

Nghiên cứu độc tính cấp của viên nang cứng tỏi đen trên động vật thực nghiệm

Vũ Bình Dương*, Hồ Anh Sơn

Học viện Quân y, Bộ Quốc phòng

Ngày nhận bài 21.12.2015, ngày chuyển phản biện 24.12.2015, ngày nhận phản biện 25.1.2016, ngày chấp nhận đăng 29.1.2016

Trong nghiên cứu này, viên nang cứng tỏi đen đã được nghiên cứu và đánh giá độc tính cấp trên động vật thực nghiệm là chuột. Kết quả cho thấy, không phát hiện được độc tính cấp ở liều tối đa 10 g/kg thể trọng sau khi chuột uống liều duy nhất bột viên nang tỏi đen có nguồn gốc từ tỏi Việt Nam. Các kết quả kiểm tra cũng cho thấy, không có sự khác biệt đáng kể về sự thay đổi tình trạng toàn thân, số lượng tế bào máu, chức năng gan thận của chuột thực nghiệm so với nhóm đối chứng.

Từ khóa: chuột thực nghiệm, độc tính cấp, viên nang cứng tỏi đen.

Chỉ số phân loại 3.4

Study on the acute toxicity of black garlic capsule on experimental mice

Summary

The acute toxicity of black garlic capsule was studied and assessed on mice for this study. The results showed that there was no animal to be died at a dose of 10 g/kg body weight after taking a single dose of black garlic. The exam results also showed no significant difference in blood cell counts, kidney and liver function between the control group and the black garlic treated group.

Keywords: acute toxicity, black garlic capsule, experimental mice.

Classification number 3.4

Đặt vấn đề

Tỏi đen là sản phẩm lên men từ tỏi tươi (*Allium sativum* L.) ở nhiệt độ và độ ẩm thích hợp. Sản phẩm thu được có màu đen, vị ngọt, không còn mùi vị hăng cay của tỏi tươi. Các nghiên cứu cho thấy, dịch chiết tỏi đen có một số tác dụng vượt trội so với tỏi tươi như: tác dụng chống oxy hóa, tăng cường miễn dịch, ức chế tế bào ung thư... [1, 2]. Ở Việt Nam, Học viện Quân y đã nghiên cứu lên men tỏi đen từ tỏi có nguồn gốc Việt Nam và đánh giá một số tác dụng sinh học của dịch chiết tỏi đen thu được [3, 4]. Từ tỏi đen đã nghiên cứu chiết xuất và bào chế cao khô tỏi đen, từ đó bào chế được viên nang cứng tỏi đen [5, 6]. Để có cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về đánh giá tác dụng sinh học của viên nang tỏi đen, tiến tới có thể sử dụng sản phẩm trên người, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đánh giá độc tính cấp trên động vật thực nghiệm của viên nang tỏi đen (đây cũng là sản phẩm của đề tài cấp nhà nước mã số KC10.37/11-15).

Thực nghiệm

Thiết bị, dụng cụ, hóa chất, chất chuẩn

Viên nang cứng tỏi đen đạt Tiêu chuẩn cơ sở do Trung tâm Nghiên cứu Ứng dụng Sản xuất thuốc - Học viện Quân y cung cấp (số lô 010813).

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

60 chuột nhắt trắng BALB/c, không phân biệt giống, khoẻ mạnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng $20,0 \pm 2,0$ g. Chuột được nuôi trong điều kiện nhiệt độ $24 \pm 2^\circ\text{C}$, ánh sáng tự nhiên, nước và thức ăn được nấu chín, bảo đảm theo nhu cầu. Quá trình nuôi được bắt đầu trước khi tiến hành thí nghiệm ít nhất 3 ngày. Trước khi cho chuột dùng tỏi đen, chuột bị bỏ đói trong 12 giờ.

*Tác giả liên hệ: Email: vbduong2978@gmail.com

Chuột được chia thành 6 nhóm, mỗi nhóm 10 chuột, được uống bột thuốc trong viên nang tòi đen với mức độ giảm dần liều. Liều cao nhất tương ứng với khả năng hòa tan tốt nhất của bột viên nang tòi đen vào nước và chuột được uống với liều 0,1 ml/10 g thể trọng chuột. Theo thực nghiệm của chúng tôi, bột viên nang tòi đen có thể tan tối đa với nồng độ 100 mg/1 ml nước cất. Chúng tôi cho chuột uống với liều tương ứng 0,1 ml/10 g thể trọng chuột (liều 10 g tòi đen/kg cân nặng). Chuột được phân thành 6 nhóm với mức liều giảm dần:

+ Nhóm 1: chuột được uống liều duy nhất 10 g/kg cân nặng.

+ Nhóm 2: chuột được uống liều duy nhất 8 g/kg cân nặng.

+ Nhóm 3: chuột được uống liều duy nhất 6 g/kg cân nặng.

+ Nhóm 4: chuột được uống liều duy nhất 4 g/kg cân nặng.

+ Nhóm 5: chuột được uống liều duy nhất 2 g/kg cân nặng.

+ Nhóm 6: chuột được uống liều duy nhất 1 g/kg cân nặng.

Cách cho uống tòi đen: lấy bột thuốc trong nang tòi đen, hòa trong nước cất, và cho chuột uống vào các buổi sáng với thể tích thuốc tương ứng 0,1 ml/10 g thể trọng. Chuột được uống dung dịch tòi đen bằng cách đưa trực tiếp vào dạ dày chuột qua sonde chuyên dụng.

Các chỉ tiêu quan sát:

- Sau khi chuột được uống thuốc, quan sát tình trạng lông, phân, tiêu thụ thức ăn, cân nặng và số lượng chuột chết (nếu có). Thời gian theo dõi trong vòng 7 ngày. Số chuột chết (nếu có) được tính theo nhóm.

- Chuột bị giết sau 7 ngày bằng kéo giãn đốt sống cổ, lấy máu đánh giá chỉ số huyết học, chức năng gan thận, đối với lô dùng liều cao nhất.

+ Đánh giá ảnh hưởng tới chức năng tạo máu: máu chuột được chống đông bằng EDTA, đếm số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu, tiểu cầu.

+ Đánh giá chức năng gan, thận: đánh giá biến đổi về nồng độ SGOT, SGPT, Ure và Creatinin huyết thanh bằng phương pháp quang động học đo hoạt tính enzym.

Kết quả và bàn luận

Tình trạng toàn thân

Sau khi uống liều duy nhất tòi đen, nhóm uống liều cao nhất tương ứng với 10 g/kg thể trọng và các nhóm uống với liều thấp hơn, tất cả chuột thí nghiệm ở các lô đều ăn uống bình thường, tình trạng phân, nước tiểu bình thường, quan sát hoạt động của chuột thấy bình thường.

Bảng 1: số lượng chuột sống sau khi uống liều duy nhất tòi đen

Nhóm	Liều sử dụng (g/kg /24 h)	n	Số lượng chuột chết (sau 72 h)	Số lượng chuột sống (sau 72 h)
1	10	10	0	10
2	8	10	0	10
3	6	10	0	10
4	4	10	0	10
5	2	10	0	10
6	1	10	0	10

Theo dõi sau 7 ngày, không có chuột thí nghiệm bị chết ở tất cả các nhóm, phẫu tích nội tạng chuột cho thấy hình ảnh các cơ quan bình thường. Tòi đen được lên men từ tòi Việt Nam, được đánh giá có mùi thơm, ngọt và lành tính. Bản thân tòi đã được người dân sử dụng hàng ngày như một loại thực phẩm nên có tính an toàn cao.

Phạm vi nghiên cứu nhằm khẳng định một lần nữa tính an toàn của tòi đen có nguồn gốc tòi Việt Nam khi được sử dụng với liều rất cao. Chúng tôi không tìm được liều gây chết của tòi đen khi đã hòa tan tối đa tòi đen vào nước, tới nồng độ 100 mg/ml nước.

Sự biến đổi các chỉ số huyết học

Chuột thuộc nhóm sử dụng tòi đen liều cao nhất (10 g/kg) được lấy máu, kiểm tra số lượng tế bào máu để so sánh với nhóm chứng không uống chế phẩm.

Bảng 2: số lượng tế bào máu ngoại vi trong máu chuột

Nhóm Các chỉ số	Nhóm chứng (n=10)	Nhóm uống tòi đen (n=10)	p
Hồng cầu (T/l)	8,4±1,71	7,9±1,22	p>0,05
Bạch cầu (G/l)	8,8±1,96	9,1±2,04	p>0,05
Tiểu cầu (G/l)	448±160,8	502,3±202,6	p>0,05

Số liệu ở bảng 2 cho thấy, số lượng tế bào máu ngoại vi của nhóm chuột uống tòi đen liều cao 10 g/kg không có sự khác biệt đáng kể với nhóm chứng (p>0,05).

Số lượng hồng cầu dao động quanh khoảng 8 G/l; số lượng bạch cầu dao động quanh 9 G/l và số lượng tiểu cầu khoảng trên 500 G/l.

Theo dõi chức năng gan thận

Bảng 3: nồng độ ure, creatinin, SGOT và SGPT trong máu chuột

Các chỉ số	Nhóm chứng (n=10)	Nhóm uống tỏi đen (n=10)	p
Ure (mmol/l)	22,67±2,11	20,67±2,44	p>0,05
Creatinin (mmol/l)	0,55±0,07	0,65±0,08	p>0,05
SGOT (U/l)	32,5±2,59	31±0,90	p>0,05
SGPT (U/l)	27,6±3,56	35,5±8,92	p>0,05

Kết quả thu được ở bảng 3 cho thấy, nồng độ các chất ure, creatinin trong máu ngoại vi của chuột nhóm chứng không có sự khác biệt đáng kể với nhóm uống tỏi đen liều cao. Điều này cho thấy, chức năng thận ổn định sau khi chuột uống liều duy nhất tỏi đen 10 g/kg. Tương tự, nồng độ hai enzym là SGOT và SGPT của gan không có sự khác biệt giữa nhóm sử dụng tỏi đen và nhóm chứng.

Nhiều nghiên cứu cho thấy, tỏi đen không những an toàn trong quá trình sử dụng vì giảm được độ cay, nó còn kích thích hệ miễn dịch của cơ thể. Tỏi đen được tạo ra từ tỏi tươi (*Allium sativum* L.) bình thường bằng cách lên men ở nhiệt độ 65-80°C và độ ẩm 70-80% được kiểm soát trong khoảng một tháng. Chất chiết xuất từ tỏi đen giàu S-allyl-L-cystein (SAC) và hoạt tính chống khối u với tỷ lệ chữa khỏi 50% chuột nhắt BALB/c bị sarcoma, tuy nhiên, cơ chế của tỏi đen vẫn còn chưa được làm rõ. Wang (2010) [1] đã tiến hành làm rõ cơ chế chống khối u khi sử dụng dịch chiết tỏi đen để điều trị chuột. Kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch chiết tỏi đen có tác dụng tăng cường miễn dịch tế bào bằng cách tăng hoạt động của các tế bào NK (tế bào giết tự nhiên), loại tế bào được cho là đóng vai trò quan trọng trong việc tiêu diệt các tế bào u trong

cơ thể. Cytokin, đặc biệt là NO (nitric oxid), IFN- (interferon-J), IL-2 (interleukin-2) và TNF (yếu tố hoại tử khối u) được tế bào bạch cầu sản xuất nhiều, tuy nhiên, số lượng IL-4 (Interleukin-4), được xem là có liên quan đến khả năng miễn dịch dịch thể (sản xuất kháng thể như kháng thể IgG và IgE), giảm trong các môi trường nuôi cấy tế bào bạch cầu.

Kết luận

Không phát hiện được độc tính cấp ở liều tối đa 10 g/kg thể trọng sau khi chuột uống liều duy nhất bột viên nang tỏi đen có nguồn gốc từ tỏi Việt Nam.

Chuột uống tỏi đen với liều duy nhất không làm thay đổi tình trạng toàn thân, số lượng tế bào máu, chức năng gan, thận.

Tài liệu tham khảo

- [1] Danan Wang, Yonghui Feng, Jun Liu, Jianzhong Yan, Meiru Wang, Jin-ichi Sasaki, Changlong Lu (2010), “Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance the Immune System”, *Med. Aro. Plant. Sci Bio.*, **Vol.4**, pp.37-40.
- [2] Shin J.H, Choi D.J, Lee S.J, Cha J.Y, Kim J.G, Sung N.J (2008), “Changes of physicochemical components and antioxidant activity of garlic during its processing”, *Journal of Life Science*, **18**, pp.1123-1131.
- [3] Vũ Bình Dương, Trịnh Nam Trung (2014), “Phân lập S-Allyl-L-Cystein từ tỏi đen Việt Nam”, *Tạp chí Dược học*, **số 455**, tr.28-30.
- [4] Vũ Bình Dương, Hồ Anh Sơn, Vũ Xuân Nghĩa, Trịnh Nam Trung (2013), “Đánh giá tác dụng bảo vệ cơ quan miễn dịch của dịch chiết tỏi đen Lý Sơn trên chuột bị chiếu xạ”, *Tạp chí Dược học*, **số 411**, tr.51-56.
- [5] Vũ Đình Tiến, Vũ Bình Dương, Nguyễn Trọng Điệp, Phan Đình Châu, Nguyễn Văn Bạch (2014), “Xây dựng quy trình chiết xuất SAC từ tỏi đen”, *Tạp chí Y dược học quân sự*, **39(1)**, tr.58-62.
- [6] Vũ Bình Dương, Nguyễn Trọng Điệp (2014), “Nghiên cứu điều chế bột cao khô tỏi đen bằng phương pháp phun sấy”, *Tạp chí Y dược học quân sự*, **39(5)**, tr.13-18.