

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ TÁC DỤNG HẠ LIPID MÁU CỦA CAO KHÔ LOWLP-PT TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG

Hà Thanh Hoà¹, Phạm Quốc Tuấn¹, Trần Thị Vân Anh¹
Hà Quang Lợi¹, Ngô Thị Xuân Thịnh¹, Hà Hương Lan¹, Đào Việt Hưng¹
Nguyễn Thị Minh Diệp¹, Dương Quốc Toàn¹, Nguyễn Văn Thịnh^{2*}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng hạ lipid máu của cao khô LOWLP-PT trên chuột nhắt trắng.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu thực nghiệm trên chuột nhắt trắng về độc tính cấp của cao khô LOWLP-PT theo hướng dẫn OECD (2002, 2022) và Đồ Trung Đàm, với các mức liều tăng dần từ 500 đến 5.000 mg/kg; về tác dụng hạ lipid máu trên mô hình chuột gây tăng lipid máu nội sinh bằng Poloxamer-407, với các mức liều 500 mg/kg và 1.000 mg/kg.

Kết quả: Về độc tính cấp: cao khô LOWLP-PT an toàn ở liều tối đa 5.000 mg/kg, không phát hiện độc tính hay tử vong ở động vật thử nghiệm; chưa xác định được LD₅₀. Về tác dụng hạ lipid máu: so với nhóm chứng bệnh, cao khô LOWLP-PT có tác dụng giảm cholesterol toàn phần (giảm 22,8% ở liều 500 mg/kg và 30,8% ở liều 1.000 mg/kg), giảm LDL-C (giảm 26,0% ở liều 500 mg/kg và 27,5% ở liều 1.000 mg/kg), khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; triglycerid giảm nhẹ, nhưng không vượt trội nhóm chứng dương; HDL-C thay đổi không đáng kể giữa các lô chuột thực nghiệm ($p > 0,05$).

Kết luận: Cao khô LOWLP-PT có tác dụng làm giảm nồng độ cholesterol toàn phần và LDL-C ở chuột nhắt trắng, mức giảm rõ rệt khi tăng liều sử dụng.

Từ khóa: Độc tính cấp, hạ lipid máu, chuột nhắt trắng, cao khô LOWLP-PT.

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the acute toxicity and hypolipidemic effects of the LOWLP-PT dry extract in white mice.

Subjects and methods: An experimental study was conducted on white mice to assess the acute toxicity of the LOWLP-PT dry extract according to OECD guidelines (2002, 2022) and the protocol by Do Trung Dam, using gradually increasing oral doses ranging from 500 to 5,000 mg/kg. The hypolipidemic effect was evaluated using a model of endogenous hyperlipidemia in mice induced by Poloxamer-407, at doses of 500 mg/kg and 1,000 mg/kg.

Results: To regarding acute toxicity: the LOWLP-PT dry extract was safe at the maximum tested dose of 5,000 mg/kg and no signs of toxicity or mortality were observed in the test animals; the LD₅₀ could not be determined. Regarding the hypolipidemic effect: compared to the disease control group, the LOWLP-PT dry extract significantly reduced total cholesterol (by 22.8% at 500 mg/kg and 30.8% at 1,000 mg/kg) and LDL-C levels (by 26.0% at 500 mg/kg and 27.5% at 1,000 mg/kg), with statistically significant differences ($p < 0.05$). Triglyceride levels showed a slight decrease, but the effect was not superior to that of the positive control group. HDL-C levels showed no significant differences among the experimental groups ($p > 0.05$).

Conclusion: The LOWLP-PT dry extract significantly reduces the total cholesterol and LDL-C levels in Swiss albino mice, with a marked reduction observed as the dosage increases.

Keywords: Acute toxicity, hypolipidemic effect, Swiss albino mice, LOWLP-PT dry extract.

Chịu trách nhiệm nội dung: Nguyễn Văn Thịnh, Email: thinhnv@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 13/01/2025; mời phản biện khoa học: 3/2025; chấp nhận đăng: 21/5/2025.

¹Trường Cao đẳng Y Dược Phú Thọ.

²Học viện Quân y.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn lipid máu (RLLPM) là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây bệnh lí tim

mạch (như nhồi máu cơ tim, đột quy não), làm tăng tỉ lệ tử vong do bệnh tật trên toàn cầu [3], [5].

RLLPM biểu hiện qua sự gia tăng các thành

phần lipid (như cholesterol toàn phần, triglycerid, lipoprotein tỉ trọng thấp: LDL-C), giảm lipoprotein tỉ trọng cao: HDL-C (một yếu tố bảo vệ chống lại xơ vữa động mạch). Trong y học cổ truyền, RLLPM được quy chiếu với các chứng đàm thấp, đầu thống, huyền vựng. Nguyên nhân chính thường do đàm ứ đọng ở kinh lạc hoặc phủ tạng.

Hiện nay, có nhiều nhóm thuốc hóa dược (như statin, fibrat, resin, acid nicotinic) được sử dụng điều trị RLLPM, song, có thể gây nhiều tác dụng không mong muốn [4], [8]. Vì vậy, nhu cầu tìm kiếm các liệu pháp thay thế từ dược liệu trở nên cần thiết. Thực tế, nhiều dược liệu đã được chứng minh có tác dụng hạ lipid máu, như lá Sen, Giảo cổ lam, Sơn tra, Phan tả diệp, Đan sâm [1], [6], [7], [10]. Một số sản phẩm từ dược liệu cũng đã được nghiên cứu, phát triển để hỗ trợ điều trị, đóng góp đáng kể vào xu hướng sử dụng thuốc từ thiên nhiên trong kiểm soát chứng bệnh này.

Cao khô LOWLP-LP là một sản phẩm hỗ trợ điều trị RLLPM, có công thức bào chế dựa trên nền tảng bài thuốc Hà đơn phiến (Hedan Tablets) trong Dược điển Trung Quốc (ChP) 2020, có gia giảm thành phần để phù hợp với nguồn cung cấp dược liệu tại Việt Nam. Với thành phần chính là lá Sen, cao khô LOWLP-LP gồm các dược liệu: lá Sen, Giảo cổ lam, Táo mèo, Đan sâm, Bồ cốt chỉ. Trong đó, lá Sen (thành phần chính của cao khô) chứa nhiều hoạt chất sinh học, như flavonoid, alkaloid (đặc biệt là nuciferin), tinh dầu và phytosterol, có tác dụng giảm lipid máu và chống xơ vữa động mạch.

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm đánh giá độc tính cấp và tác dụng hạ lipid máu của cao khô LOWLP-LP trên mô hình chuột nhắt trắng; mở ra triển vọng ứng dụng trong điều trị và quản lý RLLPM bằng các chế phẩm có nguồn gốc từ thảo dược.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu, thiết bị nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: chuột nhắt trắng chủng Swiss khỏe mạnh, nặng 20 ± 2 g. Nghiên cứu độc tính cấp thực hiện trên chuột giống cái (OECD 423 [11]). Nghiên cứu hạ lipid máu thực hiện trên cả 2 giống chuột. Chuột được nuôi 5-7 ngày trước khi thực hiện nghiên cứu. Trong suốt thời gian nghiên cứu, chuột được ăn thức ăn chuẩn, uống nước tự do tại phòng thí nghiệm.

- Vật liệu nghiên cứu: cao khô LOWLP-PT do Trung tâm Nghiên cứu và chuyển giao công nghệ dược, Trường Cao đẳng Y Dược Phú Thọ điều chế, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần gồm: lá Sen (*Folium Nelumbinis*), Giảo cổ lam (*Herba Gynostemmae*), Đan sâm (*Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae*), Táo mèo (*Fructus*

Docyniae), Bồ cốt chỉ chế muối (*Fructus Psoraleae corylifoliae Prereparata*) và các tá dược. Điều chế cao khô LOWLP-PT theo phương pháp sấy chân không từ các tá dược tạo cao khô và các cao đặc sau:

+ Cao đặc lá Sen và Bồ cốt chỉ chế muối: chiết các dược liệu bằng nước ở 100°C .

+ Cao đặc Táo mèo: chiết hồi lưu dược liệu bằng ethanol 96%.

+ Cao đặc Giảo cổ lam và Đan sâm: chiết hồi lưu các dược liệu bằng ethanol 80%.

+ Các tá dược: cellulose vi tinh thể, calci carbonat, aerosil, natri benzoat...

- Hóa chất, dung môi: Poloxamer 407 (BASF, Đức), Atovastatin (viên nén AvasBoston@20, Boston, Việt Nam), nước cất 2 lần, diethyl ether, khí CO_2 ...

- Thiết bị, dụng cụ: cân kĩ thuật Sartorius độ chính xác 0,01g (Anh), máy li tâm Hettich Universal 320R (Đức), máy xét nghiệm sinh hóa ELBA Mannheim XL-300 (Mannheim, Đức), pipet, cốc đong, cốc có mỏ, chày, cối, kim đầu tù, ống mao quản lấy máu có heparin, bộ cân, bộ dụng cụ nuôi chuột...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp: theo OECD (2002, 2022) [11], [12] và phương pháp xác định độc tính của thuốc theo Đỗ Trung Đàm (2014) [2]. Chuột nhắt trắng khỏe mạnh, giống cái, thể trọng 18-22g/con. Để chuột nhịn đói 12 giờ và uống nước tùy thích trước khi thí nghiệm.

+ Thử nghiệm thăm dò: thực hiện trên các nhóm chuột, mỗi nhóm 2 con. Dùng kim đầu tù cho chuột uống thuốc thử (cao hoặc bột viên) với liều tăng dần, mỗi lần 0,2 ml/20g thể trọng; theo dõi tình trạng chung và các dấu hiệu nhiễm độc. Theo hướng dẫn của OECD (2022), có thể bắt đầu ở mức liều 175 mg/kg; các mức liều sau tăng với hệ số 3,2 (là: 560 mg/kg; 1.792 mg/kg; 5.734 mg/kg). Căn cứ vào thành phần của cao thử nghiệm, thực hiện thăm dò ở mức liều 2.000 mg/kg (gần 1.792 mg/kg). Nếu thấy chuột không có dấu hiệu nhiễm độc thì thử lô tiếp theo với mức liều 5.000 mg/kg.

+ Thử nghiệm chính thức: chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con, theo liều cao khô LOWLP-PT cho chuột uống, lần lượt gồm lô 1A (mức liều 500 mg/kg), lô 2A (mức liều 1.000 mg/kg), lô 3A (mức liều 2.000 mg/kg), lô 4A (mức liều 5.000 mg/kg).

Theo dõi tình trạng chung của chuột (hoạt động tự nhiên, tư thế, màu sắc (mũi, tai, đuôi), lông, phân, nước tiểu) liên tục trong vòng 6 giờ; tỉ lệ chết trong 72 giờ và các dấu hiệu khác trong

vòng 7 ngày sau khi dùng cao khô LOWLP-PT. Xác định tỉ lệ chuột chết trong 72 giờ và các dấu hiệu khác trong vòng 7 ngày sau khi thử nghiệm, tính LD50 (nếu có).

- Phương pháp đánh giá tác dụng hạ lipid máu trên mô hình chuột gây tăng lipid máu nội sinh bằng Poloxamer-407 (theo Millar J.S. và cộng sự [9]): chia ngẫu nhiên chuột nhất trắng thành 5 lô, mỗi lô 9 con, gồm lô 1B (chứng sinh lí: tiêm màng bụng chuột nước muối sinh lí 0,9% và cho uống nước cất), lô 2B (chứng bệnh: tiêm màng bụng chuột dung dịch Poloxamer-407 liều 200 mg/kg và cho uống nước cất), lô 3B (chứng dương: tiêm màng bụng chuột dung dịch Poloxamer-407 liều 200 mg/kg và cho uống atorvastatin liều 100 mg/kg), lô 4B (thử liều 1: tiêm màng bụng chuột dung dịch Poloxamer-407 liều 200 mg/kg và cho uống cao khô LOWLP-PT, liều 500 mg/kg hoặc bột viên nang cao khô LOWLP-PT, liều 641 mg/kg), lô 5B (thử liều 2: tiêm màng bụng chuột dung dịch Poloxamer-407 liều 200 mg/kg và cho uống cao khô LOWLP-PT, liều 1.000 mg/kg hoặc bột viên nang cao khô LOWLP-PT, liều 1.282 mg/kg). Chuột ở các lô đều uống cùng một thể tích chất nghiên cứu (0,3 ml/chuột), trong 10 ngày. Vào ngày thứ 10, chuột ở tất cả các lô đều được cho nhịn ăn trong 24 giờ, uống nước tự do. Ngày thứ 11 (sau 24 giờ kể từ khi tiêm Poloxamer-407), lấy máu xoang tĩnh mạch hock mắt của tất cả chuột vào vào ống eppendorf, để lắng tự nhiên 1 giờ, li tâm 3.000 vòng/phút, lấy huyết thanh làm xét nghiệm định lượng cholesterol toàn phần, triglycerid, HDL-C, LDL-C.

- Đánh giá tác dụng hạ lipid máu của cao khô LOWLP-PT: qua biến đổi nồng độ các chỉ số lipid máu sau 10 ngày sử dụng (sau 10 ngày sử dụng, các chỉ số cholesterol toàn phần, triglyceride, LDL-C giảm có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng bệnh; chỉ số HDL-C tăng nhẹ hoặc không giảm quá mức); đồng thời, đánh giá hiệu quả tương đối của cao khô LOWLP-PT so với thuốc đối chứng qua so sánh một số chỉ tiêu sinh hóa máu giữa nhóm sử dụng cao khô LOWLP-PT với nhóm chứng dương.

- Xử lí số liệu: bằng thuật toán thống kê y sinh học, sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2016. Số liệu biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$, so sánh trung bình giữa hai nhóm bằng kiểm định Student's T-test. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đánh giá độc tính cấp của cao khô LOWLP-PT trên chuột nhất trắng

Ở các mức liều 2.000 mg/kg và 5.000 mg/kg thể trọng, chuột ở các lô thử nghiệm thăm dò đều sống và không có biểu hiện bất thường. Các thử

nghiệm chính thức được tiến hành trên các lô chuột, với kết quả biểu hiện tại bảng 1.

Sau khi uống cao khô LOWLP-PT với liều tăng dần từ 500-5.000 mg/kg/ngày, chuột ở tất cả các lô thực nghiệm chính thức đều ăn uống, hoạt động, bài tiết bình thường. Không xuất hiện bất kì biểu hiện ngộ độc nào ở chuột và không có chuột nào chết trong vòng 72 giờ. Theo dõi liên tục 7 ngày tiếp theo sau uống cao khô LOWLP-PT, thấy chuột hoàn toàn bình thường, không có biểu hiện gì đặc biệt, không có chuột nào chết.

Bảng 1. Đánh giá độc tính cấp đường uống của cao khô LOWLP-PT trên chuột nhất trắng

Lô chuột	Số chuột	Liều uống (mg/kg)	Tỉ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường
Lô 1A	10	500	0	Không
Lô 2A	10	1.000	0	Không
Lô 3A	10	2.000	0	Không
Lô 4A	10	5.000	0	Không

Như vậy, chưa xác định được độc tính cấp và chưa tính được LD50 của cao khô LOWLP-PT trên chuột nhất trắng theo đường uống.

3.2. Đánh giá tác dụng hạ lipid máu của cao khô LOWLP-PT trên chuột nhất trắng

Trên mô hình chuột nhất trắng gây rối loạn lipid máu bằng tiêm màng bụng Poloxamer 407, liều 200 mg/kg và được cho uống các chất nghiên cứu, biến đổi các chỉ số cholesterol toàn phần, triglycerid, HDL-C, LDL-C cụ thể tại bảng 2.

Kết quả bảng 2 cho thấy, mức cholesterol toàn phần của các lô sử dụng cao khô LOWLP-PT (lô 4B và 5B) giảm so với lô chứng bệnh (lô 2B), với mức giảm lần lượt là 22,8% và 30,8%. Khác biệt có ý nghĩa thống kê, với $p < 0,05$. Điều này chứng tỏ, cao khô LOWLP-PT có khả năng giảm đáng kể nồng độ cholesterol toàn phần trong máu của chuột thí nghiệm.

Nồng độ triglycerid trong lô chuột sử dụng cao khô LOWLP-PT liều 1.000 mg/kg (lô 5B) giảm 13,5% so với lô chứng bệnh (lô 2B), trong khi lô 4B (liều thấp) có giảm, nhưng ít hơn (10,9%). Kết quả này cho thấy, cao khô LOWLP-PT giúp giảm triglycerid, mặc dù giảm không lớn so với cholesterol toàn phần. Cả hai mức giảm đều có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ so với lô chứng bệnh.

Không có sự thay đổi rõ rệt về nồng độ HDL-C giữa các lô thử nghiệm. Mức HDL-C dao động từ 0,54 mmol/L (lô 1B) đến 0,56 mmol/L (lô 2B và các lô 3B, 4B, 5B); khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). HDL-C là loại cholesterol giúp bảo vệ tim mạch, nồng độ HDL-C duy trì hoặc tăng nhẹ là mục tiêu trong các liệu pháp hạ lipid máu. Nghiên cứu nhận thấy cao khô LOWLP-PT

gây ảnh hưởng không đáng kể đến chỉ tiêu này. Điều này có thể do cơ chế tác động của LOWLP-PT chủ yếu nhằm vào việc giảm cholesterol toàn phần và các chỉ tiêu khác hơn là cải thiện HDL-C. Để làm rõ thêm vấn đề này, cần nghiên cứu cơ chế sinh hóa chi tiết hơn. Lượng LDL-C trong các

lô thử cao khô LOWLP-PT (lô 4B và 5B) giảm mạnh so với lô chứng bệnh (lô 2B), với mức giảm lên tới 26,0% và 27,5%. Điều này chứng tỏ cao khô LOWLP-PT có khả năng giảm LDL-C, có tiềm năng phát triển thành thuốc để phòng ngừa các bệnh lí liên quan đến mỡ máu.

Bảng 2. Biến đổi các chỉ số cholesterol toàn phần, triglycerid, HDL-C, LDL-C của chuột nhắt trắng

Chỉ tiêu		Lô 1B ⁽¹⁾	Lô 2B ⁽²⁾	Lô 3B ⁽³⁾	Lô 4B ⁽⁴⁾	Lô 5B ⁽⁵⁾
Cholesterol toàn phần	$\bar{X}$ (mmol/L)	2,47	8,00	5,68	6,18	5,54
	SD	0,25	0,99	0,68	0,96	0,79
	% thay đổi so với lô 2B	-	-	29,0	22,8	30,8
	p	$p_{3-2} < 0,05$; $p_{4-2} < 0,05$; $p_{5-2} < 0,05$; $p_{4-3} > 0,05$; $p_{5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$				
Triglycerid	$\bar{X}$ (mmol/L)	1,24	7,88	6,80	7,02	6,82
	SD	0,18	0,83	0,97	0,74	1,10
	% thay đổi so với lô 2B	-	-	13,7	10,9	13,5
	p	$p_{3-2} < 0,05$; $p_{4-2} < 0,05$; $p_{5-2} < 0,05$; $p_{4-3} > 0,05$; $p_{5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$				
HDL-C	$\bar{X}$ (mmol/L)	0,54	0,56	0,55	0,55	0,56
	SD	0,03	0,05	0,04	0,05	0,03
	% giảm so với lô 2B	-	-	0,8	1,4	-0,4
	p	$p_{3-2} > 0,05$; $p_{4-2} > 0,05$; $p_{5-2} > 0,05$; $p_{4-3} > 0,05$; $p_{5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$				
LDL-C	$\bar{X}$ (mmol/L)	1,86	2,84	1,68	2,10	2,06
	SD	0,49	0,89	0,46	0,53	0,53
	% thay đổi so với lô 2B	-	-	40,9	26,0	27,5
	p	$p_{3-2} < 0,05$; $p_{4-2} < 0,05$; $p_{5-2} < 0,05$; $p_{4-3} > 0,05$; $p_{5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$				

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy cao khô LOWLP-PT có tác dụng làm giảm nồng độ cholesterol toàn phần và LDL-C ở chuột nhắt trắng, mức giảm rõ rệt khi tăng liều sử dụng; đồng thời, ảnh hưởng không đáng kể đến biến đổi HDL-C máu chuột. Trên chuột nhắt trắng, cao khô LOWLP-PT an toàn ở liều tối đa 5.000 mg/kg (không phát hiện độc tính hay tử vong ở động vật thử nghiệm).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam 5*, Nhà Xuất bản Y học.

2. Đỗ Trung Đàm (2014), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, Nhà xuất bản Y học.

3. *AHA 2019 Heart Disease and Stroke Statistics. American College of Cardiology*, accessed: 07/01/2025.

4. Brayfield A, (2014), *Martindale: the complete drug reference*, Pharmaceutical Press, London.

5. *Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: Update from the GBD 2019 Study - Science direct*, accessed: 02/01/2025.

6. Ji W, Gong B.Q (2008), "Hypolipidemic activity and mechanism of purified herbal extract of

Salvia miltiorrhiza in hyperlipidemic rats", *Journal of Ethnopharmacology*, 119 (2), 291-298.

7. Lee H.J, Chen C.C, Chou F.P, et al (2024), "Water extracts from nelumbo nucifera leaf reduced plasma lipids and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits", *Journal of Food Biochemistry*, 34, 779-795.

8. McEvoy G.K, (2008), *AHFS Drug information 2008*, American Society of Health-System Pharmacists, Bethesda.

9. Millar J.S, Cromley D.A, McCoy M.G et al (2005), "Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339", *Journal of Lipid Research*, 46 (9), 2023-2028.

10. Nanumala S.K, Nischal Y, Sarika M, Sri Sai Shrayya G (2024), "Hypolipidemic activity of ethanolic extracts of cassia angustifolia in triton - X 100 induced hyperlipidemia in Rats", *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7 (6), 189-91.

11. OECD (2002), *Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method*, Organisation for Economic Co-operation and Development.

12. OECD (2022), *Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up and down procedure*, Organisation for Economic Co-operation and Development.