

Nghiên cứu ảnh hưởng của 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32) đến chức năng thận của thỏ thực nghiệm

THE EFFECTS OF PROPYL 10 β - [(2' β -HYDROXY-3'-IMIDAZOL)] DEOXOARTEMISININ (32) ON RABBIT'S KIDNEY FUNCTIONS

Nguyễn Thị Thúy¹, Nguyễn Thị Minh Thu², Trần Thanh Dương³
Trần Văn Minh⁴, Đỗ Thị Nguyệt Quế¹, Nguyễn Thị Thu Hằng²

¹Trường Đại học Dược Hà Nội

²Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

³Viện Sốt rét - KST - CT Trung ương

⁴Trường Đại học Y Hà Nội

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương và Trường Đại học Y Hà Nội từ tháng 02 - 05 năm 2021 nhằm đánh giá ảnh hưởng của hợp chất 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32) đến chức năng thận của thỏ thực nghiệm.

Phương pháp: Tiến hành theo hướng dẫn của Bộ Y tế và OECD về thử độc tính bán trường diễn. Hợp chất (32) được dùng bằng đường uống trên thỏ ở 2 mức liều 72 và 216 mg/kg/ngày \times 28 ngày liên tiếp. Thử nghiệm tiến hành song song với nhóm chứng. Lấy máu tĩnh mạch tai thỏ để xét nghiệm vào các ngày N0, N14 và N29. Mổ thỏ để quan sát đại thể thận và lấy các mô thận để làm tiêu bản đánh giá ảnh hưởng của thuốc đến hình thái vi thể thận thỏ vào các ngày N29 và N43. Các chỉ tiêu đánh giá gồm: creatinine huyết thanh, những biến đổi bất thường của hình thái đại thể và vi thể thận thỏ (nếu có).

Kết quả: Hàm lượng creatinin huyết thanh của thỏ ở 2 lô uống (32) đều không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng, đồng thời không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các thời điểm N14 và N29 so với N0, các giá trị $p > 0,05$.

Hình thái đại thể thận thỏ của tất cả các lô thí nghiệm tại N29 và N43 đều bình thường. Cấu trúc vi thể: Ở các lô chứng và lô dùng thuốc, ống thận bình thường, tỷ lệ thỏ bị sung huyết nhẹ cầu thận tương ứng là 3/6, 4/6 và 5/6. Riêng lô uống (32) liều 216 mg/kg/ngày có 2/6 thỏ (33,33%) có kèm theo sung huyết mô kẽ tại N29.

Kết luận: Hợp chất (32) ở liều 72 \times 28 ngày liên tiếp bằng đường uống (tương đương liều dùng dự kiến trên người) không ảnh hưởng chức năng thận thỏ thí nghiệm. Ở liều 216 mg/kg/ngày \times 28 ngày (gấp 3 lần liều tương đương liều dùng dự kiến trên người), (32) có xu hướng gây tổn thương tế bào thận nhưng hồi phục sau 15 ngày ngưng dùng thuốc.

Từ khóa: 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32), thỏ, chức năng thận, thông số sinh hóa, creatinine, cấu trúc vi thể, hình thái đại thể.

Ngày nhận bài: 7/9/2021

Ngày phản biện: 10/9/2021

Ngày chấp nhận đăng: 24/09/2021



ABSTRACT

This study was conducted at the National Institute of Malariology, Parasitology and Entomology and Hanoi Medical University from February to May, 2021. The compound 10β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxyartemisinin (32) was treated orally in experimental rabbits in order to examine whether it affected rabbit's kidney functions or not.

Methods: The Vietnam Ministry of Health's and OECD's guidelines for sub-chronic toxicity testing were applied. The compound (32) was treated orally in two different groups with the dose regimens of 72 and 216 mg/kg/day \times 28 consecutive days, respectively. A control group treated orally with solvent was also tested simultaneously. Two milliliters of blood were pulled out from each rabbit's ear vein on day 0 (before testing), day 14 (the middle of testing) and day 29 (after stopping taking 32). All of those blood samples were tested for serum creatinine. On day 29 and day 43 (after 15 days stopping taking 32), rabbits were operated to observe the generally renal observations and microbody structures of kidney cells.

Results: The rabbit's serum creatinine concentrations in the two (32)-treated groups were not significantly different from the control group. Besides, these indices on days 14 and 29 did not change significantly compared to that before taking the compound (32) on day 0 (the p values $>$ 0.05).

The macroscopic morphology of the rabbit's kidneys in all experimental groups observed on days 29 and 43 were normal. Microscopically, rabbits' kidney structures of all the groups had mild glomerular congestions with the ratios of 3/6 (50.00%), 4/6 (66.67%) and 5/6 (83.33%), respectively. In particular, with the dose regimen of 216 mg/kg/day \times 28 consecutive days, 2/6 of rabbits (33.33%) had interstitial congestions.

Conclusion: The compound (32) at the dose regimens of 72 \times 28 consecutive days (human equivalent dose) did not affect rabbit's kidney functions. In contrast, at the dose of 216 mg/kg/day \times 28 consecutive days, (32) tended to cause adverse effects on renal cells. Nonetheless, renal cells were normal after 15 days stopping taking drug.

Keywords: 10β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxyartemisinin (32), rabbit, kidney function, biochemical parameter, serum creatinine, macroscopic morphology, microstructure.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt rét là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm do kí sinh trùng *Plasmodium* gây nên, bệnh có tỷ lệ mắc và tử vong cao ở người. Hiện nay lượng thuốc đã được nghiên cứu và sử dụng để điều trị sốt rét không nhiều, bên cạnh đó tình trạng kháng thuốc lại ngày càng gia tăng và lan rộng. Vì vậy yêu cầu cấp bách đã được WHO đề ra là phối hợp thuốc trong điều trị hoặc nghiên cứu phát triển thuốc mới có hiệu lực cao và khả năng chống kháng thuốc [6],[9]. Việc tổng hợp các dẫn xuất mới của artemisinin đã được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu, đặc biệt là thay đổi cấu

trúc lacton của dihydroartemisinin, tạo ra các dẫn xuất bền hơn và có hoạt tính cao hơn. Dẫn xuất 32 có tên khoa học 10β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxyartemisinin là một trong những dẫn xuất mới chứa dị vòng amin và nhóm thân nước của 10-deoxyartemisinin có triển vọng phát triển làm thuốc điều trị sốt rét.

Hợp chất 32 đã được Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên tổng hợp và tinh chế, được Viện Sốt rét – KST – CT Trung ương chứng minh hiệu lực *in vitro* tương đương ART [7], có tác dụng tốt *in vivo* với chủng *P. bergeri* kháng cloroquin trên chuột nhắt trắng [8] và không có độc tính cấp đường

uống [7],[8]. Hiện chưa có nghiên cứu nào theo dõi độc tính dài ngày của (32) trên các cơ quan của động vật thực nghiệm. Để tiếp tục phát triển hợp chất (32), nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của (32) đến chức năng thận của thỏ khi cho uống 28 ngày liên tiếp.

ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Thuốc nghiên cứu

Dẫn xuất 10 β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32) do Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên cung cấp, độ tinh khiết 99,98%.

Động vật dùng trong nghiên cứu

Thỏ trưởng thành (*Oryctolagus cuniculus* L.), tổng số 36 con, cân nặng trung bình 2,1 \pm 0,2 kg, 2 tháng tuổi, khỏe mạnh, không phân biệt đực - cái, do Trung tâm nghiên cứu Dê và Thỏ Sơn Tây cung cấp. Với động vật cái phải không mang thai, không nuôi con bú và chưa sinh sản lần nào. Động vật được nuôi ổn định 7 ngày trong điều kiện thí nghiệm trước khi tiến hành nghiên cứu.

Phương tiện nghiên cứu

Hóa chất

Nước cất hai lần; Các dung dịch xét nghiệm sinh hóa máu dành cho máy sinh hóa bán tự động của hãng Boehringer (Đức); Ethanol 950, ethanol tuyệt đối, xylen, formol, dung dịch hematoxylin, eosin 1%, thuốc thử Schiff (acid periodic 1%), baume Canada, paraffin; Gôm arabic dược dụng (Thái Lan sản xuất), lô HG-107: Dùng để pha thuốc.

Dụng cụ và thiết bị

Máy cất nước hai lần Aquatron (hãng Bibby sterilin, Anh); Cân Sauter, độ chính xác d = 0,1mg; Máy Photometer 5010 của hãng Boehringer-Mannheim (Đức) để xét nghiệm sinh hóa; Máy chuyển tự động STP 120 (hãng Microm, Đức),

máy đúc khối nén AP 280-1 (Microm – Đức), máy cắt tiêu bản vi thể (microtome – Đức), bàn hơi tiêu bản Prolabo (hot plate - Pháp), lưỡi dao cắt vi thể 1 lần S35 (Nhật), lam kính, lamén, kính hiển vi Nihon (Nhật), bộ bể nhuộm (Nhật): để nghiên cứu hình thái vi thể thận thỏ; Kim đầu tù cho động vật uống; Cốc thủy tinh có chia vạch, bơm kim tiêm 5 mL; Kéo phẫu thuật, pank, dao mổ.

Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành theo hướng dẫn của Bộ Y Tế [1] và OECD số 407 [4]. Ảnh hưởng của hợp chất (32) đến chức năng thận của thỏ được đánh giá thông qua việc xác định chỉ số creatinine huyết thanh trước, trong và sau dùng thuốc, đồng thời xác định sự biến đổi hình thái vi thể mô thận thỏ ở thời điểm sau 28 ngày dùng thuốc và sau 15 ngày ngưng dùng thuốc.

Thỏ sau khi nuôi ổn định 7 ngày, được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, mỗi lô 12 con:

- Lô 1: chứng (n = 12): Uống dung môi gồm arabic 1%, thể tích tương đương liều điều trị thuốc \times 28 ngày liên tiếp.

- Lô 2 (n = 12): Uống hỗn dịch (32) liều 72mg/kg/ngày, (tương đương liều dùng dự kiến trên người) \times 28 ngày liên tiếp.

- Lô 3 (n = 12): Uống hỗn dịch (32) liều 216mg/kg/ngày, (tương đương gấp 3 lần liều dùng dự kiến trên người) \times 28 ngày liên tiếp.

Trước uống thuốc, thỏ được lấy máu tĩnh mạch tai để làm xét nghiệm creatinine huyết thanh vào ngày N0. Cho thỏ uống thuốc mỗi ngày một lần vào buổi sáng bằng kim đầu tù, liên tục trong 28 ngày. Các ngày lấy máu tĩnh mạch tai để làm xét nghiệm creatinine huyết thanh tiếp theo là N14 (sau khi uống thuốc 2 giờ) và N29.

Sau 28 ngày cho uống thuốc liên tục, vào ngày N29, mổ 50% số thỏ ở lô chứng và các lô uống thuốc, lấy các mô thận để làm tiêu bản đánh giá ảnh hưởng của thuốc. Số thỏ còn lại được nuôi



bình thường, sau 15 ngày ngừng thuốc, vào ngày N43, mổ hết để đánh giá sự hồi phục của tổ chức thận. Các mẫu tiêu bản thận ở hai đợt được xử lý như nhau.

Phương pháp nghiên cứu mô bệnh học

Sau khi giết động vật thí nghiệm, quan sát tổng thể các mẫu thận một cách sơ bộ, rồi lấy đại diện 5 mẫu thận ở mỗi thỏ tại các vị trí khác nhau. Các mẫu bệnh phẩm được cắt mỏng từ 3-5 mm, cố định trong dung dịch formol 10% trong 48 giờ. Sau đó, khử nước, đúc parafin (khối nén), và cắt mỏng 3µm. Nhuộm hematoxylin eosin (HE).

Các chỉ số nghiên cứu

Chỉ số sinh hóa thận: creatinine huyết thanh (µmol/L) tại các ngày N0, N14 và N29.

Chỉ số mô bệnh học thận: Những biến đổi bất thường của hình thái vi thể thận thỏ (nếu có) của lô uống thuốc so với lô chứng tại N29 và sự hồi phục sau khi ngừng thuốc tại N43.

Xử lý số liệu

Bảng 1. Hàm lượng creatinin (µmol/L) của thỏ ở các lô nghiên cứu

Lô	N0	N14	N29	p (N0-N14)	p (N0-N29)
Lô 1: chứng (n = 12)	84,93 ± 11,22	88,55 ± 10,09	89,56 ± 12,76	> 0,05	> 0,05
Lô 2: uống (32), 72 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	87,99 ± 11,09	96,26 ± 14,45	93,67 ± 10,58	> 0,05	> 0,05
Lô 3: uống (32), 216 mg/kg/ngày × 28 ngày (n = 12)	93,34 ± 11,61	96,16 ± 11,30	94,28 ± 9,72	> 0,05	> 0,05
p (1-2), p (1-3), p (2-3)	> 0,05	> 0,05	> 0,05		

Hàm lượng creatinin ở các lô uống hợp chất (32) liều 72 và 216 mg/kg tại N14 và N29 thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với N0 và so với lô chứng tại các thời điểm tương ứng (các giá trị p > 0,05).

Cấu trúc vi thể thận thỏ lô chứng tại N29:

- Số liệu được biểu thị bằng trị số trung bình ± độ lệch chuẩn (M±SD).

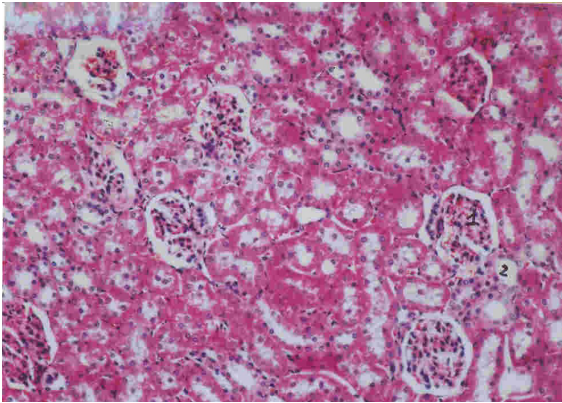
- Các số liệu nghiên cứu được xử lý bằng chương trình Excel 2016 theo phương pháp thống kê y học với cỡ mẫu nhỏ (< 30), sử dụng t-test Student và Fisher's exact test để so sánh các số liệu trước, trong và sau thử nghiệm và so sánh giữa lô dùng thuốc và lô chứng.

- Trong so sánh, nếu p > 0,05 là khác biệt không có ý nghĩa thống kê, p < 0,05 là khác biệt có ý nghĩa thống kê và p càng nhỏ thì khác biệt có ý nghĩa thống kê càng cao.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đánh giá ảnh hưởng của hợp chất (32) đến chức năng thận thông qua định lượng hàm lượng creatinin huyết thanh trước, trong và sau khi dùng thuốc, đồng thời nghiên cứu sự biến đổi hình thái vi thể mô thận sau khi dùng thuốc và sau khi ngừng thuốc 15 ngày.

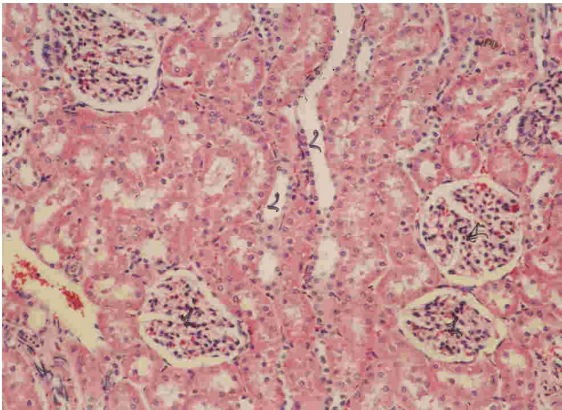
Kết quả cho thấy, 3/6 thỏ có sung huyết nhẹ ở cầu thận; ống thận không có tổn thương, không thoái hoá lòng tế bào, trong lòng không có trụ albumin; 1/6 thỏ có tăng sinh tế bào mao mạch, khoảng Bowman hơi hẹp (hình 1).



Hình 1. Thận thỏ lò chứng (HE × 100) ngày N291
Cấu thận: sung huyết nhẹ; 2. Ống thận: bình thường

Cấu trúc vi thể thận thỏ lò uống (32) liều 72 mg/kg/ngày × 28 ngày tại N29:

Cấu thận sung huyết nhẹ (4/6 thỏ), ống thận và mô kẽ không có tổn thương, một số ống thận vùng tuỷ trong lòng có trụ albumin (hình 2).

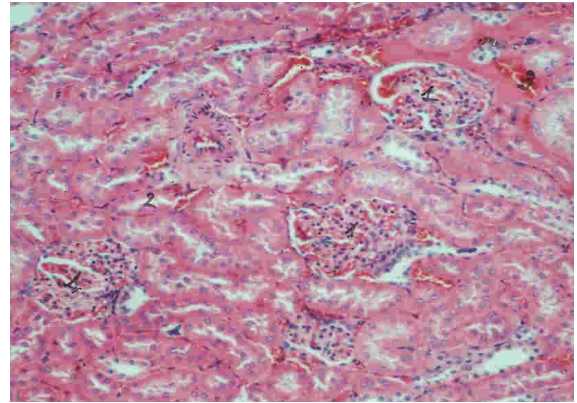


Hình 2. Thận thỏ uống (32) liều 72 mg/kg/ngày × 28 ngày (HE × 100) ngày N29

1. Cấu thận; 2. Ống thận

Cấu trúc vi thể thận thỏ lò uống (32) liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày ở N29:

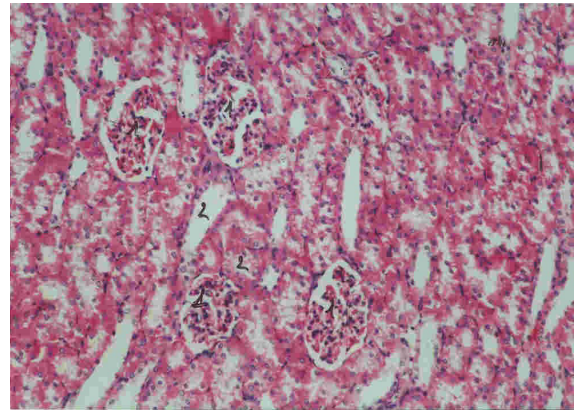
5/6 thỏ sung huyết nhẹ cấu thận (tĩnh mạch trung tâm và xoang mạch sung huyết nhẹ), trong đó 2 thỏ có kèm sung huyết mô kẽ; ống thận không có tổn thương (hình 3).



Hình 3. Thận thỏ uống (32) liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày (HE × 100) ngày N29

1. Cấu thận; 2. Ống thận: bình thường; 3. Mô kẽ: sung huyết.

Ở ngày 43, tình trạng sung huyết nhẹ cấu thận xảy ra trên 3/6 thỏ ở lò chứng, 2/6 thỏ ở lò (2) và 3/6 thỏ ở lò (3); ống thận bình thường (hình 4).



Hình 4. Thận thỏ uống (32) liều 216 mg/kg/ngày × 28 ngày, sau 15 ngày ngừng thuốc (HE × 100)

1. Cấu thận: sung huyết; 2. Ống thận: bình thường

Như vậy, cả lò chứng và lò dùng thuốc đều có tỷ lệ nhất định thỏ có sung huyết nhẹ cấu thận, ống thận bình thường, riêng lò 3 có 2/6 thỏ có sung huyết mô kẽ.

BÀN LUẬN



Thận là cơ quan có vai trò rất quan trọng giúp lọc và thải trừ thuốc ra khỏi cơ thể. Tuy nhiên có nhiều thuốc rất nhạy cảm với nhu mô thận, có khả năng gây độc cho thận. Do đó việc đánh giá ảnh hưởng của thuốc nghiên cứu trên chức năng thận là hoàn toàn cần thiết.

Để đánh giá mức độ ảnh hưởng của hợp chất (32) đến chức năng thận thỏ, chúng tôi tiến hành định lượng hàm lượng creatinin trong huyết thanh và nghiên cứu sự biến đổi hình thái vi thể mô thận thỏ ở ngày N29 và sau khi ngừng dùng thuốc 15 ngày (N43). Khi chức năng lọc của cầu thận suy giảm, nồng độ creatinin có trong huyết thanh sẽ tăng lên.

Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng creatinin ở các lô uống hợp chất (32) liều 72 mg/kg/ngày và 216 mg/kg/ngày tại N14 và N29 thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với N0 và so với lô chứng tại các thời điểm tương ứng (các giá trị $p > 0,05$).

Đánh giá hình ảnh vi thận thỏ, nhận thấy cả lô chứng và lô dùng thuốc đều có tỷ lệ nhất định thỏ sung huyết nhẹ cầu thận (lô chứng: 50,00%, lô thử liều 72 mg/kg/ngày: 66,67%, lô thử liều 216 mg/kg/ngày: 83,33%), trong đó có 2 thỏ ở lô uống (32) liều 216 mg/kg/ngày \times 28 ngày có kèm sung huyết mô kẽ (chiếm 33,33 %).

Sung huyết ở thận thỏ có thể do nhiều nguyên nhân khác nhau, có thể gặp ở cả thỏ khỏe mạnh, ăn uống sinh hoạt bình thường. Cả 3 lô nghiên cứu đều có thỏ gặp phải tình trạng sung huyết ở cầu thận, tuy nhiên số lượng thỏ và mức độ trầm trọng của tình trạng này tăng lên ở các lô thử thuốc, tại lô thử liều 216 mg/kg/ngày còn có 2 thỏ bị sung huyết mô kẽ. Chúng tôi hợp chất (32) có thể gây tổn thương tới thận ở mức độ tế bào, song vẫn chưa ảnh hưởng tới khả năng lọc của cầu thận.

Nghiên cứu độc tính bán cấp của

trifluoromethylhydroartemisinin (BB101) trên khi cho kết quả: liều 4 mg/kg và 8 mg/kg \times 30 ngày làm giảm rõ hàm lượng creatinin tại các thời điểm N14 và N30. Sau 15 ngày dùng thuốc, chỉ số này lại trở về bình thường [2].

Một nghiên cứu độc tính bán trường diễn khác trên khi của BB134 – dẫn xuất gắn Fluor của artemisinin thì chỉ ra rằng BB134 được dùng với liều uống 9 mg/kg/ngày \times 28 ngày không làm thay đổi hàm lượng creatinin của thỏ [3].

Papiya Bigoniya và cộng sự khi nghiên cứu về độc tính bán trường diễn của Artesunate đã nhận thấy Artesunate với liều 2, 4 và 8 mg/kg/ngày \times 45 ngày trên chuột lang đều không ảnh hưởng tới chỉ số creatinin và ure trong huyết tương. Cả 3 liều này đều không gây ra bất kỳ ảnh hưởng có hại nào đến đặc điểm mô học của thận chuột [5]. Như vậy, hợp chất (32) ở liều 72 mg/kg/ngày \times 28 ngày (tương đương liều dùng dự kiến trên người) không ảnh hưởng đến chức năng thận của thỏ thí nghiệm. Ở mức liều 216 mg/kg/ngày \times 28 ngày (liều cao gấp 3 lần liều tương đương dùng dự kiến trên người), (32) có xu hướng làm tổn thương thận ở cấu trúc vi thể, gây sung huyết mô kẽ thận. Tuy nhiên các tổn thương này còn nhẹ và chưa ảnh hưởng khả năng lọc cầu thận và đều phục hồi sau một khoảng thời gian 15 ngày ngừng thuốc. Khi so sánh với các dẫn xuất khác của Artemisinin, có thể thấy hợp chất (32) ít gây ra các ảnh hưởng trên thận hơn hợp chất BB101 và BB134, tuy nhiên gây nhiều tác dụng bất lợi trên thận hơn so với Artesunate.

Để có thể khẳng định ảnh hưởng của hợp chất (32) ở mức liều cao đến chức năng thận cần tiến hành thêm các nghiên cứu đánh giá trên mô hình động vật thực nghiệm ở quy mô lớn hơn hoặc ở các mức liều cao hơn.

KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu ảnh hưởng của 10β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32) đến chức năng thận của thỏ thực nghiệm với hai liều đường uống 72 và 216 mg/kg/ngày \times 28 ngày liên tiếp. Kết quả cho thấy:

Hàm lượng creatinin huyết thanh ở các lô thử nghiệm đều bình thường, khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và giá trị tại N14,

N29 không khác biệt so với N0 ($p > 0,05$).

Đại thể mô thận bình thường ở tất cả các lô nghiên cứu.

Vi thể mô thận cho thấy, liều 216 mg/kg/ngày \times 28 ngày liên tiếp (tương đương liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên người) có 2/6 thỏ (33,33%) sung huyết mô kẽ và sau 15 ngày ngừng thuốc, cấu trúc vi thể thận bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế (2015)**, Quyết định số: 141/QĐ-K2ĐT, *Quyết định về việc ban hành tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu”*.
- Trương Văn Như, Đoàn Hạnh Nhân, Bùi Thị Sáu, Lê Minh Đạo, Nguyễn Thị Minh Thu, Đỗ Mạnh Hà (2004)**, “Nghiên cứu độc tính bán cấp của trifluoromethylhydroartemisinin (BB101) trên khỉ”, *Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*, số 6, tr. 44-49.
- Trương Văn Như, Đoàn Hạnh Nhân, Bùi Thị Sáu, Nguyễn Thị Minh Thu và cộng sự (2005)**, “Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của 16 - Piperazinoethanol - 10 α - Trifluoromethyl Anhydrodihydro Artemisinin (BB134) trên động vật thực nghiệm”, *Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*, số 6, tr. 15-22.
- OECD (2008)**, “Repeated dose 28-oral toxicity study in rodents”, OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 407.
- Papiya Bigoniya, Taranginee Sahu, Vikalp Tiwari (2015)**, “Hematological and biochemical effects of sub-chronic artesunate exposure in rats”, *Toxicology reports*, 2, 280-288.
- Nguyễn Thị Minh Thu (2008)**, *Nghiên cứu tác dụng trên ký sinh trùng sốt rét và độc tính trên thực nghiệm của thuốc sốt rét phối hợp Dihydroartemisinin – Piperaquin do Việt Nam sản xuất*, Luận án tiến sĩ Dược học - Viện Dược Liệu.
- Nguyễn Thị Minh Thu, Ngô Việt Thành, Tạ Thị Tĩnh, Nguyễn Mạnh Hùng và cộng sự (2011)**, “Nghiên cứu hiệu lực *in vitro* của 5 dẫn xuất artemisinin và độc tính cấp của 10β -[(2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin”, *Tạp chí Dược học*, (số 428), tr.31-34.
- Nguyễn Thị Minh Thu, Nguyễn Lương Hiếu (2020)**, “Tác dụng *in vivo* và độc tính cấp đường uống của 10β -[2' β -hydroxy-3'-imidazol) propyl] deoxoartemisinin (32)”, *Tạp chí Y Dược cổ truyền Việt Nam*, tập 7, (số 32), tr.35-45.
- Trường Đại học Dược Hà Nội - Chương trình Phòng chống sốt rét Quốc gia (2016)**, *Cẩm nang hướng dẫn sử dụng thuốc điều trị sốt rét*, Nhà xuất bản Thanh Niên, Hà Nội.