

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA BÀI THUỐC PHONG THẤP THANG ĐỐI VỚI MỘT SỐ CHỈ SỐ HUYẾT HỌC TRÊN CHUỘT CÔNG TRẮNG

Vũ Đình Hoàn, Nguyễn Vinh Quốc
Viện Y học cổ truyền Quân đội

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang tới cân nặng, tình trạng hoạt động, một số chỉ số huyết học trên chuột công trắng. **Phương pháp nghiên cứu:** đánh giá độc tính cấp của bài thuốc Phong thấp thang theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon; bài thuốc Phong thấp thang được dùng ở liều 21g/kg và 63g/kg thể trọng chuột công trắng/ngày (tương đương liều lâm sàng và gấp 3 liều lâm sàng) để đánh giá ảnh hưởng của thuốc tới cân nặng, thể trạng và một số chỉ số huyết học. **Kết quả:** bài thuốc Phong thấp thang không thể hiện độc tính cấp, không xác định được liều LD₅₀; bài thuốc Phong thấp thang không làm thay đổi thể trạng chung và các một số chỉ số huyết học trên chuột công trắng thực nghiệm sau 30 ngày uống thuốc. **Kết luận:** không xác định được LD₅₀ của bài thuốc Phong thấp thang theo đường uống, bài thuốc không ảnh hưởng tới cơ quan tạo máu trên chuột công trắng.

Từ khóa: Phong thấp thang, độc tính cấp, chỉ số huyết học.

Abstracts

Objective: To evaluate the acute toxicity of "Phong thap thang" on white mice and its effects on white rat of their body conditions, weight, haematological parameter. **Method:** acute toxicity was conducted according to Litchfield – Wilcoxon method; Phong thap thang at doses of 21g/kg and 63g/kg body weight of white rat/day (equivalent to the clinical dose and 3 times of clinical dose) were used to study its effects on body conditions, weight and haematological parameters. **Results:** Phong thap thang caused no acute toxicity and the lethal dose 50% (LD₅₀) was undetermined; Phong thap thang at doses 21g/kg/day and 63g/kg/day on white rats in 30 days caused no effects on their health conditions and haematological parameter. **Conclusion:** Phong thap thang has not been determined the LD₅₀ in white mice by oral and it does not affect the hematopoietic organ on white rats.

Key words: Phong thap thang, acute toxicity, haematological parameter.

* Ngày nhận bài: 26/4/2021

* Ngày phản biện: 8/5/2021

* Ngày phê duyệt đăng bài: 15 /6/2021

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Y học cổ truyền với lịch sử hàng ngàn năm đã và đang chứng tỏ tính ưu việt trong điều trị bệnh lý xương khớp với các phương pháp điều trị đa dạng, mang tính độc đáo, hiệu quả điều trị tốt [1]. Bài thuốc “Phong thấp thang” được xây dựng từ các vị thuốc thường được sử dụng trong dân gian, có tác dụng khu phong, trừ thấp, hoạt huyết, thông kinh hoạt lạc, bổ khí huyết, ích can thận, chỉ thống tý [1], [2]. Nghiên cứu trên mô hình chuột cống trắng gây viêm khớp thực nghiệm cho thấy bài thuốc có tác dụng chống viêm, giảm đau, cải thiện chức năng vận động khớp [3]. Để có cơ sở khoa học khẳng định tính an toàn trước khi đưa vào nghiên cứu lâm sàng [4], nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang tới thể trạng chung cũng như một số chỉ số huyết học trên chuột cống trắng thực nghiệm.

II. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

- Bài thuốc Phong thấp thang (gồm Bạch thược 10g, Đương quy 10g, Đan sâm 10g, Đỗ trọng 10g, Tang ký sinh 12g, Tục đoạn 10g, Ngưu tất 12g, Thổ phục

linh 10g, Kim ngân hoa 12g, Hy thiêm thảo 10g, Vương tôn 12g, Dây đau xương 12g, Bạch hoa xà thiệt thảo 12g, Cam thảo 08g). Dược liệu được công ty dược phẩm TW Mediplantex cung cấp, đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam IV. Bài thuốc được sắc và đóng túi bằng máy tự động Electric Herb Extractor Machine – Korea tại khoa Y học cổ truyền Bệnh viện Quân y 103/Học viện Quân y.

- Trang thiết bị: Máy xét nghiệm huyết học tự động Swelab Alfa AutoSampler (Thụy Điển). Cân điện tử JWL Weighing Scale (Trung Quốc).

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss, số lượng 56 con, khoẻ mạnh, không phân biệt giống, trọng lượng 20 ± 2 g do Ban cung cấp động vật thí nghiệm/Học viện Quân y cung cấp dùng nghiên cứu độc tính cấp.

Chuột cống trắng Wistar, số lượng 24 con khoẻ mạnh, cả 2 giống. Trọng lượng 160 - 180g được cung cấp bởi Ban cung cấp động vật thí nghiệm/Học viện Quân y dùng nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc tới thể trạng chung và một số chỉ số huyết học.

Các chuột thực nghiệm được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm tại Bộ môn sinh lý

bệnh/Học viện quân y 3-5 ngày trước khi nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng, uống nước tự do.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp

Xác định LD₅₀ của bài thuốc Phong thấp thang trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon và hướng dẫn của WHO[5]. Chuột được chia thành 7 lô, mỗi lô 8 con, được uống dịch chiết bài thuốc nghiên cứu 1 lần/24 giờ theo liều tăng dần đến liều tối đa chuột có thể uống. Theo dõi liên tục diễn biến các chuột thực nghiệm trong vòng 72 giờ, mổ chuột chết nếu có để tìm hiểu nguyên nhân và nhận xét đại thể. Theo dõi tình trạng chung các chuột còn sống trong 7 ngày tiếp theo, sau đó mổ chuột còn sống ở các lô để nhận xét đại thể. Tính LD₅₀ trong trường hợp có chuột chết theo tỷ lệ [5].

2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang tới thể trạng chung và một số chỉ số huyết học

Chuột cống trắng được chia làm 3 lô, mỗi lô 8 con, được đánh số thứ tự theo quy định tiến hành thực nghiệm.

Lô chứng sinh học: uống nước muối sinh lý 2ml/100g thể

trọng/ngày.

Lô thử 1: uống dịch chiết bài thuốc Phong thấp thang liều 21g/kg/ngày (tương đương liều lâm sàng, tính theo hệ số 7 cho chuột cống) [6].

Lô thử 2: uống dịch chiết bài thuốc Phong thấp thang liều 63g/kg/ngày (gấp 3 lần lô thử 1).

Chuột cống trắng được uống nước muối sinh lý hoặc dung dịch thuốc thử bằng kim đầu tù cỡ 16 trong thời gian 30 ngày liên tục, mỗi ngày một lần vào 8 giờ sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá: Tình trạng chung, thể trọng chuột thực nghiệm; Đánh giá một số chỉ số huyết học: số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu tại các thời điểm trước uống thuốc (D₀), sau 15 ngày (D₁₅) và sau 30 ngày uống thuốc (D₃₀).

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test Student bằng phần mềm SPSS 16.0 for Windows. Số liệu được biểu diễn dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. Khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Độc tính cấp

Bảng 1. Tỷ lệ chuột sống/chết của các lô.

Lô chuột	Số lượng	Liều (g/kg thể trọng)	Số chuột sống/chết
Lô 1	8	90	8/0
Lô 2	8	135	8/0
Lô 3	8	180	8/0
Lô 4	8	225	8/0
Lô 5	8	270	8/0
Lô 6	8	315	8/0
Lô 7	8	360	8/0

Nhận xét: Sau khi cho chuột uống với liều tăng dần từ 90g/kg (gấp 2,5 liều tương đương lâm sàng) tới 360g/kg thể trọng chuột nhất trắng (gấp 10 liều tương đương lâm sàng) nhận thấy các chuột hoạt động bình thường, lông mượt, phân khô. Không nhận thấy có chuột chết trong thời gian 72 giờ theo dõi. Mô chuột sau 7 ngày ngừng thuốc nhận thấy tim, gan, thận, phổi các chuột thực nghiệm tươi nhuận, dạ dày, ruột hết thuốc.

Không xác định được liều gây chết 50% trên động vật thí nghiệm (LD₅₀) của bài thuốc

Phong thấp thang với liều 360g/kg chuột nhất trắng (liều đặc nhất có khả năng cho chuột uống trong điều kiện phòng thí nghiệm).

3.2. Ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang tới tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng chuột cống trắng sau uống thuốc

Trong thời gian thí nghiệm, các chuột thực nghiệm ở cả 3 lô hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô chuột thực nghiệm trong suốt thời gian nghiên cứu.

Bảng 2. Ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang đến thể trọng chuột cống trắng (gam; $\bar{X} \pm SD$)

Thời điểm	Lô chuột			p
	Chứng sinh học ^(a) (n=8)	Thử 1 ^(b) (n=8)	Thử 2 ^(c) (n=8)	
D ₀ ⁽¹⁾	197,83 ± 16,67	193,00 ± 22,78	205,39 ± 20,39	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05
D ₁₅ ⁽²⁾	210,74 ± 18,77	205,99 ± 26,15	217,94 ± 21,88	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05
D ₃₀ ⁽³⁾	220,75 ± 19,98	220,43 ± 27,74	230,10 ± 21,83	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05
p	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ <0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ <0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ <0,05	

Nhận xét: Sau 15 ngày và 30 ngày uống thuốc thử, trọng lượng chuột ở cả 3 lô (lô chứng

sinh học và 2 lô thử) đều tăng so với thời điểm trước khi nghiên cứu (p<0,05). Không có sự khác biệt về

mức độ tăng trọng lượng giữa lô chứng sinh học và các lô dùng thuốc thử tại cùng thời điểm theo dõi ($p > 0,05$).

3.3. Ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang tới một số chỉ số huyết học

Bảng 3. Ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang tới số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố và hematocrit trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Chỉ tiêu	Lô chuột	Thời điểm			p
		D ₀ ^(a)	D ₁₅ ^(b)	D ₃₀ ^(c)	
Số lượng hồng cầu (T/l)	Chứng sinh học ⁽¹⁾ (n=8)	7,91 ± 0,73	8,56 ± 0,42	7,91 ± 1,32	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
	Thử 1 ⁽²⁾ (n=8)	7,43 ± 0,98	8,16 ± 0,86	7,79 ± 0,52	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
	Thử 2 ⁽³⁾ (n=8)	7,81 ± 0,53	8,31 ± 0,35	7,99 ± 0,67	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
p		p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	
Hàm lượng huyết sắc tố (g/l)	Chứng sinh học ⁽¹⁾ (n=8)	149,38 ± 6,76	155,38 ± 7,96	149,00 ± 5,21	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
	Thử 1 ⁽²⁾ (n=8)	145,13 ± 8,58	156,13 ± 10,11	151,00 ± 5,26	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
	Thử 2 ⁽³⁾ (n=8)	148,88 ± 7,22	157,00 ± 9,89	145,13 ± 12,44	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
p		p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	
Hematocrit (%)	Chứng sinh học ⁽¹⁾ (n=8)	43,41 ± 2,75	45,20 ± 2,00	43,45 ± 4,77	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
	Thử 1 ⁽²⁾ (n=8)	43,45 ± 3,75	46,03 ± 3,43	43,41 ± 1,71	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
	Thử 2 ⁽³⁾ (n=8)	42,46 ± 2,73	44,72 ± 1,87	43,40 ± 2,45	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} > 0,05
p		p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ > 0,05	

Nhận xét: Tại các thời điểm trước nghiên cứu, sau 15 ngày và 30 ngày uống dịch chiết bài thuốc Phong thấp thang, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố và nồng độ hematocrit trong máu

chuột cống trắng ở lô thử 1 và lô thử 2 không khác biệt khi so sánh với lô chứng sinh học và khi so sánh giữa các lô tại cùng thời điểm theo dõi ($p > 0,05$).

Bảng 4. Ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang đến số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột cống trắng ($\bar{X} \pm SD$)

Chỉ tiêu	Lô chuột	Thời điểm			p
		D ₀ ^(a)	D ₁₅ ^(b)	D ₃₀ ^(c)	
Số lượng bạch cầu (G/lit)	Chứng sinh học ⁽¹⁾ (n=8)	7,63 ± 0,28	7,95 ± 1,49	7,83 ± 0,57	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05
	Thử 1 ⁽²⁾ (n=8)	7,95 ± 0,73	8,13 ± 0,57	8,32 ± 0,83	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05
	Thử 2 ⁽³⁾ (n=8)	7,81 ± 0,63	7,72 ± 0,93	8,18 ± 0,65	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05
p		p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ >0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ >0,05	p ₁₋₂ ; p ₁₋₃ ; p ₂₋₃ >0,05	
Số lượng tiểu cầu (G/lit)	Chứng sinh học ⁽¹⁾ (n=8)	593,88±53,14	584,25±2,49	627,13±28,14	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05
	Thử 1 ⁽²⁾ (n=8)	598,13± 8,87	570,50±45,62	596,50±49,15	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05
	Thử 2 ⁽³⁾ (n=8)	606,88±66,55	565,38±77,53	591,38±69,64	p _{a-b} ; p _{a-c} ; p _{b-c} >0,05

Nhận xét: Trước nghiên cứu, sau 15 ngày và 30 ngày uống bài thuốc Phong thấp thang, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu ở lô thử 1 và lô thử 2 không khác biệt khi so sánh với lô chứng sinh học và khi so sánh giữa các lô tại cùng thời điểm theo dõi (p>0,05).

IV. BÀN LUẬN

4.1. Độc tính cấp của bài thuốc Phong thấp thang

Chuột nhắt trắng đã uống dịch chiết bài thuốc Phong thấp thang tối đa liều 360g/kg thể trọng, đây là lượng thuốc tối đa có thể cho chuột uống trong điều kiện phòng thí nghiệm, vì không có chuột chết nên chưa xác định được LD₅₀ của bài thuốc Phong thấp thang trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp

Litchfield – Wilcoxon. Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới và Bộ Y tế Việt Nam, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu hay hóa chất đều phải đánh giá độc tính trên súc vật trước khi đưa vào thử nghiệm trên người. Việc thử nghiệm xác định độc tính cấp và liều chết 50% để đánh giá mức độ độc và tạo cơ sở để chọn liều thử cho các bước nghiên cứu tiếp theo là cần thiết và bắt buộc theo yêu cầu đối với một chế phẩm thuốc [4], [5]. Chuột nhắt đã uống bài thuốc Phong thấp thang ở thể tích tối đa, liều cao nhất có khả năng cho chuột uống trong thực nghiệm trong 24 giờ: 360g thuốc/kg thể trọng. So với liều dự kiến trên lâm sàng, liều tối đa trên gấp 10 lần nhưng không xác định

được liều gây chết 50% động vật thí nghiệm. Theo hướng dẫn của WHO và hướng dẫn nghiên cứu thuốc mới, có thể nhận định bài thuốc Phong thấp thang là an toàn [7]. Kết quả này theo chúng tôi là phù hợp vì các vị thuốc trong công thức bài thuốc nghiên cứu đều là các vị dược liệu có nguồn gốc tại Việt Nam, đã được sử dụng từ hàng ngàn năm nay trong nhiều bài thuốc khác nhau và chưa có ghi nhận nào về tác dụng phụ bất lợi của chúng [2].

4.2. Ảnh hưởng của bài thuốc Phong thấp thang tới tình trạng chung, thể trọng và cơ quan tạo máu chuột cống trắng

Kết quả theo dõi trong 30 ngày thực nghiệm cho thấy, các chuột ở cả 3 lô hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt trong suốt thời gian nghiên cứu. Trọng lượng chuột ở lô chứng sinh học và 2 lô thử đều tăng có ý nghĩa so với thời điểm trước nghiên cứu. Không có sự khác biệt về mức độ tăng trọng lượng giữa lô chứng sinh học và các lô dùng thuốc thử tại cùng thời điểm theo dõi ($p > 0,05$). Như vậy, cả hai liều thuốc thử không làm ảnh hưởng xấu đến tình trạng chung và thể trọng chuột cống trắng thực nghiệm.

Theo WHO, tình trạng chung, trọng lượng cơ thể và các chỉ số huyết học là những xét

thử. Máu là một tổ chức rất quan trọng vì máu liên quan mật thiết với mọi bộ phận, cơ quan trong cơ thể. Về mặt bệnh lý, máu chịu ảnh hưởng của tất cả các tổ chức đó nhưng đồng thời cũng phản ánh riêng tình trạng của cơ quan tạo máu [7]. Nếu thuốc có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết các thành phần của máu sẽ bị thay đổi, đặc biệt thường làm giảm số lượng bạch cầu và tiểu cầu [7]. Vì vậy, các xét nghiệm về số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu của chuột cống trắng thí nghiệm là những chỉ tiêu cần thiết được đưa ra đánh giá. Kết quả bảng 3, bảng 4 cho thấy các chỉ số trên của chuột cống trắng ở cả hai lô uống bài thuốc nghiên cứu Phong thấp thang đều thay đổi không có ý nghĩa so với trước khi dùng thuốc và so với lô chứng sinh học ở cùng thời điểm ($p > 0,05$).

Huyết sắc tố trong hồng cầu có nhiệm vụ tiếp nhận oxy khi qua phổi và nhường lại lượng oxy đó cho các tế bào khi qua các mao mạch. Định lượng huyết sắc tố cho biết rõ chức năng của hồng cầu. Hematocrit là tỷ lệ % giữa khối hồng cầu và máu toàn phần. Nếu thuốc làm thay đổi làm số lượng hồng cầu hoặc làm mất nước hay ứ nước trong tế bào máu thì chỉ số này sẽ thay đổi [7]. Kết quả nghiên cứu tại bảng 3 cho thấy hàm lượng

huyết sắc tố và hematocrit của chuột cống trắng ở cả 2 lô uống bài thuốc nghiên cứu và lô chứng sinh học đều trong giới hạn bình thường, thay đổi không có ý nghĩa thống kê khi so sánh với thời điểm trước nghiên cứu cũng như tại thời điểm sau 15 ngày và 30 ngày uống bài thuốc nghiên cứu.

Như vậy, bài thuốc Phong thấp thang không gây ảnh hưởng đến số lượng, chất lượng các tế bào máu ở mức liều 21g/kg và liều 63g/kg thể trọng chuột cống trắng tại các thời điểm sau 15 ngày và 30 ngày uống thuốc liên tục.

V. KẾT LUẬN

Qua các kết quả nghiên cứu thu được, chúng tôi rút ra kết luận:

Không xác định được liều gây chết 50% động vật thí nghiệm của bài thuốc Phong thấp thang khi dùng liều gấp 10 lần liều dự kiến trên lâm sàng.

Bài thuốc Phong thấp thang liều 21g/kg và liều 63g/kg thể trọng chuột cống trắng sau 30 ngày uống thuốc liên tục không gây ảnh hưởng tới tình trạng chung, thể trọng và các chỉ số huyết học của chuột thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Trần Quốc Bảo, Trần Quốc Bình (2011),** *Thuốc Y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng*, NXB Y học, Hà nội
- 2. Đỗ Tất Lợi (2003),** *Cây thuốc và vị thuốc Việt nam*, NXB Y học, Hà Nội.
- 3. Vũ Đình Hoàn, Bùi Thanh Hà và cộng sự (2019),** “Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Phong thấp thang trên mô hình chuột gây viêm khớp thực nghiệm”. *Tạp chí Y học Quân sự*, 338(7-8), 56-59.
- 4. Cục khoa học và đào tạo - Bộ Y tế (2015),** “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu”. *Quyết định 141/QĐ-K2ĐT ngày 27 tháng 10 năm 2015*.
- 5. Đỗ Trung Đàm (2014),** *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, NXB Y học, Hà Nội.
- 6. Đỗ Trung Đàm (2006),** “Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm”. *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, NXB khoa học và kỹ thuật, Hà Nội, 377-392.
- 7. World Health Organization (2000),** *General guidelines for methodologies on research and evaluation of tradition medicine*.