hỗn hợp nổ với không khí ở khoảng nồng độ rất rộng (4,1-74,2%), cần chú ý vấn đề an toàn khi thực hiện phản ứng. Phương pháp này khó ứng dụng ở quy mô lớn trong điều kiện của Việt Nam. Tương tự, phản ứng khử hóa với kẽm trong môi trường acid, khi tỷ lệ kẽm so với curcuminoid, cũng như lượng kẽm cho vào phản ứng từng đợt và thời gian phản ứng được kiểm soát chặt chẽ, phản ứng xảy ra chọn lọc hơn trên nhóm alken. Phương pháp này có ưu điểm là đơn giản, rẻ tiền, hiệu suất tốt, có thể ứng dụng trong sản xuất ở quy mô công nghiệp.

Cấu trúc của tetrahydrocurcumin và tetrahydrodemethoxycurcumin đều được khẳng định bằng các phương pháp phổ MS, $^1$H-NMR. Phổ khối lượng của tất cả các chất cho pic đúng với số khối của phân tử. $^1$H-NMR cho các tín hiệu proton phù hợp với công thức cấu tạo.

Sản phẩm khử hóa là tetrahydrocurcuminoid không những vẫn giữ được tác dụng chống oxy hóa của curcuminoid mà còn thể hiện tác dụng tốt hơn. Điều này có ý nghĩa rất lớn trong thực tiễn, đó là cho phép thu sản phẩm là hỗn hợp tetrahydrocurcuminoid vừa không màu, vừa giữ được tác dụng chống oxy hóa, không cần tách riêng từng sản phẩm, đơn giản hóa quy trình bán tổng hợp.

## Kết luận

Như vậy, chúng tôi đã xây dựng được quy trình bán tổng hợp tetrahydrocurcuminoid từ curcuminoid ở quy mô phòng thí nghiệm; đồng thời đã thử được tác dụng chống oxy hóa của tetrahydrocurcumin cũng như tetrahydrocurcuminoid bán tổng hợp được.

## Tài liệu tham khảo

1. Nguyễn Gia Chấn (2006), "Những công trình nghiên cứu 2003-2004 về tác dụng của curcumin", *Tạp chí Dược liệu*, tập 11 (số 2), tr. 88 – 95.

2. Kim D. S. H. L. (2010), "Method to prepare pure curcumin", *The United States Patent and Trademark Office*, US 20100048957 A1.

3. Osawa T., Sugiyama Y., Inayoshi M., Kawakishi S. (1995), "Antioxidative activity of tetrahydrocurcuminoids", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59(9), pp. 1609-1612.

4. Portes E., Gardrat C., Castellan A. (2007), "A comparative study on the antioxidant properties of tetrahydrocurcuminoids and curcuminoid", *Tetrahedron*, 63(37), pp. 9092-9099.

5. Salto S. *et al.* (1993), "Inhibition of the HIV-1 and HIV-2 proteases by curcumin and curcumin boron complexes", *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 1(6), pp. 415-422.

6. Simon A. (1998), "Inhibitory effect of curcuminoids on mcf-7 cell proliferation and structure-activity relationship", *Cancer Lett.*, 129(1), pp. 111-116.

*(Ngày nhận bài: 08/10/2014 - Ngày duyệt đăng: 03/02/2015)*

# Độc tính cấp và bán trường diễn (30 ngày) của clopidogrel bisulfat tổng hợp tại Việt Nam

**Phạm Thị Nguyệt Hằng, Đỗ Thị Phương, Nguyễn Văn Tài***

*Viện Dược liệu*

** E-mail: nguyenvantai111@gmail.com*

## Summary

*The clopidogrel bisulfate recently synthesized at the Department of Phytochemistry, National Institute of Medicinal Materials (Vietnam) was investigated to estimate acute toxicity in mice and subchronic (30 days') toxicity in rabbits. The $LD_{50}$ of clopidogrel bisulfate in mice was 4.64 g/kg body weight for single oral dose administration. In the subchronic study, rabbits were administrated clopidogrel bisulfate at*

*doses of 6 mg/kg and 60 mg/kg orally for 30 days. After 15; 30; and 45 days of experiment, blood and tissue samples were taken for determination of hematological, biochemical and histopathological parameters. No significant alterations were observed in these all parameters of all the treated rabbits. In conclusion, the synthesized clopidogrel bisulfate showed safe and worthy of further studies.*

***Keywords:*** *Clopidogrel bisulfat, acute toxicity, subchronic toxicity.*

## Đặt vấn đề

Xơ vữa động mạch do huyết khối (cục máu đông) là nguyên nhân gây bệnh nhồi máu cơ tim và đột quỵ, đây là những bệnh có nguy cơ tử vong chính trên thế giới và đang gia tăng ở các nước đang phát triển[5]. Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), hàng năm có khoảng 7 triệu người tử vong do nhồi máu cơ tim và 5 triệu người tử vong do đột quỵ. Chỉ riêng tại Mỹ, mỗi năm có tới trên 150.000 người chết vì đột quỵ và nghẽn mạch máu. Như ước tính của một số chuyên gia, con số này sẽ tăng lên và là nguyên nhân tử vong hàng đầu vào năm 2020[4]. Ở Việt Nam, theo báo cáo tại Hội nghị Tim mạch học can thiệp toàn quốc, số bệnh nhân nhồi máu cơ tim nhập viện ngày càng tăng lên. Cũng theo thống kê, đột quỵ là một trong nhiều nguyên nhân gây tử vong và tàn tật hàng đầu, đứng thứ hai sau chấn thương sọ não.

Clopidogrel bisulfat là một thuốc mới có khả năng ngăn ngừa cục máu đông gây tắc động mạch mạnh hơn aspirin. Khác với aspirin, clopidogrel bisulfat không có tác dụng phụ trên dạ dày. Trong một số trường hợp, các thầy thuốc dùng clopidogrel bisulfat phối hợp với aspirin để ngăn ngừa cục máu đông một cách hữu hiệu hơn. Ở một số đối tượng có nguy cơ cao không thể uống aspirin do bị loét dạ dày hoặc dị ứng với aspirin, thầy thuốc có thể dùng clopidogrel bisulfat thay cho aspirin.

Trong chương trình nghiên cứu khoa học công nghệ trọng điểm quốc gia về phát triển công nghiệp hoá dược đến năm 2020, chúng tôi đã tổng hợp được clopidogrel bisulfat đạt tiêu chuẩn USP đối với nguyên liệu làm thuốc. Để có cơ sở khoa học cho những nghiên cứu tiếp theo giúp nhanh chóng đưa clopidogrel bisulfat vào thực tiễn, đề tài đã nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn trên thực nghiệm nhằm đánh giá độ an toàn của nguyên liệu clopidogrel bisulfat tổng hợp được.

## Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### Nguyên liệu

Mẫu thử: Bột clopidogrel bisulfat tổng hợp được thuộc chương trình hóa dược- đề tài cấp Nhà nước (2011 – 2013).

Các bộ kit định lượng AST, ALT, ure, creatinin, protein toàn phần, bilirubin toàn phần do Hãng Human cung cấp.

Các bộ kít phân tích số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, giá trị hematocrit, nồng độ hemoglobin, % lympho bào do Hãng Sysmex cung cấp.

Trang thiết bị: Máy định lượng sinh hoá bán tự động Scout-Italya, máy phân tích máu tự động SYSMEX KX21-Mỹ, máy ly tâm lạnh, cân phân tích điện tử.

### Động vật thí nghiệm

- Chuột nhắt trắng *Swiss albino* cả 2 giống, có trọng lượng 18-22 g, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm do Học Viện Quân Y 103 cung cấp. Chuột được nuôi trong điều kiện nhiệt đô 22 ± 2°C, điều kiện ánh sáng 7:00 – 19:00, nước và thức ăn bảo đảm theo nhu cầu.

- Thỏ trưởng thành, khỏe mạnh, cả 2 giống, trọng lượng từ 1,8-2,0 kg, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm do cơ sở Chăn nuôi và cung cấp động vật thí nghiệm - Đan Phượng - Hà Nội cung cấp.

### Phương pháp nghiên cứu

***Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp[1,2]***

- Chuột được nuôi ổn định trong phòng thí nghiệm ít nhất 5 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. Cho chuột nhịn đói 16 giờ và uống nước tự do theo nhu cầu.

- *Đường dùng thuốc:* đường uống, cho chuột uống bằng cách dùng bơm tiêm có kim đầu tù để đưa thuốc một cách nhẹ nhàng vào dạ dày chuột.

- *Mẫu thử:* Mẫu clopidogrel bisulfat được nghiền với nước đến nồng độ thích hợp có thể

bơm trực tiếp vào dạ dày chuột. Chuột được cho uống thuốc thử liều khác nhau với thể tích 0,2 ml/10 g thể trọng chuột.

- *Xác định $LD_0$, $LD_{100}$ và $LD_{50}$:* Tìm liều tối đa mà không có chuột nào của lô thí nghiệm chết ($LD_0$) và liều tối thiểu để 100% chuột của lô thí nghiệm chết ($LD_{100}$). Thử thêm 3 liều trung gian giữa 2 liều nói trên để xác định $LD_{50}$. $LD_{50}$ được tính theo phương pháp Behrens – Karber[1].

- *Thời gian theo dõi:* Chuột được nuôi ở phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn về nhiệt độ, ánh sáng như trên để đảm bảo để mọi hoạt động của chuột bình thường. Theo dõi và quan sát các biểu hiện về hành vi, hoạt động, ăn uống, bài tiết của chuột và số chuột sống, chết trong 3 ngày. Chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể.

***Phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn*[2]**

Thỏ thí nghiệm được chia thành các lô như sau:

*1 lô đối chứng sinh lý* (n = 8): dùng để tham chiếu, nhằm xác định điều kiện môi trường và các điều kiện ngoại cảnh có thể gây ảnh hưởng đến tình trạng sức khoẻ của thỏ trong quá trình thí nghiệm.

*2 lô thử clopidogrel bisulfat* với 2 liều khác nhau (n = 10): 6 mg/kg và 60 mg/kg thể trọng.

Hàng ngày cho thỏ các lô thử thuốc uống mẫu thử và lô thỏ chứng uống nước đun sôi để nguội 1 lần với thể tích là 5 ml/kg thể trọng. Thời gian uống liên tục trong 30 ngày.

*Các chỉ số theo dõi*

- Theo dõi chức năng gan

Định lượng AST, ALT theo phương pháp Reitman-Frankel sửa đổi bởi Sevela dùng các cơ chất là L-aspartat và L-alanin

Định lượng protein toàn phần bằng phương pháp Biuret.

Định lượng bilirubin bằng phương pháp lên màu.

- Theo dõi chức năng thận

Định lượng creatinin bằng phương pháp Jaffe.

Định lượng ure bằng phương pháp Rappoport dùng enzym urease.

- Theo dõi chức năng tạo máu

Phân tích số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, giá trị hematocrit, nồng độ huyết sắc tố, % lympho trên máy phân tích máu tự động.

- Xét nghiệm mô bệnh học

Cắt và đọc tiêu bản gan, thận bằng phương pháp nhuộm hematoxylin và eosin (HE) sau 30 ngày uống mẫu thử và sau 15 ngày ngừng uống, được thực hiện tại Bộ môn giải phẫu bệnh - Trường Đại học Y Hà Nội.

- Đánh giá kết quả thí nghiệm

So sánh sự thay đổi của các chỉ số sinh hoá, huyết học, mô bệnh học của thỏ trước khi uống mẫu thử (lần 1) và khi uống mẫu thử của lô thỏ uống mẫu thử và lô thỏ chứng sau khi uống 15 ngày (lần 2), 30 ngày (lần 3) và sau khi ngừng uống 15 ngày (lần 4).

## Kết quả và bàn luận

**Kết quả thử độc tính cấp**

Số liệu về thử độc tính cấp của clopidogrel bisulfat theo đường uống trên chuột nhắt trắng được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1:** *Số liệu thử độc tính cấp của clopidogrel bisulfat*

| *Lô thí nghiệm* | *Liều uống (g/kg)* | *n* | *Số chuột chết/lô* | *d* | *z* | *d x z* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2,50 | 10 | 0 | | | |
| 2 | 3,12 | 10 | 1 | 0,62 | 0,5 | 0,31 |
| 3 | 4,00 | 10 | 4 | 0,88 | 2,5 | 2,20 |
| 4 | 5,00 | 10 | 6 | 1,00 | 5 | 5,00 |
| 5 | 6,25 | 10 | 9 | 1,25 | 7,5 | 9,38 |
| 6 | 7,81 | 10 | 10 | 1,56 | 9,5 | 14,82 |
| | | | *Σ(d x z)* | | | 31,71 |

Liều clopidogrel bisulfat gây chết 50% chuột được tính theo công thức:

$$LD_{50} = LD_{100} - [\Sigma(d \times z)]/n$$

$$LD_{50} = 7,81 - 3,17 = 4,64 \text{ (g/kg)}$$

Như vậy, $LD_{50}$ = 4,64 ± 0,30 g bột/kg hay $LD_{50}$ = 4,64 (4,06 – 5,22) g/kg ở P = 0,05.

Tình trạng chuột sau khi uống clopidogrel bisulfat: Theo dõi chuột được cho uống clopidogrel bisulfat với các liều khác nhau, thấy rằng ở liều 2,50 g/kg tất cả các chuột đều khỏe mạnh, hoạt động, ăn uống, bài tiết bình thường. Từ liều 3,12 g/kg - 7,81 g/kg có một số chuột bắt đầu có biểu hiện run rẩy, co giật, sau đó 4 chân duỗi thẳng

cứng đờ, có những chuột qua được cơn co giật, số chuột chết tập trung trong khoảng 24 giờ đầu. Ở liều càng cao chuột chết càng nhanh. Những chuột còn sống sót vẫn hoạt động, bài tiết bình thường, ăn uống lúc đầu ít hơn, sau đó thì bình thường.

Với liều dùng của clopidogrel bisulfat trên người là 98 mg/ngày theo đường uống (tương đương 1,96 mg/kg/ngày) thì $LD_0$ = 2,50 g/kg trên chuột nhắt trắng gấp hơn 1200 lần liều dùng trên người. Như vậy, $LD_{50}$ của clopidogrel bisulfat là 4,64 g/ kg, khá an toàn cho người khi uống với liều 98 mg/ngày.

**Kết quả thử độc tính bán trường diễn**

***Kết quả theo dõi tình trạng chung và cân nặng động vật thí nghiệm***

Ở các lô uống mẫu thử và lô chứng hoạt động ăn uống, bài tiết của các thỏ vẫn bình thường, không có sự khác biệt nào. Không có thỏ nào chết.

Trọng lượng thỏ ở tất cả các lô đều tăng lên so với ban đầu, sự tăng lên này giữa lô chứng và lô thử là như nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê của lần sau so với ban đầu trong cùng một lô. Điều này cho thấy mẫu thử không có ảnh hưởng đến cân nặng thỏ (bảng 2).

**Bảng 2:** *Trọng lượng thỏ thí nghiệm ở các thời điểm theo dõi*

| Lô thử | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 | Lần 4 |
|---|---|---|---|---|
| Lô 1 | 1,83 ± 0,02 | 1,88 ±0,03 | 1,90±0,04 | 2,02±0,10 |
| Lô 2 | 1,81 ± 0,03 | 1,88 ± 0,04* | 1,89±0,03* | 1,94±0,06 |
| Lô 3 | 1,91 ± 0,06 | 1,97 ± 0,05 | 2,05±0,07* | 2,01±0,07 |

*Chú thích: *: Trọng lượng khác nhau có ý nghĩa thống kê với P < 0,05 so với lần 1*

***Kết quả theo dõi các chỉ số huyết học***

Kết quả theo dõi các chỉ số huyết học được trình bày trong bảng 3 cho thấy, sau 15 ngày, 30 ngày uống thuốc và sau ngừng thuốc 15 ngày, tất cả các xét nghiệm đánh giá như số lượng hồng cầu, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu, nồng độ hemoglobin, giá trị hematocrit ở cả 2 lô clopidogrel bisulfat (liều 6 mg/kg và 60 mg/kg) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng ở cùng thời điểm cũng như so sánh với bản thân chúng trước khi dùng thuốc (P> 0,05).

**Bảng 3:** *Các chỉ số huyết học của các lô thỏ thí nghiệm*

| Chỉ số | | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 | Lần 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| Bạch cầu ($10^3$/mm$^3$) | Lô 1 | 7,6 ± 0,2 | 8,8 ± 0,4 | 8,4 ± 0,6 | 7,8 ± 0,9 |
| | Lô 2 | 8,3 ± 0,6 | 9,3 ± 0,9 | 9,6 ± 0,4 | 8,1 ± 0,9 |
| | Lô 3 | 7,9 ± 0,5 | 9,2 ± 0,8 | 8,8 ± 0,5 | 7,9 ± 0,6 |
| Hồng cầu ($10^6$/mm$^3$) | Lô 1 | 6,0 ± 0,1 | 6,6 ± 0,4 | 6,5 ± 0,2 | 6,0 ± 0,4 |
| | Lô 2 | 5,9 ± 0,2 | 6,2 ± 0,2 | 5,9 ± 0,4 | 5,8 ± 0,5 |
| | Lô 3 | 6,1 ± 0,1 | 6,0 ± 0,3 | 6,0 ± 0,3 | 5,9 ± 0,2 |
| Tiểu cầu ($10^3$/mm$^3$) | Lô 1 | 274,0 ± 49,1 | 329,3 ± 55,4 | 241,4 ± 44,0 | 285,8 ± 53,8 |
| | Lô 2 | 252,2 ± 43,7 | 316,3 ± 52,6 | 268,7 ± 44,8 | 398,3 ± 77,5 |
| | Lô 3 | 192,6 ± 45,0 | 334,20 ± 50,21 | 294,6 ± 50,8 | 288,1 ± 70,6 |
| Hemoglobin (g/dl) | Lô 1 | 11,8 ± 0,4 | 12,5 ± 0,8 | 12,4 ± 0,5 | 10,7 ± 0,5 |
| | Lô 2 | 12,0 ± 0,3 | 11,7 ± 0,7 | 11,8 ± 0,8 | 11,0 ± 0,4 |
| | Lô 3 | 12,4 ± 0,2 | 11,8 ± 0,5 | 12,0 ± 0,6 | 11,6 ± 0,3 |
| *Hematocrit* (%) | Lô 1 | 40,3 ± 0,7 | 40,9 ± 1,6 | 41,4 ± 1,5 | 36,4 ± 2,0 |
| | Lô 2 | 40,6 ± 0,7 | 41,7 ± 1,9 | 39,0 ± 2,7 | 37,5 ± 1,3 |
| | Lô 3 | 38,9 ± 4,0 | 39,6 ± 1,8 | 39,1 ± 1,9 | 34,7 ± 0,8 |
| Lympho bào (%) | Lô 1 | 49,6 ± 3,0 | 52,7± 2,5 | 54,9 ± 2,0 | 52,8 ± 3,0 |
| | Lô 2 | 43,8 ± 2,6 | 49,4 ± 1,5 | 47,8 ± 4,9 | 51,6 ± 5,6 |
| | Lô 3 | 48,3 ± 3,1 | 55,8 ± 1,8 | 56,3 ± 3,1 | 52,3 ± 1,9 |

*Ghi chú: P (chứng-thử) ở tất cả các lô đều > 0,05; P (trước–sau) ở tất cả các lô > 0,05*

***Kết quả theo dõi các chỉ số thuộc chức năng gan và thận***

Kết quả từ bảng 4 cho thấy, sau 15 ngày, 30 ngày uống mẫu thử và sau ngừng uống mẫu thử 15 ngày, tất cả các xét nghiệm đánh giá chức năng gan: nồng độ bilirubin, nồng độ protein, hoạt độ enzym AST và ALT huyết thanh và chức năng thận: nồng độ ure và nồng độ creatinin huyết thanh ở cả 2 lô mẫu thử (liều 6 mg/kg và 60 mg/kg) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng ở cùng thời điểm cũng như so sánh với bản thân chúng trước khi dùng thuốc (P> 0,05).

**Bảng 4:** *Các chỉ số sinh hóa của các lô thỏ thí nghiệm*

| Chỉ số | Lô | Lần 1 | Lần 2 | Lần 3 | Lần 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| ALT (U/l) | Lô1 | 28,1 ± 2,6 | 29,4 ± 3,3 | 22,5 ± 3,0 | 24,9 ± 3,2 |
| | Lô 2 | 22,3 ± 1,7 | 33,7 ± 6,8 | 34,9 ± 7,4 | 24,7 ± 2,0 |
| | Lô 3 | 23, 9 ± 2,0 | 27,2 ± 1,9 | 38,6 ± 8,3 | 28,7 ± 3,1 |
| AST (U/l) | Lô1 | 16,1 ± 1, 8 | 23,3 ± 2,2 | 17,9 ± 1,2 | 15,7 ± 1,5 |
| | Lô 2 | 19,2 ± 3,1 | 27,4 ± 2,7 | 18, 7 ± 3,5 | 20,2 ± 1,5 |
| | Lô 3 | 14,5 ± 1,8 | 27,8 ± 4,9 | 21,9 ± 5,2 | 17,7 ± 1,3 |
| Bilirubin (µmol/l) | Lô1 | 23,5 ± 2,1 | 21,7 ±1,8 | 31,9 ± 5,2 | 26,3 ± 1,35 |
| | Lô 2 | 21,7 ± 2,0 | 21,6 ± 1,5 | 19,3 ± 1,7 | 23,04 ± 1,3 |
| | Lô 3 | 26,0 ± 2,4 | 24,4 ± 1,5 | 20,1±1,0 | 27,3 ± 2,1 |
| Protein tp (g/dl) | Lô1 | 6,0 ± 0,1 | 6,1 ± 0,2 | 6,5 ± 0,2 | 6,3 ± 0,3 |
| | Lô 2 | 6,0 ± 0,1 | 6,0 ± 0,2 | 6,3 ± 0,2 | 6,4 ± 0,2 |
| | Lô 3 | 6,0 ± 0,1 | 5,9 ± 0,2 | 6,1 ± 0,1 | 6,3 ± 0,2 |
| Ure (mg/dl) | Lô1 | 32,7 ± 2,9 | 39,7± 5,4 | 29,8 ± 1,6 | 25,5 ± 2,5 |
| | Lô 2 | 33,2 ± 3,7 | 34,0 ± 3,1 | 31,1 ± 4,4 | 32,6 ± 7,9 |
| | Lô 3 | 33,7 ± 3,1 | 33,7 ± 4,7 | 28,3 ± 1,2 | 25,0 ± 4,6 |
| Creatinin (µmol/l) | Lô1 | 114,2 ± 4,7 | 124,1± 3,3 | 123,5 ± 4,0 | 112,4 ± 5,4 |
| | Lô 2 | 111,6 ± 3,4 | 118,6 ± 5,8 | 120,2 ± 2,6 | 115,3 ± 7,8 |
| | Lô 3 | 114,6 ± 2,4 | 121,2 ± 2,2 | 123,1 ± 4,0 | 125,6 ± 5.0 |

*Ghi chú: P (chứng-thử) ở tất cả các lô đều > 0,05, P (trước–sau) ở tất cả các lô > 0,05*

***Kết quả xét nghiệm mô học***

Sau khi cho thỏ uống mẫu thử 30 ngày, mỗi lô lấy ngẫu nhiên 3 thỏ mổ để quan sát đại thể các cơ quan và kiểm tra cấu trúc vi thể gan và thận. Các thỏ còn lại ngừng uống thuốc và tiếp tục nuôi 15 ngày nữa. Sau 15 ngày ngừng thuốc, tất cả các thỏ được mổ để quan sát đại thể các cơ quan và kiểm tra cấu trúc vi thể gan và thận mỗi lô 3 con. Kết quả như sau:

Về đại thể các cơ quan, tất cả các thỏ ở cả 3 lô được mổ để quan sát không thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan lách, thận và hệ thống tiêu hóa.

*+ Hình thái vi thể của gan:*

- Lô chứng sinh lý: tế bào gan có kích thước đều, không có thoái hóa hoặc các ổ hoại tử, khoảng cửa không viêm, tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch không sung huyết.

- Lô uống mẫu thử clopidogrel bisulfat liều 6 và 60 mg/kg: sau 30 ngày uống thuốc và sau 15 ngày ngừng thuốc: các tế bào gan bình thường, có kích thước đều, tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch không sung huyết, không có thoái hóa, hoại tử, khoảng cửa không viêm.

*+ Hình ảnh vi thể thận:*

- Lô chứng: cầu thận kích thước đều, không xơ hóa, ống thận không tổn thương, mô kẽ không viêm, không sung huyết.

- Lô mẫu thử clopidogrel bisulfat liều 6 và 60 mg/kg: sau 30 ngày uống và sau 15 ngày ngừng uống: cầu thận kích thước đều, mô kẽ không viêm, ống thận không có tổn thương, không sung huyết.

### Kết luận

Kết quả thu được trong nghiên cứu này cho thấy clopidogrel bisulfat tổng hợp được có liều gây chết 50% chuột nhắt trắng qua đường uống là $LD_{50}$ = 4,64 g/kg. Khi cho thỏ uống clopidogrel bisulfat tổng hợp được với liều 6 mg và 60 mg/kg thể trọng/ngày, trong 30 ngày, không thấy có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến thể trọng thỏ, chức năng tạo máu, chức năng gan, chức năng thận trên các chỉ số sinh hóa, huyết học cũng như mô bệnh học gan, thận trong suốt quá trình uống cũng như sau khi ngừng uống 15 ngày. Các kết quả này cho thấy có thể sử dụng clopidogrel bisulfat tổng hợp được để nghiên cứu trên người bệnh.

***Lời cảm ơn:*** Công trình nghiên cứu được hoàn thành với sự tài trợ của Chương trình Hóa Dược. Mã số đề tài: CNHD.ĐT.024/11-13.

### Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Trung Đàm (1996), *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*, Nxb. Y học, Hà Nội.

2. Viện Dược liệu - Bộ Y tế (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, 140- 149.

3. Behrens B. and Kaber G (1983), *Mathematics for Naturalists and Agriculturalists*, PWN, Warszawa, p.218

4. Murray C. J L , Lopez L D (1997), "Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study", *Lancet*, 349, 1498-1504

5. Truelsen T., Heuschmann P. U., Bonita R., Arjundas G., Dalal P., Damasceno A., Nagaraja D., Ogunniyi A., Oveisgharan S., Radhakrishnan K., Skvortsova V. I., Stakhovskaya V. (2007), "Standard method for developing stroke registers in low-income and middle-income countries: experiences from a feasibility study of a stepwise approach to stroke surveillance (STEPS Stroke)". Lancet Neurol, 6, 134-139.

*(Ngày nhận bài: 24/12/2014 - Ngày duyệt đăng: 03/02/2015)*

# Nghiên cứu tổng hợp thuốc ức chế bơm proton omeprazol

**Trần Hữu Giáp[1], Văn Thị Mỹ Huệ[2], Cao Thị Huệ[1], Nguyễn Thị Minh Hằng[1], Nguyễn Văn Hùng[1], Châu Văn Minh[1], Lê Nguyễn Thành[1]***

*[1]Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

*[2]Trường Đại học Dược Hà Nội*

** E-mail: lethanh@imbc.vast.vn*

### Summary

*Omeprazole (known as the first inhibitor of H+/K+-ATPase or 'proton pump', responsible for the final step in the process of acid secretion in parietal cells, used for treatment of peptic ulcer, gastroesophageal reflux disease, Zollinger-Ellison syndrome) was synthesized starting from 2-mercapto-5-methoxybenzimidazole and 2-(chloromethyl)-4-methoxy-3,5-dimethylpyridine hydrochloride. Omeprazole was obtained by a 2-step synthetic pathway in good overall yield.*

***Keywords:*** *Omeprazole, proton pump inhibitors, peptic ulcer.*

### Đặt vấn đề

Loét dạ dày tá tràng là căn bệnh phổ biến trong các bệnh tiêu hóa, ảnh hưởng đến hàng triệu người trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Các thuốc ức chế bơm proton là một trong các thuốc hiệu quả nhất trong điều trị loét dạ dày tá tràng, gây liền seo đến 95% trong vòng 8 tuần. Các thuốc này ức chế bài tiết acid dịch vị do ức chế hệ thống enzym $H^+/K^+$-ATPase ("bơm proton") của tế bào thành dạ dày. Các thuốc ức chế bơm proton được sử dụng phối hợp với kháng sinh để diệt trừ vi khuẩn *Helicobacter pylori*, một trong các tác nhân gây bệnh[1].