

Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của amodiaquin hydroclorid

Trần Thị Thanh Huế¹, Lê Văn Đạt¹, Đoàn Thị Mai Hương²,
Nguyễn Thị Minh Hằng², Phạm Văn Cường², Nguyễn Văn Hùng²

¹Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

²Viện Hóa sinh biển - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đặt vấn đề

Sốt rét là một loại bệnh phát sinh bởi các ký sinh trùng *Plasmodium* trong đó muỗi là tác nhân làm lây lan và phát tán ký sinh trùng sốt rét. Theo thông báo chính thức của Tổ chức Y tế thế giới (WHO), bệnh sốt rét đang lan tràn mạnh ở châu Phi dẫn đến sự tử vong của hàng triệu người. Thuốc amodiaquin đã được sử dụng rộng rãi để điều trị bệnh sốt rét từ đầu những năm 50 của thế kỷ trước^[1-4]. Hiện nay, các nghiên cứu cho thấy thuốc kết hợp hai thành phần *amodiaquin hydroclorid/ artesunat* cho hiệu quả điều trị bệnh sốt rét cao và tỷ lệ tái phát thấp hơn so với việc dùng riêng các đơn thuốc thành phần^[1-3]. Thuốc phối hợp hai thành phần amodiaquin và artesunat được WHO ưu tiên sử dụng trong công cuộc phòng chống sốt rét trên toàn thế giới^[4-6].

Trước đây chúng tôi đã công bố quy trình tổng hợp hợp chất amodiaquin hydroclorid từ 4,7-dichloroquinolin^[7], trong bài báo này, chúng tôi thông báo về kết quả thử độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của hợp chất amodiaquin hydroclorid do chúng tôi sản xuất.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu nghiên cứu

+ Amodiaquin hydroclorid được sản xuất tại Viện Hóa sinh biển – Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

+ Động vật thí nghiệm (ĐVTN):

- Chuột nhắt trắng giống Swiss, trọng lượng 18-22 g. Số lượng: 200 con. Nguồn gốc: Trung tâm chăn nuôi động vật thí nghiệm CIMAD - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

- Thỏ khỏe mạnh, cả 2 giống, cân nặng 2,0- 2,5 kg, 3 nhóm thử nghiệm (1 nhóm chứng và 2 nhóm

uống thuốc), mỗi nhóm 7 con. Nguồn gốc: Trung tâm G1- Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

Phương pháp nghiên cứu

Độc tính cấp

Chia chuột nhắt trắng thành các lô, mỗi lô 20 con. Cho chuột uống thuốc liều tăng dần giữa các lô, Theo dõi biểu hiện của chuột sau khi uống trong 24 giờ đầu và theo dõi hoạt động của chuột trong thời gian 7 ngày sau khi uống. Tính liều LD₅₀ theo phương pháp Behrens^[8].

Chuột nhắt trắng được nuôi trong điều kiện chuồng thoáng mát, đảm bảo vệ sinh, chế độ ăn uống theo nhu cầu của chuột. Chuột được nhịn ăn 15 giờ trước khi thí nghiệm, nước uống theo nhu cầu. Kiểm tra cân nặng trước khi thử nghiệm. Chuột đạt các yêu cầu về cân nặng (khoảng 20 g) được đưa vào thử nghiệm. Đưa mẫu thử dưới dạng dung dịch theo đường uống. Lấy thể tích mẫu thử theo quy định đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù. Dựa trên kết quả thăm dò trong thử nghiệm sơ bộ, tiến hành thử nghiệm chính thức trên 100 chuột, chia thành 5 nhóm thử theo mức liều đã dự tính.

Thăm dò liều ban đầu

- Cách xử lý và chuẩn bị mẫu thử:

Chuẩn bị dung dịch có chứa 50mg mẫu thử/ml nước cất (dd A) và dung dịch có chứa 20mg mẫu thử/ml nước cất (dd B).

- Thăm dò ở mức liều không làm chết chuột thí nghiệm:

Tiến hành thăm dò trên chuột, cho uống dung dịch thử B tương đương với mức liều 350, 300, 250, 200mg mẫu thử/ kg chuột, mỗi mức liều 10 con. Sau 24 giờ theo dõi, chuột uống dung dịch thử ở mức liều 250 và 200mg mẫu thử/ kg chuột không gây chết chuột thí nghiệm còn ở mức liều 300 và 350mg mẫu thử/ kg chuột có 1/10 chuột

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

chết. Vì vậy liều không gây chết chuột phải không quá 250mg mẫu thử/ kg chuột.

- Thẩm dò mức liều làm chết 100% chuột thí nghiệm:

- Tiến hành thẩm dò trên chuột, cho uống dung dịch thử A, tương đương với mức liều 1000, 1250, 1500, 1750mg mẫu thử/ kg chuột, mỗi mức liều 10 con. Sau 24 giờ theo dõi, nhóm chuột ở mức liều 1000mg mẫu thử/ kg chuột gây chết 8/10 còn ở các mức liều 1250, 1500 và

1750mg mẫu thử/ kg chuột gây chết 100% số chuột thí nghiệm. Do đó liều gây chết 100% số chuột thí nghiệm phải không ít hơn 1250mg mẫu thử/ kg chuột.

Thử nghiệm chính thức

- Các mức liều thử nghiệm
- Dựa trên kết quả thẩm dò trong thử nghiệm sơ bộ, tiến hành thử nghiệm chính thức trên 100 chuột, chia thành 5 nhóm thử theo mức liều như sau:

Nhóm chuột	Liều dùng (ml dung dịch thử/20g chuột)	Liều dùng (mg mẫu thử/kg chuột)	Số chuột thí nghiệm
Mức liều 1	0,1 ml dd thử	250 mg mẫu thử/kg chuột	20
Mức liều 2	0,2 ml dd thử	500 mg mẫu thử/kg chuột	20
Mức liều 3	0,3 ml dd thử	750 mg mẫu thử/kg chuột	20
Mức liều 4	0,4 ml dd thử	1000 mg mẫu thử/kg chuột	20
Mức liều 5	0,5 ml dd thử	1250 mg mẫu thử/kg chuột	20

- Cách xử lý mẫu và chuẩn bị mẫu thử:

- Cân chính xác một lượng mẫu thử, nghiền mịn, cho từ từ nước cất để hòa tan, thêm nước cất vừa đủ để thu được dung dịch chứa 50mg mẫu thử/ ml nước cất (dung dịch thử).

Tiến hành

Chuột được nhịn ăn 15 giờ trước khi thí nghiệm, nước uống theo nhu cầu. Kiểm tra chuột đạt các yêu cầu về cân nặng được đưa vào thử nghiệm. Đưa mẫu thử dưới dạng dung dịch theo đường uống. Lấy thể tích mẫu thử theo quy định đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù. Các nhóm thử được uống dung dịch thử ở các mức liều khác nhau (xem bảng) sau đó theo dõi biểu hiện của chuột sau khi uống trong 24 giờ đầu và theo dõi hoạt động của ĐVTN trong thời gian 7 ngày sau khi uống ở 5 mức liều khác nhau.

Độc tính bán trường diễn

Thử độc tính bán trường diễn trên thỏ gồm 1 nhóm chứng và 2 nhóm thử, mỗi nhóm 7 con. Xét nghiệm trước, trong và sau thí nghiệm. Thỏ được cho ăn và uống nước đầy đủ trong suốt quá trình thử nghiệm. Độc tính bán trường diễn được thử theo phương pháp trong tài liệu [8-9].

Chuẩn bị mẫu thử

Lựa chọn mức liều thử nghiệm

- Chúng tôi dựa trên liều dự kiến dùng trên người là 10mg amodiaquin – dạng dung/ kg người/ ngày, như vậy với người có trọng lượng trung bình là 50kg thì liều là 500mg amodiaquin (dạng base)/người/ngày tương ứng với khoảng 650mg amodiaquin HCl (dạng muối)/người/ngày. Bảng ngoại suy liều dưới đây để đưa ra mức liều thử có ý nghĩa, hợp lý khi chuyển đổi.

Bảng 1: Bảng ngoại suy liều

	Chuột nhắt trắng	Chuột cống	Thỏ	Chó	Người
Chuột nhắt trắng	1	0,55	0,25	0,15	0,085
Chuột cống	1,82	1	0,45	0,27	0,15
Thỏ	4	2,20	1	0,60	0,34
Chó	6,67	3,67	1,67	1	0,57
Người	11,76	6,47	2,94	1,67	1

- Cách xử lý và chuẩn bị mẫu thử: Hòa tan 2000 mg mẫu thử trong nước cất vừa đủ 100 ml (Dung dịch A: chứa 20 mg hoạt chất/ ml nước cất).

+ Nhóm thử 1: Dùng dung dịch A.

+ Nhóm thử 2: (pha loãng 1,5 lần dung dịch A bằng nước cất). Lấy 40 ml dung dịch A thêm

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

nước cất vừa đủ 60 ml (Dung dịch B: chứa 13,3mg hoạt chất/ ml nước cất).

Bố trí thí nghiệm

Thỏ được nuôi trong điều kiện thí nghiệm

Nhóm	Số thỏ thí nghiệm	Thể tích cho uống (ml/kg thỏ)	Liều dùng (mg mẫu thỏ/kg thỏ)
Chứng	7	3,0 ml nước/ kg thỏ	---
Nhóm thử 1	7	3,0 ml dung dịch A/kg thỏ	60 mg/ kg thỏ
Nhóm thử 2	7	3,0 ml dung dịch B/kg thỏ	40 mg/ kg thỏ

Theo dõi và đánh giá

Theo dõi thỏ hàng ngày về mức độ tiêu thụ thức ăn, khả năng hoạt động, tình trạng phân, lông. Trước thí nghiệm, xác định cân nặng của thỏ, các dấu hiệu toàn thân, lấy máu xét nghiệm đánh giá các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, hemoglobin, hematocrit), các chỉ số sinh hóa (GOT, GPT, creatinin, urea, protein toàn phần). Theo dõi cân nặng của thỏ hàng tuần. Sau 14 và 28 ngày uống thuốc lấy máu để làm các xét nghiệm như

như nhau, đủ chế độ dinh dưỡng. Thí nghiệm được tiến hành trên 21 thỏ, chia 3 nhóm (1 nhóm chứng và 2 nhóm thử), mỗi nhóm 7 thỏ được bố trí thí nghiệm và thử với các mức liều như ở bảng sau:

trên. So sánh kết quả của nhóm thử và nhóm chứng theo phương pháp thống kê. Quan sát đại thể và vi thể một số tổ chức của thỏ sau khi kết thúc thí nghiệm.

Kết quả và bàn luận

Độc tính cấp

Trong thử nghiệm này, chúng tôi đã tìm được liều không gây chết chuột là 250 mg mẫu thỏ/kg chuột, liều gây chết 100% số chuột thử nghiệm là 1250 mg mẫu thỏ/ kg chuột.

Tính toán

Tính LD₅₀

$$LD_{50} = D_1 + \frac{50 - a}{b - a} \times d$$

Trong đó:

D₁: Liều gây chết a% ĐVTN.

a: % ĐVTN chết sát dưới 50% sao cho a < 50%

b: % ĐVTN chết sát trên 50% sao cho b > 50%

d: khoảng cách giữa các liều (mg)

Theo bảng trên, ta có:

D₁ = 500 mg mẫu thỏ/ kg a = 18,8%

D₂ = 750 mg mẫu thỏ/ kg b = 60,0%

d = D₂ - D₁ = 250 mg mẫu thỏ/ kg
(50 - 18,8) x 250

$$LD_{50} = 500 + \frac{60,0 - 18,8}{60,0 - 18,8} \times 250 = 689,3 \text{ mg mẫu thỏ/ kg chuột}$$

Tính sai số chuẩn của LD₅₀

Theo đồ thị, ta xác định liều gây chết 16% (LD₁₆) và 84% (LD₈₄), ta có:

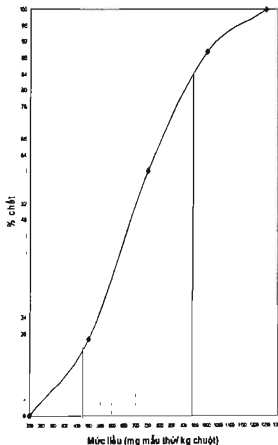
LD₁₆ = 475 mg mẫu thỏ/ kg chuột

LD₈₄ = 937,5 mg mẫu thỏ/ kg chuột

Tính phân phối chuẩn s theo công thức:

$$s = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{2} = \frac{937,5 - 475}{2} = 231,3 \text{ mg mẫu thỏ/ kg chuột.}$$

Sai số chuẩn được tính theo công thức:



Hình 1: Đồ thị biểu diễn giá trị LD₅₀ của amodiaquin hydroclorid theo Behrens

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

$$Es_{LD50} = \sqrt{\frac{k \cdot x \cdot d}{n}}$$

Trong đó: k: hằng số Behrens = 0,66
n: số chuột trong mỗi nhóm
s: phân phối chuẩn

Thay vào bảng số:

$$Es = \sqrt{\frac{0,66 \times 231,3 \times 250}{20}} = 30,9 \text{ mg/kg}$$

Es = 30,9 mg mẫu thử/ kg chuột

Vậy LD₅₀ = (689,3 ± 30,9) mg mẫu thử/ kg chuột

Dựa trên số liệu thực tế, chúng tôi đã tìm được

liều LD₅₀ (689,3 ± 30,9) mg mẫu thử/kg chuột. Sau khi uống thuốc, chuột có các biểu hiện ngộ độc như sau: Chuột giảm hoạt động, nằm liệt. Riêng nhóm thứ 1, không nhận thấy có biểu hiện ngộ độc. Trong khoảng 0,5 - 3 giờ sau khi uống dung dịch thử và trong 24 giờ theo dõi, nhóm thử 5 gây chết 100% số chuột thử nghiệm, các nhóm 2, 3 và 4 có chuột chết tăng dần theo mức liều. Trong thời gian theo dõi tiếp theo (sau khi uống 24 giờ đến 7 ngày) không có thêm chuột chết. Toàn bộ số chuột không chết sau khi uống 24 giờ ở các nhóm đều ăn uống, hoạt động bình thường.

Kết quả được ghi trong hình 1 và bảng 2.

Bảng 2: Kết quả thử độc tính cấp của amodiaquin hydrochlorid

Mức liều	Liều thử (mg mẫu thử/kg chuột)	Số chuột chết/số sống thực tế	Số chuột chết/số sống tích lũy	% Chết
1	250	0/20	0/46	0
2	500	6/14	6/26	18,8
3	750	12/8	18/12	60,0
4	1000	16/4	34/4	89,5
5	1250	20/0	54/0	100

Tiêu thụ thức ăn và uống, quan sát dấu hiệu ngộ độc của chuột

Sau khi uống dung dịch thử: Ở mức liều 1 không nhận thấy biểu hiện ngộ độc, chuột ăn uống hoạt động bình thường, ở mức liều 2, 3, 4 và 5, chuột có biểu hiện nằm liệt, giảm hoạt động và một số chuột chết trong khoảng 0,5 - 3 giờ. Số chuột sống sót sau khi cho uống 24 giờ ở các nhóm đều ăn uống, hoạt động bình thường.

Độc tính bán trường diễn

Kết quả theo dõi cân nặng thỏ

Trong thời gian thí nghiệm, tất cả các thỏ ở nhóm chứng hoạt động bình thường, ăn uống tốt,

phân khô, lông mượt. Không có hiện tượng rụng lông hoặc lông bị khô cứng. Riêng thỏ ở các nhóm thử có biểu hiện giảm ăn uống, sút cân. Theo dõi cân nặng thỏ trong quá trình thí nghiệm cho thấy, cân nặng trung bình của thỏ ở các nhóm thử trước khi đưa vào thí nghiệm không có sự khác biệt so với lô chứng (P_{C-T1 trước} và P_{C-T2 trước} > 0,05). Sau 28 ngày thử nghiệm, thỏ tăng cân đều ở nhóm chứng, riêng các nhóm thử có trọng lượng sau thí nghiệm giảm so với trọng lượng trước thí nghiệm đặc biệt là nhóm thí nghiệm 1 có sự giảm trọng lượng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với trước thí nghiệm và giảm khác biệt so với nhóm chứng. Kết quả được ghi trong bảng 3.

Bảng 3: Kết quả theo dõi cân nặng thỏ thử nghiệm

Nhóm	Kết quả cân nặng (kg)					P
	Trước TN (m)	Sau 1 tuần (m)	Sau 2 tuần (m)	Sau 3 tuần (m)	Sau 4 tuần (m)	
Chứng (C)	2,19±0,23	2,30±0,23	2,37±0,20	2,42±0,19	2,50±0,17	P trước-sau=0,042
% so trước TN		5,0 %	8,2 %	10,5 %	14,2 %	
Thử 1 (T1)	2,25±0,15	1,88±0,19	1,94±0,15	1,96±0,19	1,99±0,16	P trước-sau=0,042 P _{C-T1 trước} =0,685 P _{C-T1 sau} =0,001
% so trước TN		-16,4 %	-13,8 %	-12,9 %	-11,6 %	
Thử 2 (T2)	2,14±0,17	2,06±0,20	2,08±0,18	2,12±0,16	2,10±0,19	P trước-sau=0,671 P _{C-T2 trước} =0,698 P _{C-T2 sau} =0,002
% so trước TN		-3,7 %	-2,8 %	-0,9 %	-1,8 %	

Ghi chú: Giá trị "-" biểu hiện có sự giảm trọng lượng của thỏ thử nghiệm

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

Kết quả theo dõi các chỉ số huyết học

Trước khi thử nghiệm, thỏ được kiểm tra các chỉ số về huyết học cho thấy có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa nhóm chứng và 2 nhóm thử ($P_{C-T trước} > 0,05$).

Ở thời điểm giữa và sau khi thử nghiệm, không nhận thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm chứng và 2 nhóm thí nghiệm ($P_{C-T sau} > 0,05$). Kết quả được ghi trong các bảng 4-6.

Bảng 4: Kết quả theo dõi chỉ số huyết học trước thí nghiệm

Chỉ tiêu	n	Nhóm chứng	Nhóm T1	$P_{C-T1 trước}$	Nhóm T2	$P_{C-T2 trước}$
Hồng cầu ($\times 10^{12}$ /lít)	7	5,7 \pm 0,5	5,7 \pm 0,6	0,976	5,6 \pm 0,4	0,572
Bạch cầu ($\times 10^9$ /lít)	7	9,7 \pm 1,3	9,2 \pm 1,6	0,567	8,4 \pm 1,2	0,087
Tiểu cầu ($\times 10^9$ /lít)	7	328,7 \pm 90,2	318,0 \pm 33,6	0,793	399,1 \pm 91,4	0,204
Hematocrit (%)	7	37,0 \pm 0,02	37,0 \pm 0,03	0,795	35,0 \pm 0,02	0,110
Hemoglobin (g/dL)	7	11,7 \pm 1,0	11,6 \pm 1,1	0,834	11,0 \pm 0,4	0,100
Lympho ($\times 10^9$ /lít)	7	6,7 \pm 1,2	6,8 \pm 2,1	0,920	7,2 \pm 1,5	0,515
Neut ($\times 10^9$ /lít)	7	3,0 \pm 1,9	2,4 \pm 0,9	0,509	1,14 \pm 1,1	0,062

Bảng 5: Kết quả theo dõi chỉ số huyết học giữa thí nghiệm

Chỉ tiêu	n	Nhóm chứng	Nhóm T1	P_{C-T1}	Nhóm T2	P_{C-T2}
Hồng cầu ($\times 10^{12}$ /lít)	7	6,0 \pm 0,5	5,5 \pm 0,7	0,244	5,8 \pm 0,6	0,600
Bạch cầu ($\times 10^9$ /lít)	7	9,7 \pm 2,0	8,5 \pm 1,6	0,279	8,2 \pm 1,3	0,158
Tiểu cầu ($\times 10^9$ /lít)	7	380,4 \pm 33,1	370,9 \pm 92,9	0,819	442,0 \pm 116,3	0,253
Hematocrit (%)	7	39,0 \pm 0,03	35,0 \pm 0,04	0,073	37,0 \pm 0,03	0,246
Hemoglobin (g/dL)	7	12,1 \pm 1,0	11,1 \pm 1,1	0,143	11,2 \pm 0,9	0,140
Lympho ($\times 10^9$ /lít)	7	5,6 \pm 0,9	4,8 \pm 1,2	0,248	5,7 \pm 1,4	0,885
Neut ($\times 10^9$ /lít)	7	4,1 \pm 1,1	3,7 \pm 0,9	0,500	2,5 \pm 1,4	0,058

Bảng 6: Kết quả theo dõi chỉ số huyết học sau thí nghiệm

Chỉ tiêu	n	Nhóm chứng	Nhóm T1	$P_{C-T1 sau}$	Nhóm T2	$P_{C-T2 sau}$
Hồng cầu ($\times 10^{12}$ /lít)	7	5,9 \pm 0,7	5,9 \pm 0,6	0,911	5,9 \pm 0,7	0,915
Bạch cầu ($\times 10^9$ /lít)	7	10,0 \pm 2,1	8,7 \pm 0,7	0,181	9,2 \pm 1,3	0,404
Tiểu cầu ($\times 10^9$ /lít)	7	354,3 \pm 88,9	378,7 \pm 94,7	0,648	424,0 \pm 71,5	0,183
Hematocrit (%)	7	38,0 \pm 0,04	37,0 \pm 0,03	0,568	38,0 \pm 0,03	0,670
Hemoglobin (g/dL)	7	11,9 \pm 1,2	11,6 \pm 0,8	0,597	11,5 \pm 0,8	0,508
Lympho ($\times 10^9$ /lít)	7	6,6 \pm 2,8	5,7 \pm 1,4	0,498	6,54 \pm 2,1	0,984
Neut ($\times 10^9$ /lít)	7	3,5 \pm 1,8	3,0 \pm 1,6	0,656	2,6 \pm 1,6	0,404

Kết quả theo dõi các chỉ số sinh hóa (thuộc chức năng gan và thận)

Trước thí nghiệm, sự khác biệt của các chỉ số sinh hóa giữa nhóm thử và nhóm chứng không có ý nghĩa thống kê ($P_{C-T trước} > 0,05$). Chỉ

số sinh hóa của thỏ ở thời điểm giữa thí nghiệm và sau thí nghiệm, kết quả thu được cũng cho thấy không có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm chứng và 2 nhóm thử ($P_{C-T sau} > 0,05$). Kết quả được ghi trong các bảng 7-9.

Bảng 7: Kết quả theo dõi chỉ số sinh hoá trước thí nghiệm

Chỉ tiêu	n	Nhóm chứng	Nhóm T1	$P_{C-T1 trước}$	Nhóm T2	$P_{C-T2 trước}$
AST (IU/lít)	7	51,1 \pm 21,9	60,4 \pm 10,7	0,370	47,3 \pm 23,3	0,773
ALT (IU/lít)	7	111,0 \pm 36,7	119,9 \pm 17,5	0,604	102,3 \pm 37,2	0,691
Creatinin (μ mol/lít)	7	114,0 \pm 19,2	120,7 \pm 19,1	0,555	102,9 \pm 19,6	0,341
Urea (mmol/lít)	7	7,02 \pm 1,7	5,93 \pm 1,3	0,253	5,99 \pm 1,2	0,545
Bilirubin TP (μ mol/lít)	7	4,21 \pm 0,3	3,93 \pm 0,4	0,139	4,33 \pm 0,7	0,613
Protein TP (g/lít)	7	55,7 \pm 3,9	56,3 \pm 3,8	0,802	58,7 \pm 4,8	0,259

Bảng 8: Kết quả theo dõi chỉ số sinh hoá giữa thí nghiệm

Chỉ tiêu	n	Nhóm chứng	Nhóm T1	P_{C-T1}	Nhóm T2	P_{C-T2}
AST (IU/lit)	7	43,7 ± 18,7	41,9 ± 11,2	0,838	41,9 ± 9,3	0,832
ALT (IU/lit)	7	122,6 ± 54,3	111,1 ± 32,6	0,667	100,3 ± 16,6	0,369
Creatinin (μmol/lit)	7	100,0 ± 11,7	109,1 ± 25,6	0,442	95,6 ± 17,2	0,811
Urea (mmol/lit)	7	6,5 ± 1,3	5,6 ± 0,6	0,154	5,7 ± 0,7	0,214
Bilirubin TP (μmol/lit)	7	3,8 ± 0,5	3,8 ± 0,5	0,843	3,7 ± 0,6	0,612
Protein TP (g/lit)	7	59,3 ± 4,2	56,1 ± 4,9	0,255	59,0 ± 5,0	0,916

Bảng 9: Kết quả theo dõi chỉ số sinh hoá sau thí nghiệm

Chỉ tiêu	n	Nhóm chứng	Nhóm T1	$P_{C-T1 sau}$	Nhóm T2	$P_{C-T2 sau}$
AST (IU/lit)	7	60,1 ± 40,1	41,5 ± 10,5	0,308	56,0 ± 29,6	0,842
ALT (IU/lit)	7	116,1 ± 41,9	99,0 ± 21,5	0,413	117,0 ± 27,3	0,967
Creatinin (μmol/lit)	7	100,6 ± 12,7	110,7 ± 28,8	0,408	109,4 ± 18,7	0,356
Urea (mmol/lit)	7	7,5 ± 1,6	6,1 ± 0,9	0,105	7,0 ± 1,4	0,835
Bilirubin TP (μmol/lit)	7	4,3 ± 0,7	4,1 ± 0,5	0,592	4,2 ± 0,2	0,685
Protein TP (g/lit)	7	62,0 ± 5,0	62,7 ± 6,0	0,834	61,3 ± 4,9	0,808

Quan sát đại thể

Không nhận thấy có biểu hiện khác thường về hình dạng bên ngoài, màu sắc các tổ chức tim, gan, thận, phổi, dạ dày, ruột của các thỏ nhóm thử so với nhóm chứng sau thí nghiệm.

Quan sát vi thể

Lấy mẫu tiêu bản gan, thận trên 3 thỏ ngẫu nhiên trong từng nhóm thí nghiệm và nhóm chứng, mã hóa như sau:

Chứng	Nhóm thử 1	Nhóm thử 2
KN19	KN2	KN10
KN22	KN3	KN13
KN23	KN5	KN16

Kết quả quan sát vi thể gan, thận cho thấy có sự tổn thương (xung huyết nhẹ hoặc viêm) ở gan và thận của một số ít thỏ trong cả nhóm chứng và 2 nhóm thử, cụ thể: Thỏ mã hóa KN2, KN3, KN16, KN19, KN22 có gan bình thường, thận bình thường. Thỏ KN5 có biểu hiện gan bị hoại tử, chảy máu/ viêm mạn ở một số vùng quanh khoảng cửa (do KST), tế bào gan ngoài vùng tổn thương bình thường, thận bị xung huyết nhẹ cầu thận và mô kẽ vùng vỏ, rải rác có ổ viêm mạn vùng tủy. Thỏ KN10 có gan bình thường, có dịch albumin trong ống thận biểu hiện tổn thương cầu thận và ống thận. Thỏ KN13 bị thoái hóa ái toan, nhân đông ở rải rác các tế bào gan, xung huyết tĩnh mạch trung tâm và vùng cạnh tĩnh mạch trung tâm. Mô kẽ xung huyết và có viêm mạn thận rải rác. Thỏ KN23 có

gan bị xung huyết tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch và thận bình thường.

Kết luận

Trong thử nghiệm này, đã tìm được liều không gây chết chuột là 250 mg amodiaquin hydroclorid (mẫu thử) / kg chuột, liều gây chết 100% số chuột thí nghiệm là 1250 mg mẫu thử/ kg chuột. Dựa trên số liệu thực tế, đã tìm được liều gây chết 50% chuột nhất trắng qua đường uống là LD₅₀ (689,3 ± 30,9) mg mẫu thử/kg chuột. Theo phân loại độc tính của OECD, những chất có giá trị độc tính cấp LD₅₀ trong khoảng 300 - 2000 mg/kg thể trọng, được coi là chất có độc tính vừa. Độc tính cấp của mẫu thử xác định có giá trị LD₅₀ = (689,3 ± 30,9) mg mẫu thử/kg chuột nên có thể nói mẫu thử amodiaquin hydroclorid có tính độc vừa.

Sau khi cho thỏ uống dung dịch mẫu thử trong nước liên tục trong 28 ngày với mức liều 60 mg mẫu thử/ kg thỏ/ ngày và 40 mg mẫu thử/kg thỏ/ ngày, kết quả thu được cho thấy không có sự khác nhau về chỉ sinh hóa và huyết học giữa nhóm chứng và 2 nhóm thử ở các thời điểm xét nghiệm. Cân nặng của thỏ thí nghiệm trong các nhóm thử so với nhóm chứng đặc biệt là nhóm thử 1 có sự giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê. Không nhận thấy sự bất thường về hình dạng bên ngoài, màu sắc của các tổ chức tim, gan, thận, phổi và hệ tiêu hóa giữa các thỏ nhóm chứng và các nhóm thử sau thí nghiệm. Kết quả quan sát vi thể cho thấy có

sự tổn thương (xung huyết nhẹ hoặc viêm) ở gan và thận của 1 số ít thỏ trong cả nhóm chúng và 2 nhóm thử.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài cấp Nhà nước thuộc Chương trình nghiên cứu khoa học công nghệ trọng điểm quốc gia phát triển công nghiệp hoá được đến năm 2020, mã số CNHD.ĐT.023/10-11.

Summary

As amodiaquine well serves as one of main drugs in the new global strategy of combination therapies for malaria control, following our previous study on synthesis of amodiaquine from 4,7-dichloroquinoline, in this study amodiaquine hydrochloride was experimentally evaluated for acute and subchronic oral toxicity in mice and rabbits. The LD₅₀ of amodiaquine in mice was (689.3 ± 30.9) mg/kg body weight in single dose administration. In 28 days' subchronic study in rabbits, amodiaquine were administrated at doses of 40mg and 60 mg/kg/day for 28 days on end. After such 28 days' course, blood and tissue samples were taken for hematological, biochemical and histopathological evaluation. All the hematological, biochemical parameters and histopathological signs showed non-significant difference between the treatment and control groups; but mild liver congestion, mild hepatitis, and mild nephritis were seen in a few individuals.

Tài liệu tham khảo

1. World health Organisation (1990), *Technical report Series* No 805.
2. White N. J. (1999), Delaying antimalarial drug resistance with combination chemotherapy, *Parasitologia*, 41, p. 301-308.
3. World Health Organisation (2001), WHO/CDS/RBM/2001.35.
4. Adjuk M., Agnamey P., Babiker A. et al. (2002), "Amodiaquine-artesunate versus amodiaquine for uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in African children: a randomised, multicentre trial", *The Lancet*, 359, p. 1365-1372.
5. Koram K. A., Quaye L., Abuaku B. (2008), "Efficacy of Amodiaquine/Artesunate combination therapy for uncomplicated malaria in children under five years in Ghana", *Ghana Medical Journal*, 42, p. 55-60.
6. Akintunde S., Sulayman T., Balogun G, et al. (2009), "Effects of amodiaquine, artesunate, artesunate-amodiaquine on Plasmodium falciparum malaria-associated anaemia in children", *Acta Tropica*, 109, p. 55-60.
7. Nguyễn Văn Hùng, Phạm Văn Cường, Trần Văn Hiệu, Đoàn Thị Mai Hương (2009), "Nghiên cứu tổng hợp amodiaquine, hoạt chất dùng bào chế thuốc chống sốt rét phối hợp 2 thành phần artesunate/ amodiaquine", *Tạp chí Hoá học*, 47 (4A), tr. 366-369
8. Bộ Y tế (1996), Hướng dẫn đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc cổ truyền Việt Nam, 8, 14, tr. 30-49.
9. A. Wallace Hayes (1994), "Principles and Method of Toxicology", 5th ed, *CRC Press/Taylor & Francis Group*.

Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau của bốn bài thuốc từ quả chuối hột và củ ráy trên thực nghiệm

Đào Thị Vui, Đào Thị Hưng
Trường Đại học Dược Hà Nội

Đặt vấn đề

Bệnh gút là bệnh rối loạn chuyển hóa acid uric làm tăng acid uric máu, lắng đọng tinh thể natri urat trong các tổ chức đặc biệt là màng hoạt dịch khớp gây nên những đợt viêm khớp cấp, gây đau dữ dội. Vì vậy mục tiêu điều trị

bệnh gút là vừa làm giảm được acid uric máu vừa làm giảm được các triệu chứng viêm, đau.

Các bài thuốc trong thành phần có củ ráy và quả chuối hột từ lâu đã được nhân dân sử dụng để điều trị bệnh gút (thống phong). Tuy nhiên cho tới nay chưa có đề tài nào đánh giá hiệu quả của các bài thuốc này trên thực nghiệm cũng như trên