DOI: https://doi.org/10.59294/HIUJS2025042

Khảo sát độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cao chiết Mạn kinh (*Vitex rotundifolia* L.f)

Trần Viễn Thông, Lý Hải Triều, Nguyễn Hoàng Minh, Hoàng Thị Phương Thảo, Lê Văn Minh*

Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát độc tính cấp và độc tính bán trường diễn đường uống của cao chiết ethanol 70% từ cành lá cây Mạn kinh trên chuột nhắt trắng (Swiss albino). Phương pháp: Độc tính cấp đường uống của cao chiết được đánh giá ở liều cao nhất có thể qua kim chuyên dụng cho chuột uống. Độc tính bán trường diễn của cao chiết được đánh giá ở liều 1 và 2 g/kg sau 30 và 60 ngày cho chuột uống. Kết quả: Chuột không có biểu hiện bất thường sau khi được cho uống cao chiết ở liều cao nhất qua kim chuyên dụng là 30.84 g/kg (D_{max}) nên giá trị LD_{50} của cao chiết không được xác định. Chuột uống cao chiết ở hai liều khảo sát liên tục trong 60 ngày không có sự thay đổi đáng kể các chỉ số huyết học, chỉ số chức năng gan (AST, ALT), chức năng thận (ure, creatinin), triglycerid và protein trong huyết tương cũng như cấu trúc mô học gan, tim và thận so với lô chứng. Kết luận: Cao chiết ethanol 70% từ cành lá cây Mạn kinh không gây độc tính cấp trên chuột nhắt trắng với liều D_{max} là 30.84 g/kg và không làm ảnh hưởng đến chức năng tạo máu, chức năng gan, tim và thận của chuột nhắt trắng sau 60 ngày thử nghiệm.

Từ khoá: *Mạn kinh, cành và lá, độc tính cấp đường uống, độc tính bán trường diễn, chuột nhắt trắng*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Mạn kinh (*Vitex rotundifolia* L.f) thuộc họ Hoa môi (Lamiaceae), phân bố chủ yếu ở các vùng ven biển nhiệt đới và cận nhiệt đới [1]. Tại Việt Nam, loài cây này phổ biến ở khu vực ven biển miền Trung bao gồm tỉnh Ninh Thuận. Theo y học cổ truyền, quả và cành lá của cây Mạn kinh có tác dụng kháng viêm, giảm đau và được sử dụng để điều trị bệnh về xương khớp, đau đầu và cảm sốt. Các nghiên cứu dược lý hiện đại đã cũng đã chứng minh nhiều tác dụng dược lý của cành lá Mạn kinh chẳng hạn như tác động chống khối u, giảm đau, hạ sốt, kháng viêm và kháng khuẩn, cho thấy tiềm năng điều trị đối với nhiều bệnh [2]. Các thành phần hóa học như terpenoid, flavonoid, phenylpropanoid và các thành phần hóa học khác có thể góp phần vào các tác dụng dược lý của nó. Kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy cao chiết ethanol 70% từ cành lá Mạn kinh ở liều 1.0 g/kg có tác dụng kháng viêm thông qua khả năng làm giảm sưng phù ở bàn chân chuột tại các thời điểm khảo sát sau khi gây viêm cấp bằng carrageenan (4, 24, 48 và 72 giờ), tương tự như lô uống diclofenac. Mức liều 1.5 g/kg cũng cho thấy tác dụng tương tự sau 4, 48 và 72 giờ tiêm carrageenan [3]. Ngoài ra, trong nghiên cứu này các thành phần chính của tinh dầu từ cành lá bao gồm α-pinen, sabinen, β-pinen, eucalyptol, β-terpinyl acetat và dL-limonen có dụng kháng khuẩn, tinh dầu ức chế sự phát triển của 5 loại vi khuẩn (*S. enterica*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*, *P. aeruginosa* và *S. aureus*) [3]. Casticin và agnusid là hai hợp chất chính được phát hiện trong cao chiết từ quả và cành lá Mạn kinh. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng casticin có tác dụng chống viêm, chống ung thư và bảo vệ thần kinh, trong khi đó agnusid là một tác nhân chống viêm [4]. Casticin là một flavonoid có tác dụng chống viêm, chống oxy hóa và đặc biệt là chống ung thư thông qua cơ chế kích hoạt apoptosis và ức chế tăng sinh tế bào [5]. Casticin cho thấy tính an toàn ở liều điều trị, tuy nhiên có thể gây độc tế bào ở liều cao trong thử nghiệm *in vitro*. Agnusid được báo cáo là có nhiều tác dụng sinh học như giảm đau, giống estrogen, chống viêm khớp, chữa lành vết thương và tác dụng chống leishmania [6]. Độc tính của agnusid được đánh giá

Tác giả liên hệ: Lê Văn Minh
Email: lvminh05@gmail.com

là rất thấp, trong các nghiên cứu thử nghiệm trên chuột, agnusid không gây ra thay đổi bất thường về hành vi, sinh lý hoặc tổn thương mô học trên các cơ quan chính. Vitexicarpin, một hợp chất từ quả Mạn kinh, có tác động chống ung thư trực tràng bằng cách liên kết trực tiếp với inosin monophosphat dehydrogenase 2 (IMPDH2), phá vỡ sự tương tác giữa IMPDH2 và c-Myc, dẫn đến ức chế quá trình chuyển dạng biểu mô - trung mô, từ đó ức chế sự tăng sinh và di căn của tế bào ung thư trực tràng[7]. 18 hợp chất được xác định từ tinh dầu lá Mạn kinh bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC-MS). Tinh dầu có tác dụng ức chế sự phát triển của 6 chủng vi khuẩn gây bệnh (*S. aureus, B. cereus, P. aeruginosa, S. enteritidis, S. typhimurium, E. coli*) [8]. Cao chiết ethanol 70% từ cành lá Mạn kinh có chứa các thành phần hóa học với các tác dụng dược lý đã được chứng minh [3]. Do đó, để cung cấp thông tin về tính an toàn của cao chiết này cho việc sử dụng trong y học cổ truyền và y học hiện đại, nghiên cứu này tiến hành khảo sát độc tính cấp đường uống và độc tính bán trường diễn của cao chiết ethanol 70% từ cành lá Mạn kinh trên chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino*.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây được thu thập tại tỉnh Ninh Thuận vào tháng 3 năm 2024 và được xác định là *Vitex rotundifolia* L.f (VT01/2024/CGMM) tại Phòng Tài nguyên và Phát triển Dược liệu, Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh. Cành và lá được sử dụng trong nghiên cứu này. Cành lá được phơi âm can và xay thành bột (qua rây 355) để nghiên cứu. Cao chiết được sử dụng trong nghiên cứu này có nguồn gốc từ nghiên cứu trước đây của nhóm [3]. Tóm lại, bột cành lá thô (10 kg) có độ ẩm 9.87% được chiết ngấm kiệt với ethanol 70% ở nhiệt độ phòng sau 24 giờ ngâm với dung môi, tỷ lệ chiết xuất của bột nguyên liệu/dung môi là 1/15 (*w/v*). Dịch chiết được cô đặc bằng máy cô quay (Buchi, Thụy Sĩ) dưới áp suất giảm ở 70°C để loại bỏ dung môi và thu được cao chiết (3,837 g) có độ ẩm 29.67%. Hiệu suất chiết cao là 29.94%.

2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng (*Swiss albino*, 5 - 6 tuần tuổi). Chuột được cung cấp bởi Viện vắc xin và Sinh phẩm y tế Thành phố Hồ Chí Minh. Thức ăn chuột được cung cấp bởi Viện vắc xin và Sinh phẩm y tế Nha Trang. Nghiên cứu này thử nghiệm trên động vật được thông qua bởi Hội đồng tư vấn về đạo đức với động vật trong nghiên cứu Viện Dược liệu (01/2024/ThS-HĐTVĐĐTĐV).

2.3. Hóa chất - thuốc thử nghiệm và thiết bị

Hóa chất - thuốc thử: Các bộ kit định lượng AST, ALT, creatinin, ure, triglycerid, protein của Human Co. Ltd., Đức. Các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn nghiên cứu.

Thiết bị: Cân phân tích Ohaus (Mỹ), máy ly tâm (Hermle - Đức, máy sinh hóa bán tự động Screen master 3000 (Ý), máy SYSMEX-XN330 (Nhật).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thử nghiệm độc tính cấp đường uống

Chuột (5 chuột đực và 5 chuột cái) được nhịn đói 14 giờ trước khi được cho uống cao chiết Mạn kinh với nồng độ đậm đặc có thể qua kim đầu tù, với thể tích tối đa có thể cho uống là 0.5 mL/10 g trọng lượng chuột. Theo dõi tỷ lệ chuột tử vong và hành vi của chuột trong 4 giờ, 72 giờ sau khi uống cao chiết và 14 ngày sau đó.

Có 3 trường hợp có thể xảy ra:

- Trường hợp 1: Sau khi cho chuột uống cao chiết, số chuột vẫn bảo toàn, xác định liều cao nhất có thể bơm qua kim mà không làm chết chuột (D_{max}) và liều tương đối an toàn D_s dùng trong các thực nghiệm dược lý có thể bằng 1/5 D_{max} hoặc lớn hơn 1/5 D_{max}.
- Trường hợp 2: Sau khi cho chuột uống cao chiết, tỷ lệ tử vong là 100% thì cần xác định liều tối thiểu gây chết 100% chuột (LD_{100}), tiếp tục giảm liều để xác định được liều không làm chết con vật nào (LD_0). Từ đó, suy ra liều LD_{50} được tính theo công thức Karber - Behrens.
- Trường hợp 3: Sau khi cho uống cao chiết, tỷ lệ tử vong thấp hơn 100%, không xác định được liều gây chết 100% chuột. Đối với trường hợp này, không thể suy ra liều LD_{50}, nhưng có thể xác định được liều tối đa không gây chết chuột, gọi là liều dưới liều chết (LD_0). Liều tương đối an toàn D_s dùng cho thực nghiệm dược lý có giá trị bằng 1/5 hoặc 1/10 $LD_{0[9-11]}$.

2.4.2. Thử nghiệm độc tính bán trường diễn

Chuột được chia thành các lô (*n* = 10, 5 chuột đực, 5 chuột cái): Lô chứng cho chuột uống nước cất, lô thử cho chuột uống cao chiết với 2 liều thử nghiệm là 1 và 2 g/kg, thể tích cho uống là 0.1 mL/10 g thể trọng chuột. Chuột được uống liên tục trong vòng 2 tháng. Máu đuôi chuột được thu để đánh giá các chỉ số sinh hóa. Thời điểm xét nghiệm: Trước, sau

30 ngày và 60 ngày thử nghiệm; riêng các xét nghiệm đại thể lấy gan, tim, thận tiến hành sau 60 ngày thử nghiệm.

Các chỉ tiêu đánh giá: Trọng lượng cơ thể chuột, thông số huyết học (số lượng hồng cầu, thể tích khối hồng cầu, hemoglobin, huyết sắc tố trung bình hồng cầu, nồng độ huyết sắc tố trung bình hồng cầu, tỷ lệ phân bố hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu), aspartat transaminase (AST), alanin transaminase (ALT), creatinin, ure, triglycerid, protein, trọng lượng tương đối gan, tim, thận. Các thông số huyết học được xác định bằng máy SYSMEX-XN330 (Nhật). Các thông số về sinh hóa gan - thận, triglycerid, protein được định lượng theo protocol hướng dẫn của các bộ kit định lượng (Human Co., Germany) và được đo bằng máy sinh hóa bán tự động Screen Master 3000 (Ý). Các mẫu cơ quan tim, gan, thận được tách vào ngày cuối của thử nghiệm để quan sát vi thể (30% tổng số chuột mỗi lô).

2.5. Đánh giá kết quả

Các số liệu được xử lý trên Microsoft Excel 2016, được trình bày dạng mean ± SEM. Các phép kiểm thống kê Student's t-test, F'test và phương pháp phân tích phương sai một yếu tố ngẫu nhiên (One-way ANOVA) bằng phần mềm GraphPad Prism (Phiên bản 8.0.1, Inc., La Jolla, Mỹ) để kiểm tra sự khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng, với $p < 0.05$ được coi là khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả độc tính cấp đường uống

Sau 4 giờ, 72 giờ và 14 ngày uống cao chiết liều 30.84 g cao/kg, chuột không có biểu hiện bất thường về hành vi. Như vậy, cao chiết ethanol 70% từ cành lá Mạn kinh không có độc tính cấp đường uống ở chuột nhắt trắng với liều D_{max} là 30.84 g cao/kg, từ đó suy ra liều an toàn $D_s = 1/5D_{max} = 6.17$ g/kg. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu trước đây của nhóm cho thấy cao chiết này có tác dụng kháng viêm ở liều 1 và 1.5 g/kg[3]. Do đó, nghiên cứu lựa chọn 2 liều thử nghiệm độc tính bán trường diễn của cao chiết Mạn kinh trên chuột nhắt trắng như sau:

- Liều thử nghiệm 1: 1 g cao/kg thể trọng chuột (~1/30 D_{max}, tương đương 3.34 g dược liệu/kg thể trọng chuột).
- Liều thử nghiệm 2: 2 g cao/kg thể trọng chuột (~1/15 D_{max}, tương đương 6.68 g dược liệu/kg thể trọng chuột).

3.2. Kết quả độc tính bán trường diễn

3.2.1. Trọng lượng chuột thử nghiệm

Kết quả ở bảng 1 cho thấy trọng lượng cơ thể của lô chuột đực và cái uống cao chiết Mạn kinh liều 1 g/kg - 2 g/kg sau 30 ngày và 60 ngày khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước thử nghiệm ($p < 0.05$), nhưng không khác biệt so với lô chứng sinh lý ở cùng thời điểm khảo sát tương ứng.

Bảng 1. Sự thay đổi trọng lượng chuột ở các lô tại từng thời điểm thử nghiệm

Trọng lượng chuột trung bình các lô (g)	Lô chứng sinh lý			Lô Mạn kinh liều 1 g/kg			Lô Mạn kinh liều 2 g/kg		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Chuột đực (*n* = 5)	21.00 ± 0.45	27.00 ± 0.84*	33.20 ± 0.37*	21.60 ± 0.51	28.60 ± 0.68*	34.20 ± 0.80*	22.20 ± 0.58	27.80 ± 1.16*	30.80 ± 1.16*
Chuột cái (*n* = 5)	21.60 ± 0.51	25.60 ± 1.03*	28.60 ± 1.29*	21.20 ± 0.58	25.00 ± 0.55*	29.00 ± 1.14*	21.80 ± 0.97*	26.80 ± 0.66*	28.80 ± 1.36*

**p < 0.05 so với trước thử nghiệm, cùng lô thử nghiệm và cùng giới*

3.2.2. Các thông số huyết học

Bảng 2. Các thông số huyết học ở các lô chuột tại từng thời điểm thử nghiệm

Thông số	Chứng sinh lý			Mạn kinh liều 1 g/kg			Mạn kinh liều 2 g/kg		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Chuột đực (n = 5)									
Số lượng hồng cầu (triệu/µL)	9.51 ± 0.24	9.68 ± 0.59	10.03 ± 0.46	9.21 ± 0.31	9.63 ± 0.06	9.39 ± 0.40	9.87 ± 0.52	9.96 ± 0.21	9.39 ± 0.35

Thông số	Chứng sinh lý			Mạn kinh liều 1 g/kg			Mạn kinh liều 2 g/kg		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Thể tích khối hồng cầu (Hct) (%)	49.86 ± 0.68	49.56 ± 1.59	49.74 ± 1.59	48.92 ± 0.98	47.68 ± 0.75	47.58 ± 1.16	49.46 ± 0.96	50.42 ± 1.28	47.42 ± 0.75
Hemoglobin (g/dL)	14.78 ± 0.14	13.66 ± 1.05	15.32 ± 0.62	14.68 ± 0.52	13.30 ± 0.36	14.18 ± 0.45	13.98 ± 0.40	14.76 ± 0.45	13.86 ± 0.48
Thể tích trung bình hồng cầu (MCV) (fL)	48.76 ± 1.63	49.32 ± 1.48	49.22 ± 1.12	49.34 ± 0.82	48.18 ± 1.24	48.98 ± 1.03	49.06 ± 0.58	50.30 ± 0.77	48.12 ± 0.47
Huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) (pg)	14.58 ± 0.24	14.80 ± 0.91	14.95 ± 0.27	13.84 ± 0.28	13.58 ± 0.39	14.40 ± 0.32	14.04 ± 0.41	14.72 ± 0.18	13.98 ± 0.27
Nồng độ huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCHC) (g/dL)	29.30 ± 0.36	28.52 ± 0.53	29.62 ± 0.26	28.78 ± 0.46	28.70 ± 0.46	29.74 ± 0.21	29.70 ± 0.23	29.14 ± 0.24	29.72 ± 0.32
Tỷ lệ phân bố hồng cầu (RDW) (%)	22.26 ± 0.61	24.02 ± 1.02	21.16 ± 0.68	21.34 ± 0.51	22.94 ± 0.92	21.72 ± 0.83	21.76 ± 0.47	21.00 ± 0.79	22.56 ± 0.68
Số lượng bạch cầu (nghìn/µL)	9.93 ± 0.81	11.82 ± 0.72	10.06 ± 0.88	10.08 ± 0.37	9.07 ± 0.56	8.93 ± 0.77	9.83 ± 0.54	9.62 ± 1.02	10.17 ± 1.01
Số lượng tiểu cầu (K/µL)	806.60 ± 32.11	719.60 ± 43.27	741.00 ± 36.86	809.00 ± 23.94	716.20 ± 62.94	716.00 ± 84.45	849.80 ± 28.95	805.80 ± 74.82	808.20 ± 77.43
Chuột cái (n = 5)									
Số lượng hồng cầu (triệu/µL)	9.90 ± 0.15	10.27 ± 0.30	10.35 ± 0.20	9.74 ± 0.29	8.90 ± 0.48	9.36 ± 0.35	9.50 ± 0.18	9.54 ± 0.58	9.88 ± 0.42
Thể tích khối hồng cầu (Hct) (%)	49.82 ± 0.83	50.60 ± 0.84	50.94 ± 1.00	48.90 ± 0.51	48.38 ± 0.70	48.84 ± 1.29	49.76 ± 0.74	47.42 ± 1.53	49.12 ± 0.68
Hemoglobin (g/dL)	14.50 ± 0.35	15.28 ± 0.24	15.04 ± 0.33	14.22 ± 0.19	14.02 ± 0.44	14.74 ± 0.65	14.22 ± 0.49	14.28 ± 0.86	13.80 ± 0.81
Thể tích trung bình hồng cầu (MCV) (fL)	49.52 ± 0.75	49.44 ± 1.19	49.00 ± 0.39	49.58 ± 0.26	50.92 ± 0.53	49.80 ± 0.48	49.40 ± 1.20	49.44 ± 1.37	48.60 ± 0.75
Huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) (pg)	14.92 ± 0.35	15.02 ± 0.51	14.54 ± 0.23	14.62 ± 0.21	14.72 ± 0.37	15.04 ± 0.30	14.04 ± 0.37	13.82 ± 0.55	13.90 ± 0.51
Nồng độ huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCHC) (g/dL)	29.34 ± 0.25	29.06 ± 0.39	29.08 ± 0.31	29.32 ± 0.55	29.62 ± 0.83	30.14 ± 0.37	29.20 ± 0.48	27.92 ± 0.37	29.18 ± 0.48
Tỷ lệ phân bố hồng cầu (RDW) (%)	21.42 ± 0.43	20.82 ± 0.98	21.72 ± 0.30	21.24 ± 0.27	19.94 ± 0.69	20.36 ± 0.38	20.96 ± 0.47	22.82 ± 0.63	21.78 ± 0.68

Thông số	Chứng sinh lý			Mạn kinh liều 1 g/kg			Mạn kinh liều 2 g/kg		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Số lượng bạch cầu (nghìn/µL)	9.42 ± 0.32	9.94 ± 0.81	10.51 ± 0.58	9.83 ± 0.28	9.01 ± 0.73	8.52 ± 0.41	9.69 ± 0.27	10.18 ± 0.57	9.04 ± 0.41
Số lượng tiểu cầu (K/µL)	774.40 ± 21.13	761.40 ± 33.81	768.40 ± 44.32	802.00 ± 13.78	735.00 ± 32.96	784.40 ± 37.22	816.00 ± 23.49	753.00 ± 35.83	803.20 ± 64.92

Từ kết quả ở Bảng 2, so sánh trong từng lô giữa các thời điểm, giữa các lô ở cùng một thời điểm và cùng giới, có thể thấy số lượng hồng cầu, thể tích khối hồng cầu, hemoglobin, thể tích trung bình hồng cầu, huyết sắc tố trung bình hồng cầu, nồng độ huyết sắc tố trung bình hồng cầu, tỷ lệ phân bố hồng cầu, số lượng bạch cầu, tiểu cầu đều không có khác biệt giữa các lô thử nghiệm ($p > 0.05$).

3.2.3. Các chỉ số sinh hoá

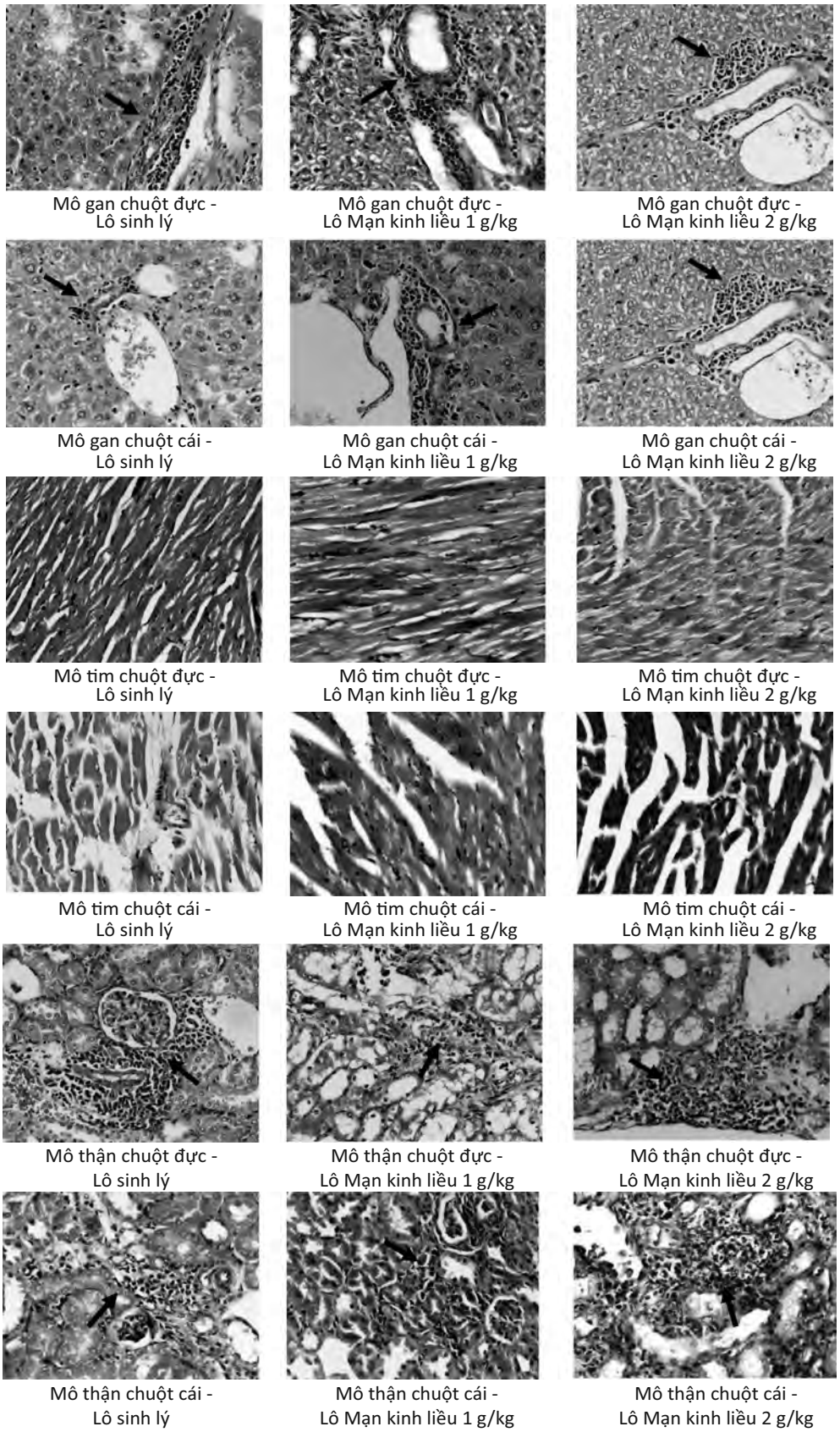
Bảng 3. Các chỉ số sinh hoá ở các lô chuột tại từng thời điểm thử nghiệm

Thông số	Chứng sinh lý			Mạn kinh liều 1 g/kg			Mạn kinh liều 2 g/kg		
	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày	Trước thử nghiệm	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
Chuột đực (n = 5)									
AST (U/L)	41.40 ± 1.47	44.60 ± 1.21	46.40 ± 2.64	44.60 ± 0.98	47.60 ± 1.25	44.20 ± 2.01	45.00 ± 1.30	46.00 ± 1.82	45.60 ± 2.20
ALT (U/L)	42.80 ± 1.46	44.80 ± 1.56	47.00 ± 1.34	44.00 ± 1.05	48.00 ± 2.88	43.60 ± 2.60	46.00 ± 1.70	48.60 ± 3.20	45.00 ± 2.72
Creatinin (mg/dL)	0.62 ± 0.04	0.66 ± 0.02	0.68 ± 0.04	0.64 ± 0.05	0.70 ± 0.04	0.68 ± 0.04	0.66 ± 0.05	0.72 ± 0.04	0.72 ± 0.04
Ure (mg/dL)	6.84 ± 0.14	7.02 ± 0.19	6.90 ± 0.13	6.90 ± 0.11	6.78 ± 0.12	6.70 ± 0.31	6.88 ± 0.22	6.90 ± 0.10	6.82 ± 0.24
Triglycerid (mg/dL)	105.40 ± 3.74	110.00 ± 4.36	108.00 ± 3.08	111.80 ± 4.47	107.60 ± 3.96	110.20 ± 5.27	103.60 ± 4.27	113.20 ± 5.90	102.40 ± 3.25
Protein (mg/dL)	7.20 ± 0.24	7.12 ± 0.10	6.98 ± 0.15	6.94 ± 0.15	6.84 ± 0.18	7.08 ± 0.24	7.04 ± 0.07	6.86 ± 0.14	7.02 ± 0.22
Chuột cái (n = 5)									
AST (U/L)	46.00 ± 1.30	46.80 ± 1.07	47.80 ± 1.62	46.20 ± 2.71	46.60 ± 2.11	46.40 ± 1.50	47.40 ± 1.21	48.20 ± 2.54	48.20 ± 1.39
ALT (U/L)	46.20 ± 1.36	47.00 ± 0.84	45.40 ± 1.25	44.00 ± 2.35	49.20 ± 1.16	46.60 ± 3.44	46.40 ± 1.86	49.60 ± 1.21	46.00 ± 1.73
Creatinin (mg/dL)	0.66 ± 0.02	0.70 ± 0.05	0.70 ± 0.03	0.72 ± 0.05	0.66 ± 0.04	0.72 ± 0.02	0.70 ± 0.03	0.70 ± 0.04	0.70 ± 0.03
Ure (mg/dL)	7.08 ± 0.26	6.98 ± 0.25	6.96 ± 0.14	6.68 ± 0.12	7.04 ± 0.39	6.84 ± 0.16	6.80 ± 0.12	6.92 ± 0.16	6.90 ± 0.10
Triglycerid (mg/dL)	104.00 ± 5.61	100.80 ± 3.97	102.20 ± 5.14	105.60 ± 3.47	108.20 ± 3.51	106.00 ± 3.62	103.20 ± 3.53	105.80 ± 3.89	109.60 ± 3.39
Protein (mg/dL)	6.88 ± 0.14	6.92 ± 0.10	6.80 ± 0.12	6.90 ± 0.19	6.94 ± 0.11	7.04 ± 0.08	6.82 ± 0.16	6.88 ± 0.11	7.28 ± 0.11

Từ kết quả ở Bảng 3, so sánh trong từng lô giữa các thời điểm, giữa các lô ở cùng một thời điểm và cùng giới, cho thấy nồng độ AST, ALT, ure, creatinin, protein và triglycerid không có sự khác biệt giữa các lô thử nghiệm ($p > 0.05$).

3.2.4. Các mẫu cơ quan nội tạng (gan, tim, thận)

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy trọng lượng tương đối các cơ quan gan, tim và thận của các lô chuột uống cao chiết Mạn kinh ở cả 2 liều 1 và 2 g/kg đều không có sự khác biệt thống kê so với lô chứng sinh lý cùng giới sau 2 tháng thử nghiệm ($p > 0.05$).



Hình 1. Mô học gan, tim và thận chuột ở các lô thử nghiệm (X40)

Ký hiệu: ➞ *Viêm*

Bảng 4. Trọng lượng tương đối của các cơ quan chuột ở các lô thử nghiệm

Lô chuột	Trọng lượng tương đối (g %)		
	Gan	Tim	Thận
Chuột đực (n = 5)			
Chứng sinh lý	4.92 ± 0.06	0.42 ± 0.01	1.03 ± 0.03
Mạn kinh liều 1 g/kg	4.76 ± 0.26	0.43 ± 0.03	1.06 ± 0.07
Mạn kinh liều 2 g/kg	4.75 ± 0.18	0.41 ± 0.03	1.05 ± 0.05
Chuột cái (n = 5)			
Chứng sinh lý	5.15 ± 0.33	0.44 ± 0.04	1.05 ± 0.06
Mạn kinh liều 1 g/kg	4.65 ± 0.23	0.45 ± 0.03	1.02 ± 0.08
Mạn kinh liều 2 g/kg	4.51 ± 0.32	0.46 ± 0.02	1.06 ± 0.06

Kết quả ở Hình 1 cho thấy mô học gan, tim và thận của các lô cho uống cao chiết Mạn kinh liều 1 và 2 g/kg sau 60 ngày, không có sự khác biệt so với lô chứng sinh lý. Mô gan ở lô sinh lý và lô thử mẫu không có hiện tượng xơ hóa khoảng cửa, thoái hóa mỡ, thoái hóa nước, ứ mật tế bào gan, vôi hóa ống mật cũng như không có dấu hiệu hoại tử quanh khoảng cửa - quanh tĩnh mạch trung tâm, cả lô chứng sinh lý và lô uống cao chiết Mạn kinh ở cả 2 liều thử nghiệm đều có dấu hiệu viêm quanh khoảng cửa rất ít và chưa rõ nguyên nhân. Mô tim trong giới hạn bình thường, không thấy có sự tổn thương tế bào nội mô mạch máu, không thấy xơ hóa mô kẽ cơ tim cũng như sung huyết. Mô thận ở lô sinh lý cũng như lô thử mẫu không thấy bất thường tại cầu thận và ống thận, không thấy có dấu hiệu sỏi thận, tế bào ống thận bình thường, có ít và rất ít viêm mô kẽ thận cũng như hiện tượng thấm nhập lympho bào rất ít.

4. BÀN LUẬN

Nghiên cứu độc tính cấp đóng vai trò nền tảng trong đánh giá độ an toàn của các dược liệu mới trước khi tiến hành các thử nghiệm lâm sàng hoặc ứng dụng rộng rãi. Thông qua việc xác định mức liều tối đa có thể dung nạp và ước tính giá trị LD_{50}, nghiên cứu độc tính cấp giúp phát hiện các biểu hiện độc tính sớm, xác lập khoảng liều an toàn và đánh giá các nguy cơ tiềm ẩn. Cao chiết ethanol 70% từ cành lá cây Mạn kinh không cho thấy độc tính cấp đường uống trên chuột thử nghiệm với liều D_{max} là 30.84 g/kg. Độc tính bán trường diễn là một trong những nghiên cứu quan trọng nhằm đánh giá mức độ an toàn của dược liệu khi sử dụng trong thời gian dài. Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), việc đánh giá độc tính bán trường diễn giúp xác định liều lượng an toàn, phát hiện các tác dụng không mong muốn và cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng dược liệu trong y học [12]. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá ảnh hưởng của cao chiết ethanol 70% từ cành lá cây Mạn kinh trên động vật thực nghiệm, từ đó góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng dược liệu này trong điều trị. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chuột được cho uống cao chiết Mạn kinh với liều 1 và 2 g/kg trong 60 ngày không có sự thay đổi đáng kể về trọng lượng cơ thể so với nhóm chứng sinh lý. Điều này cho thấy rằng cao chiết Mạn kinh không ảnh hưởng trên sự phát triển bình thường về cân nặng của chuột đực và chuột cái. Nghiên cứu của Lee và cộng sự (2021) cho thấy rằng cao chiết ethanol 30% từ quả *Vitex rotundifolia* có thể giúp cải thiện tình trạng tăng cân liên quan đến rối loạn nội tiết[13]. Điều này gợi ý rằng một số hợp chất trong cao chiết có thể ảnh hưởng đến điều hòa cân nặng trong một số điều kiện sinh lý nhất định. Ngoài ra, một nghiên cứu khác về độc tính đường uống với liều lặp lại trong 90 ngày của cao chiết từ *Vitex megapotamica* trên chuột *Wistar* ghi nhận không có sự thay đổi đáng kể về trọng lượng cơ thể giữa các nhóm thử nghiệm [14]. Mặc dù nghiên cứu này không thực hiện trên *Vitex rotundifolia* nhưng kết quả này gợi ý rằng chiết xuất từ các loài *Vitex* có thể có mức độ an toàn cao đối với sự thay đổi trọng lượng cơ thể khi sử dụng trong thời gian dài.

Kết quả các thông số huyết học trong thử nghiệm bao gồm số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, nồng độ hemoglobin và các chỉ số khác không có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm chuột uống cao chiết Mạn kinh và nhóm chứng sinh lý. Điều này cho thấy cao chiết Mạn kinh không gây ảnh hưởng đến hệ tạo máu hay hệ miễn dịch của chuột trong suốt thời gian nghiên cứu. Tuy nhiên, một số nghiên cứu về độc tính của các loài dược liệu khác cho thấy rằng việc sử dụng liều cao có thể ảnh hưởng đến các chỉ số huyết học, chẳng hạn như nghiên cứu của Sergalieva và cộng sự (2022) trên *Astragalus vulpinus* cho thấy khi

sử dụng liều cao (4,000 mg/kg), số lượng bạch cầu giảm đáng kể, đồng thời có sự thay đổi ở niêm mạc dạ dày[15]. Ngoài ra, nghiên cứu của Bae và cộng sự (2013) cho thấy cao chiết từ *Vitex rotundifolia* với liều 100 mg/kg có khả năng giảm sự gia tăng của bạch cầu ái toan và bạch cầu lympho trong mô hình viêm đường hô hấp ở chuột, gợi ý rằng dược liệu này có thể có tác động điều hòa miễn dịch. Điều này cũng có thể giải thích lý do cao chiết Mạn kinh không gây thay đổi đáng kể đến các chỉ số huyết học trong nghiên cứu hiện tại [16]. Hussein (2007) đã tiến hành một nghiên cứu trên chuột sử dụng cao chiết ethanol của *Vitex agnuscastus* và ghi nhận sự giảm đáng kể số lượng hồng cầu, hematocrit và hemoglobin khi sử dụng liều 6 mg và 12 mg/chuột, tiêm phúc mô trong 14 ngày[17]. Điều này gợi ý rằng một số loài thuộc chi *Vitex* có thể ảnh hưởng đến quá trình tạo máu khi sử dụng với liều cao hoặc trong thời gian dài. Do đó, vẫn cần có thêm các nghiên cứu dài hạn với liều cao hơn để đánh giá tác động có thể có của cao chiết Mạn kinh trên cơ quan tạo máu.

Nếu các chỉ số sinh hóa bị rối loạn có thể là biểu hiện của các bệnh lý nghiêm trọng. Chỉ số men gan (AST, ALT) tăng cao có thể liên quan đến các bệnh như gan nhiễm mỡ, viêm gan virus, xơ gan hoặc tổn thương gan do thuốc. Tăng ure và creatinin là dấu hiệu của suy thận mạn, tổn thương thận cấp hoặc bệnh lý liên quan đến thận như hội chứng thận hư. Tăng triglycerid có thể gây ra rối loạn lipid máu, bệnh tim mạch và xơ vữa động mạch. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc sử dụng cao chiết từ cây Mạn kinh với liều 1 và 2 g/kg trong 60 ngày không gây ảnh hưởng đáng kể đến các chỉ số sinh hóa của chuột thí nghiệm. Sự ổn định của các chỉ số này cho thấy cao chiết Mạn kinh không có tác động gây tổn thương gan và thận trong thời gian sử dụng kéo dài.

Các cơ quan như gan, thận và tim đóng vai trò thiết yếu trong việc duy trì cân bằng sinh lý và chuyển hóa của cơ thể. Khi một mẫu thử (như thuốc mới, hợp chất hóa học hay chiết xuất sinh học) gây độc tính lên các cơ quan này, hậu quả có thể rất nghiêm trọng. Tổn thương gan thường xảy ra do sự tích tụ của các chất trung gian phản ứng trong quá trình chuyển hóa, gây ra stress oxy hóa, hoại tử hoặc apoptosis tế bào gan. Theo nghiên cứu của Kaplowitz (2005), các chất độc có thể gây "Drug-induced liver injury (DILI)" (tổn thương gan do thuốc) và đây là nguyên nhân chính khiến nhiều thuốc bị rút khỏi thị trường[18]. Thận là cơ quan lọc thải chính, khi chịu tác động độc có thể dẫn đến suy thận cấp, tổn thương ống thận hoặc viêm cầu thận. Một số chất có thể gây rối loạn dẫn truyền tim hoặc độc tính trực tiếp lên tế bào cơ tim, dẫn đến suy tim hoặc tử vong. Trong nghiên cứu này, hình ảnh mô học của các cơ quan quan trọng như gan, thận và tim ở chuột sau khi được sử dụng cao chiết Mạn kinh trong 60 ngày cho thấy không có tổn thương mô học đáng kể. Cấu trúc mô được duy trì tương đối ổn định, không ghi nhận hiện tượng hoại tử, viêm, xơ hóa hay biến dạng tế bào rõ rệt. Một nghiên cứu khác về độc tính của cao chiết ethanol từ lá *Vitex trifolia* cũng không cho thấy dấu hiệu bất thường trên các cơ quan quan trọng này [19]. Các kết quả này cho thấy cao chiết ethanol 70% từ cành lá Mạn kinh có tiềm năng sử dụng an toàn trong thời gian bán trường diễn (60 ngày). Tuy nhiên, cần tiếp tục nghiên cứu dài hạn và đánh giá trên lâm sàng để khẳng định tính an toàn tuyệt đối của cao chiết Mạn kinh, hướng đến các nghiên cứu ứng dụng.

5. KẾT LUẬN

Cao chiết ethanol 70% từ cành lá cây Mạn kinh không có độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino* với liều D_{max} là 30.84 g/kg. Cao chiết ethanol 70% từ cành lá cây Mạn kinh ở liều 1 và 2 g/kg thể trọng không gây ảnh hưởng đến sự phát triển trọng lượng chuột, không làm biến đổi các chỉ số huyết học, chỉ số chức năng gan (AST, ALT), chức năng thận (ure, creatinin), triglycerid và protein cũng như không gây thay đổi về trọng lượng tương đối và tổ chức mô học của mô gan, tim, thận trong thực nghiệm khảo sát độc tính bán trường diễn trên chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino* trong 60 ngày uống liên tục.

LỜI CÁM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ kinh phí từ Sở Khoa học và Công nghệ Ninh Thuận, hợp đồng số 14/2021/HĐ-SKHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] V. V. Chi, *Từ điển cây thuốc Việt Nam tập 2*. Nhà xuất bản Y Học, 2022.

[2] C. X. Yan, Y. W. Wei, H. Li, . . . X. Ren, "*Vitex rotundifolia* L. f. and *Vitex trifolia* L.: A review on their

traditional medicine, phytochemistry, pharmacology," *Journal of Ethnopharmacology,* Vol. 308, pp. 116273, 2023. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116273.

[3] B. T. Lam, H. T. Ly, H. T. Tran and V. M. Le, "Investigation of the main active ingredients of *Vitex rotundifolia* Lf and assessment of their contribution to the activity of this species," *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, Vol. 15, pp. 100608, 2025. DOI: 10.1016/j.prmcm.2025.100608.

[4] J. Kim, Y. H. Seo, J. Kim, . . . J. H. Ryu, "Casticin ameliorates scopolamine-induced cognitive dysfunction in mice," *Journal of Ethnopharmacology,* Vol. 259, pp. 112843, 2020. DOI: 10.1016/j.jep.2020.112843.

[5] Z. Y. Cheng, Y. T. Hsiao, Y. P. Huang, . . . J. G. Chung, "Casticin induces DNA damage and affects dna repair associated protein expression in human lung cancer A549 cells," *Molecules,* Vol. 25, No. 2, 2020. DOI: 10.3390/molecules25020341.

[6] N. V. Tirpude, A. Sharma and N. Bhardwaj, "Agnuside mitigates OVA-LPS induced perturbed lung homeostasis via modulating infLammatory, autophagy, apoptosis-fibrosis response and myeloid lineages in mice model of allergic asthma," *International Immunopharmacology,* Vol. 106, pp. 108579, 2022,. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.108579.

[7] X. J. Ding, X. M. Cai, Q. Q. Wang, N. Liu, W. L. Zhong, X. N. Xi and Y. X. Lu, "Vitexicarpin suppresses malignant progression of colorectal cancer through affecting c-Myc ubiquitination by targeting IMPDH2," *Phytomedicine,* Vol. 132, pp. 155833, 2024. DOI: 10.1016/j.phymed.2024.155833.

[8] H. T. Van, V. T. H. Tran, N. H. N. Ton, T. N. Luu, N. T. A. Huynh and V. S. Le, "Chemical constituents and antibacterial activity of essential oil of *Vitex rotundifolia* from Southern Vietnam," *Banat's Journal of Biotechnology*, Vol. 11, No. 22, pp. 22-29, 2020. DOI: 10.7904/2068-4738-XI(22)-22.

[9] Bộ Y tế - Việt Nam, *"Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT về việc ban hành tài liệu chuyên môn Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc Đông y, thuốc từ Dược liệu,"* ngày 27/10/2015.

[10] Organization of Economic Co-operation and Development - OECD, *"The OECD Guideline for Testing of Chemicals: Test Guideline No. 425 Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure,"* 1-29, 2022.

[11] Đ. T. Đàm, *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học, 2014, pp. 11- 190.

[12] World Health Organization (WHO). "General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine", 12 November 2000.

[13] J. H. Lee, S. Lee, Q. N. Nguyen, . . . K. S. Kang, "Identification of the active ingredient and beneficial effects of *Vitex rotundifolia* fruits on menopausal symptoms in ovariectomized rats," *Biomolecules,* Vol. 11, No. 7, 2021. DOI: 10.3390/biom11071033.

[14] R. d. C. L. Ribeiro, G. Donadel, M. L. Ames, . . . E. L. B. Lorenço, "Repeated dose 90-day oral toxicity study of *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke," *Drug and Chemical Toxicology,* Vol. 45, No. 4, pp. 1787-1795, 2022. DOI: 10.1080/01480545.2021.1878209.

[15] M. Sergalieva, A. Tsibizova, O. Bashkina and M. Samotrueva, "Study of acute toxicity of an herbal extract of *Astragalus vulpinus*," *Preclinical Research in Biomedicine*, Vol. 18, No. 4, pp. 86-93, 2022. DOI: 10.33647/2074-5982-18-4-86-93.

[16] H. Bae, Y. Kim, E. Lee, . . . J. Kim, "*Vitex rotundifolia* L. prevented airway eosinophilic infLammation and airway remodeling in an ovalbumin-induced asthma mouse model," *International Immunology,* Vol. 25, No. 3, pp. 197-205, 2013. DOI: 10.1093/intimm/dxs102.

[17] M. a. a. Hussein, "Effect of *Vitex agnuscastus* extract on some physiological parameters of mice (*Mus Musculus* L.)," *The Medical Journal of Basrah University,* Vol. 25, No. 2, pp. 57-59, 2007. DOI: 10.33762/mjbu.2007.48269.

[18] N. Kaplowitz, "Idiosyncratic drug hepatotoxicity," *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 4, No. 6, pp. 489-99, 2005. DOI: 10.1038/nrd1750.

[19] Susanto, E. K. Winarno and H. Winarno, "Acute toxicity test of ethanol extract of gamma irradiated *Vitex trifolia* L. leaves," in *AIP Conference Proceedings*, 2024, Vol. 3074, No. 1: AIP Publishing.

Investigating the acute and subchronic oral toxicity of *Vitex rotundifolia L.f* extract

Tran Vien Thong, Ly Hai Trieu, Nguyen Hoang Minh, Hoang Thi Phuong Thao, Le Van Minh

ABSTRACT

Objective: Investigating the acute and subchronic oral toxicity of 70% ethanol extract from the twigs and leaves of Vitex rotundifolia L.f in mice (Swiss albino). Methods: Acute oral toxicity was assessed using the maximum administrable dose via specialized oral gavage in mice. Subchronic toxicity was evaluated at doses of 1 and 2 g/kg administered daily for 30 and 60 days. Results: No abnormal clinical signs or mortality were observed in mice following administration of the extract at the maximum dose of 30.84 g/kg (D_{max}), indicating that the LD_{50} value could not be determined. During the 60 days subchronic toxicity study, mice receiving the extract at both tested doses exhibited no significant changes in hematological parameters, hepatic function (AST, ALT), renal function (urea, creatinine) markers, plasma triglyceride, and total protein levels as well as liver, heart, and kidney tissue structure compared to the control group. Conclusion: The 70% ethanol extract from Vitex rotundifolia L.f twigs and leaves exhibited no acute oral toxicity at a D_{max} of 30.84 g/kg and did not adversely affect hematopoietic, hepatic, cardiac or renal functions in Swiss albino mice after 60 days of oral administration.

Keywords: *Vitex rotundifolia L.f, twigs and leaves, acute oral toxicity, subchronic oral toxicity, Swiss albino*

Received: 15/5/2025
Revised: 04/6/2025
Accepted for publication: 05/6/2025