 ± 10,5	> 0,05
	Sau 14 ngày	101,5 ± 11,1	92,9 ± 12,6	100,8 ± 16,6	> 0,05
	Sau 28 ngày	96,9 ± 11,6	91,3 ± 11,9	101,8 ± 14,3	> 0,05

Ghi chú: TN là thử nghiệm.

Kết quả Bảng 5 cho thấy chỉ số sinh hóa của thỏ trước, giữa và sau thí nghiệm không có sự khác biệt giữa nhóm chứng và 2 nhóm thử ($p > 0,05$).

3.2.4. Kết quả theo dõi chỉ số glucose trong huyết tương

Kết quả theo dõi chỉ số glucose trong huyết tương thỏ của các nhóm thử nghiệm được trình bày ở Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả theo dõi chỉ số glucose trong huyết tương của thỏ

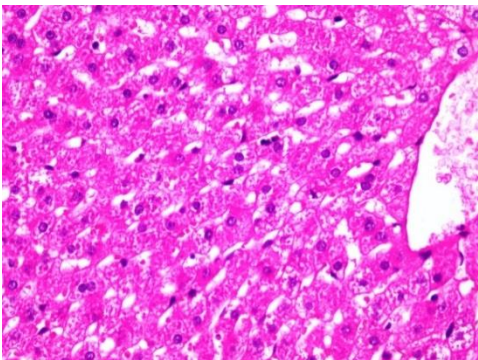
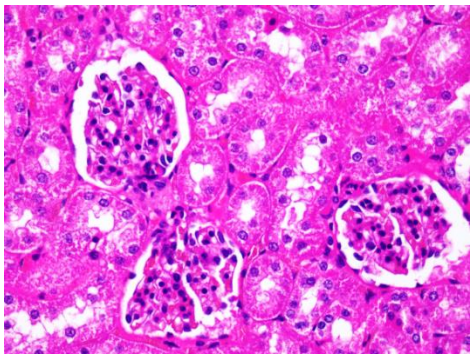
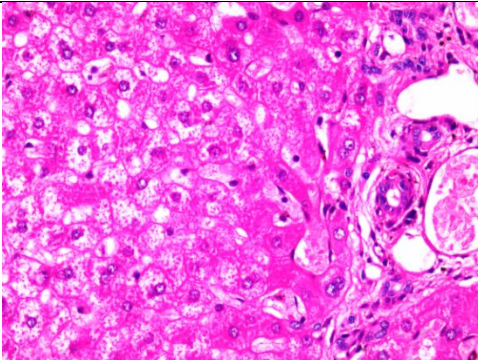
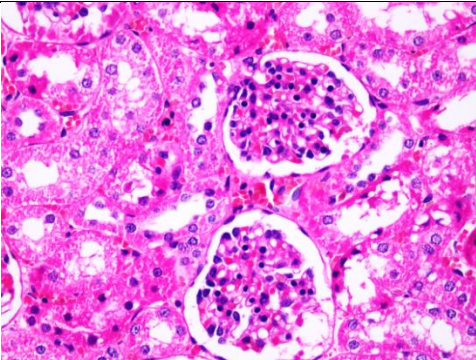
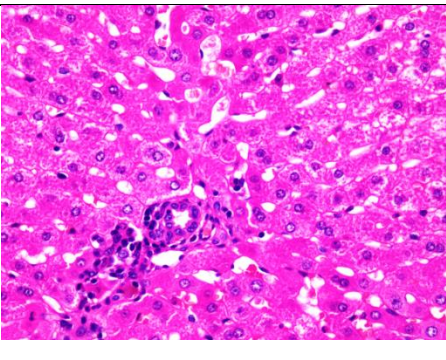
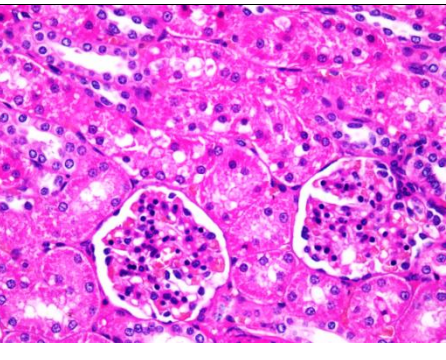
Chi số	Nhóm (n = 7)		Thử 1 (liều 186,5 mg/kg)	Thử 2 (liều 560,0 mg/kg)	PANOVA
	Chứng	Thử			
Glucose (mmol/lit)	Trước TN	7,8 ± 1,0	7,2 ± 1,0	7,6 ± 0,7	> 0,05
	Sau 14 ngày	6,9 ± 0,4	6,5 ± 0,6	7,1 ± 0,3	> 0,05
	Sau 28 ngày	7,1 ± 1,0	6,6 ± 1,5	7,5 ± 0,8	> 0,05

Ghi chú: TN là thử nghiệm.

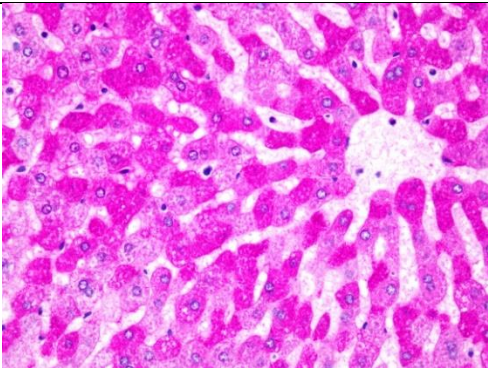
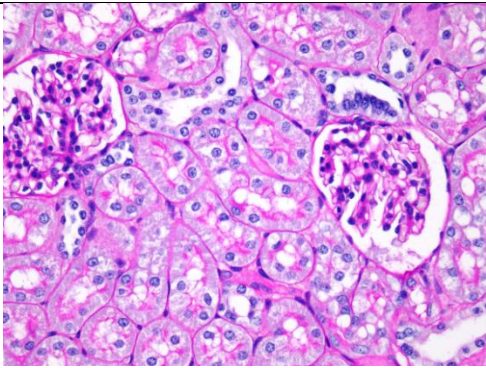
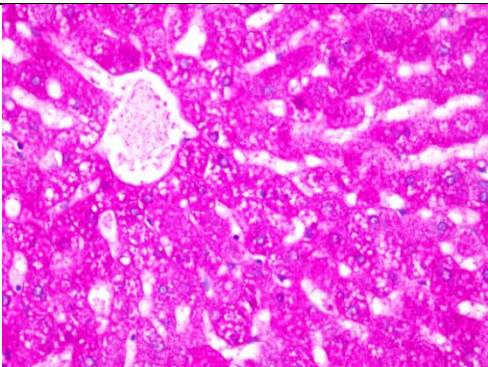
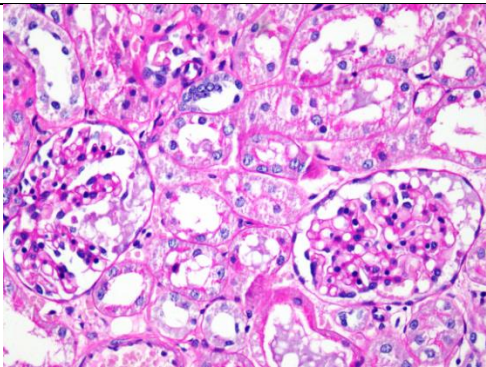
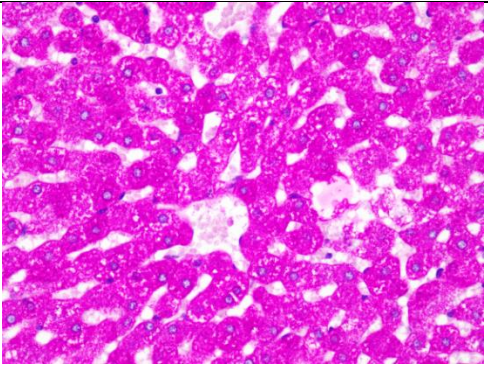
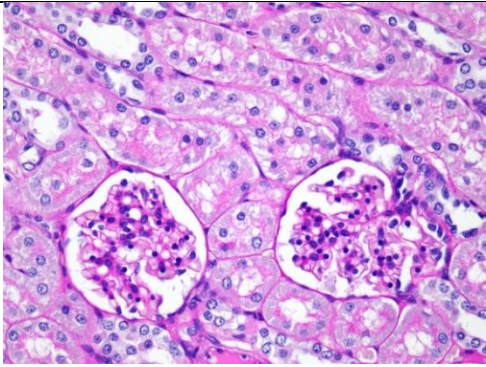
Kết quả Bảng 6 cho thấy chỉ số glucose trong huyết tương trước, giữa và sau thí nghiệm đều

không có sự khác biệt giữa nhóm chứng và 2 nhóm thử ($p > 0,05$).

Bảng 7. Hình ảnh vi thể gan và thận
(Hình ảnh nhuộm HE, Độ phóng đại 400 lần)

STT	Nhóm	Hình ảnh mô gan	Hình ảnh mô thận
1	Chứng	 <p>Mô gan bình thường, không thấy tổn thương.</p>	 <p>Mô thận bình thường, không thấy tổn thương.</p>
2	Thử 1 (liều 186,5 mg/kg)	 <p>Mô gan bình thường, không thấy tổn thương.</p>	 <p>Mô thận bình thường, không thấy tổn thương.</p>
3	Thử 2 (liều 560,0 g/kg)	 <p>Mô gan bình thường, không thấy tổn thương.</p>	 <p>Mô thận bình thường, không thấy tổn thương.</p>

Bảng 8. Hình ảnh vi thể gan và thận
(Hình ảnh nhuộm PAS, Độ phóng đại 400 lần)

TT	Nhóm	Hình ảnh mô gan	Hình ảnh mô thận
1	Chứng	 <p>Mô gan bình thường, không thấy tổn thương.</p>	 <p>Mô thận bình thường, không thấy tổn thương.</p>
2	Thử 1 (liều 186,5 mg/kg)	 <p>Mô gan bình thường, không thấy tổn thương.</p>	 <p>Mô thận bình thường, không thấy tổn thương.</p>
3	Thử 2 (liều 560,0 mg/kg)	 <p>Mô gan bình thường, không thấy tổn thương.</p>	 <p>Mô thận bình thường, không thấy tổn thương.</p>

3.2.5. Kết quả quan sát đại thể

Kết quả quan sát đại thể các cơ quan nội tạng của tất cả các thử nghiệm cho thấy: không có biểu hiện khác thường về hình dạng bên ngoài, màu sắc của các tổ chức tim, gan, thận, phổi, dạ dày, ruột của các thử nghiệm so với nhóm chứng sau thí nghiệm.

3.2.6. Kết quả quan sát vi thể

Kết quả quan sát vi thể cho thấy các thử nghiệm đều có gan và thận không bị tổn thương, hình ảnh cấu trúc trong giới hạn bình thường. Không có các triệu chứng bất thường liên quan đến mẫu thử. Cụ thể: trên các mảnh cắt của mô gan cho thấy cấu trúc gan không bị đảo lộn, nhận rõ các tiểu thùy với tĩnh mạch trung tâm và các khoảng cửa. Tại các khoảng cửa không thấy tăng sinh xơ, không thấy tăng sinh ống mật và cũng không thấy xâm nhập viêm. Các tế bào gan có hình thái bình thường, không thấy hoại tử tế bào gan (Bảng 7 và 8). Trên các mảnh cắt từ mô thận cho thấy các cầu thận, ống thận có hình thái bình thường. Trong các cầu thận nhận rõ khoang Bowman, không thấy tăng sinh tế bào cuộn mao mạch cầu thận, màng đáy cuộn mao mạch cầu thận không dày. Các ống thận có cấu trúc, hình thái trong giới hạn bình thường, mô đệm không thấy xâm nhập viêm, không xơ hóa. Các tế bào ống thận không lắng đọng glycogen, không thoái hóa, không hoại tử (Bảng 7 và 8).

4. Kết luận

Kết quả thu được trong nghiên cứu này cho thấy mẫu thử viên nang Ích trí Hadiphar của Công ty Cổ phần Dược Hà Tĩnh có liều không gây độc tính quan sát được là 10 g mẫu thử/kg chuột (20 viên mẫu thử/kg chuột), liều có biểu hiện độc nhưng không gây chết động vật thí nghiệm từ 15,0-25,0 g mẫu thử/kg chuột (30-50 viên mẫu thử/kg chuột); liều gây chết 50 % động vật thí nghiệm (LD_{50}) lớn hơn 30,0 g mẫu thử/kg chuột (60 viên mẫu thử/kg chuột). Biểu hiện độc quan sát được là chuột vã mồ hôi toàn thân, giảm

hoạt động, nằm mê và chết 20 % ở mức liều tối đa có thể cho uống (30,0 g mẫu thử/kg). Theo phân loại độc tính của GHS [6], mẫu thử viên nang Ích trí Hadiphar có độc tính thấp dưới ngưỡng phân loại.

Khi cho thử uống mẫu thử với 2 mức liều là 186,5 mg mẫu thử/kg thử/ngày (tương ứng với mức liều tối đa dùng cho người là 6 viên/người/ngày) và mức liều 560,0 mg mẫu thử/kg thử/ngày (cao gấp 3 lần so với liều tối đa dùng cho người), trong 28 ngày không nhận thấy có ảnh hưởng có ý nghĩa đến thể trạng, các chỉ số sinh hóa, các chỉ số huyết học, cấu trúc đại thể các cơ quan nội tạng (tim, gan, thận, phổi và hệ tiêu hóa) và vi thể gan, thận của thử.

Các kết quả thực nghiệm ban đầu cho thấy viên nang Ích trí Hadiphar có độc tính cấp thấp trên chuột nhắt trắng và không ảnh hưởng có hại với thử khi dùng thuốc liên tục trong 28 ngày.

Tài liệu tham

- [1] D. T. Dam, Methods for Determining Acute Toxicity of Drugs, Medical Publishing House, Hanoi, 2014 (in Vietnamese).
- [2] Guidelines for Preclinical Testing of Oriental Medicine and Herbal Medicine (Promulgated Together with Decision No. 141/QĐ-K2DT Dated October 27, 2015 of the Ministry of Health) (in Vietnamese).
- [3] B. Behrens, G. Kaber, Mathematics for Naturalists and Agriculturalists, PWN Publishing House, Warszawa, 1983, pp 218.
- [4] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Repeated Dose 28 - Days Oral Toxicity study in Rodents, OECD 407, Paris, 2008.
- [5] V. Sharma, J. H. McNeill, To scale or not to scale: The principles of dose extrapolation, British Journal of Pharmacology, Vol. 157, No. 6, 2009, pp. 907-921, <https://doi.org/10.1111/j.14765381.2009.00267.x>.
- [6] Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), GHS 9th Edition, United Nations, 2021.