



# Đánh giá độc tính cấp và một số tác dụng dược lý của bài thuốc Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang trên thực nghiệm

EVALUATE THE ACUTE TOXICITY AND SOME PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF "KIEN TY HANH KHI CHI TA THANG" ON EXPERIMENT

Phạm Quốc Bình, Phạm Thủy Phương, Nguyễn Thị Lan, Dương Thị Quyên

Học viên Y Dược học cổ truyền Việt Nam

## TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm mục đích đánh giá độc tính cấp và một số tác dụng dược lý của bài thuốc Kiện tỳ hành khí chỉ tả thang trên chuột nhắt trắng, thỏ. Kết quả nghiên cứu: Kiện tỳ hành khí chỉ tả không có biểu hiện độc tính cấp; thuốc làm giảm nhu động ruột thỏ (làm giảm cả tần số và biên độ nhu động ruột); KTHKCT có tác dụng tái hấp thu nước và điện giải (giảm nồng độ  $Na^+$  và  $Cl^-$ , làm tăng nồng độ  $K^+$ ).

**Từ khóa:** hội chứng ruột kích thích, nhu động ruột, độc tính cấp, tái hấp thu nước và điện giải.

**Viết tắt:** Kiện tỳ hành khí chỉ tả (KTHKCT), Y học cổ truyền (YHCT).

## SUMMARY

The study was conducted to assess the purpose of acute toxicity and some pharmacological effects of the remedy "Kien Ty hanh khi chi ta thang" on white mice, rabbits. Research results: "Kien ty hanh khi chi ta thang" not manifest toxicity; drug reduces gut motility rabbit (reducing both the frequency and amplitude of peristalsis); KTHKCT has the effect of water and electrolyte reabsorption (concentrations decreased  $Na^+$  and  $Cl^-$ ), (increases the concentration of  $K^+$ ).

**Keywords:** irritable bowel syndrome, peristalsis, acute toxicity, resorption of water and electrolytes.

**Abbreviation:** Kien Ty hanh khi chi ta thang (KTHKCT), traditional medicine (YHCT).

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhu động ruột là một loạt các cử động cơ và giãn, lan truyền một cách nhịp nhàng và liên tục của cơ trơn trong ống tiêu hóa nhằm thúc đẩy thức ăn từ trên xuống, làm quá trình hấp thu thức ăn dễ dàng hơn.

Tăng nhu động ruột là một triệu chứng thường gặp ở đường tiêu trên lâm sàng thường biểu hiện đầy bụng, đau bụng, rối loạn đại tiện (thể lỏng). Hiện nay tình trạng bệnh lý này được gọi là hội chứng ruột kích thích [1]. Ở Pháp, bệnh đại tràng cơ năng chiếm 60% số bệnh nhân đến khám tại các

Ngày nhận bài: 25/12/2018

Ngày phản biện: 27/12/2018

Ngày chấp nhận đăng: 27/12/2018

phòng khám tiêu hóa [2]. Ở Việt Nam theo Hà Văn Ngọc, tại Khoa Khám, Bệnh viện 108, tỷ lệ này là 17,3%, trong đó tuổi từ 30 – 60 chiếm 75,3% [2]. Nguyễn Thị Tuyết Vân khảo sát tại Khoa Khám bệnh, Bệnh viện Bạch Mai năm 2004, trong số bệnh nhân thuộc bệnh lý trực tràng hậu môn có 83,18% mắc hội chứng ruột kích thích [3]. Hiện tượng tăng nhu động ruột trong các hội chứng của đường tiêu hóa không nguy hiểm đến tính mạng người bệnh nhưng diễn biến kéo dài, hay tái phát.

YHCT Ở Việt Nam đã có những nghiên cứu bằng thuốc YHCT làm giảm nhu động ruột và đã thu được những kết quả nhất định như “thống tả yếu phương”, “Viên nang Hế mọ”. Bài thuốc Kịen tỳ hành khí chi tả thang là một bài thuốc nghiệm phương có tác dụng hòa hoãn để điều trị các chứng bệnh do đường tiêu hóa và đã được ứng dụng trên lâm sàng. Tuy nhiên vẫn chưa có nghiên cứu nào minh chứng tác dụng của bài thuốc, vì vậy chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu với mục tiêu:

1. Đánh giá độc tính cấp của bài thuốc KTHKCT thang.
2. Đánh giá tác dụng giảm nhu động ruột trên chuột nhắt trắng
3. Đánh giá tác dụng tái hấp thu nước và điện giải của bài thuốc Kịen tỳ hành khí chi tả thang trên động vật thí nghiệm.

## **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **Đối tượng**

- Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 18 - 22 g do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp.
- Thỏ chủng Newzealand White, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 2,2 - 2,5 kg do Trung tâm chăn nuôi động vật thí nghiệm Đan Phương Hà Tây.
- Éch, trọng lượng 200 - 220 g, cả 2 giống, khỏe mạnh.

### **Phương pháp nghiên cứu**

#### ***Nghiên cứu độc tính cấp của cao lỏng Kịen tỳ hành khí chi tả thang theo đường uống trên chuột nhắt trắng***

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD50 của cao lỏng Kịen tỳ hành khí chi tả thang trên chuột nhắt trắng theo đường uống [4], [5], [6].

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm.

Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống cao lỏng KTHKCT với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết ...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD50 của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống cao lỏng Kịen tỳ hành khí chi tả thang.

#### ***Nghiên cứu tác dụng của KTHKCT trên tần số và biên độ ruột cô lập***

Thí nghiệm được làm trên thỏ cô lập ex vivo và ghi nhu động ruột theo phương pháp Magnus [7][8]

Nghiên cứu tác dụng giảm nhu động ruột của thuốc: dùng cao lỏng thuốc tỷ lệ (1:1) pha loãng ở nồng độ 1%; 2% và 3%.

Các bước tiến hành:

1. Bật máy ghi hoạt động của ruột ở điều kiện bình thường (30 giây)
2. Nhỏ thuốc nghiên cứu ở nồng độ như trên và ghi lại hoạt động của đoạn ruột trong 30 giây.
3. Nhận xét biên độ và tần số nhu động ở mỗi liều.

#### ***Nghiên cứu tác dụng của thuốc Kịen tỳ hành khí chi tả đến sự hấp thu nước và điện giải theo Norio***



### Ogata, Tatsuya Baba [9]

- Éch được chia làm 4 lô, mỗi lô 10 con, (mỗi con dùng 1 đoạn ruột). Mỗi đoạn ruột được đưa vào 1 ml/ đoạn ruột như sau:

+ Lô 1: chứng (không tiêm gì)

+ Lô 2: tiêm Duspatalin (mebeverin) 0,08%

+ Lô 3: tiêm dung dịch thuốc thử KTHKCT thang liều 0,2ml/10g/ngày

+ Lô 4: tiêm dung dịch thuốc thử KTHKCT thang liều 0,2ml/10g x 2 lần/ngày

- Phá tùy éch, mổ bụng, đưa 1 đoạn ruột non ra ngoài.

- Sau khi đưa thuốc vào lòng ruột, đưa đoạn ruột trở lại vào ruột ech như cũ.

- Sau 60 phút, cắt rời các đoạn ruột, hút dịch ở mỗi đoạn ruột.

- Các chỉ số đánh giá với dịch lấy được từ các đoạn ruột:

• Đo thể tích dịch trong đoạn ruột đó.

• Lấy dịch hút ra được định lượng nồng độ các ion natri, clo, kali bằng máy đo hấp phụ nguyên tử để xác định lượng ion còn lại trong từng đoạn ruột.

### XỬ LÝ SỐ LIỆU

Các số liệu nghiên cứu được xử lý bằng thuật toán thống kê y sinh học với sự hỗ trợ của phần mềm Microsoft Excel 2007 và SPSS 16.0. Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

### KẾT QUẢ

**Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao lòng Kiện tỳ hành khí chi tà thang**

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của cao lòng Kiện tỳ hành khí chi tà thang

Lô chuột	n	Liều (thang thuốc/kg)	Liều (g dược liệu/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	0,88	103,84	0	Không
Lô 2	10	1,32	155,76	0	Không
Lô 3	10	1,76	207,68	0	Không
Lô 4	10	2,21	260,78	0	Không

Kết quả bảng 1 cho thấy: các lô chuột uống cao lòng Kiện tỳ hành khí chi tà thang ở liều từ 30ml/kg tương đương 103,84 g dược liệu/kg đến liều tối đa 75ml/kg tương đương 260,78 g dược liệu/kg không có biểu hiện độc tính cấp.

**Tác dụng của KTHKCT lên tần số và biên độ ruột thỏ cô lập**

Bảng 2. Ảnh hưởng của các nồng độ thuốc KTHKCT lên nhu động ruột thỏ cô lập.

Nồng độ thuốc (%)	Tần số co bóp (số lần/phút)		p	Biên độ co bóp (mm)		p
	Trước dùng thuốc	Sau dùng thuốc		Trước dùng thuốc	Sau dùng thuốc	
1,0	12,22 ± 2,28	10,22 ± 2,22	$p > 0,05$	27,56 ± 10,82	15,33 ± 12,43	$p < 0,05$
2,0	9,00 ± 1,00	7,33 ± 0,52	$p < 0,001$	37,33 ± 11,38	4,67 ± 1,51	$p < 0,001$
3,0	9,17 ± 1,60	5,50 ± 1,38	$p < 0,01$	39,67 ± 11,11	5,17 ± 2,79	$p < 0,001$

Bảng 2 cho thấy KTHKCT nồng độ 1% có xu hướng làm giảm tần số co bóp trên ruột cô lập so với trước khi dùng thuốc, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). KTHKCT nồng độ 3% có tác dụng làm giảm tần số co bóp trên ruột cô lập so với trước khi dùng thuốc ( $p < 0,01$ ). KTHKCT nồng độ 2% làm giảm rõ rệt tần số co bóp so với trước khi dùng thuốc ( $p < 0,003$ ).

Bảng 3. Số màu ruột mất hoàn toàn nhu động

Nồng độ thuốc (%)	Số mẫu nghiên cứu	Ảnh hưởng của thuốc tới nhu động ruột			
		Hoạt động		Không hoạt động	
		Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
1,0	6	6	100,0	0	0,0
2,0	6	6	100,0	0	0,0
3,0	6	6	100,0	0	0,0

Bảng 3 cho thấy KTHKCT nồng độ 1%, 2% và 3% không làm mất hoàn toàn nhu động trên các mẫu ruột cô lập nghiên cứu.

**Tác dụng của KTHKCT thang lên số lượng dịch ruột và các ion ruột**

Bảng 4. Ảnh hưởng của thuốc KTHKCT lên số lượng dịch ruột

Lò nghiên cứu	Thể tích dịch rút ra ( $\bar{X} \pm SD$ , ml)	p so với 1	p so với 2
Lò 1: Chứng sinh học	0,90 $\pm$ 0,11		
Lò 2: Duspatalin	0,57 $\pm$ 0,08	$p < 0,001$	
Lò 3: KTHKCT 0,2ml/10g/ngày	0,90 $\pm$ 0,15	$p > 0,05$	$p < 0,001$
Lò 4: KTHKCT 0,2ml/10g x2 lần/ngày	0,27 $\pm$ 0,15	$p < 0,001$	$p < 0,01$

- Thể tích dịch rút ra giảm rõ rệt khi so sánh lò chứng dương và lò KTHKCT liều 0,2ml/10g x 2 lần/ngày với lò chứng sinh học ( $p < 0,001$ ). Thể tích dịch rút ra giảm rõ rệt khi so sánh lò KTHKCT liều 0,2ml/10g x 2 lần/ngày với lò chứng dương ( $p < 0,01$ ). Thể tích dịch rút ra ở lò KTHKCT liều 0,2ml/10g/ngày cao hơn rõ rệt khi so sánh với lò chứng dương ( $p < 0,001$ ).

Bảng 5. Ảnh hưởng của thuốc KTHKCT thang lên các ion dịch ruột

Lò nghiên cứu	Nồng độ các ion trong dịch ruột		
	Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>
Lò 1: Chứng sinh học	132,50 $\pm$ 5,56	113,10 $\pm$ 19,79	5,11 $\pm$ 1,41
Lò 2: Duspatalin	51,00 $\pm$ 25,86 $P_{1,2} < 0,001$	42,56 $\pm$ 14,77 $P_{1,2} < 0,001$	12,59 $\pm$ 1,64 $P_{1,2} < 0,001$

Lô 3: KTHKCT 0,2ml/10g/ngày	127,70 ± 3,53 P <sub>1,3</sub> <0,05, P <sub>2,3</sub> <0,001	108,80 ± 17,59 P <sub>1,3</sub> >0,05, P <sub>2,3</sub> <0,001	7,52 ± 2,90 P <sub>1,3</sub> <0,05, P <sub>2,3</sub> <0,001
Lô 4: KTHKCT 0,2ml/10g x 2 lần/ngày	60,11 ± 21,26 P <sub>1,4</sub> <0,001, P <sub>1,4</sub> >0,05	36,56 ± 8,83 P <sub>1,4</sub> <0,001, P <sub>1,4</sub> >0,05	11,01 ± 2,78 P <sub>1,4</sub> <0,001, P <sub>2,4</sub> >0,05

Duspatalin và KTHKCT liều 0,2ml/10g x 2 lần/ngày làm giảm rõ rệt nồng độ Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, tăng nồng độ K<sup>+</sup> trong dịch ruột so với lô chứng sinh học (p < 0,001). KTHKCT liều 0,2ml/10g/ngày cũng làm giảm nồng độ Na<sup>+</sup> trong dịch ruột so với lô chứng sinh học (p < 0,05). Không có sự khác biệt khi so sánh nồng độ Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> trong dịch ruột giữa lô KTHKCT liều 0,2ml/10g x 2lần/ngày và lô chứng dương (p > 0,05). Nồng độ Cl<sup>-</sup> trong dịch ruột ở lô KTHKCT liều 0,2ml/10g/ngày cao hơn so với lô chứng dương (p < 0,001).

## BÀN LUẬN

### Bàn luận về độc tính cấp của cao lỏng Kiện tỳ hành khí chi tá thang

Chưa xác định được LD<sub>50</sub> trên chuột nhắt trắng của cao lỏng Kiện tỳ hành khí chi tá thang trên đường uống.

### Tác dụng làm giảm nhu động ruột thỏ cô lập

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 1 cho thấy Kiện tỳ hành khí chi tá có tác dụng làm giảm từ 16,37% - 40,02% tần số co bóp tương ứng với các mức liều tăng dần từ 1% - 3%, ở nồng độ càng cao, tần số co bóp càng giảm mạnh. Kiện tỳ hành khí chi tá nồng độ 1% có xu hướng làm giảm tần số co bóp trên ruột thỏ cô lập so với trước khi dùng thuốc, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa (p > 0,05). KTHKCT ở nồng độ 2%, 3% làm giảm tần số co bóp trên ruột thỏ cô lập có ý nghĩa với p < 0,001, p < 0,01. KTHKCT có tác dụng làm giảm biên độ co bóp của cơ trơn thành ruột thỏ cô lập từ 44,37% - 87,49%. Sự khác biệt so với lô bình thường có ý

nghĩa với p < 0,05 (KTHKCT 1%) và p < 0,001 (KTHKCT 2%, 3%).

Như vậy ở 3 nồng độ: 1%, 2%, 3%, Kiện tỳ hành khí chi tá thang có tác dụng làm giảm co thắt cơ trơn ruột hiệu quả rõ rệt. Kết quả nghiên cứu chứng minh vì sao thuốc có tác dụng tốt trong các trường hợp tiêu chảy do tăng nhu động ruột trên lâm sàng. Nồng độ tốt nhất làm giảm cả tần số và biên độ là 3%. Mặt khác khi nồng độ quá cao sẽ dẫn đến liệt ruột, không đánh giá được tần số và biên độ trên máy ghi. Kết quả nghiên cứu thể hiện ở bảng 3 cho thấy, khi nồng độ thuốc trong dịch nuôi tăng lên cũng không làm mất khả năng co bóp của mẫu ruột cô lập.

Như vậy, thuốc ở cả 3 nồng độ: 1%, 2%, 3% chỉ làm giảm tần số và biên độ mà không làm mất nhu động ruột, đảm bảo tính an toàn khi sử dụng trên lâm sàng.

### Bàn luận về tác dụng của KTHKCT thang lên số lượng dịch ruột và các ion ruột

Thế tích ruột ếch uống KTHKCT liều 0,2ml/10g x 2 lần/ ngày giảm 70% so với lô chứng sinh học với p < 0,001 và giảm 52,63% so với lô dùng Duspatalin với p < 0,01. Nồng độ Na<sup>+</sup> ở lô uống Duspatalin giảm 61,51%, nồng độ Na<sup>+</sup> ở lô KTHKCT liều 0,2ml/10g/ngày giảm 3,62%, nồng độ Na<sup>+</sup> ở lô KTHKCT liều 0,2ml/10g x 2 lần/ngày giảm 54,63% so với lô chứng sinh học với p < 0,05. Nồng độ Cl<sup>-</sup> ở lô uống KTHKCT liều 0,2ml/10g x 2 lần/ngày giảm 67,67% so với lô chứng sinh học (p < 0,001). Nồng độ K<sup>+</sup> ở lô uống KTHKCT liều 0,2ml/10g x 2 lần/ngày tăng 115,46% so với lô

chứng sinh học có ý nghĩa với  $p < 0,001$  và nồng độ  $K^+$  ở lổ uống KTHKCT liều 0,2ml/10g/ngày tăng 47,16% rõ rệt so với lổ chứng sinh học với  $p < 0,05$ . Nồng độ  $K^+$  uống KTHKCT liều 0,2ml/10g/ngày tăng 67,42% so với lổ uống Duspatalin với  $p < 0,001$ .

## KẾT LUẬN

Kiện tỳ hành khí chi tả thang không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 2,21 thang/kg tương đương 260,78 g dược liệu/kg. Cao lỏng Kiện tỳ hành khí chi tả thang ở liều gấp 9,2 lần liều trên

người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống (Tinh người lớn trưởng thành 50 kg, hệ số ngoại suy trên chuột nhắt 12, liều tối đa 1 thang/người).

Kiện tỳ hành khí chi tả thang có tác dụng làm giảm nhu động ruột thực nghiệm. KTHKCT nồng độ 1%, 2%, 3% có tác dụng làm giảm cả tần số và biên độ nhu động ruột thỏ cô lập, nồng độ 3% thuốc có tác dụng mạnh nhất đồng thời không làm mất nhu động ruột

Kiên tỳ hành khí chi tả có tác dụng tái hấp thu nước và ion tại ruột.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Sinh lý học (2006), Trường Đại học Y Hà Nội, "Sinh lý học tập 1", Nhà xuất bản Y học, tr 337, 338, 339, 353, 354, 355, 356.
2. Hà Văn Ngọc và cộng sự (1996), "Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng trên 109 bệnh nhân bị hội chứng ruột kích thích", Nội khoa chuyên đề tiêu hóa tháng 2/1996, tr36,39.
3. Nguyễn Thị Tuyết Nga (2007), "Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc từ thảo hoàn trong điều trị hội chứng ruột kích thích thể lỏng", Luận văn tiến sỹ y học, Đại học Y Hà Nội.
4. Gerhard Vogel H. (2012), Drug discovery and evaluation Pharmacological assays, Springer.
5. OECD (2001), Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation, acute oral toxicity, Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No 19.
6. World Health Organization (2013), Working group on the safety and efficacy of herbal medicine, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
7. Edward S.Kimball, Jeffrey M.Palmer, Michael R.D. Andrea, Pamela J.Hornby and Paul R.Wade (2005), Acute colitis induction by oil of mustard results in later development of an IBS-like accelerated upper GI transit in mice", *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288: G1266-G1273, 2005.
8. Alistair W.G., Waugh, Rae Foshaug, Sarah Macfarlane et al. (2009), "Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v treatment in an animal model of irritable bowel syndrome", *Microbial Ecology in Health and Disease*; 21: 33-37.
9. Norio Ogata, Tatsuya Baba, Takashi Shibata (1993), "Demonstration of antidiarrhea and antimotility effects of wood creosote", *Pharmacology*, 46, pp.173-180.