

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN NANG AGELESS MAN TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Đến tòa soạn 28-01-2024

Lê Ngọc Hùng^{*1,2}, Trần Văn Thanh³, Nguyễn Đức Anh², Đái Thị Việt Lan⁴

1. Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ - Viện HLKHCN VN

2. Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện HLKHCN VN

3. Học viện Y dược cổ truyền Việt Nam

4. Công ty cổ phần phòng chẩn trị y học cổ truyền Daibio

* Email: ngoc10hung@yahoo.com

SUMMARY

EVALUATE THE ACUTE AND SUB-CHRONIC TOXICITIES OF THE AGELESS MAN CAPSULE ON THE EXPERIMENTAL ANIMALS

A new male wellness hard capsule Ageless Man (AM) was produced containing the extracts of *Peliosanthes micrantha* (PME) 100mg, *Cistanche tubulosa* (CTE) 50mg, *Cynomorium songaricum* (CSE) 50mg, *Epimedium brevicornu* (EBE) 40mg, *Astragalus membranaceus* (AME) 68mg, *Angelica sinensis* (ASE) 68mg, *Salvia miltiorrhiza* (SME) 56mg, *Paeoniae alba* (PAE) 68mg. Before pharmacological study, its in vivo toxicity studies were conducted. The results showed non-acute toxicity at dose of 17,5g/kgP and not yet determined LD50; non-semi-chronic toxicity was at dose of 400 mg/kgP during consecutive 28 days.

Keywords: PME, male wellness, Ageless Man (AM), in vivo toxicity.

1. MỞ ĐẦU

Các bệnh lý suy giảm chức năng sinh dục trên nam giới trưởng thành ảnh hưởng nhiều đến chất lượng cuộc sống. Các thuốc tân dược có tác dụng điều trị suy giảm chức năng sinh dục nhanh nhưng nhiều thuốc có tác dụng không mong muốn. Y học cổ truyền có nhiều vị thuốc, bài thuốc điều trị, nâng cao sức khỏe, tăng cường sinh lực cho nam giới mang lại hiệu quả tốt. Các vị thuốc thường dùng như nhục thung dung với cơ chế được lý ức chế tăng testosterone nội sinh, eNOS-NO-cGMP và đặc biệt cải thiện chất lượng tinh trùng, điều trị vô sinh [1]; sâm dương hoặc có hoạt chất icariin với cơ chế được lý ức chế chọn lọc PDE5, eNOS-NO-cGMP, tăng testosterone nội sinh [2], ba kích

có hoạt chất bajijiasu với cơ chế được lý tăng testosterone nội sinh, eNOS-NO-cGMP và giảm stress oxy hóa [3],... được phối trong các bài thuốc cổ phương, bài thuốc kinh nghiệm điều trị theo biện chứng đem lại hiệu quả tốt, giá thành rẻ hơn và ít tác dụng không mong muốn. Bài thuốc Tân dục đơn trong Cảnh Nhạc toàn thư sử dụng các vị ba kích [3], nhục thung dung [1], đương qui có tác dụng tổng hợp đồng phân NOS do tổn thương dây thần kinh hang dương vật [4], bạch truật [5], kỷ tử [6], ... dùng để điều trị tinh kiệt, thận dương hư gây vô sinh. Nghiên cứu trong nước bào chế viên hoàn cứng Sâm nhưng tán dục đơn theo bài Tân dục đơn gia thêm lộc nhung và nhân sâm điều trị cho bệnh nhân suy giảm chất lượng và số lượng tinh trùng hiệu quả tốt [7]. Nghiên cứu thuốc sắc tăng cường

sinh lực nam Huoxue Tongluo với thành phần ba kích, bá bệnh, bạch tật lê, bạch thực, dâm dương hoắc, đan sâm, đương quy, hàu, hoàng kỳ, kỷ tử, ngọc cẩu, ngưu tất [8] và viên nang Hongjing với thành phần ba kích, bạch tật lê, bạch thực, dâm dương hoắc, đan sâm, đương quy, hoàng kỳ, kỷ tử, ngưu tất, nhục thung dung [9] có thành phần tương tự nhau và tác động tốt hỗ trợ điều trị dương cương. Dựa vào thành phần và hàm lượng các vị thuốc trong ba bài thuốc trên, chúng tôi đã nghiên cứu bào chế viên nang cứng Ageless Man (AM) gia giảm vị huệ đá lá nhỏ có tác dụng hỗ trợ điều trị các triệu chứng sinh lý nam [10], ngọc cẩu giúp hỗ trợ điều trị xuất tinh sớm, bất lực do cương cứng [11] cũng như giúp tăng cường tuần hoàn máu như đan sâm [12] và bạch thực [13]; hoàng kỳ không chỉ tăng cường tuần hoàn máu mà còn giúp chống lão hóa [14]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã bào chế các cao PME, CTE, CSE, EBE, AME, ASE, SME, PAE từ nguồn nguyên liệu trong nước để phát triển chế phẩm AM [10]. Độ an toàn của sản phẩm mới là vấn đề được đánh giá đầu tiên. Vì vậy, chúng tôi nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của chế phẩm mới này.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu dược liệu

Rễ củ huệ đá lá nhỏ thu ở Krông Nô; thân nhục thung dung, thân rễ nấm ngọc cẩu, lá dâm dương hoắc, rễ đan sâm, rễ củ bạch thực mua ở Sapa; rễ đương quy mua ở Đà Lạt; rễ hoàng kỳ mua tại Ninh Hiệp. Nguyên liệu được TS Nguyễn Văn Hải định danh, đạt TCCS, lưu trữ tại Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao công nghệ.

2.2. Động vật thực nghiệm và thiết bị

Động vật thực nghiệm: chuột nhắt trắng chủng Swiss cả 2 giống, trọng lượng 18 - 24g và chuột cống trắng chủng Wistar cả hai giống, trọng lượng 200- 220g được Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

Thiết bị: Chuồng nuôi chuột điều kiện tiêu chuẩn tại Công ty CP phòng chẩn trị y học cổ truyền Daibio. Kim đầu tù (Nhật Bản) cho chuột uống thuốc, bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ, máy sinh hóa AU480 (Beckman Coulter, Mỹ), máy huyết học X3 NG (Convergys, Đức), kính hiển vi CX33

kèm hệ thống camera LP114000A (Olympus, Nhật) và dụng cụ thí nghiệm đồng bộ khác.

2.3. Điều chế cao chiết và bào chế chế phẩm

Chiết các cao dược liệu theo phương pháp đã mô tả [12] như sau: Bột nguyên liệu ngâm chiết trong ethanol 50%, 24 giờ. Cô quay chân không thu cao chiết, bảo quản trong bình thủy tinh. Mỗi viên nang AM được bào chế từ 100mg PME, 50mg CTE, 50mg CSE, 40mg EBE, 68mg AME, 68mg ASE, 56mg SME, 68mg PAE với các tá dược vừa đủ viên nang số 0 [10].

2.4. Nghiên cứu độc tính cấp

Nghiên cứu độc tính cấp theo quy định của Bộ Y tế [15] thực hiện trên 60 chuột nhắt trắng chủng Swiss. Trước thí nghiệm, chuột nhịn ăn 12 giờ, nước uống tự do. Sau đó, chia chuột ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con. Các lô thử được uống mẫu thử AM pha trong nước cất thể tích 0,2 ml/10g/lần, 3 lần/24 giờ, mỗi lần cách nhau 3 giờ. Mức liều cho uống ở 6 lô tăng dần 5,0g/kgP; 7,5g/kgP; 10,0g/kgP; 12,5g/kgP; 15,0g/kgP và 17,5g/kgP để xác định LD50. Chuột được cho ăn trở lại sau 2 giờ, nước uống bình thường. Theo dõi liên tục 4 giờ đầu; các chỉ tiêu và số chuột chết trong 72 giờ đầu và tiếp tục theo dõi trong 7 ngày.

2.5. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn theo quy định của Bộ Y tế [15] trên 32 chuột cống trắng chủng Wistar mỗi giống. Chuột thí nghiệm phân rõ đực cái riêng, chia thành 4 lô (n= 8): lô chứng uống 1ml dung môi pha thuốc NaCMC 0,1%/ngày, lô liều 1 là 135 mg chế phẩm pha trong CMC-Na 0,1 %/kgP, liều 2 là 270 mg/kgP và liều 3 là 400 mg/kgP (tương ứng các liều uống 2; 4 và 6 viên/ngày/người).

Thống kê và xử lý số liệu: Số liệu xử lý trên Excel, trình bày dạng Trung bình (TB) $\pm$ SD. Thuật toán t-test kiểm tra sự sai khác có ý nghĩa so với đối chứng âm, *P <0,05 được coi là sai khác có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả độc tính cấp của viên nang

Nghiên cứu theo dõi tình trạng chung của chuột sau uống AM liên tục trong 4 giờ và 72 giờ đầu sau đó

tiếp tục cho đến hết 7 ngày cho thấy các chuột ở tất cả các lô hoạt động, vận động bình thường; không có chuột biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động; không có chuột biểu hiện các trạng thái kích thích hoặc ức chế thần kinh. Tất cả chuột đều giữ lông mượt, không bị xù lông và ứt lông. Quan sát ảnh hưởng tới thần kinh thực vật cho thấy các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện về ảnh hưởng của chế phẩm tới tình trạng thần kinh thực vật. Quan sát đồng tử mắt của các chuột bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bị bị co, giãn đồng tử; không có chuột bị ra mồ hôi hoặc bị khô đỏ da. Quan sát ảnh hưởng tới tình trạng hô hấp cho thấy các chuột đều hô hấp bình thường, không có biểu hiện khó thở, tím tái hay bất thường trong hô hấp. Về ăn uống, do ngày đầu chuột uống lượng thuốc nhiều, liên tục trong ngày nên tình trạng ăn uống của chuột được đánh giá bắt đầu từ ngày thứ 2 trở đi. Quan sát cho thấy các chuột ở tất cả các lô ăn uống bình thường, không có biểu hiện bỏ ăn cũng như không có biểu hiện ăn uống tăng lên. Quan sát phân của chuột bình thường, không bị nhão nát, không biến đổi màu sắc phân. Kiểm tra hậu môn của tất cả các chuột hàng ngày thấy hậu môn khô, không bị dính bết phân. Quan sát không thấy biểu hiện dấu hiệu bị đau hay dị ứng, kích ứng

như chảy nước mũi, bị ngứa đưa chân lên gãi. Các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường. Khi chuột nhắt trắng được uống mẫu với các mức liều thấp nhất 5,0 g/kgP đến cao nhất 17,5 g/kgP; theo dõi 4 giờ, 72 giờ tới 7 ngày cho thấy không có chuột nào chết ở tất cả các lô. Do không có chuột nào chết khi cho chuột uống đến mức liều tối đa khi thử nghiệm có thể dùng được bằng đường uống cho chuột trong ngày nên chưa tìm thấy LD50 của chế phẩm theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Kết quả cho thấy viên nang cứng AM có tính an toàn cao trong thử nghiệm độc tính cấp và khoảng an toàn điều trị rộng. Chế phẩm có thành phần gồm các vị dược liệu là các dược liệu sử dụng từ lâu phổ biến trong dân gian và không có báo cáo về độc tính của các dược liệu này, phù hợp với kết quả nghiên cứu.

3.2. Kết quả độc tính bán trường diễn của viên nang Ageless Man

Kết quả thử độc tính bán trường diễn cho thấy viên nang AM chuột ở các lô đều ăn uống bình thường, mắt sáng, lông mượt, phân khô, nước tiểu bình thường. Kết quả bảng 1 cho thấy chuột được cân hàng tuần với sự khác biệt về khối lượng chuột giữa 3 lô thử và lô chứng tại thời điểm nghiên cứu.

Bảng 1. Ảnh hưởng của viên nang AM đến khối lượng cơ thể chuột cái và đực

TN	Khối lượng chuột cái (g)				Khối lượng chuột đực (g)			
	N0	N7	N14	N28	N0	N7	N14	N28
Chứng	218,91 ± 10,83	246,92 ± 6,05	265,48 ± 9,82	275,47 ± 10,29	211,52 ± 9,32	240,21 ± 6,98	256,21 ± 8,53	268,12 ± 11,32
Liều 1	212,41 ± 10,02	239,91 ± 6,73	256,31 ± 8,54	261,12 ± 9,32	206,37 ± 10,03	234,01 ± 6,12	246,98 ± 8,21	259,03 ± 10,41
Liều 2	205,14 ± 9,79	230,84 ± 6,12	240,16 ± 8,78	249,35 ± 9,12	208,90 ± 10,12	236,18 ± 6,03	245,99 ± 9,86	257,47 ± 11,29
Liều 3	207,32 ± 10,05	234,76 ± 5,98	241,82 ± 8,29	244,03 ± 8,41	205,64 ± 9,98	232,34 ± 5,98	240,15 ± 9,78	252,05 ± 9,12

Kết quả cho thấy tỷ lệ tăng cân của chuột lô chứng và lô thử liều cùng tại thời điểm N0, N7, N14 và N28 không khác nhau nhiều.

Nghiên cứu so sánh sự khác biệt các chỉ số huyết học của chuột tại N0, N7, N14 và N28 khi sử dụng

viên nang AM ở bảng 2 cho thấy giữa các lô chuột uống mẫu thử với lô chứng: số lượng bạch cầu, số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu ở lô uống mẫu thử liều 1 tới 3 đều không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

Bảng 2. Ảnh hưởng uống bột viên nang AM dùng 28 ngày đến các chỉ số huyết học của chuột cái và đực

Chỉ số	Liều 1	Lô cái (n=8)		Lô đực (n=8)	
		N14, $p > 0,05$	N28, $p > 0,05$	N14, $p > 0,05$	N28, $p > 0,05$
WBC	Chứng	10,75 ± 1,12	11,78 ± 1,05	11,95 ± 1,15	12,62 ± 1,21

Chỉ số 10 ⁹ /L	Liều 1	Lô cái (n=8)		Lô đực (n=8)	
		N14, p > 0,05	N28, p > 0,05	N14, p > 0,05	N28, p > 0,05
	Liều 1	11,15 ± 1,03	10,61 ± 0,94	12,37 ± 1,18	11,49 ± 1,09
	Liều 2	11,62 ± 1,21	10,81 ± 0,89	12,02 ± 1,08	10,86 ± 1,03
	Liều 3, n=7	10,93 ± 1,19	10,12 ± 0,88	11,46 ± 1,09	10,35 ± 1,01
	Chứng n=8	7,77 ± 0,22	8,12 ± 0,28	8,71 ± 0,22	8,51 ± 0,29
RBC 10 ¹² /L	Liều 1	7,85 ± 0,19	7,58 ± 0,31	8,05 ± 0,19	7,80 ± 0,28
	Liều 2	7,61 ± 0,21	7,22 ± 0,35	7,95 ± 0,18	7,62 ± 0,25
	Liều 3, n=7	7,83 ± 0,22	7,38 ± 0,29	8,01 ± 0,21	7,59 ± 0,24
	Chứng n=8	14,08 ± 0,24	14,03 ± 0,52	14,01 ± 0,32	14,15 ± 0,42
HGB g/dL	Liều 1	14,17 ± 0,29	13,88 ± 0,51	13,82 ± 0,31	13,89 ± 0,31
	Liều 2	14,49 ± 0,26	13,92 ± 0,49	14,61 ± 0,29	13,76 ± 0,33
	Liều 3, n=7	14,51 ± 0,23	13,93 ± 0,47	14,53 ± 0,28	13,79 ± 0,38
	Chứng n=8	45,42 ± 0,97	45,53 ± 1,78	47,78 ± 0,84	47,81 ± 1,09
HCT %	Liều 1	44,71 ± 1,23	44,79 ± 2,01	46,72 ± 0,82	46,71 ± 1,02
	Liều 2	44,46 ± 0,92	44,31 ± 1,89	47,03 ± 0,86	46,92 ± 1,05
	Liều 3, n=7	45,34 ± 0,89	44,59 ± 1,78	46,21 ± 0,79	46,02 ± 0,97
	Chứng n=8	898,35 ± 71,92	810,51 ± 88,12	823,54 ± 92,41	740,31 ± 72,81
PLT 10 ⁹ /L	Liều 1	951,82 ± 80,29	800,12 ± 78,29	890,13 ± 101,09	740,31 ± 73,04
	Liều 2	956,84 ± 83,23	787,69 ± 78,86	801,02 ± 86,46	682,04 ± 68,81
	Liều 3, n=7	937,42 ± 81,32	772,81 ± 79,12	824,32 ± 88,13	700,03 ± 69,34
	Chứng n=8	898,35 ± 71,92	810,51 ± 88,12	823,54 ± 92,41	740,31 ± 72,81

Ghi chú: WBC: bạch cầu, RBC: hồng cầu, HGB: hemoglobin, HCT: hematocrit, PLT: tiểu cầu

Kết quả chỉ số sinh hóa của chuột khi sử dụng viên nang AM ở N14 và N28 thể hiện ở bảng 3. Tại các thời điểm trước uống mẫu thử, sau uống mẫu thử 14 và 28 ngày, các chỉ số sinh hóa của chuột như

các hoạt độ AST và ALT, các nồng độ protein toàn phần, cholesterol toàn phần và nồng độ creatinin không có sự khác biệt giữa lô uống liều 1, 2 và 3 so với lô chứng (p > 0,05).

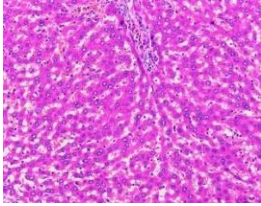
Bảng 3. Ảnh hưởng uống bột viên nang AM dùng 28 ngày đến các chỉ số sinh hóa của chuột cái và đực

Chỉ số	Lô	Chuột cái		Chuột đực	
		N14	N28	N14	N28
Protein (g/L)	Chứng	75,42 ± 1,49	76,65 ± 2,16	74,32 ± 1,94	75,04 ± 2,14
	Liều 1	73,32 ± 1,42	71,45 ± 2,11	73,21 ± 1,88	72,05 ± 1,71
	Liều 2	72,81 ± 1,38	68,14 ± 1,89	70,62 ± 1,46	67,14 ± 1,54
	Liều 3, n=7	70,64 ± 1,35	66,53 ± 1,92	69,24 ± 1,39	65,18 ± 1,85
Cholesterol (mmol/L)	Chứng	1,47 ± 0,11	1,51 ± 0,11	1,59 ± 0,09	1,61 ± 0,12
	Liều 1	1,61 ± 0,11	1,54 ± 0,12	1,58 ± 0,08	1,52 ± 0,11
	Liều 2	1,42 ± 0,09	1,31 ± 0,09	1,44 ± 0,09	1,33 ± 0,09
	Liều 3, n=7	1,39 ± 0,08	1,29 ± 0,10	1,39 ± 0,08	1,28 ± 0,10
AST (U/L)	Chứng	148,25 ± 7,81	139,43 ± 8,21	148,84 ± 7,82	141,92 ± 6,32
	Liều 1	151,14 ± 8,12	135,78 ± 7,22	141,82 ± 8,17	131,92 ± 4,91
	Liều 2	137,64 ± 8,21	119,84 ± 6,97	136,43 ± 6,92	123,41 ± 5,62
	Liều 3, n=7	138,92 ± 9,01	121,31 ± 6,82	125,92 ± 6,87	114,24 ± 4,97
ALT (U/L)	Chứng	77,41 ± 5,59	77,92 ± 4,16	74,94 ± 5,11	76,43 ± 5,04
	Liều 1	72,29 ± 5,13	70,84 ± 4,61	73,12 ± 4,61	71,38 ± 5,12

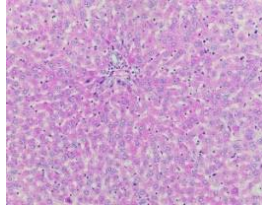
Chỉ số		Chuột cái		Chuột đực	
	Lô	N14	N28	N14	N28
Creatinin	Liều 2	65,31 ± 4,82	60,13 ± 3,78	72,64 ± 4,54	62,12 ± 4,21
	Liều 3, n=7	63,14 ± 4,51	58,12 ± 3,29	70,65 ± 4,38	60,13 ± 4,23
	Chứng	46,83 ± 1,26	48,01 ± 1,81	38,76 ± 1,81	39,92 ± 1,77
	Liều 1	44,91 ± 1,31	46,32 ± 1,72	40,84 ± 1,78	42,41 ± 1,81
	Liều 2	43,32 ± 1,29	42,83 ± 1,83	44,82 ± 1,74	46,13 ± 1,73
	Liều 3, n=7	47,93 ± 1,39	46,87 ± 1,87	45,72 ± 1,79	46,32 ± 1,89

Ghi chú: AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase

Vì phẫu một chuột cái uống liều 400 mg/kgP ở N14 và N28 rồi quan sát mô bệnh học gan thể hiện trong các hình 1 và 2 đều cho thấy cấu trúc gan không bị xóa, nhận rõ các tiểu thùy với tĩnh mạch trung tâm, khoảng cửa, các bè gan xấp xếp hướng xuyên tâm. Các tế bào gan có hình thái trong giới hạn bình

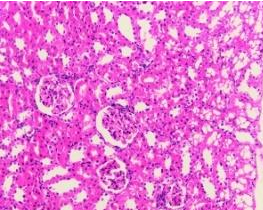


Hình 1a: Ảnh vi thể gan chuột cái, 400mg/kgP, N14. Chụp:HE × 400

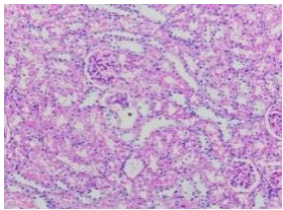


Hình 1b: Ảnh vi thể gan chuột cái, 400mg/kgP, N28. Chụp:PAS

thường, không có nhân lớn bất thường, không hoại tử. Quan sát mô bệnh học thận thể hiện trong hình 3 và 4 cũng cho thấy khi quan sát cấu trúc thận thì nhận rõ các đơn vị thận. Các cầu thận có hình thái và cấu trúc trong giới hạn bình thường, không có xơ hóa và hoại tử. Một số ít bị viêm xung huyết nhẹ.



Hình 1c: Ảnh vi thể thận chuột cái, 400mg/kgP, N14. Chụp:HE × 400



Hình 1d: Ảnh thận chuột cái, 400mg/kgP, N28. Chụp:PAS

Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn cho thấy uống viên nang AM với các liều 135, 270 và 400 (mg/kgP) trong 28 ngày chưa biểu hiện độc tính trên gan, thận và các chỉ số sinh hóa, huyết học cũng như không có sự thay đổi về chức năng sinh lý của chuột. Như vậy, viên nang AM không có độc tính bán trường diễn trong thời gian thử nghiệm ở mức liều cao nhất 400 mg/kg tương đương 6 viên nang AM/người/ngày. Các công bố cho thấy liều CTE 5g/kgP không có độc tính bán trường diễn cao hơn liều cao nhất được thử là 0,3g/kgP [1]; tương tự liều CSE 8,49g/kgP cao hơn liều thử 0,3g/kgP [11]; liều EBE 5g/kgP cao hơn liều thử 0,24g/kgP [2].

4. KẾT LUẬN

Viên nang AM không gây độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng dù đã thử nghiệm đến liều 17,5 g/kgP và chưa xác định được LD₅₀. Với liều thử nghiệm bán trường diễn bằng đường uống trên chuột cống trắng ở các liều 135, 270 và 400 g/kgP/ngày trong 28 ngày liên tiếp, AM không gây

ảnh hưởng đến chức năng huyết học, chức năng gan và thận của chuột.

Lời cảm ơn: Các tác giả cảm ơn đề tài KHCN mã số UDNDP.04/2022-2023 hợp tác giữa Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam và UBND tỉnh Đắk Nông cung cấp kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

Cam kết: Tôi xin cam đoan đây là công trình của Lê Ngọc Hùng, Trần Văn Thanh, Nguyễn Đức Anh, Đái Thị Việt Lan và chưa gửi đăng nội dung này ở bất kỳ tạp chí nào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Liao PL, Li CH, Tse LS, Kang JJ, Cheng YW, (2018). Safety assessment of the *Cistanche tubulosa* health food product Memoregain®: Genotoxicity and 28-day repeated dose toxicity test. *Food Chem Toxicol*, **118**, 581-588.
- [2] Wang Y, Li L, Mu Y, Wang S, Li X, Zong J, Zou S, Liu Z, Gao D., (2023). Acute, subchronic toxicity and genotoxicity studies of Joint Alive, a

traditional Chinese medicine formulation for knee osteoarthritis. *PLoS One*, **18**(10), e0292937

[3] Wu Z, Chen D, Lin F, (2015). Effect of bajijiasu isolated from *Morinda officinalis* on sexual function in male mice and its antioxidant protection of human sperm. *J. Ethnopharmacol*, **164**, 283-92.

[4] Hu WL, Hu LQ, Cheng B, et al, (2001). Effect of *Angelica sinensis* on NOS activity in penile tissues of rats after crushing injury to cavernous nerves. *Zhonghua Nan Ke Xue*, **7**, 29.

[5] Zhu B, Zhang QL, Hua JW, Cheng WL, Qin LP, (2018). The traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Atractylodes macrocephala* Koidz.: A review. *J Ethnopharmacol*, **226**, 143-167.

[6] Luo Q, Li Z, Huang X, et al, (2006). *Lycium barbarum* polysaccharides: Protective effects against heat-induced damage of rat testes and H2O2-induced DNA damage in mouse testicular cells and beneficial effect on sexual behavior and reproductive function of hemicastrated rats. *Life Sci*, **79**, 613-21.

[7] Nguyễn Văn Dũng, (2017-2018). Đề tài Nghiên cứu bào chế viên hoàn sâm nhung tán dục đơn và đánh giá hiệu quả điều trị bệnh nhân suy giảm số lượng và chất lượng tinh trùng.

[8] Wang JS, Dai HH, Zhang KG, Cao KG, Deng S, Bao BH, Feng JL, Meng FC, Li HS, Wang B, (2021). Mechanism of Huoxue Tongluo Decoction in treatment of erectile dysfunction caused by ischemic stroke based on network pharmacology. *Chin Herb Med*, **13**(3), 351-358.

[9] Ma K, Zhao F, Ye M, Zhou K, Huang W, Zhao J, Ma Y, Shou Q, (2020). Neuroprotective effect of Hongjing I granules on erectile dysfunction in a rat model of bilateral cavernous nerve injury. *Biomed Pharmacother*, **130**, 110405.

[10] Lê Ngọc Hùng (2022 – 2024). BCTK đề tài Nghiên cứu tạo sản phẩm hỗ trợ giảm cân từ hạt cà phê xanh và phụ phẩm của quá trình chế biến cà phê

[11] Fu S, Xu S, Pei D, Qu W, Qu J, Tian J., (2019). Subchronic toxicity test of *Songaria cynomorium* herb aqueous extract in rat. *Wei Sheng Yan Jiu*, **48**(1), 104-108.

[12] Kim, J.-H.; Song, J.-W.; Joo, H.; Park, J.-W.; Lee, B.-j.; Cho, J.-H.; Lee, K.; Lee, H.; Park, J.; Jeong, J.-W.; et al, (2022). A Review on the Pharmacological Activities of *Salvia miltiorrhizae* Radix Using International Classification of Disease. *In Processes*, **10**(9), 1860.

[13] Pei Li et al., (2021). Genus Paeonia: A comprehensive review on traditional uses, phytochemistry, pharmacological activities, clinical application, and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*, **269**, 113708.

[14] Liu P, Zhao H, Luo Y, (2017). Anti-Aging Implications of *Astragalus membranaceus*: A Well-Known Chinese Tonic. *Aging Dis*, **8**(6), 868-886.

[15] Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng QĐ 141/QĐ-BYT ngày 27/10/2015.