

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN CẤP CỦA LÁ XUÂN HOA (*PSEUDERANTHEMUM PALATIFERUM*)

Huỳnh Kim Diệu¹

ABSTRACT

The Pseuderanthemum palatiferum (P. palatiferum) leaf-extracts were used to test acute and sub-chronic toxicity on 325 mice (Mus musculus). In testing acute toxicity, the leaf extract by water (WE) was dosed at the dose multiplied 143 times of the effective treating dose (0.7g dried leaf powder/kgBW) and the dose multiplied 600 times of the effective treating dose (0.05g ME/kgBW) with leaf extract by methanol (ME). In sub-chronic toxicity, mice were dosed the WE being equivalent to 1g dried leaf powder/kg BW and the ME at the dose of 0.1g/kg BW for 60 days. There were not any died mice in the acute toxicity tests. The weight, the numbers of erythrocyte and leukocyte, the biochemical parameters seemed to be not different with the control in the sub-chronic toxicity tests. The liver and kidney were in normal status from the results of autopsy tests. It was shown that P. palatiferum leaf-extract did not cause acute/sub-chronic toxicity and was safe for application.

Keywords: *Pseuderanthemum palatiferum, lethal dose, hematological examination, renal and hepatic function tests*

Title: *Investigating the acute and the sub-chronic toxicity of Pseuderanthemum palatiferum*

TÓM TẮT

Lá Xuân Hoa (XH) được thử độc tính cấp và bán cấp dưới hai dạng dịch chiết với nước (CN) và dịch chiết với methanol (CM) trên 325 chuột nhắt trắng. Trong thử độc tính cấp: CN dùng liều gấp 143 lần liều điều trị bệnh (0,7g bột XH /kgP), CM (dạng sirô) dùng liều gấp 600 lần liều điều trị (0,05g/kgP). Trong thử độc tính bán cấp: CN dùng liều tương đương 1g bột XH/kgP và CM: liều 0,1 g/kg P suốt 60 ngày. Kết quả cho thấy không có chuột chết trong thử độc tính cấp; trong thử độc tính bán cấp: tăng trọng, chỉ tiêu sinh lý máu và sinh hóa gan và thận không sai khác với đối chứng; khảo sát vi thể gan và thận đều bình thường so đối chứng. Chứng tỏ lá XH không có độc tính cấp và bán cấp và rất an toàn trong sử dụng.

Từ khóa: *Xuân Hoa, độc tính, kiểm tra máu, kiểm tra chức năng gan thận*

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Xuân Hoa là cây thuốc mới được phát hiện ở Việt Nam và theo kinh nghiệm dân gian có thể phòng trị rất nhiều bệnh như trị viêm nhiễm, huyết áp, bệnh gan, thận, ung thư, tiêu chảy,... Vì vậy Xuân hoa được gọi “cây thuốc kỳ diệu”. Thực sự, từ lá XH đã cô lập được các chất β -sitosterol, triterpenoid saponin, 1-triacontanol, salicylic acid và các flavonoid acacetin, apigenin và kaempferol và lá Xuân hoa có hoạt tính kháng khuẩn cao trên vi khuẩn gram âm, gram dương và cả trên nấm mốc, nấm men. Lá Xuân hoa còn chứa hàm lượng dưỡng chất cao và các chế phẩm từ lá Xuân hoa đã được sử dụng phòng trị tiêu chảy heo con rất hiệu quả

¹ Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng

tương đương hoặc vượt trội hơn các kháng sinh tiêu biểu đang sử dụng điều trị tiêu chảy và còn tác động tốt trên tăng trọng heo cũng như chỉ tiêu sinh lý máu. Để góp phần tìm hiểu thêm về cây thuốc giàu tiềm năng này, nghiên cứu về độc tính cấp và bán cấp được thực hiện.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Chuẩn bị dịch chiết từ lá XH

Lá Xuân hoa được sấy ở 50°C đến còn 20% trọng lượng ban đầu, xay mịn được bột Xuân hoa với ẩm độ 8%.

2.1.1 Dịch chiết với nước

Bột Xuân hoa được chiết với nước cất ở 60°C, cô đặc được dịch chiết tỉ lệ 2,5:1 (tương đương 2,5g bột Xuân hoa/ml nước) dùng thử độc tính cấp và pha loãng tiếp được dịch chiết tỉ lệ 1:10 (tương đương 1g bột Xuân hoa/ml nước) dùng trong thử độc tính bán cấp.

2.1.2 Dịch chiết với methanol

Bột Xuân hoa được chiết với methanol và cô bằng máy cô quay được cao Xuân hoa có trọng lượng bằng 7,5% trọng lượng bột Xuân hoa, cao được pha loãng trong dung dịch nước đường cho sirô Xuân hoa dùng thử độc tính.

2.2 Thử độc tính trên chuột

Phương pháp thử độc tính cấp và bán cấp dựa theo Auletta (1995), Bộ Y tế (1996), Đỗ Trung Đàm (1996) và World health organization (2000) và thực hiện trên 325 chuột nhắt trắng (*Mus musculus*).

Sơ đồ bố trí thí nghiệm thử độc tính được trình bày qua bảng 1.

Bảng 1: Sơ đồ bố trí thí nghiệm thử độc tính

Nghiệm thức	n	Chuột (P, g)	Chế phẩm	Liều	Đường cấp	Thời gian khảo sát
Độc tính cấp						
Bột XH (dịch chiết nước)						
Thí nghiệm	10	18-22	Bột XH	0,4 ml/10 g (#100g bột/kg)	Uống	72 giờ
Đối chứng	10		Nước cất	0,4 ml/10 g	Uống	
Sirô XH (dịch chiết methanol)						
Thí nghiệm	9	18-22	Sirô XH	0,2 ml/10 g (#30 g cao/kg)	Uống	72 giờ
Đối chứng	6		Nước cất	0,2 ml/10 g	Uống	
Độc tính bán cấp						
Bột XH (dịch chiết nước)						
Thí nghiệm	80	18,53 ± 0,13	Bột XH	0,1 ml/10 g (#1g bột/kg)	Uống	60 ngày
Đối chứng	60	18,74 ± 0,17	Nước cất	0,1 ml/10 g	Uống	
Sirô XH (dịch chiết methanol)						
Thí nghiệm	80	19,59 ± 0,19	Sirô XH	0,1 ml/10 g (#0,1g cao/kg)	Uống	60 ngày
Đối chứng	70	19,53 ± 0,23	Nước cất	0,1 ml/10 g	Uống	

3 KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1 Độc tính cấp

Ở cả 2 thí nghiệm trên bột Xuân hoa và trên sirô Xuân hoa đều có cùng kết quả.

3.1.1 Triệu chứng lâm sàng

Sau khi cấp thuốc, tất cả chuột giảm hoạt động, đi lại chậm chạp (sau 15 phút), chuột nằm cụp lại (sau 30 phút), chuột ít ăn uống, có vẻ mệt (sau 45 phút), sau 60 phút phân nửa số chuột bắt đầu ăn uống khá hơn và linh hoạt trở lại và sau 90 phút chuột hoạt động và ăn uống bình thường, khảo sát đến 72 giờ không có chuột chết.

3.1.2 Mô khám và quan sát nội tạng sau 72 giờ dùng thuốc

Mô khám tất cả chuột thí nghiệm, nhận thấy: cơ tim bình thường, toàn bộ gan có màu đỏ tươi (hai chuột gan có màu đỏ sậm), túi mật đầy, dịch mật có màu vàng trong, phổi trắng hồng và ruột tiêu hóa tốt (không biểu hiện bất thường).

3.1.3 Khảo sát vi thể ở gan và thận chuột sau 72 giờ dùng thuốc

Khảo sát vi thể gan và thận của 5 chuột thử nghiệm và 3 chuột đối chứng cho thấy: các tế bào gan, khoảng cửa ở gan có hình thái bình thường, quản cầu thận, ống thận và mô kẽ bình thường; không có hiện tượng hủy hoại tế bào gan và thận.

Nhìn chung, cho chuột uống bột lá Xuân hoa liều gấp 100 lần hay sirô Xuân hoa liều gấp 600 lần liều điều trị, sau 72 giờ đã không gây chết hoặc có triệu chứng ngộ độc. Như vậy, lá Xuân hoa không thể hiện độc tính cấp và không có LD₅₀ (Lethal dose 50%).

Trong khi đó, dịch chiết từ cây Vàng Đẳng có LD₅₀ = 1200 mg/kg P trên chuột nhắt trắng qua đường uống.

3.2 Độc tính bán cấp

3.2.1 Trọng lượng

Trọng lượng của chuột thí nghiệm cao hơn chuột đối chứng, thấy rõ nhất vào ngày 30, 50 và 55 sau khi cấp sirô XH (P<0,05), được trình bày qua bảng 2.

Bảng 2: Trọng lượng chuột thí nghiệm khi cấp sirô Xuân Hoa

Ngày tuổi	Trọng lượng chuột (g/con)		P
	Đối chứng	Thí nghiệm	
30	26,05±0,55	27,49±0,49	0,05
55	26,48±0,62	28,38±0,66	0,05
60	27,13±0,61	28,90±0,72	0,04

3.2.2 Sinh lý máu

Trong thí nghiệm bột lá Xuân hoa, không có sự khác biệt giữa lô đối chứng và thí nghiệm. Thí nghiệm với sirô Xuân hoa, những chỉ số sinh lý máu cao hơn đối chứng, thấy rõ nhất là số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin và hematocrit (P<0,05), nhưng vẫn nằm trong giới hạn sinh lý bình thường của chuột (Bảng 3).

Bảng 3: Kết quả vài chỉ số sinh lý máu trong thử nghiệm độc tính bán cấp

Chỉ tiêu	30 ngày			60 ngày		
	Đối chứng	Thí nghiệm	P	Đối chứng	Thí nghiệm	P
BỘT XH						
Số chuột	59	79		39	59	
TL, g/chuột	22,36±0,29	22,87±0,29	0,23	24,81±0,60	26,13±0,55	0,12
Số mẫu máu	5	8		20	17	
Hồng cầu, 10 ⁶ /mm ³	7,62±0,45	7,98±0,23	0,45	6,18±0,17	5,59±0,32	0,10
Bạch cầu, 10 ³ /mm ³	7,64±0,92	10,70±1,33	0,13	9,66±0,51	8,34±0,68	0,12
Tiểu cầu, 10 ⁶ /mm ³	-	-	-	1650±131	1580±158	0,74
SIRÔ XH						
Số chuột	61	64		58	59	
TL, g/chuột	26,05±0,55	27,49±0,49	0,05	27,13±0,61	28,90±0,72	0,07
Số mẫu máu	14	12		14	12	
Hồng cầu, 10 ⁶ /mm ³	9,32±0,32	8,40±0,48	0,11	8,61±0,46	9,79±0,22	0,04
Hemoglobin, mg/dl	14,76±0,48	13,33±0,71	0,10	12,99±0,58	15,17±0,40	0,01
Hematocrit, %	45,41±1,56	41,23±2,30	0,14	38,76±1,89	45,16±1,49	0,02
Bạch cầu, 10 ³ /mm ³	9,36±0,79	9,88±0,73	0,63	9,61±0,80	12,03 ± 1,00	0,07
Tiểu cầu, 10 ⁶ /mm ³	917±77	810±53	0,28	597±40	891±36	0,00

TL: trọng lượng;

P: xác suất

Như vậy, bột hay sirô Xuân hoa không ảnh hưởng có hại đến các chỉ tiêu sinh lý máu mà ngược lại còn tác động tốt trên các chỉ tiêu này do trong lá Xuân hoa chứa hàm lượng đường chất cao.

3.2.3 Sự biến đổi vài chỉ số sinh hóa gan

Các chỉ số sinh hóa gan sau 30 ngày và sau 60 ngày thử nghiệm được trình bày qua bảng 4.

Bảng 4: Sự biến đổi vài chỉ số sinh hóa gan chuột trong thử nghiệm độc tính bán cấp

Chỉ tiêu	30 ngày			60 ngày		
	Đối chứng	Thí nghiệm	P	Đối chứng	Thí nghiệm	P
BỘT XH						
Số mẫu máu	10	12		13	13	
AST, U/L	116,70±9,69	140,90±15,30	0,22	125,77±7,03	124,54±8,22	0,91
ALT, U/L	62,00±10,80	58,75±7,33	0,80	63,85±4,83	55,15±3,18	0,15
Số mẫu máu	10	8		10	13	
Bilirubin TP, mg/dl	0,34±0,02	0,41±0,04	0,11	0,37±0,03	0,35±0,01	0,61
Bilirubin GT, mg/dl	0,17±0,02 ^a	0,24±0,03	0,03	0,24±0,02 ^b	0,20±0,00	0,03
Bilirubin TT, mg/dl	0,17±0,03	0,18±0,03	0,89	0,14±0,02	0,15±0,02	0,49
SIRÔ XH						
Số mẫu máu	16	17		18	22	
AST, U/L	115,19±4,87	118,76±5,40	0,63	113,11±6,50	104,77±3,83	0,26
ALT, U/L	46,75±2,57	49,00±2,30	0,52	47,00±2,80	43,00±2,71	0,31
Số mẫu máu	16	17		18	22	
Bilirubin TP, mg/dl	0,26±0,02	0,24±0,01	0,29	0,18±0,02	0,21±0,01	0,19
Bilirubin GT, mg/dl	0,15±0,02	0,14±0,01	0,46	0,11±0,02	0,12±0,02	0,56
Bilirubin TT, mg/dl	0,11±0,01	0,11±0,01	0,52	0,07±0,01	0,09±0,01	0,47

TP: toàn phần

GT: gián tiếp

TT: trực tiếp

AST: Aspartate amino transferase ở mức p<0,05

ALT: Alanine amino transferase ^a và ^b khác biệt có ý nghĩa thống kê

3.2.4 Sự biến đổi vài chỉ số sinh hóa thận

Bảng 5: Sự biến đổi vài chỉ số sinh hóa thận trong thử nghiệm độc tính bán cấp

Chỉ tiêu	30 ngày			60 ngày		
	Đối chứng	Thí nghiệm	P	Đối chứng	Thí nghiệm	P
BỘT XH						
Số mẫu máu	10	12		13	13	
BUN, mg/dl	24,54±1,64 ^a	20,07±1,38	0,05	17,53±1,03 ^b	20,35±0,92	0,05
Creatinine, mg/dl	0,42±0,04	0,35±0,01	0,06	0,39±0,01	0,40±0,01	0,61
SIRÔ XH						
Số mẫu máu	16	17		18	22	
BUN, mg/dl	15,06±1,32	14,06±1,31	0,59	12,94±0,70	13,46±0,80	0,64
Creatinine, mg/dl	0,73±0,01	0,69±0,02	0,20	0,70±0,01	0,70±0,02	0,85

^a và ^b sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $P < 0,05$

Sự biến đổi các chỉ số sinh hóa thận sau khi cấp thuốc cho chuột 30 ngày và 60 ngày được trình bày qua bảng 5.

Tóm lại, các chỉ số sinh hóa về gan và thận của lô thí nghiệm không khác so lô đối chứng. Tuy nhiên, chỉ số bilirubin gián tiếp tăng và BUN (urê huyết) giảm ở lô đối chứng trong thí nghiệm bột Xuân hoa, nhưng ổn định ở lô thí nghiệm. Các trị số này đều nằm trong giới hạn sinh lý bình thường của chuột. Kết quả này cũng cho thấy bột Xuân hoa có tác động tốt trên tế bào gan, do trong lá Xuân hoa có chứa flavonoid có hoạt tính chống oxy hóa tế bào như acacetin, kaemferol và apigenin là chất chống oxy hóa mạnh, giúp bảo vệ ADN không bị hư hại do sự oxy hóa.

3.2.5 Kết quả khảo sát vi thể gan và thận

Sau 30 ngày và 60 ngày thử nghiệm độc tính bán cấp, 20 chuột được mô khảo sát vi thể mô gan, thận (gồm 7 chuột đối chứng và 13 chuột thí nghiệm). Kết quả cho thấy: các tế bào gan, khoảng cửa và các mạch máu, quản cầu thận, ống thận và mô kẽ có cấu trúc bình thường, không có hiện tượng hủy hoại tế bào gan và thận; về mô học, cấu trúc mô gan và thận sau 30 ngày và 60 ngày ở chuột thí nghiệm và đối chứng đều bình thường.

Như vậy, lá Xuân hoa được chiết với nước hay methanol đều không biểu hiện ảnh hưởng có hại đến chức năng gan thận, không có độc tính bán cấp.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Lá Xuân hoa không có độc tính cấp cũng như bán cấp, chứng tỏ cây Xuân hoa rất an toàn trong sử dụng. Như vậy, cây Xuân hoa là cây thuốc có nhiều triển vọng thay thế kháng sinh trong phòng bệnh cũng như trị bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế (1996), Quy chế đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền (Ban hành kèm theo quyết định số 371/BYT-QĐ ngày 12/3/1996 của Bộ trưởng Bộ Y tế).
- Đỗ Trung Đàm (1996), Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc, NXB Y học, Hà Nội, tr. 11-137.

- Auletta C. S. (1995), Acute, subchronic, and chronic toxicity, CRC Handbook of toxicity, (Eds. M. J. Derelanco and M. A. Hollinger), CRC press, New York, U.S.A., pp. 51-103.
- World health organization (2000), General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine, Geneva, Switzerland.