

Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cao chiết từ quế linh chi (*Humphreya endertii*)

Nguyễn Ngọc Minh¹, Nỗ Duy Pháp¹,
Lưu Văn Luân¹ và Nguyễn Hoàng Minh^{2*}

¹Ban Quản lý Vườn quốc gia Phước Bình

²Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên chuột nhắt trắng (Swiss albino) của cao chiết nước từ quế linh chi (QLC). **Phương pháp:** Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn được thực hiện theo Hướng dẫn của Quyết định số 141/QĐ-BYT ngày 27/10/2015 của Bộ Y tế. **Kết quả:** QLC với liều cao nhất cho chuột uống là 23.23 g/kg nên không xác định LD₅₀ của QLC trên chuột nhắt trắng. Chuột nhắt trắng uống QLC liên tục trong 60 ngày với 2 mức liều 250 mg/kg- 500 mg/kg không gây ảnh hưởng đến số lượng hồng cầu, bạch cầu, hàm lượng hemoglobin, hoạt độ enzym AST-ALT, hàm lượng triglycerid, protein, creatinin và ure trong huyết tương, không gây biến đổi về mô bệnh học của tế bào tim, gan, thận trên chuột nghiên cứu. **Kết luận:** QLC không gây độc tính cấp trên chuột nhắt trắng với liều cao nhất cho chuột uống là: 23.23 g/kg thể trọng chuột và không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu, chức năng tim, gan, thận của chuột nhắt trắng thí nghiệm sau 60 ngày nghiên cứu.

Từ khóa: quế linh chi, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quế linh chi (*Humphreya endertii*)-chi nấm *Humphreya* được ghi nhận đầu tiên tại Vườn quốc gia Cát Tiên tỉnh Đồng Nai [1]. Từ năm 2016 đến 2020, tại Vườn quốc gia Phước Bình đã tiến hành nhiệm vụ bảo tồn gen nấm quế linh chi (QLC). Kết quả đã xác định mười loài Linh Chi có phân bố tại Vườn quốc gia Phước Bình, trong đó có loài quế linh chi *Humphreya endertii*. quế linh chi có nguồn gốc từ Vườn quốc gia Phước Bình có hiệu lực gây độc trên hai dòng tế bào ung thư phổi. Bên cạnh đó, QLC còn có khả năng kháng khuẩn kim hãm sinh trưởng 6 chủng vi khuẩn gây bệnh kiểm định *Bacillus Cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* [2, 3]. Năm 2020, PSG.TS Đặng Ngọc Quang - Khoa Hóa học của Đại học Sư Phạm Hà Nội cùng các cộng sự đã tiến hành nghiên cứu các hợp chất trong QLC và xác định có hai loại lanostan triterpenoid quan trọng là Endertiins A-B có tác dụng ức chế hai dòng tế bào ung thư vú MCF7 và ung thư phổi LU [4].

Điều này cho thấy rằng quế linh chi là loài dược liệu quý có nhiều dược tính, tuy nhiên vấn đề an toàn khi sử dụng cần phải được chú ý. Vì thế, khảo sát tính an toàn của cao chiết từ quế linh chi trong một thời gian dài sau khi uống để làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo là rất cần thiết.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nấm quế linh chi (*Humphreya endertii*) được thu hoạch vào tháng 8/8/2023 tại thôn Gia Í, xã Phước Bình, huyện Bắc Ái, tỉnh Ninh Thuận, được định danh bởi PGS.TS Lê Xuân Thám, được lưu mẫu tại Vườn quốc gia Phước Bình (Mã tiêu bản: PB. nam 01). Mẫu được rửa sạch được sấy ở 50°C (đến khi độ ẩm nguyên liệu không quá 13%) và xay nhỏ thành bột đến kích thước 2 mm. Bột nguyên liệu được chiết nóng bằng nước cất (theo tỷ lệ 1:20) và theo được dịch chiết; sau đó các dịch chiết được cô cách thủy để thu được cao chiết nước từ quế linh chi (QLC) (độ ẩm cao đặc là 20% theo quy định của

Tác giả liên hệ: ThS. Nguyễn Hoàng Minh

Email: hoangminhtkd90@gmail.com

Dược điển Việt Nam V) để thực hiện các thử nghiệm tiếp theo. Độ ẩm QLC là 18.50%, hiệu suất chiết QLC là 10.25% (tính trên dược liệu khô kiệt).

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 – Tp. Hồ Chí Minh. Thức ăn chuột được cung cấp bởi Viện Vắc xin và sinh phẩm Y tế Nha Trang. Thể tích cho uống (p.o.) là 10 mL/kg trọng lượng chuột. Các thí nghiệm trên động vật nghiên cứu được thực hiện theo Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu của Bộ Y tế (Ban hành kèm theo quyết định số 141/QĐ – K2ĐT ngày 27/10/2015).

2.3. Hóa chất, thuốc thử nghiệm- Thiết bị

Hóa chất- thuốc thử: Các bộ kit định lượng AST, ALT, creatinine, 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

Dựa theo tài liệu “Phương pháp xác định độc tính của thuốc” của tác giả Đỗ Trung Đàm và quy tắc 3R trong việc sử dụng động vật thí nghiệm, tiến hành cho chuột được nhịn đói 14 giờ trước khi thử nghiệm. Thử nghiệm 10 chuột (gồm 5 con chuột đực và 5 con chuột cái) được cho uống QLC với liều đậm đặc 23.23 g/kg (liều sơ khởi có thể qua kim đầu tù) với thể tích 0.2 mL/10 g trọng lượng chuột; lô chứng sinh lý uống nước cất được thực hiện song song kèm theo. Theo dõi tỷ lệ chuột chết và hành vi của chuột trong 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 mẫu thử, số chuột trong lô thử nghiệm vẫn bảo toàn, xác định liều cao nhất có thể bõm qua kim mà không làm chết chuột. Liều này được ký hiệu là 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 mẫu thử, tỷ lệ tử vong là 100% thì cần xác định liều tối thiểu gây chết 100% chuột (LD_{100}). Tính toán và gây các lô thử

nghiệm với các liều giảm dần theo cấp số để tiếp tục 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 mẫu thử, phân suất tử vong thấp hơn 100%, không xác định được liều gây chết tuyệt đối. 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 $1/10 LD_0$ [5 - 7].

2.4.2. Thử nghiệm độc tính bán trường diễn

Mục đích: Khảo sát tính an toàn của QLC trong một thời gian dài sau khi uống, nếu có độc tính thì không được sử dụng lâu dài.

Chia lô thí nghiệm (n=10 gồm: 5 con đực, 5 con cái): lô chứng cho chuột uống nước cất, lô thử cho chuột uống QLC (250 mg/kg và 500 mg/kg), thể tích cho uống là 10 mL/kg thể trọng chuột. Chuột uống liên tục trong vòng 2 tháng. Lấy máu ở đuôi chuột để đánh giá các chỉ số sinh hóa. Thời điểm xét nghiệm: Sau 30 ngày, sau 60 ngày; riêng các xét nghiệm đại thể lấy gan, tim, thận tiến hành lúc sau kết thúc thí nghiệm 60 ngày.

Các chỉ tiêu đánh giá: Trọng lượng cơ thể chuột, thông số huyết học (số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, tiểu cầu, hemoglobin), AST, 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 Bản). 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., Đức) 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 (sau 60 ngày) để quan sát vi thể (30% tổng số chuột mỗi lô) [6].

2.5. Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu hiện bằng giá trị trung bình: $M \pm SEM$ (Standard error of the mean – sai số chuẩn của giá trị trung bình) và được xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One – Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student – Newman – Keuls test (Phần mềm SigmaStat 3.5, USA). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0.05$.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả độc tính cấp đường uống

Ghi nhận sau 72 giờ thử nghiệm và sau 14 ngày uống QLC liều 23.23 g cao/kg thể trọng chuột thì số lượng

chuột thử nghiệm có phân suất tử vong là 0%. Theo dõi quan sát hành vi và thể trạng tổng quát chuột thử nghiệm cho thấy không có triệu chứng hành vi bất thường nào trên chuột thử nghiệm.

Bảng 1. Sự thay đổi trọng lượng chuột trước và sau khi uống QLC liều 23.23 g cao/kg 14 ngày

Thời điểm	Trọng lượng chuột (%)			
	QLC liều 23.23 g cao/kg		Lô chứng sinh lý	
	Chuột đực (n = 5)	Chuột cái (n = 5)	Chuột đực (n = 5)	Chuột cái (n = 5)
Trước thử nghiệm	22.60 ± 0.40	22.80 ± 0.49	22.60 ± 0.68	23.00 ± 0.71
Sau thử nghiệm	27.00 ± 0.71*	27.20 ± 0.73*	26.80 ± 0.58*	27.00 ± 0.45*

(*) : $P < 0.05$ vs trước thử nghiệm cùng giống trong cùng lô thử nghiệm

Sau 14 ngày uống mẫu thử, trọng lượng cơ thể chuột của các lô thử có xu hướng tăng cân khác biệt so với trọng lượng chuột cùng giới cùng lô ngày 1 ($p < 0.05$). Chuột đực thử nghiệm là chuột đực và cái 6 tuần tuổi, đang trong giai đoạn tăng trưởng và phát triển nên thể trọng chuột của lô chứng sinh lý và lô thử sau 14 ngày thử nghiệm tăng so với trước thử nghiệm. Tuy nhiên trọng lượng chuột của lô QLC liều 23.23 g cao/kg không khác biệt so với lô chứng sinh lý cùng giới cùng thời điểm khảo sát. Điều này cho thấy QLC liều 23.23 g cao/kg không ảnh hưởng đến sự phát triển của chuột.

Như vậy, nghiên cứu đã xác định được liều D_{max} của QLC là 23.23 g cao/kg không có độc tính cấp trên đường uống ở chuột nhắt trắng, từ đó suy ra liều

an toàn $D_s = 1/5D_{max} = 4.65$ g/kg. Nghiên cứu lựa chọn 2 liều thử nghiệm dược lý của QLC trên chuột nhắt trắng như sau:

- Liều thử nghiệm 1: 250 mg cao/kg thể trọng chuột (~1/20 D_s , tương đương 2.5 g dược liệu/kg thể trọng chuột).
- Liều thử nghiệm 2: 500 mg cao/kg thể trọng chuột (~1/10 D_s , tương đương 5 g dược liệu/kg thể trọng chuột).

3.2. Kết quả độc tính bán trường diễn

Tình trạng chuột: Trong 60 ngày thí nghiệm, chuột ở các nhóm đều hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, ăn uống tốt, phân khô, lông mượt, không có chuột bị chết hoặc có biểu hiện bất thường.

Bảng 2. Chỉ số huyết học của các lô chuột thử nghiệm

Lô	Chứng sinh lý			QLC liều 250 mg/kg			QLC liều 500 mg/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
Giống đực (n = 5)									
Số lượng Hồng cầu (triệu/μL)	9.47 ± 0.14	9.67 ± 0.25	9.83 ± 0.10	9.42 ± 0.48	8.90 ± 0.33	8.69 ± 0.61	9.24 ± 0.26	8.69 ± 0.40	9.77 ± 0.07
Hemoglobin (g/dL)	14.38 ± 0.40	15.64 ± 0.22	15.84 ± 0.47	14.84 ± 0.22	14.62 ± 0.66	13.30 ± 1.00	14.70 ± 0.18	13.74 ± 0.75	14.84 ± 0.13
Số lượng bạch cầu (nghìn/μL)	8.71 ± 0.08	8.78 ± 0.39	8.38 ± 0.82	8.82 ± 0.28	7.59 ± 0.12	8.57 ± 0.57	8.70 ± 0.25	7.43 ± 0.47	7.93 ± 0.90
Số lượng tiểu cầu (K/μL)	872.20 ± 24.38	859.00 ± 39.84	917.00 ± 69.54	877.40 ± 36.29	728.20 ± 31.98	779.40 ± 78.38	869.20 ± 50.33	792.80 ± 77.13	860.20 ± 79.07

Lô	Chứng sinh lý			QLC liều 250 mg/kg			QLC liều 500 mg/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
Giống cái (n = 5)									
Số lượng Hồng cầu (triệu/ μ L)	9.27 \pm 0.21	9.77 \pm 0.45	9.38 \pm 0.42	9.68 \pm 0.08	8.94 \pm 0.43	8.48 \pm 0.30	9.47 \pm 0.16	8.92 \pm 0.25	8.66 \pm 0.31
Hemoglobin (g/dL)	14.46 \pm 0.17	14.44 \pm 0.98	14.26 \pm 0.54	14.88 \pm 0.30	14.16 \pm 0.74	12.52 \pm 0.36	14.78 \pm 0.06	13.44 \pm 0.78	13.22 \pm 0.56
Số lượng bạch cầu (nghìn/ μ L)	9.08 \pm 0.24	9.82 \pm 0.84	9.53 \pm 0.49	9.28 \pm 0.27	9.38 \pm 0.67	8.17 \pm 0.55	8.78 \pm 0.15	8.11 \pm 0.28	8.26 \pm 0.19
Số lượng tiểu cầu (K/ μ L)	829.40 \pm 23.99	810.20 \pm 35.51	849.20 \pm 51.91	848.40 \pm 13.85	740.60 \pm 28.29	719.60 \pm 24.16	862.60 \pm 6.38	739.00 \pm 15.28	740.20 \pm 40.85

Số lượng và chất lượng các tế bào máu phản ánh tình trạng của cơ quan tạo máu. Nếu mẫu thử tác động đến cơ quan tạo máu sẽ làm thay đổi số lượng và chất lượng các tế bào máu [8]. So sánh kết quả trong Bảng 2, theo từng lô giữa các thời điểm và giữa các lô ở cùng một thời điểm cùng giới thấy rằng số lượng hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu không khác biệt giữa các lô thử

nhằm. Như vậy, mẫu QLC ở cả 2 liều thử nghiệm 250 mg/kg và 500 mg/kg cho chuột uống liên tục trong thời gian 30 ngày và 60 ngày không ảnh hưởng tới số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu. Chứng tỏ mẫu QLC an toàn với chức năng tạo máu khi dùng kéo dài. Điều đó chứng tỏ QLC không thể hiện độc tính trên cơ quan tạo máu.

Bảng 3. Các chỉ số sinh hóa và trọng lượng cơ thể của các lô chuột thử nghiệm

Lô	Chứng sinh lý			QLC liều 250 mg/kg			QLC liều 500 mg/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
Giống đực (n = 5)									
AST (U/L)	53.00 \pm 0.55	59.00 \pm 1.52	60.60 \pm 2.42	55.80 \pm 1.02	57.80 \pm 2.99	61.00 \pm 1.22	53.20 \pm 1.77	58.00 \pm 2.74	61.00 \pm 3.13
ALT (U/L)	53.20 \pm 2.20	56.00 \pm 2.76	59.40 \pm 4.78	52.40 \pm 1.63	55.80 \pm 4.18	59.60 \pm 3.68	51.20 \pm 2.35	51.00 \pm 2.68	54.60 \pm 5.19
Creatinine (mg/dL)	0.70 \pm 0.03	0.66 \pm 0.07	0.64 \pm 0.02	0.66 \pm 0.02	0.60 \pm 0.04	0.58 \pm 0.04	0.70 \pm 0.03	0.58 \pm 0.04	0.58 \pm 0.02
Ure (mg/dL)	65.62 \pm 0.84	68.54 \pm 4.06	63.64 \pm 3.80	64.10 \pm 1.52	64.02 \pm 3.99	60.36 \pm 4.57	65.66 \pm 1.21	66.62 \pm 3.97	63.24 \pm 5.56
Triglycerid (mg/dL)	70.20 \pm 2.15	71.20 \pm 5.25	71.60 \pm 2.48	69.20 \pm 2.60	82.80 \pm 3.51*	77.40 \pm 4.45	67.60 \pm 2.18	76.00 \pm 3.74	72.40 \pm 5.14
Protein (mg/dL)	6.26 \pm 0.15	5.94 \pm 0.29	6.10 \pm 0.25	6.12 \pm 0.12	5.86 \pm 0.11	6.00 \pm 0.27	6.10 \pm 0.06	5.76 \pm 0.18	6.22 \pm 0.28
Trọng lượng cơ thể chuột (g)	21.20 \pm 0.37	24.40 \pm 0.87**	27.40 \pm 0.93***	20.80 \pm 0.37	24.20 \pm 0.20***	26.40 \pm 0.24***	21.00 \pm 0.45	24.60 \pm 0.75**	27.60 \pm 0.40***

Lô	Chứng sinh lý			QLC liều 250 mg/kg			QLC liều 500 mg/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
Giống cái (n = 5)									
AST (U/L)	50.00 ± 1.55	56.40 ± 2.82	60.20 ± 3.22	55.60 ± 1.72	60.00 ± 1.70	62.40 ± 1.50	52.20 ± 0.58	59.20 ± 3.97	60.60 ± 3.16
ALT (U/L)	50.20 ± 1.07	59.40 ± 2.71	53.20 ± 2.20	50.40 ± 1.63	62.40 ± 1.89	61.20 ± 4.78	53.20 ± 1.66	51.20 ± 3.64	60.80 ± 6.70
Creatinine (mg/dL)	0.62 ± 0.06	0.62 ± 0.06	0.60 ± 0.03	0.58 ± 0.04	0.58 ± 0.04	0.56 ± 0.02	0.60 ± 0.03	0.56 ± 0.04	0.58 ± 0.04
Ure (mg/dL)	62.58 ± 1.33	61.56 ± 1.85	67.00 ± 2.70	64.84 ± 0.76	68.12 ± 4.10	58.74 ± 2.69	63.38 ± 1.53	65.38 ± 1.53	57.82 ± 4.42
Triglycerid (mg/dL)	64.60 ± 1.72	77.40 ± 2.56**	77.00 ± 4.32*	64.80 ± 3.37	77.00 ± 3.07*	77.40 ± 2.94*	65.40 ± 2.99	76.00 ± 2.77*	66.20 ± 3.58
Protein (mg/dL)	6.40 ± 0.12	6.08 ± 0.21	6.04 ± 0.18	6.44 ± 0.29	5.98 ± 0.13	6.14 ± 0.37	6.30 ± 0.19	6.00 ± 0.34	6.12 ± 0.39
Trọng lượng cơ thể chuột (g)	21.20 ± 0.37	24.40 ± 1.03*	27.00 ± 1.05*	22.00 ± 0.55	24.60 ± 0.24*	26.60 ± 0.51*	21.00 ± 0.63	25.20 ± 0.86*	28.20 ± 0.73*

(*) $p < 0.05$ so với trước thử nghiệm, cùng lô thử nghiệm và cùng giới.

Thông số đánh giá chức năng gan: Trong cơ thể, gan là cơ quan đảm nhiệm nhiều vai trò rất quan trọng. Gan đảm nhiệm nhiều chức năng phức tạp và là cơ quan chuyển hóa chính. Khi đưa thuốc vào cơ thể, thuốc có thể độc cho gan, gây hủy hoại tế bào gan, ảnh hưởng đến chức năng gan. Khi tổn thương hủy hoại tế bào gan, nồng độ ALT sẽ tăng cao. AST chủ yếu nằm trong ty thể, khi tổn thương ở mức độ dưới tế bào thì AST mới được giải phóng ra ngoài. Ngoài ra, gan có chức năng chuyển hóa protid, lipid, tạo mật... qua đó, gan thể hiện vai trò trong tổng hợp albumin, cholesterol toàn phần và bilirubin [8, 9]. Kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt độ AST-ALT ở các lô cho uống QLC liều 250 mg/kg- 500 mg/kg đều không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại cùng thời điểm khảo sát và cùng giới.

Thông số đánh giá chức năng thận: Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Khi đưa thuốc vào cơ thể, phần lớn thuốc được thải trừ qua thận. Vì vậy, thuốc gây độc có thể làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. Creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn, thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Khi cầu thận tổn thương, nồng độ creatinin tăng sớm hơn urê, do vậy để đánh giá và theo dõi chức năng thận, creatinin máu là chỉ tiêu quan trọng và tin cậy hơn urê [8, 9]. Kết quả Bảng 3 cho thấy nồng độ

creatinin- urê ở các lô cho uống QLC liều 250 mg/kg- 500 mg/kg đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại cùng thời điểm khảo sát và cùng giới.

Hàm lượng protein toàn phần: Định lượng protein toàn phần để đánh giá chức năng tổng hợp của gan [8]. Hàm lượng protein toàn phần trong huyết tương của các lô thử uống QLC liều 250 mg/kg- 500 mg/kg đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng tại cùng thời điểm khảo sát và cùng giới. Vậy, QLC không ảnh hưởng lên hàm lượng protein toàn phần trong huyết tương chuột.

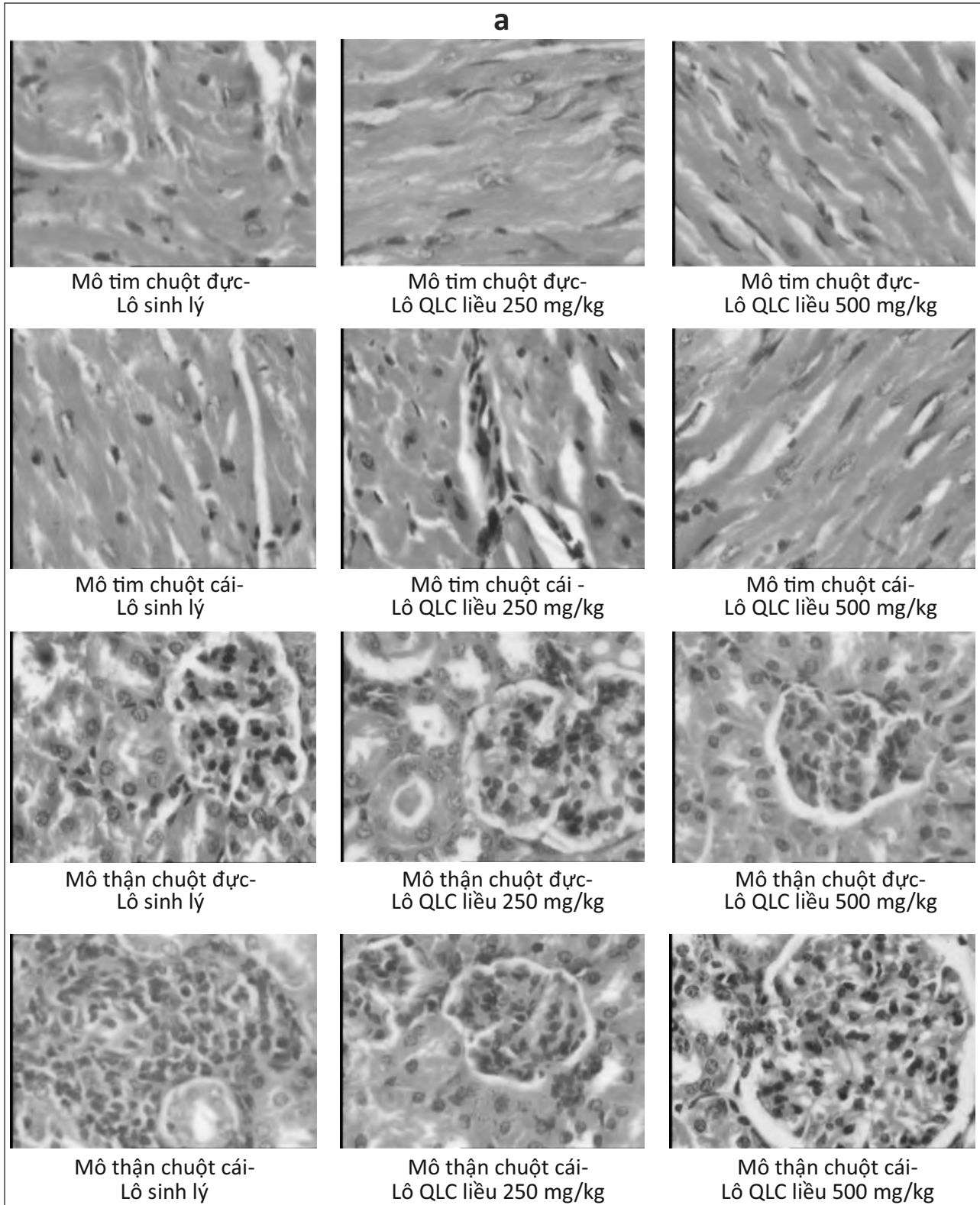
Hàm lượng triglycerid: Nếu triglycerid tăng trong huyết tương sẽ có nguy cơ tăng lipid máu và gây ra nhiều bệnh lý sau đó [8]. Hàm lượng triglycerid của lô chuột đực/cái uống QLC liều 250 mg/kg sau 30 ngày tăng khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước thử nghiệm ($p < 0.05$), tương tự hàm lượng triglycerid của lô chuột cái uống QLC liều 250 mg/kg sau 60 ngày và lô chuột cái uống QLC liều 500 mg/kg sau 30 ngày khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước thử nghiệm ($p < 0.05$). Tuy nhiên, hàm lượng triglycerid của các lô thử uống QLC liều 250 mg/kg- 500 mg/kg không khác biệt so với lô chứng cùng thời điểm khảo sát và cùng giới tương ứng. Mặc dù hàm lượng triglycerid của lô chứng và lô thử có sự tăng khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với trước thử nhưng vẫn ở trong giới

hạn bình thường (71-164 mg/dL). Vậy, QLC không làm ảnh hưởng đến hàm lượng triglycerid.

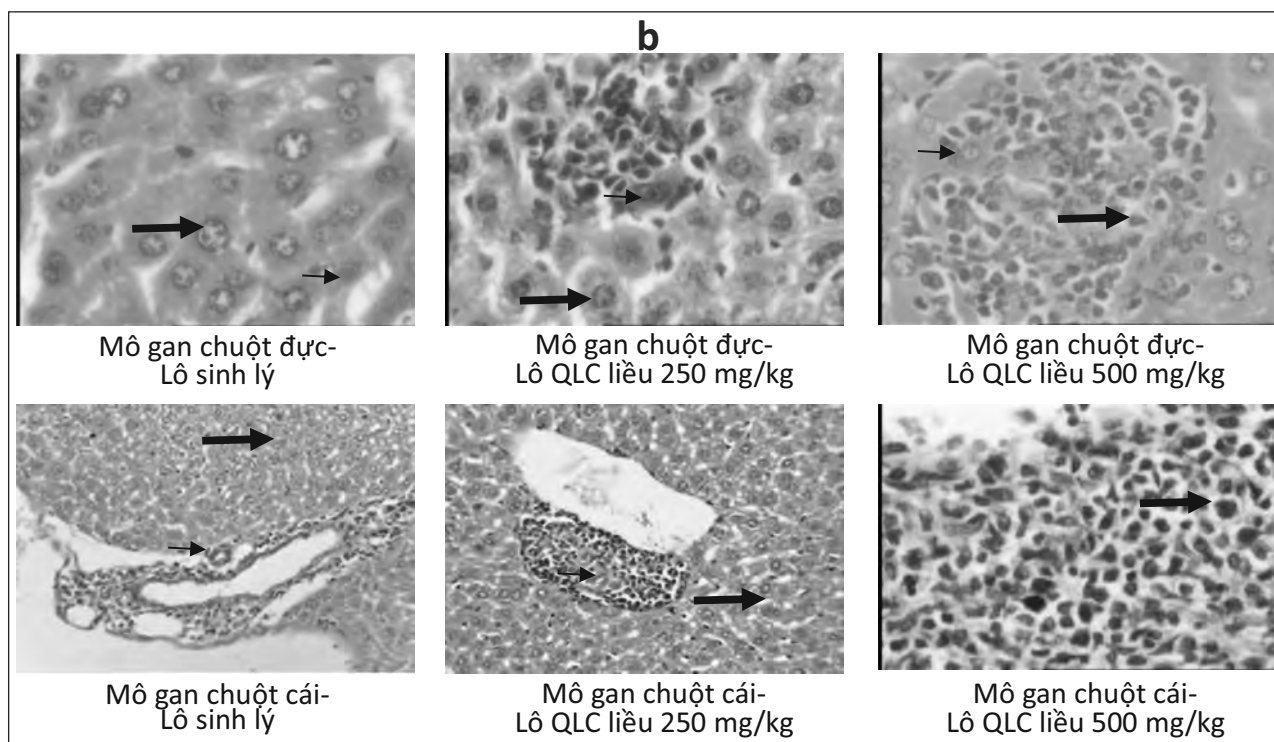
Đồng thời, trọng lượng của lô chuột đực/cái uống QLC liều 250 mg/kg - 500 mg/kg sau 30 ngày - 60 ngày thử nghiệm khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước thử nghiệm nhưng không khác biệt

so với lô chứng cùng thời điểm khảo sát tương ứng.

Như vậy QLC liều 250 mg/kg - 500 mg/kg sau 30 ngày - 60 ngày uống cũng không ảnh hưởng tới chức năng gan-thận, hàm lượng triglycerid-protein và không ảnh hưởng trên sự phát triển bình thường về thể trọng của chuột đực và chuột cái.



Hình 1a. Mô học tim- thận – gan của các lô thử nghiệm (X 40)



Hình 1b. Mô học tim- thận – gan của các lô thử nghiệm (X 40)
 Ký hiệu: ➔ Viêm nhẹ tế bào lympho bào; ➔ Nhân đông nhẹ.

Giải phẫu mô học gan tim thận là chỉ số cần thiết khi đánh giá độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn của WHO [10]. Sau khi cho chuột uống QLC liều 250 mg/kg – 500 mg/kg sau 30 ngày-60 ngày, tất cả các chuột đực giải phẫu để quan sát đại thể các cơ quan và kiểm tra cấu trúc vi thể gan, tim, thận (mỗi lô mỗi giới 03 mẫu), kết quả cho thấy không có sự khác biệt so với lô chứng: 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; tương tự mô thận ở lô sinh lý và lô thử mẫu không có viêm mô kẽ thận, tế bào ống thận đều bình thường; mô gan ở lô chứng sinh lý và lô thử mẫu không có hiện tượng xơ hóa-hoại tử tế bào gan-vôi hóa ống mật, có nhân đông nhẹ và viêm mức độ nhẹ ở tế bào lympho bào, bạch cầu đa nhân chưa rõ nguyên nhân. Các mẫu bệnh phẩm tim-thận của các lô thử đều bình thường tương đồng với kết quả thông số sinh hóa liên quan (triglycerid, creatinin, ure) không có sự khác biệt lô chứng sinh lý cùng thời điểm khảo sát. Trong khi đó, các mẫu bệnh phẩm gan ở cả 3 lô gồm 2 lô dùng mẫu thử QLC (250 mg/kg- 500 mg/kg) và lô chứng sinh lý đều có tỷ lệ số mẫu thoái hóa ở mức độ nhẹ/số mẫu bình thường là như nhau ở các thời điểm sau 60 ngày uống mẫu. Tuy nhiên, các

chỉ số sinh hóa đánh giá chức năng gan (AST, ALT) lại không có dấu hiệu bất thường ở tất cả các lô thử nghiệm. Sở dĩ có sự không phù hợp giữa hình ảnh tổn thương vi thể và các chỉ số sinh hóa như vậy có thể do mức độ tổn thương tế bào gan nhẹ và khu trú nên các tế bào gan bình thường còn lại có hiện tượng hoạt động bù trừ. Điều này cũng có thể do ảnh hưởng của kỹ thuật tách mẫu và xử lý tiêu bản gan nên cần có nghiên cứu trong thời gian dài hơn để đánh giá ảnh hưởng của QLC lên sự tổn thương tế bào gan.

4. KẾT LUẬN

Không xác định được LD₅₀ của cao chiết nước từ quế linh chi khi thử liều cao nhất có thể cho chuột nhất uống là 23.23 g/kg thể trọng cơ thể. Cao chiết nước từ quế linh chi liều 250 mg/kg- 500 mg/kg dùng đường uống liên tục trong 60 ngày không ảnh hưởng đến tình trạng chung, các chỉ số huyết học, sinh hóa, mô bệnh học gan, tim, thận.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được sự hỗ trợ kinh phí của Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Ninh Thuận thông qua đề tài “Bảo tồn và phát triển nguồn gen Nấm quế linh chi (*Humphreya endertii*) có nguồn gốc từ Vườn quốc gia Phước Bình, tỉnh Ninh Thuận”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L. X. Thám, N. L. Q. Hùng, P. N. Dương, J.M. Moncalvo, "Phát hiện đại diện đầu tiên của chi *Humphreya stey*. mới được phát hiện ở vườn quốc gia Cát Tiên (Đồng Nai-Lâm Đồng)-loài nấm Linh chi endertii: *Humphreya endertii*," *Tạp chí Sinh học*, 31(1), 39-45, 2009.
- [2] Bảo tồn nguồn gen nấm Linh chi Vườn Quốc gia Phước Bình. Báo tin tức, 2019. Ngày 9/9/2019 (<https://baotintuc.vn/kinh-te/bao-ton-nguon-gen-nam-linh-chi-vuon-quoc-gia-phuoc-binh20190909084816058.htm>).
- [3] N.T. D. Hạnh, N. N. Ẩn, L.V. Luông, N.C.Vân, H.N.H.Yến và P. T. Việt, "Khả năng gây độc tế bào ung thư và kháng khuẩn của dịch chiết *Ganoderma lucidum* và *Humphreya endertii* từ vườn quốc gia Phước Bình," *Journal of Science and Technology-IUH*, 39(03), 191-200, 2019,
- [4] D. N. Quang, L. D. Long, N. Q.Tung, N. N.Thanh and L. X. Tham, "Endertiins A-B, two lanostane triterpenoids from the fruit bodies of the mushroom *Humphreya endertii*," *Natural Product Research*, 36(3), 748-753, 2020.
- [5] Đ.T. Đàm, *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*. Hà Nội: Nxb Y học, 11-190, 2014.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] H.T.T. Ba, T.N. Dũng và T.T. Thuận, "Khảo sát độc tính bán trường diễn của cao chiết từ Nấm thượng hoàng (*Phellinus* sp.) hoang dại trên chuột nhắt trắng," *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 1(86), 50-54, 2018.
- [9] Đ. T. T. Hiên, T. T. Tùng, "Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của viên nang cứng an phụ kháng plus trên động vật thực nghiệm," *Tạp chí nghiên cứu Y học*, 157(9), 106-116, 2022
- [10] WHO, "Working group on the safety and efficacy of herbal medicine," Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization, 2013.

Study acute and sub-chronic toxicity of the extract from (*Humphreya endertii*)

Nguyen Ngoc Minh, Nao Duy Phap, Luu Van Luong and Nguyen Hoang Minh

ABSTRACT

*Objective: To study acute and semi-chronic toxicity of the aqueous extract from *Humphreya endertii* (QLC) in mice (Swiss albino). Methods: Evaluation of acute toxicity and semi-chronic toxicity of QLC were conducted according to "Guidelines for Preclinical and Clinical Study of Traditional and Natural Medicines" approved by Ministry of Healthy- Vietnam (attached with Decision No.141/QĐ-K2ĐT dated on 27/10/2015). Results: LD50 was not found in the oral administration of QLC in white mice with the highest oral dose of 23.33 g/kg. In a semi-chronic studying, QLC with two doses of 250 mg/kg and 500 mg/kg continuously for 60 days, the preparation did not affect the number of red blood cells, white blood cells, haemoglobin content, AST, ALT enzyme activity, triglyceride, protein, creatinine and ure content, did not cause histopathological changes of heart, liver and kidney cells in studied mice. Conclusions: QLC did not cause acute toxicity in white mice with the highest oral dose of 23.23 g/kg body weight mice and did not affect the hematopoietic, heart, liver, or kidney function of mice experimental blank after 60 days of study.*

Keywords: *Humphreya endertii*, acute toxicity, sub-chronic toxicity

Received: 28/08/2024

Revised: 26/09/2024

Accepted for publication: 19/11/2024