

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN  
CỦA VIÊN NANG MỀM HUP A TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Lê Thị Hồng Hạnh<sup>1\*</sup>, Đỗ Minh Trung<sup>2</sup>, Trịnh Nam Trung<sup>1</sup>  
Nguyễn Văn Huy<sup>3</sup>, Nguyễn Văn Thu<sup>1</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và độc tính bán trường diễn trên thỏ của viên nang mềm Hup A. **Phương pháp nghiên cứu:** Đánh giá độc tính cấp sử dụng phương pháp Litchfield - Wilcoxon trên chuột nhắt trắng, đánh giá độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn của OECD và Bộ Y tế Việt Nam trên thỏ. Viên nang mềm Hup A có chứa hoạt chất Huperzine A đạt tiêu chuẩn cơ sở được xác định độc tính cấp và độc tính bán trường diễn theo đường uống trên động vật thực nghiệm. **Kết quả:** Sau khi cho chuột uống viên nang mềm Hup A (liều từ 40,00g - 160,00 g/kg) xác định được LD50 = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg). Nghiên cứu độc tính bán trường diễn khi cho thỏ uống chế phẩm liên tục trong 42 ngày với hai mức liều 0,12 g/kg/24 giờ và 0,36 g/kg/24 giờ không phát hiện thấy ảnh hưởng đến một số chỉ tiêu về huyết học như số lượng hồng cầu, bạch cầu, hàm lượng hemoglobin; chỉ tiêu về chức năng gan thận gồm hoạt độ enzym AST, ALT, hàm lượng cholesterol, albumin, bilirubin toàn phần và creatinine. Kết quả mô bệnh học của tế bào gan, thận bình thường trên các lô thỏ nghiên cứu. **Kết luận:** Viên nang mềm Hup A có LD50 = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg) trên chuột nhắt trắng, những lô liều cao chuột có biểu hiện run, tăng tiết mồ hôi, sau đó chết. Viên nang mềm Hup A không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu, chức năng gan, thận của thỏ thí nghiệm sau 42 ngày nghiên cứu.

**Từ khoá:** Huperzine A; Viên nang mềm HUP A; Độc tính cấp; Độc tính Bán trường diễn.

---

<sup>1</sup>Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

<sup>3</sup>Công ty TNHH Novatis Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: Lê Thị Hồng Hạnh (lionqueenhvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 07/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.497>

## STUDY ON THE ACUTE AND SEMI-CHRONIC TOXICITY OF HUP A CAPSULE IN EXPERIMENTAL ANIMALS

### Abstract

**Objectives:** To evaluate the acute toxicity on Hup A soft capsules in mice and sub-chronic toxicity in rabbits. **Methods:** The acute toxicity was assessed in mice using the Litchfield - Wilcoxon method; the semi-chronic toxicity was assessed in rabbits according to the guidelines of the OECD and the Ministry of Health of Vietnam. The products used in this study were Hup A soft capsules, Enterprise standard. **Results:** After giving Hup A capsules (40.00 - 160.00 g/kg) to mice, we determined LD50 = 92.88 g/kg (79.59 - 108.39 g/kg). High dose batches of mice showed tremors, increased sweating, and then they died. With two dosage of 0.12 g/kg/24h and 0.36 g/kg/24h, rabbits were administered continuously during 42 days. The results showed that no impact was detected on some hematological parameters: Red blood cell count, white blood cell count, and hemoglobin content; indicators of liver and kidney function: AST, ALT enzyme activities, Cholesterol, Albumin, Total Bilirubin and Creatinine content, histopathology of liver and kidney cells were normal in experimental rabbits. **Conclusion:** Hup A capsules had LD50 = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg) in white mice and did not affect hematopoietic, liver, or kidney function of experimental rabbits after 42 days of study.

**Keywords:** Hup A capsule; Acute toxicity; Semi-chronic toxicity; Experimental animal.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo báo cáo của Tổ chức Quốc tế Bệnh Alzheimer (ADI) năm 2015, trên thế giới có hơn 46,8 triệu người bị sa sút trí tuệ, con số này ước tính sẽ tăng lên 131,5 triệu người vào năm 2025. Tỷ lệ mắc Alzheimer tăng dần theo độ tuổi, người trên 75 tuổi có tỷ lệ mắc bệnh là 5% và tăng lên đến 40 - 50% ở người trên 85 tuổi. Việt Nam có tỷ lệ mắc các bệnh về sa sút trí tuệ là 5% ở những người trên 60 tuổi và tăng dần

theo độ tuổi [1, 2]. Huperzine A (Hup A) là hợp chất được phân lập từ cây thạch tùng răng cưa, có công thức hóa học là  $C_{15}H_{18}N_2O$ , khối lượng phân tử là 243,32 g/mol. Hup A có khả năng ức chế acetylcholinesterase mạnh, nên sự có mặt của Hup A làm giảm lượng acetylcholinesterase và làm tăng nồng độ acetylcholine trong não, từ đó giúp tăng cường khả năng học tập và trí nhớ, tăng sự tỉnh táo, chống trầm cảm,

bảo vệ chống lại sự suy giảm nhận thức liên quan đến tuổi tác [3]. Tại Học viện Quân y, nhóm nghiên cứu đã bào chế thành công chế phẩm chứa Huperzine A từ sinh khối Thạch tùng rừng cưa. Để tạo cơ sở khoa học cho các bước nghiên cứu tiếp theo, đánh giá độc tính bán trường diễn của chế phẩm trên động vật thực nghiệm là cần thiết. Vì vậy, nghiên cứu đã được tiến hành nhằm: *Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của viên nang mềm Hup A trên động vật thực nghiệm.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Đối tượng nghiên cứu:* Viên nang mềm Hup A đạt tiêu chuẩn cơ sở, được sản xuất tại Trung tâm nghiên cứu, Ứng dụng và Sản xuất thuốc Học viện Quân y. Thành phần viên nang gồm Huperzine A chiết xuất từ Thạch Tùng rừng cưa 200 $\mu$ g.

\* *Động vật sử dụng trong nghiên cứu:* Chuột nhắt trắng dòng Swiss và thỏ được nuôi dưỡng trong điều kiện chuẩn. Chuột nhắt trắng dòng Swiss cân nặng 20 - 22g. Thỏ cân nặng  $2,20 \pm 0,20$ kg được cung cấp và nuôi dưỡng tại nhiệt độ 25 - 30°C, độ ẩm 60 - 70%, ăn thức ăn chuẩn tại Trung tâm Nghiên cứu động vật thực nghiệm, Học viện Quân y.

\* *Thiết bị và dụng cụ chính sử dụng trong nghiên cứu:* Máy xét nghiệm huyết học tự động (Swelab Alpha, Thụy Điển), máy xét nghiệm sinh hoá tự động (Biosystem BTS350, Tây Ban Nha), bộ dụng cụ phẫu thuật cho động vật cỡ nhỏ (Everbest, Pakistan)...

\* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu:* Nghiên cứu được thực hiện tại Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Bệnh viện Quân y 103 và các bộ môn, khoa của Học viện Quân y. Thời gian từ tháng 9/2020 - 01/2021.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Xác định độc tính cấp theo đường uống trên chuột:*

Chuẩn bị mẫu: Pha 30 viên đã bỏ vỏ nang trong 18mL dầu ăn được hỗn dịch với thể tích 22,5mL để sử dụng cho thử nghiệm.

Độc tính cấp được xác định theo đường uống trên chuột nhắt trắng, thực hiện theo hướng dẫn của Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế (OECD) và Bộ Y tế Việt Nam. Chuột nhắt trắng (n = 100 con) được chia ngẫu nhiên vào các lô, mỗi lô 10 con, sau đó, chuột được cho uống chế phẩm với liều tăng dần từ 40,00 - 160,00 g/kg/24 giờ, theo dõi tỷ lệ sống chết trong 72 giờ và theo dõi các chỉ tiêu toàn thân trong 01 tuần. Các chỉ tiêu theo dõi toàn thân gồm cân nặng, hoạt động, ăn uống, thần kinh, lông, tiêu hoá...

Tính toán Hup cần xác định liều cao nhất không gây chết và liều thấp nhất gây chết 100% số chuột theo phương pháp cải tiến của Lichtfiel - Wilcoxon [4, 5].

\* *Đánh giá độc tính bán trường diễn của viên nang mềm Hup A trên thỏ:*

- Chuẩn bị mẫu: Liều 1 pha 10 viên đã bỏ vỏ nang trong 23,5mL dầu ăn được hỗn dịch 25mL, liều 2 pha 30 viên với dầu ăn được hỗn dịch 25mL.

- Bố trí thí nghiệm: 30 thỏ được sử dụng cho nghiên cứu, chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con [4, 6, 7].

Lô chứng (n = 10): Uống dầu ăn liên tục 42 ngày với thể tích 0,3 mL/kg/24 giờ.

Lô trị 1 (n = 10): Uống viên nang mềm Hup A liên tục trong 42 ngày với liều 0,12 g/kg/24 giờ (V = 0,3 mL/kg/24 giờ), tương đương 24  $\mu$ g/kg/24 giờ Huperzine A (tương ứng với liều dùng trên người, hệ số 3).

Lô trị 2 (n = 10): Uống viên nang mềm Hup A liên tục trong 42 ngày với liều 0,36 g/kg/24 giờ (V = 0,3 mL/kg/24 giờ), tương đương 72  $\mu$ g/kg/24 giờ Huperzine A (gấp 3 lần liều dùng trên người, hệ số 3).

\* *Chỉ tiêu đánh giá:*

Chỉ tiêu theo dõi toàn thân: Thỏ được cân và theo dõi hoạt động, ăn uống, lông, tiêu hóa, thần kinh... tại 3 thời điểm là: Trước, sau 03 tuần và sau 06 tuần thí nghiệm.

Huyết học: Hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu.

Sinh hóa: AST, ALT, creatinine, cholesterol, albumin, bilirubin toàn phần.

Mô bệnh học: Sau 42 ngày, phẫu tích thỏ lấy gan, thận. Quan sát hình ảnh đại thể các cơ quan gan, thận và làm tiêu bản mô bệnh học 30% số thỏ.

Thỏ được lấy mẫu nghiên cứu các chỉ số sinh hóa, huyết học tại 03 thời điểm: Xuất phát điểm, sau 03 tuần và sau 06 tuần nghiên cứu .

Các xét nghiệm sinh hoá và huyết học được tiến hành tại Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, mô bệnh học được tiến hành tại Khoa Giải phẫu, Bệnh viện Quân y 103.

\* *Xử lý và phân tích số liệu:*

Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 để xử lý thống kê. Các chỉ số đưa ra trong quá trình phân tích gồm giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, p.

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Đây là nghiên cứu phục vụ cho mục đích cung cấp các chế phẩm hỗ trợ bảo vệ sức khỏe cho cộng đồng. Các động vật thí nghiệm luôn được chăm sóc trong điều kiện vệ sinh sạch sẽ, cung cấp thức ăn và nước uống theo tiêu chuẩn. Các quy trình và thao tác thực hiện theo quy định chung của động vật thí nghiệm.

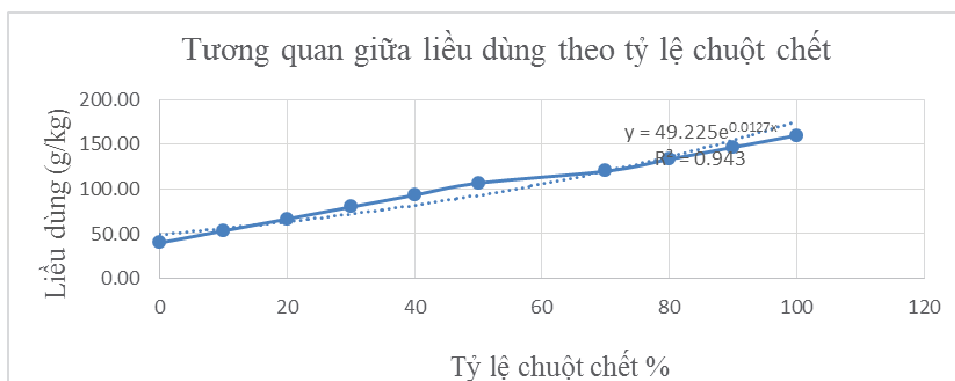
**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang mềm Hup A theo đường uống trên chuột nhắt trắng**

**Bảng 1.** Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của viên nang mềm Hup A trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

<b>Liều sử dụng (g/kg trọng lượng cơ thể/24 giờ)</b>	<b>n</b>	<b>Số lượng động vật chết (sau 72 giờ)</b>	<b>Tỷ lệ chết (%) (sau 72 giờ)</b>
40,00	10	0	0
53,33	10	01	10
66,67	10	02	20
80,00	10	03	30
93,33	10	04	40
106,67	10	05	50
120,00	10	07	70
133,33	10	08	80
146,67	10	09	90
160,00	10	10	100
Lô chứng uống dầu ăn V = 1,2 mL/10g/24 giờ	10	0	0

Sau khi dùng viên nang mềm Hup A từ mức liều 40,00 - 160,00 g/kg/24 giờ, tỷ lệ chuột chết tăng dần ở các mức liều tăng dần. Những lô liều cao, chuột có biểu hiện run, tăng tiết mồ hôi, không tiêu chảy, sau đó chết. Từ kết quả bảng trên, đánh giá mối tương quan giữa liều dùng và tỷ lệ chuột chết, kết quả được thể hiện ở hình 1.



**Hình 1.** Tương quan giữa liều dùng theo tỷ lệ chuột chết.

Từ các kết quả trên xác định được LD50 theo đường uống trên chuột nhắt trắng là: LD50 = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg).

**2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nang mềm Hup A theo đường uống trên thỏ nghiên cứu**

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của viên nang mềm Hup A đến cân nặng của thỏ nghiên cứu.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1, 2, 3</sub>
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Cân nặng (g)	Trước thí nghiệm (a)	2,23 ± 0,13	2,08 ± 0,12	2,12 ± 0,20	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	2,02 ± 0,22	1,91 ± 0,20	1,93 ± 0,21	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	2,00 ± 0,21	1,97 ± 0,22	1,89 ± 0,31	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05	
		p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	
		p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	

Cân nặng thỏ ở cả ba lô nghiên cứu sau 03 tuần và 06 tuần đều giảm (p<sub>a-b</sub> < 0,05, p<sub>a-c</sub> < 0,05, p<sub>b-c</sub> > 0,05). So sánh ba lô tại cùng một thời điểm xuất phát điểm, sau 03 tuần và 06 tuần uống viên nang mềm Hup A không có sự khác biệt giữa lô trị 1, lô trị 2 và lô chứng (p > 0,05). Như vậy, thỏ uống 42 ngày liên tục Hup A với liều 1 và liều 2 không ảnh hưởng đến cân nặng của thỏ nghiên cứu.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của viên nang mềm Hup A đến một số chỉ tiêu về huyết học của thỏ nghiên cứu.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1, 2, 3</sub>
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Hồng cầu (T/L)	Trước thí nghiệm (a)	5,57 ± 0,67	5,57 ± 0,45	5,61 ± 0,49	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	5,58 ± 0,32	5,46 ± 0,48	5,47 ± 0,61	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	4,57 ± 0,43	4,71 ± 0,33	5,02 ± 0,68	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05 p <sub>a-c</sub> > 0,05 p <sub>b-c</sub> > 0,05	
HST (G/dL)	Trước thí nghiệm (a)	11,85 ± 0,90	11,99 ± 0,86	11,86 ± 0,89	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	11,51 ± 0,68	11,39 ± 0,65	11,47 ± 0,99	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	10,38 ± 0,85	10,46 ± 0,63	9,95 ± 1,76	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> < 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05 p <sub>a-c</sub> < 0,05 p <sub>b-c</sub> > 0,05	
Bạch cầu (G/L)	Trước thí nghiệm (a)	12,09 ± 2,22	11,26 ± 2,80	12,00 ± 2,28	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	9,34 ± 1,79	8,48 ± 2,99	7,76 ± 1,70	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	5,93 ± 2,21	5,49 ± 1,71	6,20 ± 2,10	> 0,05



Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1, 2, 3</sub>
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Pa,b,c		$p_{a-b} < 0,05$	$p_{a-b} < 0,05$	$p_{a-b} < 0,05$	
		$p_{a-c} < 0,05$	$p_{a-c} < 0,05$	$p_{a-c} < 0,05$	
		$p_{b-c} < 0,05$	$p_{b-c} < 0,05$	$p_{b-c} > 0,05$	
Tiểu cầu (G/L)	Trước thí nghiệm (a)	$340,50 \pm 34,66$	$371,30 \pm 100,57$	$413,70 \pm 69,49$	$> 0,05$
	Sau 03 tuần (b)	$240,70 \pm 50,12$	$263,8 \pm 87,23$	$254,20 \pm 95,35$	$> 0,05$
	Sau 06 tuần (c)	$286,00 \pm 52,75$	$334,50 \pm 83,21$	$341,20 \pm 102,39$	$> 0,05$
Pa,b,c		$p_{a-b} < 0,05$	$p_{a-b} < 0,05$	$p_{a-b} < 0,05$	
		$p_{a-c} < 0,05$	$p_{a-c} > 0,05$	$p_{a-c} > 0,05$	
		$p_{b-c} > 0,05$	$p_{b-c} > 0,05$	$p_{b-c} > 0,05$	

Số lượng hồng cầu và huyết sắc tố ở ba nhóm nghiên cứu sau 03 và 06 tuần đều giảm. Đối với lô chứng và lô trị 1, số lượng hồng cầu sau 03 tuần và sau 06 tuần có sự khác biệt với xuất phát điểm ( $p < 0,05$ ). Giá trị hồng cầu ở lô trị 2 tại các thời điểm là tương đương ( $p > 0,05$ ). Hàm lượng huyết sắc tố sau 06 tuần giảm khác biệt ở cả ba lô so với thời điểm xuất phát điểm ( $p < 0,05$ ). Tuy nhiên, các giá trị số lượng hồng cầu và huyết sắc tố đều nằm trong giá trị bình thường của thỏ (hồng cầu: 4,4 - 5,6 T/L; huyết sắc tố: 8,9 - 12,8 G/dL) [5]. So sánh ba nhóm tại cùng một thời điểm, các giá trị số lượng hồng cầu và huyết sắc tố là tương đương ( $p > 0,05$ ).

Số lượng bạch cầu ở ba nhóm sau 03 và 06 tuần nghiên cứu có xu thế đều giảm so với thời điểm xuất phát điểm ( $p_{a-b} < 0,05$ ,  $p_{a-c} < 0,05$ ). Số lượng bạch cầu ở thỏ bình thường thấp hơn ở người và có sự thay đổi khác nhau tại từng đợt thí nghiệm [5]. Đặc biệt, khi so sánh ba nhóm tại cùng một thời điểm, số lượng bạch cầu không có sự khác biệt giữa lô chứng và lô trị 1 và lô trị 2 ( $p > 0,05$ ).

Số lượng tiểu cầu của các lô đều trong giá trị bình thường của thỏ. So sánh 3 nhóm tại cùng một thời điểm, số lượng tiểu cầu không khác biệt giữa lô chứng và lô trị 1 và lô trị 2 ( $p > 0,05$ ).

Như vậy, thỏ uống Hup A liên tục sau 42 ngày không có sự ảnh hưởng đến các chỉ số huyết học.



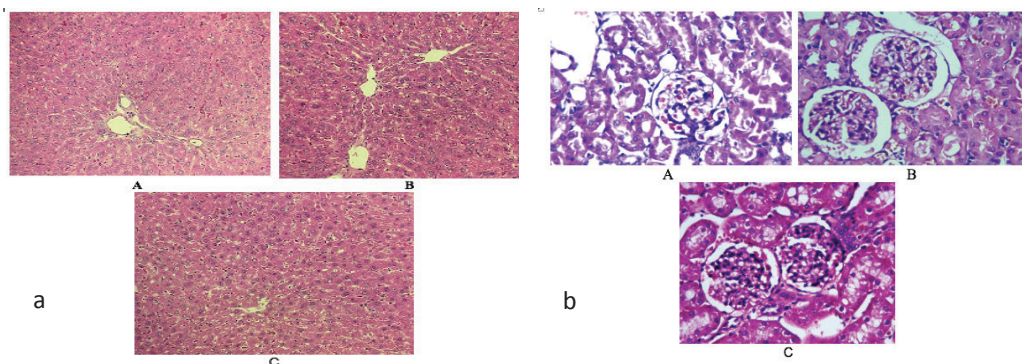
**Bảng 4.** Ảnh hưởng của viên nang mềm Hup A đối với chức năng gan, thận của thỏ.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1,2,3</sub>
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
AST (U/L)	Trước thí nghiệm (a)	49,49 ± 39,01	50,67 ± 35,26	50,53 ± 31,82	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	53,73 ± 39,33	47,71 ± 37,93	56,0 ± 35,00	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	50,8 ± 26,73	49,53 ± 32,05	40,33 ± 19,02	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	
		p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	
ALT (U/L)	Trước thí nghiệm (a)	81,68 ± 32,57	81,40 ± 42,03	95,02 ± 31,52	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	92,21 ± 62,83	80,60 ± 37,47	74,1 ± 33,03	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	77,16 ± 30,17	78,4 ± 23,58	80,59 ± 42,24	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	
		p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	
Cholesterol (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	2,51 ± 0,81	2,67 ± 1,12	2,29 ± 0,70	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	2,11 ± 0,74	1,73 ± 0,81	1,81 ± 0,82	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	1,23 ± 0,34	1,10 ± 0,28	1,07 ± 0,33	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	
		p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ( $\bar{X} \pm SD$ ), n = 10			P <sub>1,2,3</sub>
		Chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Albumin (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	36,04 ± 1,94	37,19 ± 1,74	36,79 ± 1,07	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	37,19 ± 3,42	35,63 ± 2,19	38,27 ± 4,23	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	37,69 ± 3,72	36,27 ± 1,39	36,52 ± 0,73	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	p <sub>a-c</sub> > 0,05	
		p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	p <sub>b-c</sub> > 0,05	
Creatinine (μmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	124,65 ± 17,87	143,12 ± 23,53	128,71 ± 24,39	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	129,94 ± 26,19	112,5 ± 19,67	115,68 ± 9,10	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	89,71 ± 27,60	68,65 ± 10,80	76,60 ± 15,12	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> < 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	
		p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	
Bilirubin TP (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	1,37 ± 0,32	1,56 ± 0,53	1,60 ± 0,54	> 0,05
	Sau 03 tuần (b)	1,08 ± 0,26	1,41 ± 0,67	1,25 ± 0,64	> 0,05
	Sau 06 tuần (c)	2,32 ± 0,21	2,16 ± 0,40	2,17 ± 0,16	> 0,05
P <sub>a,b,c</sub>		p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	p <sub>a-b</sub> > 0,05	
		p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	p <sub>a-c</sub> < 0,05	
		p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	p <sub>b-c</sub> < 0,05	

Ảnh hưởng của Hup A đến chức năng gan được đánh giá thông qua các chỉ số AST, ALT, cholesterol, albumin và bilirubin toàn phần. Kết quả bảng trên cho thấy, nồng độ enzym AST và ALT của thỏ nghiên cứu khi so sánh tại cùng một thời điểm giữa ba lô nghiên cứu là tương đương, không có sự khác biệt giữa hai lô trị 1, lô trị 2 và lô chứng ( $p > 0,05$ ). Sau 06 tuần nghiên cứu, nồng độ cholesterol của ba lô nghiên cứu đều giảm, so sánh tại cùng một thời điểm, giá trị của ba lô nghiên cứu là tương đương ( $p > 0,05$ ). Các giá

trị nồng độ albumin và bilirubin toàn phần của thỏ đều trong giới hạn bình thường, không có sự khác biệt giữa các lô trị 1, lô trị 2 và lô chứng ( $p > 0,05$ ). Đánh giá chức năng thận thông qua chỉ số creatinine cho thấy, nồng độ creatinine có xu thế giảm sau 03 tuần và 06 tuần nghiên cứu, so sánh tại cùng một thời điểm, các lô không có sự khác biệt ( $p > 0,05$ ). Như vậy, Hup A không ảnh hưởng đến các chỉ số sinh hoá đánh giá chức năng gan, thận của thỏ sau 06 tuần uống liên tục với hai mức liều 0,12g và 0,36g.



**Hình 2.** Mô bệnh học tạng của thỏ ở các nhóm nghiên cứu.

a: Mô bệnh học gan thỏ (A: Lô chứng ; B: Lô trị 1; C: Lô trị 2);

b: Mô bệnh học thận thỏ (A: Lô chứng ; B: Lô trị 1; C: Lô trị 2).

Sau khi phẫu tích và quan sát hình ảnh đại thể các cơ quan gan và thận cho thấy, không có sự khác biệt về hình thái và màu sắc giữa lô trị 1 và lô trị 2 so với lô chứng.

Trên tiêu bản mô bệnh học gan, thận thỏ cho thấy, lô trị 1 và lô trị 2 với liều 0,12 g/kg/24 giờ và liều 0,36 g/kg/24h thỏ uống liên tục trong 42 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận của thỏ nghiên cứu.

## BÀN LUẬN

Xác định được LD50 = 92,88 g/kg (79,5 - 108,39 g/kg) tương đương với liều của Huperzine A có trong chế phẩm là 18,58 (15,92 - 21,68 mg/kg/24 giờ). Theo nghiên cứu Debasis Bagchi và CS, LD50 của Huperzine A trên chuột nhắt trắng là 4,6 mg/kg/24 giờ [7]. Huperzine A được chiết xuất từ sinh khối Thạch tùng răng cưa Việt Nam và được thử trên dòng chuột nhắt trắng Swiss đã cho kết quả độc tính cấp ở liều cao hơn một số nghiên cứu khác. Điều này do chế phẩm nghiên cứu khác nhau, nguồn gốc của Huperzine A trong các nghiên cứu là khác nhau và giống chuột nhắt trắng sử dụng cũng khác nhau. Chế phẩm ở dạng nghiên cứu là viên nang mềm, còn các nghiên cứu khác thì Huperzine A ở dạng tinh chất. Trong nghiên cứu này, Huperzine A được chiết xuất từ sinh khối Thạch tùng răng cưa tại Việt Nam.

Trong điều trị Alzheimer, liều khuyến cáo sử dụng của Huperzine A là khoảng từ 0,2 - 0,5 mg/ngày [8] (theo quyết định số 141/QĐ-K2ĐT của Bộ Y tế). Trong nghiên cứu bán trường diễn sử dụng hai mức liều là 0,12 g/kg/24 giờ tương ứng với mức liều Huperzine A 0,4 mg/24 giờ trên người, một liều gấp 3 lần là 0,36 g/kg/24 giờ tương ứng mức liều sử dụng trên người là 1,2 mg/24 giờ (hệ số là 3) [4]. Các

chỉ số về số lượng hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu, tiểu cầu trước khi tiến hành thí nghiệm và tại thời điểm cho thỏ uống viên nang mềm Huperzine A 03 tuần và 06 tuần, so sánh giữa các lô tại cùng một thời điểm tương đối đồng nhất và vẫn nằm trong khoảng giá trị bình thường của thỏ. So sánh kết quả với nghiên cứu của tác giả Xu và CS, 50 bệnh nhân được sử dụng Huperzine A với hàm lượng 0,4 mg/ngày trong vòng 8 tuần, kết quả các chỉ số huyết học cho thấy các chỉ số về hàm lượng huyết sắc tố, số lượng bạch cầu tương đối ổn định, gần như không thay đổi sau 8 tuần, Huperzine A không gây ảnh hưởng đến các chỉ số huyết học [9].

Trong nghiên cứu của Lei Sheng (2016), 35 bệnh nhân mắc Alzheimer thể nhẹ đến trung bình được sử dụng Huperzine A với liều 0,2 mg/ngày trong 4 tuần sau đó tăng lên 0,4 mg/ngày trong 4 tuần tiếp theo, liều dùng sẽ được điều chỉnh dựa theo đáp ứng và khả năng dung nạp ở tuần thứ 8, thời gian điều trị kéo dài 24 tuần. Kết quả về nồng độ creatinine ghi nhận nằm trong khoảng giá trị bình thường ở người, Huperzine A gần như không gây ảnh hưởng đến nồng độ creatinine [10]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ creatinine máu của thỏ không có sự khác biệt giữa các lô tại cùng thời điểm nghiên cứu.

## KẾT LUẬN

Kết quả độc tính cấp của viên nang mềm Hup A trên chuột nhắt trắng xác định được LD50 = 92,88 g/kg (79,59 - 108,39 g/kg). Những lô liều cao chuột có biểu hiện run, tăng tiết mồ hôi, sau đó tử vong.

Kết quả độc tính bán trường diễn của viên nang mềm Hup A trên thỏ sau khi được cho uống thuốc liên tục viên nang mềm Hup A trong 42 ngày với liều 1 là 0,12 g/kg/24 giờ (tương đương với dự kiến dùng trên người) và liều 2 là 0,36 g/kg/24 giờ. Viên nang mềm Hup A không ảnh hưởng đến cân nặng của thỏ, không ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu, không ảnh hưởng chức năng gan, chức năng thận của thỏ nghiên cứu.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer report 2015.
2. Bộ Y tế. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số rối loạn tâm thần thường gặp. Quyết định số 2058/QĐ-BYT, ngày 14/05/2020.
3. U Damar, R Gersner, J T Johnstone et al. Huperzine A as a neuroprotective and antiepileptic drug: A review of preclinical research. *Expert Rep Neurother*. 2016; 16(6):671-80.
4. Bộ Y tế. Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu. *Quyết định 141-QĐ- K2ĐT 27/10/2015*.
5. Đỗ Trung Đàm. *Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp của thuốc*. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. 2014.
6. OECD, Test No.407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, *OECD Guidelines for the testing of Chemicals, Section 4: Health Effects*. 2008.
7. Debasis Bagchi, Manashi Bagchi, Anand Swaroop et al. Huperzine A and Shankhapushpi in Brain Health. *Phytopharmaceuticals for Brain Health*. 2017:101-118.
8. Giang T Ha, Ryan K Wong, Yan Zhang. Huperzine aHs a potential treatment of Alzheimer's disease: An assessment on chemistry, pharmacology, and clinical studies. *Chemistry & Biodiversity*. 2011; 8(7):1189-1204.
9. SS Xu, ZX Gao, Z Weng et al. Efficacy of tablet HuperzineA on memory, cognition, and behavior in Alzheimer's disease. *Zhonggou Yao Li Xue Bao*. 1995; 16(5):391-395.
10. Lei Sheng, Yi Qu, Jing Yan et al. Population pharmacokinetic modeling and stimulation of huperzine A in elderly Chinese subjects. *Acta Pharmacol Sin*. 2016; 37(7):994-1001.