

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN CẤP TRÊN LÂM SÀNG CỦA GEL NANO BERBERIN Ở CHUỘT CỐNG TRẮNG

¹Nguyễn Ngọc Tuấn, ¹Lê Quốc Chiểu,
²Bùi Thị Bích Vân, ²Đặng Văn Điệp

¹Bệnh viện Bỏng quốc gia Lê Hữu Trác
²Bộ môn Dược lý/Học viện Quân y

TÓM TẮT

Berberin được phân lập từ cây *Coscinium fenestratum* và một số cây trong họ *Ranunculaceae* có tác dụng chữa vết thương do bỏng. Nghiên cứu xác định độc tính bán cấp tính trên lâm sàng của gel nano Berberine do Bệnh viện Bỏng quốc gia Lê Hữu Trác sản xuất qua đường uống ở chuột cống trắng.

Phương pháp nghiên cứu được thực hiện theo hướng dẫn của Bộ Y tế, OECD. Tiến hành trên 30 con chuột, chia thành 3 nhóm, nhóm thử liều 1 uống liều 3,5g/1kg/24h, nhóm thử liều 2 uống 10,5g/1kg/24h, nhóm chứng uống nước cất với liều 10,2ml/1kg/24h. Uống liều liên tục trong 28 ngày

Kết quả: Không có chuột chết, không có rối loạn bất thường về vận động và tiêu hóa; không có biểu hiện co giật, run, tăng tiết mồ hôi, tím tái.

Kết luận: Gel nano Berberin an toàn trên lâm sàng khi cho chuột cống uống trong 28 ngày với liều 3,5g/1kg/24h và 10,5g/1kg/24h.

Từ khóa: Nano Berberin, chuột cống trắng, độc tính bán cấp

ABSTRACT

Berberine is isolated from *Coscinium fenestratum* and several *Ranunculaceae* plants and it has been demonstrated to have therapeutic properties on the burn wound. The purpose of the study determined the subacute clinical toxicity of nano berberine gel produced by the National Burn Hospital orally in rats.

Methods: The research was carried out according to the guidelines of the Ministry of Health, OECD. Conducted on 30 rats, divided into 3 groups, the test group administrated Dose 1 3.5g/1kg/24h, the group tested Dose 2 drank 10.5g/1kg/24h, the control group administrated distilled water Dose 10.2ml/1kg/24h. Take the doses continuously for 28 days.

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Ngọc Tuấn, Bệnh viện Bỏng quốc gia Lê Hữu Trác
Email: ngoctuan64@gmail.com

Ngày nhận bài: 05/5/2022; Ngày phản biện: 22/5/2022; Ngày duyệt bài: 06/6/2022
<https://doi.org/10.54804/yhthvb.2.2022.126>

Results: No dead rats, no abnormal movement and digestive disorders; no signs of convulsions, tremors, increased sweating, cyanosis.

Conclusion: Berberine nano gel was clinically safe when given to rats orally for 28 days between 3.5g/1kg/24h and 10.5g/1kg/24h.

Keywords: Nano Berberine, rats, subacute toxicity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Độc tính bán cấp (Sub-acute toxicity), còn gọi là độc tính bán trường diễn là những tác dụng phụ xảy ra do dùng lặp đi lặp lại liều hóa chất hàng ngày cho động vật thí nghiệm. Những nghiên cứu này cung cấp thông tin về độc tính tích lũy của hóa chất, cơ quan đích và khả năng dung nạp sinh lý và chuyển hóa của một chất ở liều thấp nhưng phơi nhiễm kéo dài [1, 2]. Nghiên cứu độc tính bán cấp được thực hiện để đánh giá các tác dụng phụ tiềm ẩn của một loại thuốc mới sau thời gian điều trị từ 2 đến 4 tuần; hỗ trợ các thử nghiệm lâm sàng ban đầu trong đó thời gian điều trị có thể lên đến 4 tuần. Đây là bước đi bắt buộc trước khi áp dụng thuốc mới trên lâm sàng [3].

Berberin là một loại chất kiềm, là một nhóm các hợp chất hữu cơ nguồn gốc thực vật có chứa hầu hết các nguyên tử nitơ cơ bản có tác dụng sinh lý rõ rệt đối với con người. Dược liệu chứa hoạt chất Berberin đã được sử dụng như một thuốc cổ truyền điều trị bệnh lý ỉa chảy... Chiết xuất và chất bổ sung Berberin, chẳng hạn như Berberin clorid, thường không tốn kém, an toàn. Berberin đã được ghi nhận hoạt tính kháng khuẩn rộng rãi, có thể giúp điều trị một cách tự nhiên mà không phải dùng đến kháng sinh. Hiện nay, Berberin đã được chứng minh có nhiều tác dụng dược lý và vẫn tiếp tục được nghiên cứu do phát hiện thêm nhiều tác dụng mới, mở ra khả năng

ứng dụng rộng rãi trong nhiều bệnh lý như tim mạch, đái tháo đường... Ưu thế nổi bật của berberin là tác dụng như kháng sinh thực vật và tác dụng chống viêm, chống ung thư và hạ đường huyết [3, 4].

Một số thử nghiệm lâm sàng cho thấy Berberin có hiệu quả điều trị vết bỏng [5-8]. Berberin đã thúc đẩy đáng kể sự hình thành mô hạt trong các vết thương cắt da, rút ngắn thời gian lành vết thương, và tăng quá trình tân mạch và số lượng nguyên bào sợi [9].

Berberin điều trị bỏng nông vùng mặt (so sánh với Aquacels Ag) cho thấy thuốc có tác dụng giảm đau, che phủ, rút ngắn thời gian biểu mô [10]. Sử dụng Berberin điều trị vùng cho da và vùng ghép da mảnh dày vừa ghi nhận tác dụng chống viêm, giảm phù nề, giảm đau, giảm rối loạn sắc tố, khả năng bám sống và chất lượng thẩm mỹ sau ghép tốt hơn so với nhóm giả dược [11].

Ở Việt nam, Berberin dạng dung dịch là thuốc chủ lực điều trị bỏng trong hai cuộc kháng chiến. Tuy nhiên, Berberin chloride ít tan trong nước do vậy dạng dung dịch thường chỉ ở nồng độ thấp (0,1%). Mặt khác, do dùng trong thời gian dài, nguy cơ xuất hiện kháng thuốc.

Chúng tôi đã nghiên cứu hiện đại hóa thuốc Berberin bằng ứng dụng công nghệ nano trong bào chế Berberin và ở dạng mới (gel). Gel nano Berberin đã khắc phục

nhược điểm của dung dịch Berberin thường; đạt tiêu chuẩn cơ sở. Chúng tôi đã tiến hành đánh giá độc tính cấp để tìm LD₅₀.

Tiếp theo, chúng tôi tiến hành đánh giá độc tính bán cấp của gel nano Berberin theo hướng dẫn của WHO, OECD và của Bộ Y tế Việt Nam để làm cơ sở cho phép tiến hành những bước tiếp theo cho ứng dụng trên lâm sàng.

Trong phạm vi bài báo, chúng tôi đánh giá độc tính bán cấp của gel nano Berberin trên khía cạnh các biểu hiện lâm sàng.

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

2.1. Nguyên vật liệu và đối tượng nghiên cứu

Chế phẩm nghiên cứu: Chế phẩm Gel nano Berberin đạt tiêu chuẩn cơ sở, do Bệnh viện Bông quốc gia Lê Hữu Trác cung cấp.

Động vật thí nghiệm: Chuột cống trắng đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, trọng lượng cơ thể từ 150 - 200g, số lượng 30 con.

Tất cả động vật thí nghiệm được nuôi dưỡng trong điều kiện phòng thí nghiệm [2, 12].

Cụ thể: Ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do. Động vật nghiên cứu được nuôi trong chuồng riêng để tránh lây chéo có thể xảy ra theo đường hô hấp và tiếp xúc. Nhiệt độ phòng 23 ± 3°C, độ ẩm: 50 - 60%, thời gian ngày (ánh sáng) đêm xen kẽ: 12/12 giờ. Chuột được lưu giữ trong điều kiện thí nghiệm 5 ngày trước khi nghiên cứu. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

Trang thiết bị: Máy xét nghiệm sinh hoá tự động (AU480 - Beckman Coulter, Nhật Bản), Máy xét nghiệm huyết học tự động (Erba Elite - 3, Đức); Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ (Everbest, Pakistan); Cân chính xác 10⁻²mg (DJ6000TW, Nhật Bản), máy ly tâm (Hettich- Đức).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới, của OECD và Bộ Y tế Việt Nam về hiệu lực và an toàn thuốc [1, 2, 12, 13].

Thiết kế nghiên cứu: Chuột cống trắng được chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con.

Lô chứng (n = 10): Uống nước cất với liều 10,2ml/1kg/24h.

Lô thử liều 1 (n = 10): Uống gel nano Berberin với liều 1 là 3,4ml/1kg/24h (tương đương 3,5g/1kg/24h, tương đương 0,35g/100g/24h = 0,70g/1 con 200g/24h = 0,68ml/1 con chuột cống trắng 200g). Đây là liều dùng tương đương với liều sử dụng trên người đối với các chế phẩm tại Việt Nam điều trị tiêu chảy và nhiễm khuẩn đường ruột (200 -300mg/50kg/24h - người hệ số quy đổi 07), dạng Berberin thông thường không phải dạng nano.

Lô thử liều 2 (n = 10): Uống gel nano Berberin với liều 2 là 10,2ml/1kg/24h, tương đương 10,5g/1kg/24h, tương đương 1,05g/100g/24h; gấp 3 - 5 lần liều dùng trên người).

Chuột cống trắng được uống nước hoặc uống thuốc thử trong 4 tuần liên tục, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

Cách cho uống: Tính theo kg thể trọng, đường uống bằng dụng cụ chuyên biệt.



Ảnh 2.1. Dụng cụ và hình ảnh cho chuột uống gel bằng dụng cụ chuyên dùng

Các chỉ tiêu đánh giá:

- Sinh lý - dược lý:

Quan sát trên tất cả các động vật thí nghiệm đã dùng trong thử nghiệm, ghi chép các thông số quan sát được của từng động vật khi xem xét.

Chỉ tiêu quan sát: Theo dõi hàng ngày về tình trạng sức khỏe, khả năng tiêu thụ thức ăn, nước uống, tình trạng phân, nước tiểu của động vật thí nghiệm.

Trọng lượng: Xác định trọng lượng khi bắt đầu, sau 2 tuần và kết thúc thí nghiệm.

Quan sát và mô tả các biểu hiện bất thường của động vật thí nghiệm, đặc biệt liên quan tới các chức năng hô hấp, tuần

hoàn, tiêu hóa, (nhịp thở, nhịp tim, tình trạng nôn mửa, ỉa chảy, sùi bọt mép); trên thần kinh, vận động như hành vi, cử động, đi lại, co giật; phản xạ của các giác quan như nhắm mắt, mũi của con vật.

- *Cận lâm sàng, mô bệnh học*: Trình bày trong báo cáo khác.

2.3. Phương pháp xử lý kết quả nghiên cứu

Xử lý các kết quả theo phương pháp thống kê sinh y học, Các số liệu thu thập được xử lý bằng các thuật toán thống kê và phần mềm Microsoft Excel 2013, SPSS 20.0. So sánh có sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của gel nano Berberin đến tình trạng sống chết và trọng lượng chuột

Bảng 3.1. Tình trạng chuột sống chết

STT	Lô chuột nghiên cứu	n	Số lượng chuột chết	Số lượng chuột sống
1	Chứng	10	0	10
2	Lô gel nano Berberin liều 1	10	0	10
3	Lô gel nano Berberin liều 2	10	0	10

Không ghi nhận chuột chết trong 28 ngày nghiên cứu.

Chuột vẫn khỏe mạnh, sinh hoạt bình thường. Các tình trạng về ăn uống, phân, nước tiểu của động vật thí nghiệm vẫn duy trì bình thường.

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của gel nano Berberin với trọng lượng cơ thể chuột (g)

Thời điểm	Trọng lượng trung bình của chuột (kg)			p
	Lô chứng	Lô thử liều 1	Lô thử liều 2	
Trước nghiên cứu	195,4 ± 31,14	193,5 ± 30,94	197,4 ± 20,51	> 0,05
Sau nghiên cứu 02 tuần	202,1 ± 29,10	204,60 ± 30,94	204,8 ± 25,14	> 0,05
Sau nghiên cứu 04 tuần	208,1 ± 30,15	208,60 ± 31,17	210,6 ± 26,34	> 0,05
p	< 0,05	< 0,05	< 0,05	

Cân nặng ở các lô đều tăng sau 2 tuần và 4 tuần nghiên cứu, khác biệt với thời điểm xuất phát điểm có ý nghĩa ($p < 0,05$). Khi so sánh 3 lô tại cùng một thời điểm:

Cân nặng giữa các lô là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.2. Tình trạng bất thường của chuột về toàn thân, vận động, tiêu hóa

Bảng 3.3. Tỷ lệ chuột có bất thường về vận động tự động

Lô nghiên cứu	Chỉ tiêu theo dõi	Tỷ lệ % chuột tại thời điểm nghiên cứu				
		T ₁	T ₇	T ₁₄	T ₂₁	T ₂₈
Lô chứng (n = 10)	Đi lại bình thường	100	100	100	100	100
	Co cụm tại góc lồng	0	0	0	0	0
	Rối loạn vận động	0	0	0	0	0
Lô thử liều 1 (n = 10)	Đi lại bình thường	100	100	100	100	100
	Co cụm tại góc lồng	0	0	0	0	0
	Rối loạn vận động	0	0	0	0	0
Lô thử liều 2 (n = 10)	Đi lại bình thường	100	100	100	100	100
	Co cụm tại góc lồng	0	0	0	0	0
	Rối loạn vận động	0	0	0	0	0

Bảng 3.4. Tỷ lệ chuột có biểu hiện co giật, run, tăng tiết mồ hôi, tím tái

Lô nghiên cứu	Chỉ tiêu theo dõi	Tỷ lệ % chuột tại thời điểm nghiên cứu				
		T ₁	T ₇	T ₁₄	T ₂₁	T ₂₈
Lô chứng (n = 10)	Co giật, run	0	0	0	0	0
	Tăng tiết mồ hôi	0	0	0	0	0
	Tím tái	0	0	0	0	0
Lô thử liệu 1 (n = 10)	Co giật, run	100	100	100	100	100
	Tăng tiết mồ hôi	0	0	0	0	0
	Tím tái	0	0	0	0	0
Lô thử liệu 2 (n = 10)	Co giật, run	100	100	100	100	100
	Tăng tiết mồ hôi	0	0	0	0	0
	Tím tái	0	0	0	0	0

Không có chuột nào có biểu hiện tăng tiết mồ hôi. Không có chuột nào biểu hiện co giật, run và tím tái sau khi uống.

Bảng 2.5. Tỷ lệ chuột có biểu hiện rối loạn tiêu hóa

Lô nghiên cứu	Chỉ tiêu theo dõi	Tỷ lệ % chuột tại thời điểm nghiên cứu				
		T ₁	T ₇	T ₁₄	T ₂₁	T ₂₈
Lô chứng (n = 10)	Giảm ăn, uống	0	0	0	0	0
	Tiêu chảy	0	0	0	0	0
	Bình thường	0	0	0	0	0
Lô thử liệu 1 (n = 10)	Giảm ăn, uống	25	0	0	0	0
	Tiêu chảy	0	0	0	0	0
	Bình thường	75	0	0	0	0
Lô thử liệu 2 (n = 10)	Giảm ăn, uống	0	0	0	0	0
	Tiêu chảy	0	0	0	0	0
	Bình thường	0	0	0	0	0

4. BÀN LUẬN

Trong thử nghiệm độc tính bán cấp tính (nghiên cứu liều lượng lặp lại), chất thử được sử dụng với 3 đến 4 liều lượng khác nhau cho động vật trong một tháng hoặc ít hơn, đánh giá tác động sinh hóa

và bệnh lý sau 14 - 28 ngày tiếp xúc. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin tốt về độc tính của chất sau khi điều trị với các liều lượng liên tiếp và là cơ sở xác định liều lượng cho các nghiên cứu tiếp theo (Eaton DL, [14]).

Mục tiêu đánh giá độc tính bán trường diễn:

Thử độc tính dài chỉ được tiến hành sau khi đã có thông tin về độc tính cấp trên động vật và mẫu thử được dự định sử dụng hoặc tiếp xúc dài ngày trên người. Mục tiêu thử nhằm xác định khả năng dung nạp của động vật thí nghiệm khi dùng mẫu thử nhiều lần. Thông tin cần xác định có những biểu hiện độc tính sau khi dùng dài ngày, bao gồm: Mức liều không hoặc có gây thay đổi đáng kể tới chức năng, cơ quan hoặc một số biểu hiện sống có thể quan sát được trên động vật thí nghiệm; Những độc tính có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục nếu có [12].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành đánh giá trên cơ sở nghiên cứu độc tính cấp của gel nano Berberin trên chuột nhắt trắng theo hướng dẫn của OECD và của Bộ Y tế Việt Nam [15].

Lựa chọn mô hình thử:

Căn cứ vào các thông tin của mẫu thử và kết quả thử độc tính cấp để thiết kế mô hình, mức liều thử. Trường hợp mẫu thử không thể hiện độc tính cấp hoặc rất ít độc, có thể thử trên 1 loài động vật (gặm nhấm) [12].

Trong nghiên cứu, chúng tôi đã xác định độc tính cấp: Không tìm được LD₅₀ đường uống với liều cao nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống là: 123,96g/kg cân nặng/24h [15]. Do vậy theo quy định, chúng tôi tiến hành tiếp theo đánh giá độc tính bán trường diễn trên loài gặm nhấm là chuột cống trắng

Thời gian thử:

Thời gian thử trên động vật được tính dựa theo thời gian dự kiến dùng trên người

hoặc có thể thử với các khoảng thời gian xác định. Ngoài ra, thời gian thử còn phụ thuộc vào đích của thử nghiệm là cung cấp thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn nào. Khi cần thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn 1 hoặc 2, thời gian có thể ngắn hơn (14 - 28 ngày); khi cần cung cấp thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn 3, thời gian thử cần dài hơn (28 - 90 ngày).

Hiện nay, tài liệu hướng dẫn của các nước tham gia hòa hợp ICH giới thiệu tính thời gian thử độc tính theo 2 cách: Thời gian thử thuốc bằng 3 - 4 lần thời gian dự kiến dùng trên người hoặc thời gian thử theo từng khoảng xác định: 14 ngày, 28 hoặc 90 ngày. Lựa chọn từng khoảng thời gian thử tùy theo yêu cầu từng mẫu và điều kiện thử nghiệm. Đánh giá mức độ độc sẽ được xem xét trên báo cáo kết quả tương ứng với từng khoảng thời gian đã thử [12].

Trong nghiên cứu, chúng tôi đánh giá thời gian thử là 28 ngày tương ứng sẽ thử nghiệm lâm sàng tương đương giai đoạn 1 hoặc 2. Đây cũng là khoảng thời gian dùng tương đối kéo dài trên thực tế bệnh nhân bỏng. Bỏng độ 2 thường sau 2 tuần khỏi; bỏng độ 3 sau trên 15 tới 40 ngày nếu để tự liền. Thời gian 28 ngày thường gặp khi điều trị bệnh nhân bỏng rộng và sâu.

Liều thử trong nghiên cứu:

Mức liều thử phải được lựa chọn sao cho có ý nghĩa trong việc đánh giá về khả năng an toàn hay mức độ gây độc của mẫu thử khi dùng nhiều ngày trên động vật. Mức liều thử thường được tính từ các thông tin thu được từ thử độc tính cấp. Với những nghiên cứu đầy đủ, thử nghiệm được thiết kế với 3 mức liều (tương đương 3 nhóm thử):

+ Liều thấp: Mức liều đủ để mẫu thử có tác dụng dược lý hoặc điều trị (tức là

tương đương mức liều dự kiến dùng để điều trị cho người);

+ Liều trung bình: Mức liều có thể không gây những độc tính quan sát được hoặc gây ảnh hưởng không đáng kể;

+ Liều cao: Mức liều dự kiến sẽ quan sát được biểu hiện ngộ độc trên cơ quan của động vật thí nghiệm hoặc đến mức thể tích giới hạn cao nhất mà động vật thí nghiệm có thể dùng được.

Thử nghiệm nên được tiến hành song song với 1 nhóm chứng trong cùng điều kiện với cùng số lượng động vật đã dùng trong nhóm thử. Tuy nhiên, trong thời điểm hiện tại phần lớn các nghiên cứu có thể chấp nhận với 1 nhóm chứng và 2 nhóm thử (liều thấp và liều cao). Cho động vật dùng thuốc hàng ngày, 7 ngày/tuần. Số động vật trên mỗi nhóm tùy theo loài 8 - 10 con (gặm nhấm) [12].

Trong nghiên cứu, chúng tôi đã thiết kế chuột được chia thành 3 nhóm, 1 nhóm chứng uống nước muối sinh lý và 2 nhóm thử (uống gel nano Berberin); mỗi nhóm 10 con. Chuột được uống liên tục trong 28 ngày.

Kết quả nghiên cứu cho thấy cho thấy không có sự khác biệt giữa lô chứng với 2 lô nghiên cứu. Trong 2 lô nghiên cứu, không có dấu hiệu thay đổi hành vi và đặc điểm khác bên ngoài như lông, da v.v.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của gel nano Berberin trên chuột với 2 mức liều 3,5g/1kg/24h và 10,5g/1kg/24h (quy đổi ra liều trên người với hệ số là 7 [16] là 24,5g/kg/24h và 73,5g/kg/24h) không gây thay đổi trên đối tượng nghiên cứu về các chỉ số lâm sàng.

Những kết quả nghiên cứu về độc tính bán trường diễn của dạng chế phẩm do

chúng tôi bào chế là cơ sở khoa học để tiến hành nghiên cứu tiếp theo (đánh giá kích ứng của chế phẩm, tác dụng điều trị bằng thực nghiệm...) trước khi tiến hành trên người bệnh. Kết quả của chúng tôi phù hợp với những nghiên cứu đã công bố về Berberin.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Berberin nhận thấy dịch chiết từ rễ cây *Rhizoma coptidis* - Hoàng liên chân gà chứa hoạt chất Berberin với 1,88g/kg trên chuột Sprague Dawley không có tác dụng phụ, không có bất kỳ ảnh hưởng nào đến các yếu tố sinh hóa máu. Kết quả có trong xét nghiệm Ames đánh giá khả năng gây đột biến ADN vi khuẩn của hoá chất âm tính, xét nghiệm vi nhân micronucleus và tinh trùng chuột không có bất thường [17].

Một nghiên cứu sử dụng dịch chiết thân rễ cây hoàng liên *Rhizoma Coptidis* (RC alkaloids) có hoạt chất chủ yếu là Berberin với hàm lượng 156mg/kg, bằng đường uống, trong 90 ngày cho chuột Sprague Dawley. Kết quả cho thấy không có triệu chứng ngộ độc lâm sàng, không có bất kỳ ảnh hưởng nào đến trọng lượng cơ thể và tỷ lệ tử vong, trọng lượng nội tạng, phân tích nước tiểu, các thông số huyết học, hoại tử tổng thể và mô bệnh học ở bất kỳ động vật nào [18].

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Gel nano Berberin trên chuột thực nghiệm cho thấy: Chuột uống gel với liều dùng 3,5g và 10,5g/kg/24 giờ, uống liên tục trong 28 ngày không gặp chuột chết, không ảnh hưởng đến sự phát triển trọng lượng chuột, không gây bất thường về vận động tự động, không gây các biểu hiện co giật, run, tăng tiết mồ hôi, tím tái; không gây rối loạn tiêu hóa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **OECD. OECD guidelines for testing of chemicals; Guideline 407: Repeated dose 28 - day oral toxicity in rodents.** Organization of Economic and Cooperation Development, Paris, 1995.
2. OECD guideline for testing chemicals, OECD/OCDE 423; *Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents*, Adopted 3rd October 2008.
3. **Seyede Zohre Kamrani Rad, Maryam Rameshrad and Hossein Hosseinzadeh,** *Toxicology effects of Berberis vulgaris (barberry) and its active constituent, berberine: a review*, Iran J Basic Med Sci., 2017. 20(5): p. 516-529.
4. Tài liệu tổng quan mới về Berberin
5. **Vujanovic S, Vujanovic J (2013).** Bioresources in the pharmacotherapy and healing of burns: A mini-review; *Burns*; Volume 39, Issue 6, Pages 1031-1038
6. **Hirsch T, Ashkar W, Schumacher O, et al (2008).** Moist exposed burn ointment (MEBO) in partial-thickness burns: a randomized, comparative open mono-center study on the efficacy of dermaheal (MEBO) ointment on thermal 2nd-degree burns compared to conventional therapy. *Eur J Med Res*;13:505-10
7. **Hirsch T, Ashkar W, Schumacher O, et al (2008).** Moist exposed burn ointment (MEBO) in partial-thickness burns: a randomized, comparative open mono-center study on the efficacy of dermaheal (MEBO) ointment on thermal 2nd-degree burns compared to conventional therapy. *Eur J Med Res*;13:505-10
8. **Jewo PI, Fadeyibi IO, Babalola OS, et al (2009).** A comparative study of the wound healing properties of moist exposed burn ointment (MEBO) and silver sulphadiazine. *Ann Burns Fire Disasters*;22:79-82
9. **Spencer T, Gorinshteyn B, Ganey T (2016).** Efficacy and Safety of Berberex Wound Cleanser on Post-Operative Surgical Incisions. *Clin Surg.*; 1: 1196.
10. **Mabrouk A, Boughdadi NS, Helal HA, et al (2012).** Moist occlusive dressing (Aquacel Ag) versus moist open dressing (MEBO) in the management of partial-thickness facial burns: a comparative study in Ain Shams University. *Burns*; 38(3):396-403.
11. **Atiyeh BS, Ghanimeh G, Kaddoura IL, et al (2001).** Split-thickness skin graft donor site dressing: preliminary results of a controlled, clinical comparative study of MEBO and Sofra-Tulle. *Ann Plast Surg.*; 46(1):87-8.
12. **Bộ Y Tế (2015).** Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu, QĐ 141/BYT-QĐ
13. **WHO (1993).** Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines, Manila, Philippines, pp 35-41
14. **Eaton DL, Steven G. Gilbert;** Principles of Toxicology. In: D. Kilassen C, editor. Casarett & Doull's Toxicology the basic science of poisons. 8th ed. New York: MC Grow Hi education; 2013: p. 34-3
15. **Nguyen Ngoc Tuan, Le Quoc Chieu, Le Thi Hong Hanh.** Acute toxicity of nano Berberine gel in white mice, *Tạp chí Y học thảm họa và Bông*, số 6/2021; p 10-19
16. Shannon Reagan-Shaw, *Dose translation from animal to human studies revisited*, *The FASEB Journal*, 2008; vol. 22 no. 3 659-661
17. **Ning N, Wang YZ, Zou ZY, Zhang DZ, Wang DZ, Li XG.** Pharmacological and safety evaluation of fibrous root of rhizoma coptidis. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015;39:53-69
18. **Yi J, Ye X, Wang D, He K, Yang Y, Liu X, et al.** Safety evaluation of main alkaloids from rhizoma coptidis. *J Ethnopharmacol.* 2013;145:303-310