

228. doi:10.1055/s-0039-3401822
4. **Hankil Lee.** Cost-utility analysis of emicizumab prophylaxis in haemophilia A patients with factor VIII inhibitors in Korea. *Haemophilia*. 2020;1-10. doi:10.1111/hae.14143
  5. **Oldenburg J, Mahlangu JN, Bujan W, et al.** The effect of emicizumab prophylaxis on health-related outcomes in persons with haemophilia A with inhibitors: HAVEN 1 Study. *Haemophilia*. 2018;25(1):33-44. doi:10.1111/hae.13618
  6. **Patel AM CS, Chaplin S, Raimundo K, Sidonio RF.** Economic impact model of delayed inhibitor development in patients with hemophilia a receiving emicizumab for the prevention of bleeding events. *Journal of medical economics*. 2019;22(12):1328-1337.
  7. **Polack B, Trossaert M, Cousin M, et al.** Cost-effectiveness of emicizumab vs bypassing agents in the prevention of bleeding episodes in haemophilia A patients with anti-FVIII inhibitors in France. *Haemophilia*. 2021;27(1):e1-e11. doi:10.1111/hae.14129
  8. **Reviews CCD.** Pharmacoeconomic Report: Emicizumab (Hemlibra): Hoffman-La Roche Ltd: Indication: Bleeding prevention, Hemophilia A. Ottawa (ON). Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. 2019
  9. **Zhou ZY RK, Patel AM, Han S, Ji Y, Fang H, et al.** Model of Short- and Long-Term Outcomes of Emicizumab Prophylaxis Treatment for Persons with Hemophilia A. *Journal of managed care & specialty pharmacy*. 2020;26(9):1109-1120.
  10. **Scott LJ, Kim ES.** Emicizumab-kxwh: First Global Approval. *Drugs*. 2018;78(2):269-274. doi:10.1007/s40265-018-0861-2

## ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP CỦA BÀI THUỐC NGŨ VỊ TIÊU KHÁT THANG TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Sầm Huyền Sanh<sup>1</sup>, Lê Ngọc Diễm<sup>2</sup>, Nguyễn Ngọc Chi Lan<sup>2</sup>,  
Nguyễn Hoàng Ngân<sup>3</sup>, Lê Minh Hoàng<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Ngũ vị tiêu khát thang (NVTK) là một bài thuốc gia truyền của lương y Trần Văn Thoại – An Giang được đánh giá có tác dụng hạ đường huyết tốt, tuy nhiên vẫn chưa có các nghiên cứu trên thực nghiệm để đánh giá tính an toàn của bài thuốc này. **Mục tiêu nghiên cứu:** Đánh giá độc tính cấp của bài thuốc Ngũ vị tiêu khát thang trên động vật thực nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Xác định độc tính cấp của thuốc bằng phương pháp Litchfield – Wilcoxon trên chuột nhắt trắng dòng Swiss. Các dấu hiệu nhiễm độc tính cấp của chuột hoặc chuột chết được theo dõi trong 72 giờ sau khi uống cao chiết Ngũ vị tiêu khát thang. **Kết quả:** cho chuột uống các liều 125g/kg, 175g/kg, 225g/kg, 275g/kg, 325g/kg và liều tối đa là 375g/kg thể trọng (gấp 26,573 lần liều tương đương liều điều trị đã quy đổi từ liều trên người sang liều trên chuột nhắt trắng) không xác định được LD50 của thuốc. **Kết luận:** cao lỏng từ bài thuốc Ngũ vị tiêu khát thang không gây độc tính cấp cho chuột nhắt trắng.

**Từ khóa:** Độc tính cấp, Ngũ vị tiêu khát, Y học cổ truyền, chuột nhắt

### SUMMARY

#### ACUTE TOXICITY TESTING OF HERBAL REMEDY "NGU VI TIEU KHAT THANG" IN

<sup>1</sup>Bệnh viện Y Dược cổ truyền Kiên Giang

<sup>2</sup>Trường Đại học Y dược Cần Thơ

<sup>3</sup>Học viện Quân Y

Chịu trách nhiệm chính: Lê Minh Hoàng

Email: lmhoang@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 26.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 26.9.2022

Ngày duyệt bài: 7.10.2022

### ANIMAL MODEL

**Background:** Ngu Vi Tieu Khat (NVTK) is a traditional medicine formula from Dr Tran Van Thoai - An Giang province regarded as an effective remedy for hyperglycemia, however, there are no experimental studies to verify the safety of this remedy. **Objectives:** To independently investigate the acute toxicity of the remedy NVTK on experimental animals. **Materials and methods:** determine the acute toxicity of the remedy by the Litchfield - Wilcoxon method on Swiss white mice. Signs of acute intoxication or fatality were monitored for 72 h after the ingestion of NVTK liquid extract. **Results:** administration to the mice the doses of 125g/kg, 175g/kg, 225g/kg, 275g/kg, 325g/kg and the maximal dose of 375g/kg body weight (26,573 times the therapeutic dose calculated by the corresponding dose on a human subject) the LD50 of the remedy was not determined. **Conclusions:** The liquid extract from the remedy of NVTK has no acute toxicity to white mice.

**Keywords:** Acute toxicity, NVTK, Traditional medicine, mice

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đái tháo đường là bệnh rối loạn chuyển hóa không đồng nhất, tăng đường huyết trong thời gian dài gây tổn thương ở nhiều cơ quan khác nhau, đặc biệt ở tim và mạch máu, thận, mắt, thần kinh [1].

Tỷ lệ mắc bệnh đái tháo đường toàn cầu ở lứa tuổi 20–79 vào năm 2021 ước tính là 10,5% (536,6 triệu người), tăng lên 12,2% (783,2 triệu người) vào năm 2045. Tỷ lệ mắc bệnh đái tháo

đường ở nam và nữ là như nhau và cao nhất ở nhóm 75–79 tuổi [5].

Y học bản địa Việt Nam có nhiều bài thuốc vị thuốc gia truyền có tác dụng hạ đường huyết tốt. Tuy nhiên theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới, ngoại trừ các bài thuốc cổ phương được chiết xuất theo phương pháp truyền thống, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đều phải đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên động vật thực nghiệm trước khi đưa vào thử nghiệm trên người. Bài thuốc "Ngũ vị tiêu khát thang" là một bài thuốc gia truyền của gia đình lương y Trần Văn Thoại (An Giang) đã được áp dụng điều trị cho bệnh nhân đái tháo đường típ 2 mức độ nhẹ ở một số cơ sở y tế tại An Giang và các cơ sở y tế từ thiện thuộc Hội Đông y tỉnh Kiên Giang. Theo nhận xét bước đầu bài thuốc có tác dụng hạ đường huyết, ít tác dụng không mong muốn. Tuy nhiên, cho đến nay chưa được nghiên cứu một cách toàn diện, khoa học để khẳng định tính an toàn của bài thuốc. Vì vậy, nhóm nghiên cứu thực hiện đề tài "Đánh giá tính an toàn của bài thuốc Ngũ vị tiêu khát thang trên thực nghiệm" với mục tiêu nghiên cứu đầu tiên là đánh giá độc tính cấp của bài thuốc "Ngũ vị tiêu khát thang" trên thực nghiệm.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

**2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.** Là bài thuốc "Ngũ vị tiêu khát" bài thuốc kinh nghiệm gia truyền của gia đình Lương y Trần Văn Thoại, tại An Giang.

#### Công thức bài thuốc:

Vị thuốc	Bộ phận dùng	Liều dùng
Dây thìa canh	Cành và lá	10g
Huyền sâm	Rễ củ	15g
Tâm bộp	Toàn cây	20g
Cây mật gấu	Toàn cây bỏ rễ	10g
Núc nác	Vỏ thân	5g

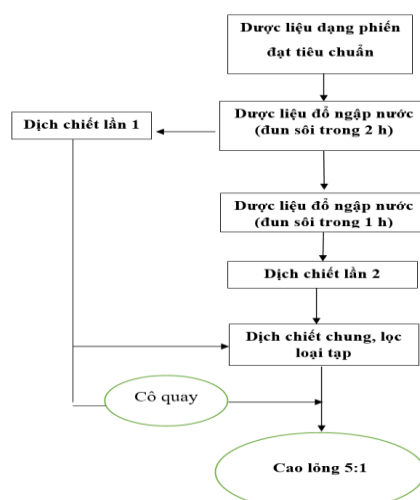
Tác dụng của bài thuốc theo YHCT: Thanh nhiệt, tả hỏa, tư âm, chỉ khát.

Theo đề xuất của Lương y Trần Văn Thoại, tổng số dược liệu thô dùng là 60g/người/ngày dạng thuốc sắc, hoặc cao lỏng.

Liều dùng trong nghiên cứu được tính theo gram dược liệu khô. Tổng bài thuốc 60g, dùng cho người mỗi ngày 1 thang. Với cân nặng cơ thể tham chiếu để tính liều ở người là 50 kg [1], liều dùng trên người là 1,2 mg/kg/ngày. Quy đổi ra liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhắt trắng (hệ số quy đổi 11,76) là  $1,2 \times 11,76 = 14,112$  g/kg/ngày. Liều dự kiến có tác dụng trên chuột

cổng trắng (hệ số quy đổi 6,47) là  $1,2 \times 6,47 = 7,764$  g/kg/ngày [1]. Thuốc nghiên cứu (cao lỏng ngũ vị tiêu khát, viết tắt là NVTK) được cho chuột uống qua kim cong đầu tù chuyên dụng, với độ dài đưa vào đến dạ dày chuột.

Các dược liệu thô trong bài thuốc sẽ được bào chế thành dịch chiết dạng cao lỏng theo quy trình như sau:



**Hình 1 Sơ đồ quy trình bào chế thành dạng cao lỏng 5:1**

### 2.1.2. Động vật dùng trong nghiên cứu

Chuột nhắt trắng dòng Swiss cả 2 giống, trọng lượng  $20 \pm 2$  g.

Động vật do Ban động vật - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi làm thí nghiệm, ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu (do ban chăn nuôi Học viện Quân y cung cấp), nước (đun sôi để nguội) uống tự do.



**Hình 2 Chuột nhắt trắng chủng Swiss**  
(nguồn: nhóm nghiên cứu)

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả hai giống, khoẻ mạnh, trọng lượng 18-22g, được nuôi trong phòng nuôi động vật thực nghiệm của Bộ môn

Dược lý – Học viện Quân y 7 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

Xác định độc tính cấp và LD<sub>50</sub> của thuốc thử trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon theo hướng dẫn của Bộ y tế và hướng dẫn của WHO [2], [6].

Chuột được nhịn ăn 12 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ. Từng lô chuột nhắt trắng, mỗi lô ít nhất 10 con, được uống mẫu thuốc nghiên cứu theo liều tăng dần. Theo dõi số chuột chết trong 72 giờ đầu và tình trạng chung của chuột trong 7 ngày sau khi uống thuốc về sự ăn uống, hoạt động thần kinh, đi lại, leo trèo, bài tiết,... Nếu chuột chết, mổ chuột để đánh giá đại thể các tổn thương của các cơ quan, nếu cần thiết có thể làm xét nghiệm vi thể một số phủ tạng. Tìm liều cao nhất không gây

chết chuột (0 %), liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100 %) và các liều trung gian. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD<sub>50</sub> của thuốc thử.

**Xử lý số liệu:** Các số liệu được phân tích xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học trên máy vi tính bằng phần mềm SPSS 20.0.

**Các thuật toán được sử dụng:**

- + Tính trung bình: (X), độ lệch chuẩn (SD)
- + Tính tỷ lệ phần trăm (%)
- + So sánh 2 số trung bình trong cùng lô nghiên cứu giữa các thời điểm với nhau bằng phương pháp so sánh từng cặp.
- + So sánh 2 số trung bình giữa 2 nhóm với nhau ở cùng thời điểm bằng thuật toán Student-T-test và tỷ lệ theo thuật toán  $\chi^2$ .

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**Độc tính cấp đường uống của mẫu nghiên cứu trên chuột nhắt trắng**

**Bảng 1. Độc tính cấp đường uống của mẫu nghiên cứu trên chuột nhắt trắng.**

Lô chuột	Số chuột	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Số chuột sống/chết sau 72 giờ cũng như sau 7 ngày	Biểu hiện bất thường
Lô 1	10	125,0	10/0	không
Lô 2	10	175,0	10/0	không
Lô 3	10	225,0	10/0	không
Lô 4	10	275,0	10/0	không
Lô 5	10	325,0	10/0	không
Lô 6	10	375,0	10/0	không

Chuột nhắt trắng được uống thuốc thử với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 125,0g/kg thể trọng đến liều cao nhất là 375,0g/kg thể trọng, 0,25mL/10g/lần x 3lần/ngày. Chuột đã uống đến liều 375,0g/kg thể trọng là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử nhưng không có chuột nào chết, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc lần cuối và trong suốt 7 ngày sau uống thuốc.

**IV. BÀN LUẬN**

Độc tính cấp tính đề cập đến các tác động bất lợi nghiêm trọng đối với sức khỏe (tức là gây tử vong) xảy ra sau khi tiếp xúc với miệng, da hoặc hít phải một chất hoặc hỗn hợp trong thời gian ngắn hoặc ngắn hạn với một chất hoặc hỗn hợp [7].

Thử độc tính cấp nhằm cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của thuốc, dự đoán triệu chứng và dự kiến biện pháp điều trị ngộ độc cấp, đồng thời làm căn cứ để thiết lập mức liều cho các nghiên cứu tiếp theo (nghiên cứu độc tính dài hạn, nghiên cứu tác dụng dược lý). Các chỉ số cần xác định trong phép thử độc tính cấp bao gồm: liều an toàn; liều dung nạp tối đa;

liều gây ra độc tính có thể quan sát được; liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có); liều LD50 (liều gây chết 50% số động vật thực nghiệm) gần đúng (nếu có thể xác định được); và những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục (nếu có) [2].

Loài động vật thường được sử dụng trong nghiên cứu độc tính cấp là loài gặm nhấm, có thể là chuột cống hoặc chuột nhắt [2]. Theo tiến sĩ Rick Woychilk, giám đốc Phòng thí nghiệm Jackson ở Bar Harbour, Maine, một trong những phòng thí nghiệm nghiên cứu về chuột hàng đầu thế giới, cho biết "chuột là sinh vật mẫu hoàn hảo" để dùng làm thí nghiệm. Các nhà nghiên cứu cho rằng chuột có kích thước nhỏ và khá vô hại. Đây cũng là loài dễ nuôi, không cần nhiều không gian sống, chịu được cuộc sống trong lồng đồng thời có tốc độ sinh sản nhanh nên dễ nhân giống hàng loạt với giá rẻ. Ngoài ra, tuổi thọ của chuột ngắn, thường chỉ vài năm tuổi. Do đó các nhà khoa học dễ dàng nghiên cứu tác dụng của thuốc/phương pháp chữa bệnh với những thể hệ khác nhau của loài chuột. Và điều quan trọng hơn cả là người và chuột có hệ gene giống nhau

đến hơn 90%, cùng là động vật có vú [4].

Theo định nghĩa của Hệ thống hòa hợp toàn cầu (Globally Harmonised System - GHS), độc tính cấp là những tác dụng không mong muốn xảy ra sau khi dùng một chất trong vòng 24 giờ. Động vật (thường dùng chuột) được dùng thuốc trong 24 giờ và được quan sát trong 1 tuần để xác định các triệu chứng độc (nếu có). Chuột nghiên cứu được lựa chọn bao gồm cả chuột đực và chuột cái, kết quả nghiên cứu vì thế bao hàm cho cả 2 giống. Đường đưa thuốc sử dụng là đường uống, theo đúng như đường dự kiến sử dụng trên người.

Kết quả nghiên cứu không xác định được LD<sub>50</sub> của dịch chiết bài thuốc theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Không có chuột nào chết trong 72 giờ sau uống thuốc cũng như trong suốt bảy ngày sau uống thuốc dù đã cho chuột uống đến liều 375,0g/Kg thể trọng là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của mẫu thử. Do không có chuột nào chết nên không xác định được LD<sub>50</sub> của NVTK trên chuột, và kết luận liều dung nạp tối đa trên chuột nhắt là 375,0 g/Kg thể trọng.

Quá trình nghiên cứu có một vài biểu hiện quan sát được trên chuột, tuy nhiên không phải biểu hiện nào cũng là độc tính của mẫu thử. Trong ngày đầu chuột đi phân mềm, ăn uống giảm. Đây là biểu hiện thông thường của các chuột sau khi uống cưỡng bức một lượng lớn thuốc nghiên cứu vào dạ dày. Nếu mẫu thử gây đi lỏng, với lượng thuốc lớn đưa vào dạ dày chuột thường chuột đi ngoài phân nát, lỏng nước, và biểu hiện kéo dài kèm theo các triệu chứng mất nước điện giải ở chuột, nặng có thể làm chuột chết. Nếu mẫu thử gây táo bón, với lượng lớn thuốc dễ gây tắc ruột, chướng bụng. Mẫu thử không gây ra biểu hiện gì đáng kể, phân mềm hơn, dạ dày được bơm căng thuốc nên ảnh hưởng đến hành vi ăn uống trong ngày đầu. Quan sát đánh giá ảnh hưởng lên đường tiêu hóa đối với chuột cho uống thuốc thử lượng nhiều vào dạ dày được đánh giá chính xác vào ngày thứ hai trở đi. Kết quả nghiên cứu cho thấy từ ngày thứ hai trở đi chất thải và ăn uống của chuột ở tất cả các lô trở lại bình thường, cho thấy dịch chiết bài thuốc không gây biểu hiện bất thường đối với chất thải và ăn uống của chuột.

Với liều dùng quy đổi sang chuột nhắt là 14,112g/Kg/ngày, liều 375g/Kg gấp 21,2585 lần và liều 180g/Kg gấp 25,5102 lần. Như vậy, các

chuột cho uống đến mức liều gấp 26,573 lần liều điều trị không có bất cứ biểu hiện bất thường nào hay không có biểu hiện của độc tính cấp. Kết quả này chứng tỏ mẫu thử (NVTK) có tính an toàn trong nghiên cứu đánh giá độc tính cấp trên đường uống ở chuột nhắt trắng.

Như vậy theo hướng dẫn của WHO và hướng dẫn nghiên cứu thuốc mới của Cục Khoa học công nghệ và đào tạo – Bộ y tế, sử dụng bài thuốc Ngũ vị tiêu khát thang với liều lâm sàng là an toàn.

Kết quả này cũng phù hợp trong ghi chép trong y văn cũng như trong thực hành lâm sàng các vị thuốc này vẫn thường xuyên được kê phối ngũ với nhau theo biện chứng luận trị để điều trị mà chưa có báo cáo có tác dụng phụ hoặc gây cho người bệnh [3].

## V. KẾT LUẬN

Chưa tìm thấy LD<sub>50</sub> của cao lỏng từ dịch chiết của bài thuốc Ngũ vị tiêu khát theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với mức liều 375g/kg thể trọng (gấp 26,573 lần liều tương đương liều điều trị đã quy đổi từ liều trên người sang liều trên chuột nhắt trắng), không gây chết chuột nào, không có biểu hiện nào của độc tính cấp.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y tế (2017)**, Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị đái tháo đường típ 2, Quyết định số 3319/QĐ-BYT ngày 19 tháng 7 năm 2017, Bộ Y tế, Hà Nội.
2. **Cục Khoa học công nghệ và đào tạo (2015)**, Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu, Ban hành kèm theo Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27 tháng 10 năm 2015 của Cục trưởng Cục Khoa học Công nghệ và Đào tạo, Bộ Y tế.
3. **Đỗ Tất Lợi (2004)**, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Vol. 12, Nhà xuất bản y học, Hà Nội.
4. **Clarke Tom (2002)**, Mice make medical history, London: Nature.
5. **Hong Sun, Pouya Saeedi, Suvi Karuranga, Moritz Pinkepank và các cộng sự. (2022)**, IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045, Diabetes Research and Clinical Practice. 183, p. 109-119.
6. **OECD/OCDE (2018)**, "OECD guideline for the testing of chemicals." The Hershberger 601, p. 858.
7. **UNECE** (United Nations Economic Commission for Europe) (2019), Globally Harmonized System for the Classification and Labeling of Chemicals (GHS) Part 3. Health Hazards. Geneva: United Nations, pp. 117.
8. **World Health Organization (2000)**, General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine, WHO/EDM/TRM/2000.1, Geneva.