

ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP CỦA NGUYÊN LIỆU PRALIDOXIM CLORID TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG BẰNG ĐƯỜNG UỐNG VÀ ĐƯỜNG TIÊM BẮP

Nguyễn Duy Chí¹, Nguyễn Hải Đường^{1*}
Nguyễn Viết Quân¹, Vũ Thị Quế¹, Đinh Hữu Nghi¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp của nguyên liệu pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường uống và đường tiêm bắp.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu thử nghiệm trên chuột nhắt trắng chủng Swiss trọng lượng trung bình từ 18-20 g/con, không phân biệt về giống. Đánh giá độc tính cấp (LD_{50}) của nguyên liệu pralidoxim clorid bằng phương pháp của Behrens-karber.

Kết quả: Xác định liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm (LD_{50}) của nguyên liệu pralidoxim clorid đối với chuột nhắt trắng theo đường uống là 975,0 mg/kg (từ 880,5 đến 1.069,5 mg/kg); theo đường tiêm bắp là 135,0 mg/kg (128,2 đến 141,8 mg/kg), ở $p = 0,05$.

Kết luận: Nghiên cứu cung cấp dữ liệu về độ an toàn của pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường uống và đường tiêm bắp. Để đánh giá toàn diện về mức độ an toàn nhằm phát triển và ứng dụng pralidoxim clorid, cần tiếp tục có những nghiên cứu chuyên sâu khác.

Từ khóa: Pralidoxim clorid, chuột nhắt trắng, độc tính cấp.

ABSTRACT

Objectives: Acute toxicity assessment of pralidoxime chloride raw material on white mice by oral and intramuscular routes.

Subjects and methods: To experimental study on Swiss white mice with an average weight of 18-20 g/mouse, regardless of breed. Evaluation of acute toxicity (LD_{50}) of pralidoxime chloride using the Behrens-karber method.

Results: The lethal dose of 50% of experimental animals (LD_{50}) of pralidoxime chloride for white mice was determined orally to be 975.0 (880.5 ÷ 1069.5) mg/kg; by intramuscular injection was 135.0 (128.2 ÷ 141.8) mg/kg at $p = 0.05$.

Conclusions: The study provides safety data for the development and application of pralidoxime chloride as an emergency treatment for neurotoxic poisoning. However, subacute toxicity studies and toxicity studies in other animal species are needed to fully assess the safety of pralidoxime chloride.

Keywords: Pralidoxime chloride, white mice, acute toxicity.

Chịu trách nhiệm nội dung: Nguyễn Hải Đường, Email: haiduong.41011@gmail.com

Ngày nhận bài: 10/01/2025; mời phản biện khoa học: 01/2025; chấp nhận đăng: 25/8/2025.

¹Viện Kiểm nghiệm, nghiên cứu dược và trang thiết bị y tế Quân đội.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất độc thần kinh là loại chất độc hóa học gây chết người nguy hiểm nhất trong các loại vũ khí hủy diệt lớn, điển hình như sarin, soman, VX... Những ảnh hưởng của chất độc thần kinh rất nguy hiểm và tăng dần khi tiếp xúc lâu dài. Những người sống sót sau khi ngộ độc các hợp chất này sẽ bị tổn thương thần kinh mạn tính, dần dần dẫn đến ảnh hưởng tâm thần kinh [1], [2]. Pralidoxim là một hợp chất oxim với nhiều dạng muối khác nhau (clorid, iodid, methylsulfat...), sử dụng nhằm chống ngộ độc lân hữu cơ, như diazinon, malathion, mevinphos, parathion, sarin

hoặc chống lại thuốc ức chế acetylcholinesterase, thường sử dụng kết hợp với atropin và diazepam để tăng tác dụng [3]. Một số nghiên cứu trên thế giới công bố về độc tính của pralidoxim clorid, nhưng chưa có thông tin về độc tính cấp của thuốc theo đường uống và đường tiêm bắp trên chuột nhắt trắng.

Hiện nay, Viện Kiểm nghiệm, nghiên cứu dược và trang thiết bị y tế Quân đội đang thực hiện nghiên cứu tổng hợp và bào chế pralidoxim clorid dạng thuốc tiêm, dùng trong cấp cứu nhiễm chất độc thần kinh khi có tình huống. Để có thêm cơ sở dữ liệu về độ an toàn của nguyên liệu pralidoxim

clorid, chúng tôi triển khai đề tài này nhằm đánh giá độc tính cấp (LD_{50}) của pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường uống và đường tiêm bắp.

2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: chuột nhắt trắng chủng Swiss, trọng lượng từ 18-20g/con, không phân biệt về giới. Chuột khỏe mạnh, bảo đảm các tiêu chuẩn sinh lí bình thường. Cho chuột nhịn ăn 15 giờ trước khi thí nghiệm, nước uống cung cấp đầy đủ. Chuột do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp.

- Vật liệu nghiên cứu: nguyên liệu pralidoxim clorid đạt tiêu chuẩn USP [7].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: thử nghiệm trên động vật thực nghiệm.

- Đánh giá độc tính cấp của nguyên liệu pralidoxim clorid theo Behrens-karber [4]:

+ Thử độc tính cấp theo đường uống (PO): chia chuột thành 7 lô, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống thuốc bằng kim cong đầu tù, đưa thẳng vào dạ dày chuột. Thể tích chế phẩm cho uống là 0,2 ml/10g. Liều quy đổi trên thực nghiệm theo đường uống của pralidoxim clorid là: 450, 600, 750, 900, 1.050, 1.200, 1.350 mg/kg thể trọng.

+ Thử độc tính cấp theo đường tiêm bắp (IM): chia chuột thành 7 lô, mỗi lô 8 con. Đưa thuốc qua đường tiêm bắp. Thể tích chế phẩm theo đường tiêm là 0,03 ml/20g. Liều quy đổi trên thực nghiệm theo đường tiêm bắp của nguyên liệu pralidoxim clorid: 105, 115, 125, 135, 145, 155, 165 mg/kg thể trọng.

+ Theo dõi liên tục các biểu hiện sinh lí của chuột thí nghiệm trong vòng 24 giờ đầu sau tiêm. Mô chuột chết tìm hiểu nguyên nhân gây chết và nhận xét đại thể. Sau 72 giờ, mổ 1/3 số chuột còn sống ở các lô nhận xét đại thể. Theo dõi tình trạng chung của chuột trong 7 ngày tiếp theo.

- Xử lí số liệu: bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2016. Kết quả biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình và giới hạn tin cậy với $p = 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

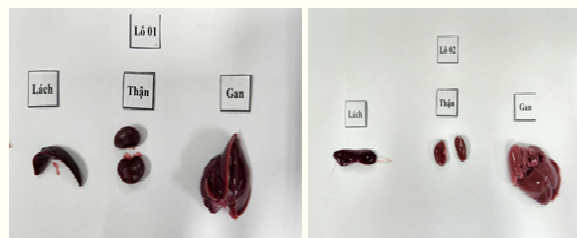
3.1. Đánh giá độc tính cấp của pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường uống

- Sau khi uống thuốc, chuột bị kích thích, giảm phản xạ, mất thăng bằng khi đi lại, kích động, co giật và chết. Số còn sống đi lại chậm, sau đó hồi phục dần. Sau 24 giờ uống thuốc, từ lô 2-7 có chuột chết; số chuột còn sống đã đi lại bình thường.

Bảng 1. Dữ liệu đánh giá độc tính cấp đường uống của pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng

Dữ liệu đánh giá	Lô chuột						
	1	2	3	4	5	6	7
Liều dùng (mg/kg)	450	600	750	900	1.050	1.200	1.350
Thể tích uống (ml/10g)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Số chuột thí nghiệm (con)	10	10	10	10	10	10	10
Số chuột chết (con)	0	1	2	3	6	8	10
Tỉ lệ chuột chết (%)	0	10,0	20,0	30,0	60,0	80,0	100

- Tiến hành mổ chuột ở các lô và quan sát đại thể thấy lách, gan, thận chuột tươi nhuận (hình 1).



Hình 1. Hình ảnh đại thể lách, thận, gan chuột nhắt trắng lô 1, 2 theo đường uống.

- Đánh giá độc tính cấp đường uống của pralidoxim clorid theo phương pháp Behrens-Karber:

+ Tính LD_{50} :

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(a \times d)}{n_{tb}} = 1.350,0 - \frac{3.750,0}{10} = 975,0 \text{ (mg/kg)}.$$

Trong đó: LD_{50} là liều gây chết 50% số con vật thí nghiệm; LD_{100} là liều nhỏ nhất gây chết 100% số con vật thí nghiệm; a là số con vật chết trung bình 2 liều kế tiếp; d là hiệu số 2 liều kế tiếp; n_{tb} là giá trị trung bình số con vật thí nghiệm của một lô.

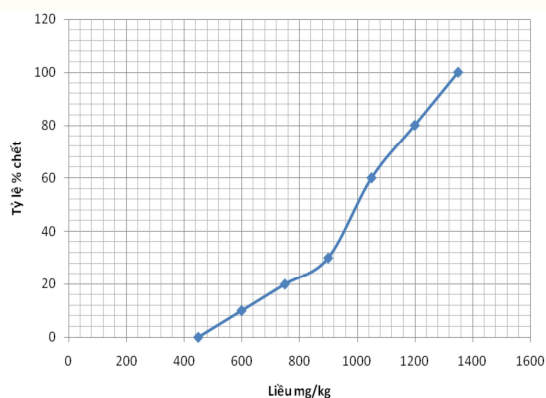
+ Tính sai số chuẩn của LD_{50} :

Từ kết quả bảng 2, dựng đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa tỉ lệ % số chuột chết và liều dùng pralidoxim clorid theo đường uống. Từ đồ thị này, xác định được $LD_{16} = 680$ mg/kg và $LD_{84} = 1.230$ mg/kg. Từ đó, tính phân phối chuẩn $s = 275$, bước nhảy liều trung bình $d_{tb} = 150$. Với hằng số Behrens-Karber $k = 0,564$ và tính sai số chuẩn (SE) của LD_{50} là 48,23.

Vậy, LD_{50} của pralidoxim clorid theo đường uống trên chuột là $975,0 \pm 48,23$ mg/kg ($M \pm SE$).

Bảng 2. Độc tính cấp của pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường uống

Dữ liệu đánh giá	Lô chuột						
	1	2	3	4	5	6	7
Liều dùng (mg/kg)	450	600	750	900	1.050	1.200	1.350
Số chuột thí nghiệm	10	10	10	10	10	10	10
Số chuột chết	0	1	2	3	6	8	10
Hiệu 2 liều kế tiếp (d)		150	150	150	150	150	150
Số chết TB 2 liều kế tiếp (a)		0,5	1,5	2,5	4,5	7,0	9,0
Tích số (a x d)		75,0	225,0	375,0	675,0	1.050,0	1.350,0
Tỉ lệ % chết	0	10,0	20,0	30,0	60,0	80,0	100



Hình 2. Đồ thị sự phụ thuộc giữa tỉ lệ % chuột chết và liều pralidoxim clorid đường uống.

+ Công thức tính giới hạn tin cậy: $\mu = t \times SE$
Tra phụ lục, với bậc tự do $B_{td} = \infty$ và $p = 0,05$, thì $t = 1,96$. Ta có:

$$\mu = 1,96 \times 48,23 = 94,54.$$

$$ld = LD_{50} - \mu = 975,0 - 94,54 = 880,5.$$

$$lt = LD_{50} + \mu = 975,0 + 94,54 = 1.069,5.$$

$$\text{Vậy } LD_{50} = 975,0 \text{ (880,5-1069,5) mg/kg ở } p = 0,05.$$

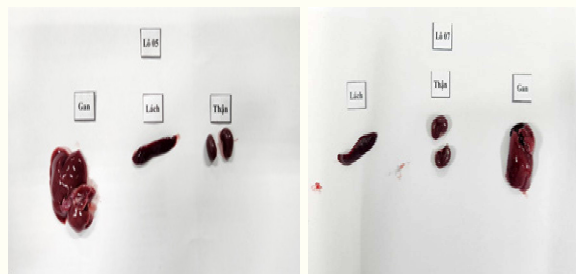
3.2. Đánh giá độc tính cấp pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường tiêm bắp

Bảng 3. Dữ liệu đánh giá độc tính cấp đường tiêm bắp của pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng

Dữ liệu đánh giá	Lô chuột						
	1	2	3	4	5	6	7
Liều dùng (mg/kg)	105	115	125	135	145	155	165
Thể tích tiêm (ml/20g)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Số chuột thí nghiệm	8	8	8	8	8	8	8
Số chuột chết	0	1	2	4	6	7	8
Tỉ lệ chuột chết (%)	0	12,5	25,0	50,0	75,0	87,5	100

- Sau tiêm thuốc, chuột kích thích giảm phản xạ, một số chuột kích động, thờ dờ, co giật và chết; số còn lại đi lại kém. Sau 24 giờ, có chuột chết ở các lô, chuột còn sống có thể đi lại bình thường.

- Tiến hành mổ chuột ở các lô và quan sát đại thể, thấy lách, gan, thận chuột tươi nhuận.



Hình 3. Hình ảnh đại thể lách, thận, gan chuột nhắt trắng lô 5, 7 theo đường tiêm bắp.

- Đánh giá độc tính cấp đường tiêm bắp của pralidoxim clorid theo phương pháp Behrens-Karber:

+ Tính LD_{50} :

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(a \times d)}{n_{tb}} = 240,0 - \frac{165}{8} = 135,0 \text{ (mg/kg)}$$

Trong đó: LD_{50} là liều gây chết 50% số con vật thí nghiệm; LD_{100} là liều nhỏ nhất gây chết 100% số con vật thí nghiệm; a là số con vật chết trung bình 2 liều kế tiếp; d là hiệu số 2 liều kế tiếp; n_{tb} là giá trị trung bình số con vật thí nghiệm của một lô.

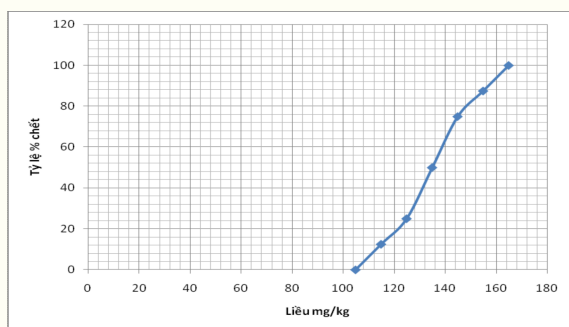
+ Tính sai số chuẩn của LD_{50} :

Từ kết quả bảng 4, dựng đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa tỉ lệ % chuột chết và liều dùng pralidoxim clorid theo đường tiêm bắp. Dựa vào đồ thị, xác định được $LD_{16} = 118 \text{ mg/kg}$ và $LD_{84} = 152 \text{ mg/kg}$. Từ đó, tính được phân phối chuẩn $s = 17$, bước nhảy liều trung bình $d_{tb} = 10$. Với hằng số Behrens-Karber $k = 0,564$, tính sai số chuẩn (SE) của LD_{50} là 3,46.

Vậy LD_{50} của pralidoxim clorid trên chuột theo đường tiêm bắp là $135,0 \pm 3,46 \text{ mg/kg (M} \pm \text{SE)}$.

Bảng 4. Độ tính cấp của pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường tiêm bắp

Dữ liệu đánh giá	Lô chuột						
	1	2	3	4	5	6	7
Liều dùng (mg/kg)	450	600	750	900	1.050	1.200	1.350
Số chuột thí nghiệm	10	10	10	10	10	10	10
Số chuột chết	0	1	2	3	6	8	10
Hiệu 2 liều kế tiếp (d)		10	10	10	10	10	10
Số chết TB 2 liều kế tiếp (a)		0,5	1,5	3,0	5,0	6,5	7,5
Tích số (a x d)		5,0	15,0	30,0	50,0	65,0	75,0
Tỉ lệ % chết	0	12,5	25,0	50,0	75,0	87,5	100



Hình 4. Đồ thị sự phụ thuộc giữa tỉ lệ % chuột chết và liều dùng pralidoxim clorid. đường tiêm bắp.

+ Tính giới hạn tin cậy theo công thức: $\mu = t \times SE$
Tra phụ lục, với bậc tự do Btd = ∞ và $p = 0,05$ thì $t = 1,96$. Do đó:

$$\mu = 1,96 \times 3,46 = 6,78.$$

$$ld = LD_{50} - \mu = 135,0 - 6,78 = 128,2.$$

$$lt = LD_{50} + \mu = 135,0 + 6,78 = 141,8.$$

Vậy $LD_{50} = 135,0$ (128,2-141,8) mg/kg ở $p = 0,05$.

4. BÀN LUẬN

Đánh giá độc tính cấp đường uống có nhiều phương pháp (như Litchfield-Wilcoxon; Reed-Muench; Spearman-Kärber; Bliss; Behrens...). Đánh giá độc tính cấp đường tiêm có thể qua nhiều đường tiêm khác nhau (tiêm bắp, tiêm tĩnh mạch chậm, tiêm màng bụng...). Đối tượng động vật thí nghiệm cũng có nhiều loại khác nhau, như chuột nhắt trắng, chuột cống trắng, thỏ... Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn phương pháp Litchfield-Wilcoxon và tiến hành trên chuột nhắt trắng, theo đường uống và đường tiêm bắp. Lựa chọn này phù hợp với nghiên cứu tiếp theo của chuỗi đề tài. Việc đánh giá kết quả tiến hành theo phương pháp dựng đồ thị của Behrens-Kärber do phương pháp Litchfield-Wilcoxon cần có giấy logarit probit. Kết quả cho thấy, LD_{50} của pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường uống là 975,0 mg/kg (từ 880,5-1.069,5 mg/kg), ở $p = 0,05$; theo đường tiêm bắp là 135,0 mg/kg (từ 128,2-141,8 mg/kg), ở $p = 0,05$.

Theo công bố từ Meridian Medical Technologies, Inc. [6], LD_{50} của pralidoxim clorid trên chuột theo đường uống là 4.100 mg/kg; theo đường tiêm bắp là 180 mg/kg (tuy nhiên, không chỉ rõ loại chuột nào). Do vậy, việc so sánh kết quả của 2 nghiên cứu là không tương đồng. Dựa trên bảng phân loại độc tính cấp (theo giá trị LD_{50} gần đúng [5]), nguyên liệu pralidoxim clorid có độc tính trung bình theo đường uống (> 300 -2.000 mg/kg) và độc theo đường tiêm bắp (> 50 -300 mg/kg).

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được LD_{50} của nguyên liệu pralidoxim clorid trên chuột nhắt trắng theo đường uống là 975,0 mg/kg (từ 880,5-1.069,5 mg/kg), ở $p = 0,05$ và theo đường tiêm bắp là 135,0 mg/kg (từ 128,2-141,8 mg/kg), ở $p = 0,05$.

Qua kết quả này, chúng tôi khuyến nghị cần có các nghiên cứu khác về độc tính bán cấp và độc tính trên các loài động vật khác để đánh giá toàn diện về mức độ an toàn của pralidoxim clorid.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Huy Bá (2008), *Độc học môi trường cơ bản*, NXB Đại học Quốc gia T.P Hồ Chí Minh, tr. 34.
2. Bộ môn Độc học và phóng xạ quân sự, Học viện Quân y (2002), *Độc học và phóng xạ quân sự*, NXB Quân đội nhân dân, Hà Nội, tr. 57-98.
3. Vũ Tá Cúc và cộng sự (1987), *Tổn thương do vũ khí hóa học, cách phòng và điều trị*, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, Hà Nội, tr. 142-152.
4. Đỗ Trung Đàm (2014), *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*, Nhà xuất bản Y học, tr. 59.
5. Cục Khoa học công nghệ 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 số 141/QĐ-K2ĐT ngày 25/10/2015.
6. Pralidoxime chloride injection - Autor Injector (2016), *Meridian Medical Technologies, Inc.*, 6 pages.
7. *The United States Pharmacopeia* 43 (2020), Vol. II, pp. 3636-3637. □