

Animal hemostatic effect and safety of the *Caryota mitis* collar extract capsules

Dao Thi Vui*, Tran Hong Linh
Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi
*Corresponding author: Dao Thi Vui, email: vuidt@hup.edu.vn

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the hemostatic effect and safety of the formulation from *Caryota mitis* collar extract in animal. The pharmacological actions and the toxicological effect of the formulation were investigated using the subaqueous tail bleeding time in rats; blood-clotting time in rabbits; oral acute toxicity in mice and 28 days oral repeated doses in rats. On oral administration with the dose of 360 mg/kg and 540 mg/kg in rats, the formulation produced significant decrease in bleeding time with the reduction rate 42.7% and 39.4% respectively. The formulation did not show any significant changes in clotting time in rabbits with the dose of 180 mg/kg and 270 mg/kg. In the acute oral toxicity test, a maximal dose of 20 g/kg was not lethal to the mice and did not cause any manifestations of toxicity. Repeated doses (350 mg/kg and 1050 mg/kg/day) for 28 days in rats did not appear to affect the general condition parameters, body weight, hematopoietic function, kidney function. The raises of AST and ALT in higher dose (1050 mg/kg) female rats had recovered to normal levels after 14 days of discontinuing. The *Caryota mitis* collar extract capsules have hemostatic activity without significant change in blood coagulation. Acute and sub-chronic toxicological properties provide safety profile for the development of the hemostatic fomulation.

Keywords: Caryota mitis, hemostatic effect, bleeding time, clotting time, acute toxicity, sub-chronic toxicity



Nghiên cứu tác dụng cầm máu và độ an toàn của công thức bào chế viên nang cao bẹ Móc trên thực nghiệm

Đào Thị Vui*, Trần Hồng Linh

Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội

*Tác giả liên hệ chính: Đào Thị vui, email: vuidt@gmail.com

(Ngày gửi đăng: 10/06/2023 – Ngày duyệt đăng: 30/07/2023)

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu là đánh giá tác dụng cầm máu và độ an toàn của viên nang bẹ cây Móc trên chuột thí nghiệm. Kết quả thu được cho thấy: Viên nang bẹ móc ở cả 2 mức liều thử 360 mg/kg và 540 mg/kg chuột cống trắng (tính theo cao khô bẹ móc) có tác dụng làm giảm thời gian chảy máu trên mô hình gây chảy máu do cắt đuôi chuột, nhưng không ảnh hưởng đến thời gian đông máu ở liều 180 mg/kg và 270 mg/kg thử. Mẫu thử viên nang bẹ móc không thể hiện độc tính cấp trên chuột nhắt trắng ở liều 20 g/kg. Khi dùng liều lặp lại 28 ngày trên chuột cống trắng, chế phẩm viên nang bẹ móc với các mức liều thử 350 mg/kg và 1050 mg/kg/ngày không ảnh hưởng đến các thông số tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, chức năng thận. Về chức năng gan, có 2 thông số AST và ALT tăng nhẹ ở các lô chuột giống cái dùng liều 1050 mg/kg: ALT tăng 24% ($p = 0,045$) và AST tăng 27% ($p = 0,0498$) so với lô chứng cùng giống. Sau 14 ngày ngừng dùng mẫu thử, hai thông số này của chuột đều phục hồi về mức bình thường.

Từ khóa: Caryota mitis, bẹ cây Móc, tác dụng cầm máu, thời gian chảy máu, thời gian đông máu, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn

Đặt Vấn đề

Bẹ cây mọc lá một vị thuốc cầm máu được nhân dân ta sử dụng từ lâu và cho kết quả tốt. Để phát triển dược liệu này thành sản phẩm làm thuốc cầm máu sử dụng rộng rãi trên lâm sàng, chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu bẹ cây mọc *Caryota mitis* L. tạo chế phẩm cầm máu. Các kết quả nghiên cứu trước đã đã được thực hiện gồm đánh giá ảnh hưởng của môi chiết đến tác dụng cầm máu xác định được cao chiết cồn ethanol 80% bằng phương pháp chiết nóng có tác dụng cầm

máu tốt nhất là. Để tìm hiểu cơ chế tác dụng cầm máu của cao bẹ mọc, nghiên cứu đã thực hiện trên các mô hình gây rối loạn quá trình cầm máu: trên mô hình gây rối loạn đông máu bằng heparin, kháng vitamin K; ức chế kết tập tiểu cầu bằng aspirin và co mạch tai thỏ [8]. Kết quả thu được bước đầu cho thấy cao bẹ mọc ít ảnh hưởng tới thời gian đông máu, kết tập tiểu cầu mà chủ yếu do co mạch. Để có thể ứng dụng trong điều trị cho đông đảo người bệnh chúng tôi đã nghiên cứu bào chế cao khô bẹ mọc từ dịch chiết cồn ethanol



80% (chiết thêm 1 lần bằng cồn ethanol 60 % để thu được tối đa hoạt chất) bằng phương pháp chiết nóng. Dùng cao khô này để tạo dạng bào chế là viên nang thuận tiện cho việc sử dụng trên lâm sàng và dễ dàng bảo quản. Tuy nhiên để dạng bào chế viên nang có thể được đưa vào các bước nghiên cứu tiếp theo cần đánh giá tác dụng cầm máu và độ an toàn của chế phẩm. Trong nghiên cứu này chúng tôi công bố kết quả nghiên cứu tác dụng cầm máu và độ an toàn của công thức bào chế viên nang từ cao khô bẹ móc trên động vật thực nghiệm.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu:

Điều chế cao khô bẹ móc: Từ bột dược liệu bẹ móc, chiết nóng 2 lần bằng ethanol 80% và chiết lần 3 với bằng ethanol 60%. Gộp dịch chiết, cô dưới áp suất giảm, cô cao và sấy cao không áp suất đến cao khô có hàm ẩm đạt tiêu chuẩn ĐDVN V.

Bào chế viên nang cứng bẹ móc: Viên nang cứng bẹ móc được sản xuất tại công ty cổ phần công nghệ cao Traphaco, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Công thức bào chế, thành phần cho 1 viên nang cứng:

Thành phần	Cho 1 viên (mg)
Cao khô bẹ Móc	500
Microcrystalline cellulose (101)	80
Colloidal silicon dioxide	20
Bột Talc	30
Magnesi stearat	20
Ethanol 96%	10

Chuẩn bị mẫu nghiên cứu: bột viên nang cứng bẹ móc được nghiền mịn, phân tán đều trong nước cất tạo thành các hỗn dịch có hàm lượng thích hợp để cho động vật uống.

Liều dùng trong nghiên cứu tác dụng được tính theo cao khô dược liệu và dựa vào các kết quả đã nghiên cứu trước [8].

Động vật thí nghiệm

Thỏ trắng chủng *New Zealand*, khỏe mạnh,

cân nặng từ 2,0 – 2,5 kg do công ty Dê thỏ Ba vì cung cấp

Chuột nhắt trắng trưởng thành, giống cái, khối lượng 18 – 22g, do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp

Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả 2 giống, trưởng thành, khỏe mạnh, khối lượng 180 ± 50 g do Học viện quân y cung cấp.

Động vật thí nghiệm được nuôi 5 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu tại phòng thí nghiệm bộ môn Dược lý Đại học Dược Hà Nội. Động vật thí nghiệm được nuôi bằng thức ăn chuẩn do Viện vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp, uống nước tự do.

Hóa chất, thuốc thử: carbazochrom (Adrenoxy) 4mg (S.P.M - Việt Nam), Bộ hóa chất phân tích huyết học (Sysmex); Bộ hóa chất xét nghiệm các thông số sinh hóa máu (Biosystem).

Thiết bị nghiên cứu: Cân phân tích 10-4 A&D, GR200 (Nhật Bản); Cân kỹ thuật 10-2A&D, EK410i (Hàn Quốc). Máy sinh hóa TC 84 plus (Teco Diagnostics). Máy xét nghiệm huyết học URIT 3000 vet plus (Trung Quốc). Máy ly tâm HERMLE Z300. Các dụng cụ sử dụng lấy mẫu và xét nghiệm khác.

Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá tác dụng của viên nang bẹ móc trên thời gian chảy máu.

Nguyên tắc: Khi mạch máu bị tổn thương, sẽ có sự hình thành nút cầm máu do một số cơ chế: co mạch, tạo nút tiểu cầu, đông máu. Các thuốc có tác dụng cầm máu dù tác dụng theo cơ chế nào cũng sẽ rút ngắn thời gian chảy máu. Do đó có thể đánh giá tác dụng cầm máu của thuốc nghiên cứu thông qua xác định thời gian chảy máu [2], [3], [7].

Thiết kế nghiên cứu: Chuột cống trắng giống đực được chia ngẫu nhiên thành các lô thí nghiệm như sau:

- Lô chứng trắng: uống nước cất với liều 10 ml/kg/ngày
- Lô chứng (carbazocrom): uống carbazochrom liều 12 mg/kg/ngày.
- Lô VNBM 1: uống chế phẩm viên nang bẹ móc với liều 360 mg/ kg



- Lô VNBM 2: uống chế phẩm viên nang bẹ móc với liều 540 mg/ kg

Cho chuột uống nước hoặc mẩu nghiên cứu trong 8 ngày liên tục. Ngày thứ 8, sau khi uống thuốc 2 giờ, gây mê chuột bằng thiopental liều 35mg/kg chuột, cắt đuôi chuột (vị trí 2mm tính từ chóp đuôi), nhúng đuôi chuột ngay vào nước muối sinh lý có nhiệt độ 37 (±1) °C. Xác định thời gian chảy máu và tính độ giảm thời gian chảy máu của các lô thử so với lô chứng theo công thức (1)

Đánh giá tác dụng của viên nang bẹ móc trên thời gian đông máu.

Nguyên tắc: Quá trình đông máu sẽ được hoạt hóa khi máu ra khỏi lòng mạch và tiếp xúc với một bề mặt lạ (bề mặt lam kính). Khoảng thời gian từ lúc nhỏ giọt máu xuống lam kính đến khi giọt máu đông lại hoàn toàn gọi là thời gian đông máu.

Thiết kế nghiên cứu: Thử thí nghiệm được chia ngẫu nhiên thành các lô thí nghiệm như sau:

- Lô chứng trắng: uống nước cất với liều 10 ml/kg/ngày

- Lô VNBM 1: uống mẩu viên nang cứng bẹ móc với liều 180 mg /kg thử.

- Lô VNBM 2: uống mẩu viên nang cứng bẹ móc với liều 270 mg /kg thử

Cho thử uống nước muối sinh lý hoặc chế phẩm nghiên cứu trong 5 ngày liên tục. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc 1 giờ. Xác định thời gian đông máu và tính độ giảm thời gian đông máu của các lô thử so với lô chứng theo công thức (1)

$$A \% = \frac{T_0 - T_t}{T_0} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó:

A%: độ giảm thời gian chảy máu/đông máu của lô thử so với lô chứng trắng

T₀: thời gian chảy máu / đông máu trung bình của lô chứng trắng/chứng bệnh

T_t: thời gian chảy máu/đông máu trung bình của các lô thử

Xác định độc tính cấp của viên nang bẹ móc

Phương pháp thử độc tính cấp theo hướng dẫn của Bộ Y tế và OECD (No. 420) [1], [4].

Thiết kế thí nghiệm

Chuột nhắt trắng, giống cái, được nhịn ăn 4 giờ trước khi thí nghiệm. Cho động vật uống chế phẩm thử 3 lần trong vòng 24 giờ, mỗi lần cách nhau 2 giờ. Sau khi uống chế phẩm thử 2 giờ, chuột được cho ăn trở lại, uống nước bình thường.

Thử nghiệm thăm dò: tiến hành trên một số nhóm, 2 động vật thí nghiệm/ nhóm, cho uống một số mức liều nhằm xác định khoảng liều cho thử nghiệm chính thức.

Thử nghiệm chính thức: Sau khi thử nghiệm thăm dò, động vật thí nghiệm được chia thành từng lô, mỗi lô 10 động vật. Mỗi lô được cho uống một mức liều tăng dần đến liều tối đa chuột có thể dung nạp được bằng đường uống. Theo dõi động vật liên tục trong vòng 4 giờ, theo dõi thường xuyên trong vòng 72 giờ và tiếp tục trong vòng 14 ngày sau khi dùng mẩu thử.

Thông số đánh giá

Tình trạng chung của chuột: hoạt động tự nhiên, tư thế, màu sắc (mũi, tai, đuôi), lông, tiết dịch, phản xạ với kích thích, phân, nước tiểu...

Sự tiêu thụ thức ăn, nước uống.

Số động vật chết: xác định tỉ lệ động vật chết ở các lô trong vòng 72 giờ để tính toán LD₅₀.

Xác định độc tính bán trường diễn của viên nang bẹ móc

Thử nghiệm độc tính bán trường diễn với liều nhắc lại 28 ngày trên chuột cống trắng cả hai giống đực và cái theo hướng dẫn thử độc tính liều lặp lại 28 ngày của OECD TG-407[1], [6].

Thiết kế thí nghiệm: Chuột cống trắng mỗi giống (đực hoặc cái) được chia ngẫu nhiên thành 3 lô: 1 lô chứng và 2 lô thử tương ứng với 2 mức liều (liều tương đương và liều gấp 3 lần liều có tác dụng cầm máu):



Lô chứng: uống nước với thể tích 1 ml/100 g chuột.

Lô VNBM 350 mg/kg : uống viên nang bẹ móc với liều 350 mg/ kg

Lô VNBM 1050mg/kg: uống viên nang bẹ móc với liều 1050 mg/kg

Chuột thí nghiệm được cho uống chế phẩm thử hoặc nước bằng kim đầu tù hàng ngày vào 9 giờ sáng với thể tích 1 ml/100g chuột, liên tục trong 28 ngày. Trong suốt quá trình thử nghiệm, theo dõi tình trạng chung của chuột, hàng tuần cân để theo dõi khối lượng cơ thể đồng thời điều chỉnh lượng thuốc uống. Tại thời điểm kết thúc (sau 28 ngày uống thuốc), lấy máu từ tĩnh mạch đùi của từng chuột để làm các xét nghiệm huyết học, hóa sinh. Mổ toàn bộ chuột để quan sát đại thể các cơ quan, lấy ngẫu nhiên 3 chuột trong mỗi lô để làm tiêu bản vi thể gan và thận.

Kết quả

Đánh giá tác dụng cầm máu của viên nang bẹ móc

Kết quả đánh giá tác dụng cầm máu của viên nang bẹ móc trên mô hình gây chảy máu đuôi chuột được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc đến thời gian chảy máu

Lô chuột	Liều dùng mg/kg	n	Thời gian chảy máu (giây)	Tỉ lệ giảm so với chứng (%)
Chứng trắng		8	642,6 ± 61,1	-
Carbazochrom	12	8	393,6 ± 61,8 *	38,7
VNBM I	360	8	368,4 ± 64,5*	42,7
VNBM 2	540	8	389,3 ± 36,5*	39,4

(Số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm SE$; * $p < 0,01$ khi so sánh với chứng)

Kết quả cho thấy, carbazochrom liều 12 mg/kg làm giảm thời gian chảy máu 38,7% so với lô chứng ($p = 0,005$).

Chế phẩm viên nang bẹ móc mức liều thử

360 mg/kg có tác dụng làm giảm thời gian chảy máu đuôi chuột có ý nghĩa so với lô chứng, tỷ lệ giảm thời gian chảy máu so với lô chứng là 42,7 % ($p = 0,002$).

Chế phẩm viên nang bẹ móc mức liều thử 540 mg/kg có tác dụng làm giảm thời gian chảy máu đuôi chuột có ý nghĩa so với lô chứng, tỷ lệ giảm thời gian chảy máu so với lô chứng là 39,4 % ($p = 0,004$).

Đánh giá tác dụng của viên nang bẹ móc trên thời gian đông máu

Kết quả tác dụng trên thời gian đông máu của viên nang bẹ móc được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc đến thời gian đông máu

Lô thử	Liều dùng (mg/kg)	n	Thời gian đông máu (giây)
Chứng trắng		6	669,6 ± 39,5
VNBM 1	180	6	696,6 ± 42,5
VNBM 2	270	6	643,7 ± 41,1

Chế phẩm viên nang bẹ móc với cả 2 mức liều thử 180 mg/kg và 270 mg/ kg tỏ không gây ảnh hưởng đến thời gian đông máu của thử. Sự khác biệt về thời gian đông máu giữa các lô thí nghiệm không có ý nghĩa thống kê.

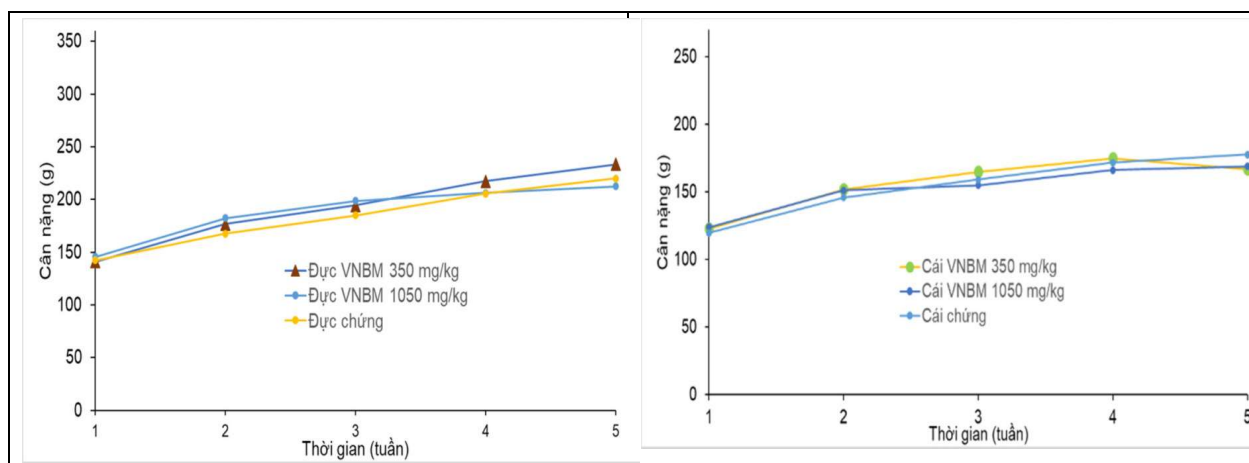
Xác định độc tính cấp

Đã xác định được liều 20g bột viên/kg chuột nhất là liều cao nhất chuột dung nạp được theo đường uống. Sau khi uống thuốc 4 giờ: Đa số các chuột đều không có biểu hiện bất thường, ăn uống, vận động bình thường, phản xạ tốt với kích thích, lông mượt, niêm mạc hồng hào, mắt sáng, phân khô, nước tiểu bình thường. Trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc, không xuất hiện chuột chết và 100 % số chuột thử nghiệm đều còn sống sau 14 ngày thử nghiệm. Vì không có chuột chết ở các lô thử nghiệm nên chưa xác định được LD_{50} .

Xác định độc bán trường diễn

Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc đến tình trạng chung của chuột cống trắng

Trong suốt quá trình nghiên cứu, chuột ở



Hình 1. Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc đến khối lượng cơ thể chuột
 Bảng 3. Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc liều lặp lại 28 ngày đến các
 thông số huyết học trên chuột cống trắng

Giống	Liều dùng	n	WBC (10 ⁹ /L)	LYM (%)	RBC (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	PLT (10 ⁹ /L)
Đực	Chứng	8	10,26 ±0,56	7,17 ± 0,58	7,32 ± 0,14	15,85 ± 0,72	31,83 ± 3,76	45,29 ± 0,67	209,86 ± 16,4
	1050 mg/ kg	8	11,03 ± 1,24	8,34 ± 0,47	7,23 ± 0,24	16,00 ± 0,60	32,38 ± 1,40	44,84 ± 0,61	209,00 ± 6,73
	350 mg/ kg	9	11,69 ± 0,81	7,78 ± 0,5	7,78 ± 0,50	17,36 ± 0,46	35,16 ± 2,53	45,14 ± 0,52	221,40 ± 11,20
Cái	Chứng	11	10,26 ± 1,42	7,57 ± 0,7	7,26 ± 0,30	16,23 ± 0,65	33,33 ± 1,38	45,97 ± 0,46	206,73 ± 10,56
	1050 mg/ kg	9	10,6 ± 0,78	6,77 ± 0,61	7,36 ± 0,16	16,42 ± 0,4	33,36 ± 0,87	45,42 ± 0,37	213,67 ± 13,66
	350 mg/ kg	10	10,50 ± 0,80	5,96 ± 0,49	7,39 ± 0,22	15,45 ± 1,17	32,81 ± 0,75	44,57 ± 0,46	211,10 ± 9,12

(Số liệu biểu diễn dưới dạng M ± SE)

các lô đều ăn uống, hoạt động bình thường, phản xạ nhanh, mắt sáng, không tiết chất nhày mũi, miệng, lông mượt, phân khô, nước tiểu không có biểu hiện bất thường.

Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc đến tăng trưởng khối lượng cơ thể của chuột cống trắng

Chuột cống trắng được cân hàng tuần trong suốt quá trình thực nghiệm. Kết quả được thể hiện ở hình 1.

Kết quả cho thấy, trong 28 ngày nghiên cứu, cân nặng chuột cống của 2 giống đều tăng, không có sự khác biệt giữa các lô thử với lô chứng tại tất cả các thời điểm nghiên cứu.

Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc đến các thông số huyết học của chuột cống trắng

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của viên nang bẹ móc trên chức năng tạo máu của chuột cống trắng được trình bày ở bảng 3.



Bảng 4. Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc liều lặp lại 28 ngày đến các thông số sinh hóa trên chuột cống trắng

Giống	Liều dùng	n	AST (U/L)	ALT (U/L)	Creatinin (μmol/L)	Protein (g/L)	Cholesterol (mmol/L)	Glucose (mmol/L)
Đực	Chứng	8	207,72 ± 17,99	73,44 ± 4,50	52,29±1,25	134,20 ± 2,18	1,64 ± 0,07	4,48 ± 0,47
	1050 mg/kg	8	240,24 ± 14,17	82,98 ± 3,35	49,28±3,27	133,25 ± 2,78	1,64 ± 0,04	4,18 ± 0,29
	350 mg/kg	9	244,57 ± 22,83	83,62 ± 3,82	51,47±1,38	141,33 ± 2,77	1,86 ± 0,09	3,53 ± 0,22
Cái	Chứng	11	223,7 ± 14,19	64,19 ± 3,19	56,54±1,24	137,63 ± 2,92	1,47±0,07	3,46 ± 0,19
	1050 mg/kg	9	278,49 ± 22,15*	81,79 ± 7,32*	58,04±0,64	145,40 ± 3,09	1,63 ± 0,08	3,11 ± 0,15
	350 mg/kg	10	253,75 ± 11,37	70,16 ± 11,74	59,9 ± 1,6	139,63 ± 3,52	1,44 ± 0,07	2,97 ± 0,39

(Số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm SE$; * $p < 0,05$ khi so với lô chứng)

Bảng 5. Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc dùng liều lặp lại 28 ngày đến tỷ lệ khối lượng các cơ quan so với khối lượng cơ thể

Giống	Liều dùng	n	Tỷ lệ khối lượng cơ quan so với khối lượng cơ thể (%)					
			Tim	Gan	Thận	Phổi	Lách	Thượng thận
Đực	Chứng	8	0,37 ± 0,019	4,2 ± 0,11	0,61 ± 0,03	0,99 ± 0,17	0,42 ± 0,01	0,021 ± 0,002
	1050mg/kg	8	0,33 ± 0,01	4,2 ± 0,15	0,59 ± 0,013	0,77 ± 0,05	0,50 ± 0,03	0,023 ± 0,002
	350 mg/kg	9	0,33 ± 0,01	4,07 ± 0,07	0,57 ± 0,01	0,78 ± 0,007	0,47 ± 0,037	0,022 ± 0,001
Cái	Chứng	11	0,36 ± 0,01	4,6 ± 0,13	0,62 ± 0,01	0,89 ± 0,05	0,45 ± 0,02	0,039 ± 0,002
	1050mg/kg	10	0,35 ± 0,01	4,2 ± 0,12	0,58 ± 0,01	0,91 ± 0,04	0,46 ± 0,02	0,040±0,002
	350 mg/kg	9	0,37 ± 0,02	4,3 ± 0,24	0,67 ± 0,04	1,03 ± 0,26	0,51 ± 0,03	0,040 ± 0,006

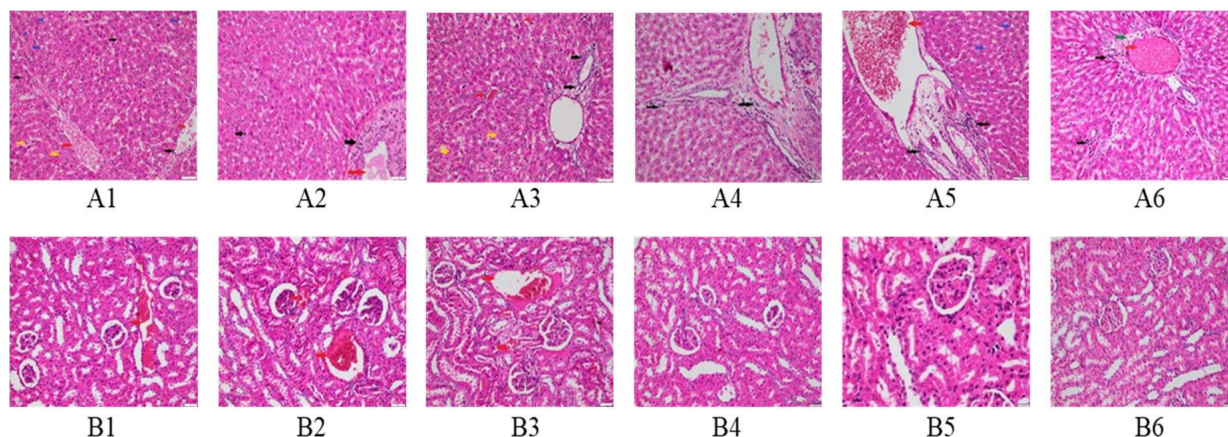
(Số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm SE$)

Sau 28 ngày nghiên cứu, thông số huyết học giữa các lô thử không có sự khác biệt đáng kể so với lô chứng ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc đến các thông số sinh hóa của chuột cống trắng

Kết quả ảnh hưởng của viên nang bẹ móc lên các thông số sinh hóa của chuột đực trình bày ở bảng 4.

Tại thời điểm sau uống thuốc 28 ngày, nhìn chung các thông số sinh hoá máu không có



Hình 2. Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc dùng liều lặp lại 28 ngày đến mô bệnh học gan (A), thận (B) chuột

sự khác biệt giữa các lô thử so với lô chứng ($p > 0,05$). Ở lô chuột giống cái, dùng viên nang bẹ móc liều 1050 mg/kg có sự tăng ALT (24%) so với lô chứng cùng giống ($p = 0,045$), tăng AST (27%) so với lô chứng cùng giống ($p = 0,0498$). Tuy nhiên sau khi nuôi theo dõi các chuột còn lại 14 ngày các thông số này đã trở về bình thường.

Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc đến đại thể các cơ quan của chuột cống trắng

Ảnh hưởng của viên nang bẹ móc lên tỷ lệ khối lượng các cơ quan so với khối lượng cơ thể được trình bày ở bảng 5.

Tại thời điểm sau khi dùng liều lặp lại 28 ngày, tỷ lệ khối lượng các cơ quan tim, gan, thận, phổi, lách, thượng thận/khối lượng cơ thể của các động vật ở các lô dùng chế phẩm thử và lô chứng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Thay đổi về mô bệnh học trên chuột cống trắng

Hình ảnh và đặc điểm vi thể gan, thận đại diện cho các lô chuột thực nghiệm được trình bày trong Hình 2

1. Lô chứng giống đực; 2. Lô VNBM 1050 mg/kg giống đực; 3. Lô VNBM 350 mg/kg giống đực

4. Lô chứng giống cái; 5. Lô VNBM 1050 mg/kg giống cái; 6. Lô VNBM 350 mg/kg giống cái

Trên hình ảnh tiêu bản và mô tả đặc điểm vi thể gan và thận chuột cống, không nhận thấy có sự khác biệt rõ rệt giữa các lô dùng chế phẩm thử với lô chứng cùng giống

Bàn luận

Về tác dụng cầm máu: Viên nang bẹ móc với 2 mức liều 360 và 540mg/kg chuột cống trắng đều thể hiện tác dụng cầm máu trên mô hình chảy máu đuôi chuột. Kết quả này cũng tương đồng với những kết quả đã được công bố trong các nghiên cứu trước về tác dụng cầm máu của cao chiết bẹ móc [8]. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh được việc bào chế dạng viên nang theo công thức của nhóm nghiên cứu hoàn toàn vẫn giữ được tác dụng cầm máu. Viên nang bẹ móc ở 2 mức liều nghiên cứu không làm ảnh hưởng đến thời gian đông máu, điều này gợi ý việc sử dụng viên nang bẹ móc để làm thuốc cầm máu sẽ ít gây nguy cơ huyết khối đông máu trong lòng mạch. Tác dụng này được coi là lợi thế quan trọng của thuốc cầm máu khi dùng trong thời gian dài.

Về độ an toàn: Để có thể tiến tới các bước thử nghiệm tiếp theo trên người, đề tài đã thực hiện đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn. Kết quả thu được cho thấy với liều 20g bột viên/kg chuột nhất là liều cao nhất chuột dung nạp được theo đường



uống (gấp 28,6 lần liều có tác dụng cầm máu), không gây độc tính cấp trên động vật thực nghiệm. Độc tính liều lặp lại 28 ngày, kết quả cũng cho thấy viên nang bẹ móc ở 2 mức liều nghiên cứu, không ảnh hưởng đến các thông số tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, chức năng thận của chuột. Về chức năng gan, có 2 thông số AST và ALT tăng nhẹ ở các lô chuột giống cái dùng liều 1050 mg/kg. Sau 14 ngày ngừng dùng mẫu thử, hai thông số này của chuột đều phục hồi về mức bình thường. Như vậy, viên nang bẹ móc tương đối an toàn.

Kết luận

Về tác dụng cầm máu: viên nang bẹ móc ở cả 2 mức liều thử 360 mg/kg và 540 mg/kg chuột cống trắng (tính theo cao khô bẹ móc) đều có tác dụng làm giảm thời gian chảy

máu trên mô hình gây chảy máu do cắt đuôi chuột, nhưng không gây ảnh hưởng đến thời gian đông máu ở liều 180 mg/kg và 270 mg/ kg thỏ.

Về độ an toàn: Mẫu thử viên nang bẹ móc không thể hiện độc tính cấp trên chuột nhắt trắng ở liều 20 g/kg. Khi dùng liều lặp lại 28 ngày trên chuột cống trắng, chế phẩm viên nang bẹ móc với các mức liều thử 350 mg/ kg và 1050 mg/ kg/ngày không ảnh hưởng đến các thông số tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, chức năng thận. Về chức năng gan, có 2 thông số AST và ALT tăng nhẹ ở các lô chuột giống cái dùng liều 1050 mg/ kg: ALT tăng 24% ($p = 0,045$) và AST tăng 27% ($p = 0,0498$) so với lô chứng cùng giống. Sau 14 ngày ngừng dùng mẫu thử, hai thông số này của chuột đều phục hồi về mức bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, Cục Khoa học và Đào tạo (2015), Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu
2. Aiyalu R., Muthusamy K., Ganesan A., (2010), "Haemostatic effect of fresh juice and methanolic extract of Eupatorium ayapana leaves in rat model", *Int. J. Biol. Med. Res.*; 1(3): 85-87.
3. Lucy B. John-Africa, Mercy Aboh (2015), "Evaluation of the haemostatic activities of *Sida corymbosa* in Rats", *British Journal Pharmaceutical Research*; 5(6): 431-436.
4. OECD (2002), Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure, *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*, Section 4, OECD Publishing, Paris.
5. OECD (2011), Test No. 407: Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents, *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*, OECD Publishing, Paris.
6. Shayne C. G. (2002), *Drug safety evaluation*, John Wiley & Sons, New York./10.1787/9789264070943-en
7. Volgel H.G (2008), *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays* 3rd ed, Springer, pp 438-439.
8. Đào Thị Vui*, Nguyễn Thuỳ Dương, Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Thủy, Đoàn Lê Bảo Ngọc, Trần Hồng Linh (2021), Nghiên cứu tác dụng cầm máu của cao bẹ móc (*Caryota mitis* Lour., *Arecaceae*) trên mô hình gây rối loạn quá trình đông máu và rối loạn tiểu cầu. Tạp chí Y dược học số 20 tháng 5/2021, trang 37-41