

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



LÊ TÁT THÀNH

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG
DIỄN VÀ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM
CỦA VIÊN NANG CỨNG “VIÊN TRĨ HV”
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2020

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



LÊ TÁT THÀNH

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH BÁN TRƯỜNG
DIỄN VÀ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM
CỦA VIÊN NANG CỨNG “VIÊN TRĨ HV”
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SỸ Y HỌC

Chuyên ngành : Y Học Cổ Truyền

Mã số : 8720115

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Đậ Xuân Cảnh

HÀ NỘI, NĂM 2020

LỜI CẢM ƠN

Với lòng biết ơn sâu sắc và tình cảm chân thành cho phép em gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới:

- Trường Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, Phòng sau đại học cùng các giảng viên đã tận tình chỉ dạy và tạo điều kiện giúp đỡ em trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành đề tài nghiên cứu khoa học.

- Đặc biệt em xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến Thầy PGS.TS Đậu Xuân Cảnh - người hướng dẫn và cũng là người đã luôn tận tình hướng dẫn, chỉ bảo, giúp đỡ và động viên em trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thành đề tài nghiên cứu này.

- Cảm ơn gia đình, bạn bè và đồng nghiệp đã luôn khích lệ, động viên và giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu khoa học.

Mặc dù đã cố gắng rất nhiều, nhưng bài luận không tránh khỏi những thiếu sót; tác giả rất mong nhận được sự thông cảm, chỉ dẫn, giúp đỡ và đóng góp ý kiến của các nhà khoa học, của quý thầy cô, các cán bộ quản lý và các bạn đồng nghiệp. Xin chân thành cảm ơn!

LỜI CAM ĐOAN

Tôi tên là : **Lê Tất Thành**, học viên lớp Cao học khóa 11, Học viện y dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan :

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Đậu Xuân Cảnh

2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã công bố tại Việt Nam.

3. Các số liệu thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà nội, ngày tháng năm 2020

Người viết cam đoan

Lê Tất Thành

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Bệnh trĩ theo y học hiện đại	3
1.1.1. Định nghĩa.....	3
1.1.2. Sinh lý bệnh học.....	3
1.1.3. Yếu tố nguy cơ	3
1.1.4. Chẩn đoán.....	3
1.1.5. Phân loại.....	4
1.1.6. Điều trị	5
1.2. Bệnh trĩ theo y học cổ truyền	6
1.2.1. Quan niệm về bệnh trĩ theo Y học cổ truyền	6
1.2.2. Nguyên nhân gây bệnh.....	7
1.2.3. Phân loại trĩ theo Y học cổ truyền.....	8
1.2.4. Các phương pháp điều trị trĩ theo Y học cổ truyền.....	9
1.3. Tính an toàn và hiệu lực thuốc y học cổ truyền	10
1.4. Tổng quan về mô hình thử nghiệm độc tính bán trường diễn.....	11
1.4.1. Mục tiêu.....	11
1.4.2. Lựa chọn mô hình thử nghiệm	11
1.4.3. Thời gian thử	12
1.4.4. Đường dùng thuốc và liều dùng	12
1.4.5. Tiến hành	13
1.4.6. Chỉ tiêu cần đánh giá.....	13
1.5. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và chống viêm mạn của thuốc.....	14
1.5.1. Tổng quan.....	14
1.5.2. Mô hình nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp của thuốc.....	14
1.5.3. Mô hình nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn của thuốc	16
1.6. Giới thiệu về chế phẩm viên nang cứng “Viên trĩ HV”	17
1.6.1. Thành phần viên nang cứng “Viên trĩ HV”	17

1.6.2. Phân tích bài thuốc	18
1.7. Tình hình nghiên cứu trên thế giới và Việt Nam	19
CHƯƠNG 2:	21
ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu.....	21
2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu.....	21
2.1.2. Động vật nghiên cứu	21
2.1.3. Dụng cụ máy móc	22
2.1.4. Hóa chất, thuốc thử	23
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	23
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	24
2.3.1. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của chế phẩm	24
2.3.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột cống trắng bằng Carrageenin	25
2.3.3. Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn theo mô hình gây u hạt trên chuột cống trắng.....	26
2.4. Xử lý số liệu	26
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	27
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn.....	27
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột cống trắng bằng Carrageenin.....	39
Bảng 11. Ảnh hưởng của chế phẩm tới tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau gây viêm.	39
3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn theo mô hình gây u hạt trên chuột cống trắng	41
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	42
4.1. Bàn luận về tính an toàn của viên nang cứng “Viên trĩ HV”	42
4.2. Bàn luận về tác dụng chống viêm cấp và tác dụng chống viêm mạn của viên nang cứng “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm	47
4.2.1. Tác dụng chống viêm cấp	48

4.2.2. Tác dụng chống viêm mạn	49
KẾT LUẬN	51
KIẾN NGHỊ	52
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	
PHỤ LỤC 1	
PHỤ LỤC 2.....	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
ALT	Chỉ số men gan Alanine aminotransferase	Alanine aminotransferase
AST	Chỉ số men gan Aspartate aminotransferase	Aspartate aminotransferase
BC	Bạch cầu	Leukocytes
ĐVTN	Động vật thí nghiệm	
Hb	Chỉ số Hemoglobin	Hemoglobin
Hct	Chỉ số Hematocrit	Hematocrit
ICH	Hội nghị quốc tế về hài hòa hóa các thủ tục đăng ký dược phẩm sử dụng cho con người	International Conference on Harmonization
LD50	Liều lượng gây chết trung bình	Median Lethal Dose
OECD	Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
VAS	Thang điểm đau VAS	Visual Analog Scale
WHO	Tổ chức y tế thế giới	World Health Organization
YHCT	Y học cổ truyền	
YHHĐ	Y học hiện đại	

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của viên trĩ HV đối với thể trọng chuột	27
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột	28
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên Hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột	29
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột	30
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV đối với hoạt độ AST và ALT	31
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu	32
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên cholesterol toàn phần trong máu	33
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên hàm lượng creatinin máu chuột	34
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của chế phẩm tới tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau gây viêm	39
Bảng 3.10. Tỷ lệ % ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột	40
Bảng 3.11. Tác dụng giảm trọng lượng u hạt (mg/100g) của viên nang cứng “Viên trĩ HV”	41

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Giải phẫu vị trí trĩ	4
Ảnh 2.1. Chuột cống trắng	22
Ảnh 2.2. Máy xét nghiệm huyết học và sinh hóa sử dụng trong nghiên cứu	23
Ảnh 3.1. Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô chứng (chuột 06, lô chứng)	35
Ảnh 3.2: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 1 (chuột 14, lô trị 1)	35
Ảnh 3.3: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 2 (chuột 22, lô trị 2)	35
Ảnh 3.4: Hình ảnh vi thể gan chuột lô chứng (chuột 8, lô chứng)	36
Ảnh 3.5: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột 15, lô trị 1).	36
Ảnh 3.6: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột 24, lô trị 2).	36
Ảnh 3.7: Hình ảnh vi thể lách chuột lô chứng (chuột 9, lô chứng)	37
Ảnh 3.8: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 1 (chuột 18, lô trị 1)	37
Ảnh 3.9: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 2 (chuột 25, lô trị 2)	37
Ảnh 3.10: Hình ảnh vi thể thận chuột lô chứng (chuột 5, lô chứng).	38
Ảnh 3.11: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột 16, lô trị 1).	38
Ảnh 3.12: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột 28, lô trị 2).	38

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh trĩ là do những cấu trúc tĩnh mạch hậu môn, trực tràng bị chuyển đổi sang trạng thái bệnh lý do yếu tố cơ học làm giãn, lỏng lẻo hệ thống nâng đỡ gây sa búi trĩ và yếu tố mạch máu làm giãn mạch gây chảy máu.[1]

Bệnh trĩ là một bệnh thường gặp với tỷ lệ mắc cao trong cộng đồng và là bệnh đứng hàng đầu trong các bệnh lý hậu môn trực tràng. Tuy bệnh ít nguy hiểm nhưng gây nhiều trở ngại, phiền phức trong sinh hoạt, từ đó ảnh hưởng đến năng suất lao động, chất lượng cuộc sống cũng như tâm sinh lý của người bệnh [2]. Trung bình các tác giả ước tính khoảng 50% dân số, nhưng chỉ 10-15% số người có trĩ cần được phẫu thuật và trong số này cũng chỉ 5-10% là phải phẫu thuật [1].

Chẩn đoán bệnh thường không khó nếu chú ý thăm khám hậu môn trực tràng kỹ. Các phương pháp điều trị trĩ hiện nay cũng rất phong phú. Chỉ định điều trị tùy theo từng giai đoạn tiến triển của bệnh và tình trạng toàn thân, hoàn cảnh của bệnh nhân, đôi khi tùy thuộc vào kinh nghiệm của thầy thuốc và trang thiết bị cơ sở y học hiện đại (YHHĐ) có các phương pháp điều trị bao gồm: điều trị nội khoa, điều trị bằng thủ thuật, điều trị bằng phẫu thuật ngoại khoa. [3],[4],[5]

Bệnh trĩ cũng được y học cổ truyền (YHCT) đề cập đến nhiều trong các y văn kinh điển về nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh và điều trị, trong đó các phương pháp điều trị bằng YHCT cũng rất đa dạng: gồm các phương pháp dùng thuốc (uống thuốc, ngâm thuốc, đắp thuốc, bôi thuốc) và không dùng thuốc (châm cứu, day ấn huyệt). Có nhiều bài thuốc, vị thuốc YHCT đã và đang được áp dụng điều trị bệnh trĩ đem lại hiệu quả tốt trong đó có các vị thuốc như diệp cá, rau sam, dền gai, hòe hoa... [6]

Những năm gần đây, hiện đại hóa nền y học cổ truyền và kết hợp YHCT với YHHĐ đang là yêu cầu phát triển của thời đại, là vấn đề mang tính chiến lược. Việc nghiên cứu các cây thuốc, bài thuốc quý giúp nâng cao tính khoa học, tính hiện đại của YHCT, nhưng đồng thời không làm mất đi đặc điểm riêng của YHCT [7]. Ngày càng có nhiều những nghiên cứu cây thuốc, bài thuốc YHCT có tác dụng chống viêm được nhiều nhà khoa học tiếp cận, nghiên cứu và phát triển. Bên cạnh các bài

thuốc uống cổ phương lâu đời, gần đây với ý tưởng tìm kiếm, phát triển nguồn dược liệu Việt Nam, nhiều chế phẩm thuốc YHCT đã được đưa vào nghiên cứu, sản xuất và cung cấp cho công tác điều trị.

Năm 2018, Bộ y tế ra thông tư số 29/2018/TT-BYT hướng dẫn việc thử nghiệm lâm sàng giai đoạn I trên người khỏe mạnh của các thuốc mới yêu cầu cần có những khẳng định về tính an toàn với những chứng cứ rõ ràng trên thực nghiệm (độc tính cấp, bán cấp, bán trường diễn, trường diễn, gây mô hình bệnh...)[8]. Cùng với thông tư 05/2015/TT-BYT hướng dẫn về việc sử dụng đúng tên dược liệu YHCT và chấp nhận tính an toàn của các bài thuốc cổ phương, thuốc YHCT từ đó cũng được bào chế dưới nhiều dạng sử dụng hơn nhằm mục đích tăng tối đa mức độ tuân thủ điều trị của bệnh nhân [9].

Viên nang cứng “Viên trĩ HV” là chế phẩm được xây dựng dựa trên bài thuốc nghiệm phương của PGS.TS. Đậu Xuân Cảnh từ nhiều năm kinh nghiệm lâm sàng điều trị với mục đích tiêu viêm, cầm máu đặc biệt đã cho kết quả rất tốt điều trị các chứng đi ngoài đau, ngứa, ra máu ra mủ, táo bón, trĩ nội, trĩ ngoại. Từ thực tế trên, nhằm bước đầu chứng minh tính an toàn và tác dụng của viên nang cứng “Viên trĩ HV” qua những nghiên cứu dược lý của YHHĐ, tiến tới việc sử dụng thuốc rộng rãi trong điều trị lâm sàng, chúng tôi tiến hành đề tài: **“Nghiên cứu độc tính bán trường diễn và tác dụng chống viêm của viên nang cứng “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm”** với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá độc tính bán trường diễn của viên nang cứng “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm.*
2. *Đánh giá tác dụng chống viêm cấp và tác dụng chống viêm mạn của viên nang cứng “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm.*

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Bệnh trĩ theo y học hiện đại

1.1.1. Định nghĩa

Bệnh trĩ là một bệnh mạn tính do các tĩnh mạch trực tràng hậu môn bị giãn và xung huyết thành một búi hoặc nhiều búi, tùy vị trí tĩnh mạch ở trực tràng hay hậu môn được chia trên lâm sàng thành trĩ nội hay trĩ ngoại. [6]

1.1.2. Sinh lý bệnh học

Cơ chế bệnh sinh bệnh trĩ vẫn chưa được thống nhất, có 2 giả thuyết vẫn được sử dụng để giải thích sự khởi phát trĩ được nhiều người chấp nhận.

- **Thuyết mạch máu:** bình thường tồn tại các shunt động - tĩnh mạch nhưng đóng kín. Khi một tác nhân nào đó làm các shunt mở rộng, máu động mạch chảy vào ở ạt làm đám rối tĩnh mạch bị giãn, nếu kết hợp một yếu tố làm cản trở máu về sẽ gây chảy máu, lý giải hiện tượng chảy máu đỏ tươi trong bệnh trĩ.

- **Thuyết cơ học:** áp lực tăng cao khi bệnh nhân rặn (táo bón, ỉa khó...) làm các bộ phận nâng đỡ tổ chức trĩ bị giãn dần và trở nên lỏng lẻo dẫn đến hiện tượng sa các búi trĩ. Máu động mạch xuống búi trĩ vẫn duy trì nhưng máu về bị cản trở làm cho trĩ sa ngày càng nặng. [10],[3],[11],[12], [13]

1.1.3. Yếu tố nguy cơ

Nguyên nhân gây bệnh trĩ chưa được xác định chính xác. Một số yếu tố được coi là nguồn gốc gây bệnh như [3],[10]:

- Nòi giống: có những chủng tộc tỷ lệ mắc bệnh nhiều hơn (người Do thái).
- Gia đình: trong gia đình có người mắc bệnh thì nguy cơ mắc ở những người khác thường cao hơn. [3],[10],[14]
- Do tư thế làm việc: đứng quá lâu, ngồi nhiều (thợ may, lái tàu...)
- Do rối loạn nhu động ruột: một số bệnh lý như lỵ, táo bón, viêm đại tràng...[15]
- Tăng áp lực trong khoang bụng: những người mắc bệnh viêm phế quản mạn tính, dẫn phế quản, suy tim...
- Phụ nữ có thai các tháng cuối, ung thư trực tràng.[3],[16]

1.1.4. Chẩn đoán

❖ Triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng lâm sàng thường gặp trên bệnh trĩ: chảy máu, đau, sa búi trĩ. Ngoài ra bệnh nhân có thể có một số biểu hiện khác như: các dấu hiệu tiết niệu, trĩ kèm nứt kẽ hậu môn, ngứa do hiện tượng xuất tiết viêm xung quanh búi trĩ sa. [10],[3],[5], [13], [17],

❖ Thăm và soi hậu môn

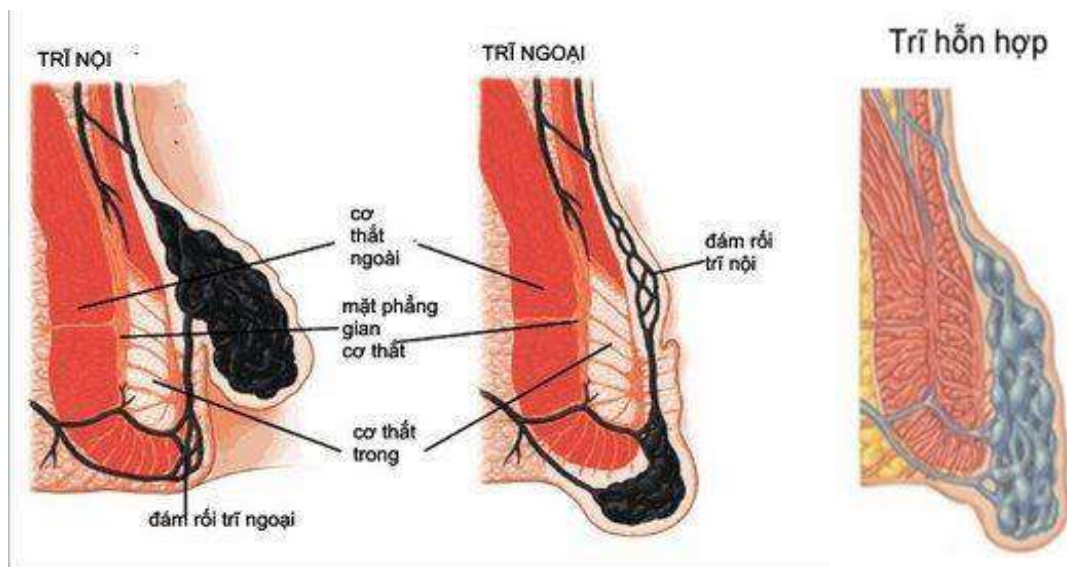
- Thăm khám: nhìn có thể thấy trĩ ngoại (da thừa), sa búi trĩ - niêm mạc hậu môn.
- Thăm trực tràng là động tác bắt buộc với bệnh nhân trĩ.

Soi trực tràng bằng ống cứng để đánh giá tổn thương của bệnh trĩ, qua soi hậu môn trực tràng bằng ống cứng để phân độ trĩ nội và cho phép đánh giá tổn thương khác như nứt kẽ, polyp trực tràng, viêm loét trực tràng và đặc biệt là phát hiện ra ung thư trực tràng về đại thể [17],[5].

1.1.5. Phân loại

Phân loại theo giải phẫu:

Lấy đường lược làm mốc người ta chia ra: Trĩ nội, Trĩ ngoại, Trĩ hỗn hợp [14], [3]



Hình 1.1. Giải phẫu vị trí trĩ

Phân loại theo vị trí:

Đánh số theo mặt kính đồng hồ ở tư thế phụ khoa, có 3 búi trĩ chính ở vị trí thường gặp là 3 - 8 - 11 giờ. Ngoài ra có thể có một vài búi trĩ phụ ở 5 giờ, 7 giờ, 6 giờ, 12 giờ.[3]

Phân loại theo tiến triển:

Được chia làm 4 độ (đổi với trĩ nội):

- Độ 1: Trĩ cương tụ (chỉ to lên trong lòng ống hậu môn), có hiện tượng chảy máu
- Độ 2: Sa trĩ khi rặn, tụ co lên sau đại tiện
- Độ 3: Sa trĩ khi rặn, không tụ co lên được mà phải dùng tay đẩy lên
- Độ 4: Trĩ sa thường xuyên, kể cả những trường hợp sa trĩ tắc mạch

[10],[14],[3, 11], [5]

1.1.6. Điều trị

1.1.6.1. Xử trí ban đầu

- Không điều trị trĩ triệu chứng, trừ khi có biến chứng
- Nếu có nhiễm trùng, phải điều trị trước khi mổ. [17]

1.1.6.2. Điều trị nội khoa

- Các nguyên tắc vệ sinh ăn uống, lao động, vệ sinh hậu môn thường xuyên (ăn ít gia vị, tránh táo bón...) là rất cần thiết [18].

- Thuốc: dùng toàn thân hay tại chỗ có tác dụng.

- Điều hoà lưu thông tiêu hoá, làm trơn ruột, tránh táo bón tuy nhiên không nên dùng thuốc nhuận tràng kéo dài.

- Giảm đau, chống viêm, chống co thắt, tăng sức bền thành mạch

- Thuốc dùng tại chỗ dạng mỡ hay dạng viên đạn đặt hậu môn như Titanoreine, Suppositoire Midy...

- Thuốc dùng toàn thân đặc biệt tốt cho các đợt kịch phát là những thuốc làm tăng sức bền thành mạch (Daflon, Gincor...)

- Điều trị nội khoa có tác dụng tốt ở giai đoạn đầu (độ 1-2) và rất tốt cho trước và sau phẫu thuật [3],[5]

1.1.6.3. Điều trị bằng thủ thuật

Có rất nhiều phương pháp khác nhau (Tiêm xơ, tia hồng ngoại, đốt điện, đốt nhiệt, laser, liệu pháp lạnh...) với ưu điểm là đơn giản, nhanh, gọn, ít đau, có thể điều trị ngoại trú, rẻ tiền và hiệu quả khá cao. Tuy nhiên các phương pháp này cũng có những nhược điểm: kết quả điều trị triệt căn không bằng phẫu thuật, có một số chống chỉ định.

Điều trị bằng thủ thuật thường áp dụng cho trĩ độ 2 - 3 với các búi riêng rẽ, chống chỉ định cho sa trĩ tắc mạch, viêm hậu môn, trĩ kèm nứt kẽ.[3],[5].

1.1.6.4. Điều trị ngoại khoa

Điều trị ngoại khoa có thể là tạm thời thường trong cấp cứu đối với các tắc mạch trĩ hay điều trị triệt để với bệnh trĩ.

Đối với tắc mạch trĩ động tác chính là rạch búi trĩ để lấy máu tụ có tác dụng giảm đau nhanh chóng cho bệnh nhân.

Chỉ định điều trị ngoại khoa:

- Khi các phương pháp điều trị khác thất bại (nội khoa hay thủ thuật)
- Sa trĩ thường xuyên.
- Sa trĩ tắc mạch.

Phương pháp phẫu thuật:

- Cắt trĩ riêng lẻ từng búi theo Milligan-Morgan được đa số phẫu thuật viên ứng dụng.

- Những thay đổi kỹ thuật của phương pháp Milligan-Morgan như kỹ thuật cắt trĩ dưới niêm mạc của Parks, kỹ thuật cắt trĩ kín của Fergusson nhưng ít được ứng dụng nhiều trong thực tế.

- Phương pháp Whitehead kinh điển là lấy bỏ toàn bộ niêm mạc ống hậu môn cùng với các búi trĩ ngày nay rất ít dùng vì những nhược điểm của nó.

- Cắt trĩ sa bằng máy khâu bấm (stapler): Còn gọi là phẫu thuật Longo, MIPH (Minimally Invasive Hemorrhoid Surgery), PPH (procedure for prolapsed hemorrhoids). [3]

1.2. Bệnh trĩ theo y học cổ truyền

1.2.1. Quan niệm về bệnh trĩ theo Y học cổ truyền

Theo y văn cổ của YHCT, bệnh trĩ được phát hiện trên 2000 năm, qua các thời đại đã có nhiều nhà y học nghiên cứu viết sách hoặc lưu truyền trong dân gian. Trong đó có một số y văn kinh điển như: Nội kinh, Y tông kim giám, Thần nông bản thảo... Đến năm 1400, Trần Thực Công là tác giả cuốn “Ngoại khoa chính tông” đã đúc kết lý luận và kinh nghiệm của người xưa và bản thân mình mới nêu lên phương pháp điều trị toàn diện của

YHCT về bệnh trĩ [19], [20]. Bệnh trĩ theo YHHĐ được YHCT mô tả thuộc phạm vi các chứng “Lòi dom”, “Tiền huyết”, “Thấp nhiệt hạ trú”, “Trung khí hạ hãm”.

Theo Đại y thiên sư Tuệ Tĩnh : “Lòi dom là đầu ruột cùng lòi ra ngoài”[21].

Trong Bách bệnh cơ yếu - Hải Thượng Y tông tâm lĩnh cũng có viết “Mọc mụn ở bên hậu môn sưng đau là bệnh trĩ.”[22].

1.2.2. Nguyên nhân gây bệnh

Trong Hoàng đế nội kinh Tố Vấn Bạch Thoại giải đã ghi chép nguyên nhân sinh ra bệnh trĩ là do “cân mạch hoành giải trường tích thành trĩ”. Ngoài ra phát sinh bệnh trĩ còn do âm dương khí huyết không điều hòa, bên ngoài do lục dâm, bên trong do thất tình gây nên [16],[20].

Trong Nam dược thần hiệu, Đại y Tuệ Tĩnh đã viết về bệnh trĩ như sau: “Sách Nội Kinh có chia làm 5 chứng, tuy tình trạng cùng tên gọi khác nhau nhưng căn bản đều do ham ăn đồ hậu vị cay nóng, hoặc do rượu trà dâm dục, lo nghĩ uất nhiệt tích độc mà sinh ra”. [21],[23]

Theo Hải Thượng Lãn Ông: “Nguyên nhân mắc phải bệnh này, trước do khí táo, sau do thấp nhiệt.” theo đó bệnh trĩ “mắc bệnh do khí táo, thành bệnh do vị thấp”. [22],[24].

Trong Trung Y ngoại khoa học giảng nghĩa tóm tắt có các loại nguyên nhân:

- Nguyên nhân về ăn uống: Ăn quá nóng, no đói thất thường, ăn đồ ăn sống lạnh, uống nhiều rượu, ăn béo ngậy, ăn quá cay.

- Nguyên nhân khởi cư: Đứng lâu, ngồi lâu, vác nặng đi xa, phòng sự quá độ.

- Nguyên nhân khác: Ỉa chảy mạn, táo bón kéo dài, thể chất quá suy yếu, mang thai nhiều lần.[19]

Các nguyên nhân trên có thể làm khí huyết hành lung tung, kinh lạc giao cắt dẫn đến huyết ú, trọc khí hạ trú hậu môn gây nên trĩ.

- Sau mắc các bệnh làm rối loạn chức năng của các tạng phủ như can, tâm, tỳ, thận (can khắc tỳ, can tâm thận âm hư, tâm tỳ hư...) gây khí hư, huyết ú làm trung khí hư hạ hãm sinh ra trĩ.[16],[19]

Trong Trung Quốc truyền thống Y học đề cập đến nguyên nhân gây ra trĩ nội và trĩ ngoại:

- Nguyên nhân gây trĩ nội: Ăn uống không điều độ, đứng ngồi lâu, vác nặng đi xa, mang thai nhiều lần, có thể làm nội sinh tảo nhiệt hạ xuống đại tràng, kinh lạc bị giao cắt tuần hoàn trở ngại uất tích thành trĩ.

- Nguyên nhân gây trĩ ngoại: Thấp nhiệt hạ trú, đi lị nhiều lần hoặc nứt hậu môn độc tà xâm nhập, làm vận hành khí huyết bị trở ngại, kinh mạch bị tắc gây nên; nhiệt làm tổn thương huyết lạc, ứ kết không tan gây nên.[19]

Hiện tượng chảy máu từ búi trĩ có thể do:

- Hạ trĩ thể khí huyết hư, trong đó do Tỳ hư không thống nhiếp huyết làm huyết vọng hành, gây xuất huyết.

- Hạ trĩ thể huyết nhiệt và thấp nhiệt: do nhiệt bức huyết vọng hành, gây xuất huyết.

- Hạ trĩ do sang thương, phân táo kết rặn nhiều gây xuất huyết.[19]

1.2.3. Phân loại trĩ theo Y học cổ truyền

Hải Thượng Lãn Ông chia bệnh trĩ thành 5 loại: mẩu trĩ, tẩn trĩ, khí trĩ, tửu trĩ, huyết trĩ.[24],[22]

Tuệ Tĩnh phân chia trĩ làm 5 loại: Trĩ ngoại, trĩ nội, trĩ, nung sang, trùng trĩ.[21]

❖ Hiện nay đa phần các sách Y học cổ truyền chia trĩ làm 3 thể theo nguyên nhân gây bệnh:

- Trĩ thể thấp nhiệt: trĩ sưng, nóng, đỏ, loét chảy mủ hoặc chảy nước vàng, có thể sốt, táo bón, tiểu tiện vàng, mạch hoạt sắc, lưỡi đỏ rêu lưỡi vàng dày.

- Trĩ thể huyết nhiệt huyết ứ: trĩ nằm trong hậu môn, cảm giác đau tức nặng hậu môn, đại tiện máu tươi, có thể có táo bón, mạch tế sắc, lưỡi có điểm ứ huyết.

- Trĩ thể khí huyết hư: búi trĩ lòi ra ngoài, ra máu kéo dài, người gầy yếu mệt mỏi, hoa mắt chóng mặt, ù tai, hay quên, sắc mặt xanh xao, đoản hơi, mạch trầm tế. [3]

1.2.4. Các phương pháp điều trị trĩ theo Y học cổ truyền

Các phương pháp điều trị theo y học cổ truyền cũng ngày càng được cải tiến và phát triển hoàn thiện hơn. Điều trị trĩ theo YHCT hiện nay có 3 nhóm phương pháp là nội khoa, thủ thuật và kết hợp YHCT và YHHĐ.

❖ Điều trị nội khoa

Trĩ nội thể huyết ú (trĩ có xung huyết) : búi trĩ không sa ra hậu môn, đại tiện ra máu tươi, có thể có táo bón.

Phép điều trị : Lương huyết chỉ huyết, hoạt huyết khứ ú.[6],[14],[25],[26]

Trĩ nội thể thấp nhiệt (trĩ có bội nhiễm hoặc do viêm nhiễm gây nên): búi trĩ sưng đỏ, loét nát, chảy mủ hoặc nước vàng, ngồi khó, có thể sốt, đại tiện táo, nước tiểu vàng.

Phép điều trị: Thanh nhiệt lợi thấp, hoạt huyết chỉ thống. [27]

Trĩ nội thể khí huyết hư: trĩ lâu ngày hoặc do các bệnh lâu ngày, gây nên trĩ sa ra ngoài, ra máu kéo dài, gầy yếu mệt mỏi, hoa mắt ù tai, sắc mặt xanh xao, đoản hơi, mạch trầm tế.

Phép điều trị: Bổ khí huyết, chỉ huyết, thăng đề. [19],[27]

Các bài thuốc cổ phương đã phân nào giải quyết được các triệu chứng lâm sàng của bệnh trĩ. Một số cây thuốc thường được sử dụng trong nhân dân để điều trị trĩ: rau diếp cá, rau sam, hòe hoa...Hiện nay, để tăng tác dụng và hiệu quả điều trị, các tác giả đã nghiên cứu được các thành phần hóa học của các vị thuốc và nhận thấy rằng thực tế việc sử dụng bài thuốc cổ phương gia thêm các vị thuốc đem lại hiệu quả cao hơn.

❖ Điều trị kết hợp y học cổ truyền – y học hiện đại

Hiện nay đã có nhiều nghiên cứu điều trị trĩ kết hợp YHCT và YHHĐ. Việc kết hợp nghiên cứu được tiến hành tại nhiều nơi trên thế giới, nhất là những nước có nền YHCT phát triển như Trung Quốc, Việt Nam...

❖ Phương pháp không dùng thuốc

Chủ yếu dùng cho trĩ nội. Chia các thể :

Trĩ nội thể huyết ứ và thể thấp nhiệt : Châm các huyệt Trường cường, Bách hội, Thử liêu, Tiểu trường du, Đại trường du, Túc tam lý, Tam âm giao, Thừa sơn, Hợp cốc, Thượng cự huyệt.

Trĩ nội thể khí huyết hư: cứu là chủ yếu (Trường cường, Bách hội, Cao hoang, Tỳ du, Quan nguyên, Khí hải).[27],[14],[28]

1.3. Tính an toàn và hiệu lực thuốc y học cổ truyền

YHCT hầu hết sử dụng thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên, dựa trên cơ sở tích lũy kinh nghiệm về nguồn gốc thu hái, chế biến, tác dụng, hiệu quả và các ứng dụng của chúng. Tuy nhiên, cùng với sự phát triển của khoa học kỹ thuật hiện đại, người ta đã chứng minh được rằng, mỗi vị thuốc đều có tác dụng dược lý nhất định, liên quan chặt chẽ tới công dụng của từng vị thuốc, từ đó giúp người thầy thuốc đi đến quyết định phối hợp (phối ngũ) các vị thuốc với nhau để tăng tác dụng hoặc chủ định tác động vào những cơ quan, tạng phủ nhất định trong cơ thể nhằm mục đích điều trị bệnh. [29],[30]

Trong YHCT, việc phối ngũ lập phương là một việc làm cần thiết và quan trọng, bởi có những vị thuốc đơn độc không có độc tính nhưng khi kết hợp với một hay vài vị thuốc khác có thể gây độc. Chính bởi vì vậy, việc nghiên cứu độc tính của các bài thuốc cổ phương, nghiệm phương nhằm chứng minh một cách rõ ràng và chính xác cơ chế tác dụng cũng như chứng minh tính an toàn của thuốc là điều kiện tiên quyết giúp khẳng định hiệu lực của thuốc YHCT.[31]

❖ Các vấn đề cần nghiên cứu đối với thuốc từ dược liệu, thuốc y học cổ truyền

Việt Nam:

- Đánh giá tính xác thực của thuốc (authenticity) với các tiêu chuẩn cảm quan, thực vật, hóa lý và nếu có thể cả tiêu chuẩn sinh học.
- Đánh giá chất lượng thuốc thông qua việc xác định hàm lượng tạp chất, hàm lượng hoạt chất hoặc nhóm hoạt chất của dược liệu.
- Đánh giá hiệu quả của qui trình bào chế cổ truyền.
- Đánh giá độc tính của thuốc.
- Đánh giá tác dụng điều trị.
- Đánh giá tác dụng hỗ trợ điều trị.

- Đánh giá tác dụng có lợi đối với sức khỏe con người.
- Các đánh giá khác tùy theo mục tiêu nghiên cứu.

❖ *Đánh giá độc tính của thuốc y học cổ truyền:*

- Thử nghiệm về độc tính cấp diễn và theo dõi với thời gian 72 giờ.
- Thử nghiệm về độc tính bán trường diễn với thời gian 1 - 3 tháng. Có thể tiến hành thử độc tính trường diễn nếu thấy cần thiết.
- Thử nghiệm về độc tính tại chỗ.
- Thử nghiệm về độc tính đặc biệt: trên sinh sản, biến đổi nhiễm sắc thể, gây ung thư...[32]

1.4. Tổng quan về mô hình thử nghiệm độc tính bán trường diễn

1.4.1. Mục tiêu

Thử độc tính dài ngày 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. Thử độc tính dài ngày 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 (ĐVTN).*
- *Những độc tính có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục nếu có.*

1.4.2. Lựa chọn mô hình thử nghiệm

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).
- Trường hợp mẫu thử thể hiện độc tính cấp cao, liều gây độc gần với liều có tác dụng dược lý, cần thiết thử trên 2 loài động vật (gặm nhấm và không gặm nhấm)[33],[32].

1.4.3. 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 hội nghị quốc tế về hài hòa hóa các thủ tục đăng ký dược phẩm sử dụng cho con người (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.
- 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. [33],[32], [8]

1.4.4. Đường dùng thuốc và liều dùng

Thường dùng cho động vật đường dùng dự kiến dùng cho người. [33]

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, và được quy đổi tương đương theo liều giữa các loài nếu thử trên loài khác nhau. 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 ĐVTN hoặc đến mức thể tích giới hạn cao nhất mà ĐVTN có thể dùng được.[32]

Ở nước ta, thường chỉ dùng một liều tương đương với liều dùng cho người tính theo 1kg cân nặng và dùng thêm một liều gấp 3-4 lần liều tương đương như trên.[33]

1.4.5. Tiến hành

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, trừ khi có chế độ liều đặc biệt.[32],[8]

- Số con vật thử:

- Thỏ: Thường dùng mỗi lô 6 con, đực cái đều dùng, tốt nhất là 3 đực, 3 cái.
- Chuột cống trắng: Thường dùng mỗi lô 10 con, đực cái đều dùng, tốt nhất là 5 đực 5 cái. Có nước quy định 20 con: 10 đực, 10 cái. Nếu trong quá trình thí nghiệm, phải giết chuột xét nghiệm, thì phải tăng lên tùy yêu cầu.[33]

1.4.6. Chỉ tiêu cần đánh giá

❖ Các thời điểm xác định các thông số

- Trước khi bắt đầu thí nghiệm.
- Trong khi dùng thuốc: 1 tuần, 2 tuần, 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng. Nếu thời gian nghiên cứu là một tháng, thì sau nửa tháng, xác định các thông số.
- Ngay sau khi dùng thuốc.
- Sau khi ngừng thuốc một thời gian để theo dõi sự phục hồi. Thường chỉ cần theo dõi sự phục hồi, nếu các con vật có biểu hiện độc, hoặc thay đổi có ý nghĩa một số thông số huyết học hoặc hoá sinh. [33],[32], [8]
- Xét nghiệm đại thể các cơ quan tiến hành lúc:
 - + Ngay khi thấy con vật chết.
 - + Con vật còn hấp hối, nhưng triển vọng sẽ chết.
 - + Sau khi kết thúc thí nghiệm.

Riêng xét nghiệm vi thể, chỉ xét nghiệm 2 – 3 cá thể cho mỗi trường hợp.

❖ Các thông số theo dõi

➤ Biểu hiện chung

- Hành vi: tăng đi lại, giảm đi lại, nằm im, run rẩy, co giật.

- Lòng và các cơ quan: mắt, mũi...
- Cân nặng: tuân theo dõi 1 lần.
- Mức ăn, mức uống.
- Tình hình ỉa, đái.[33]

➤ Các chỉ số huyết học và sinh hóa

- Huyết học: số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, hematocrit, hemoglobin.
- Sinh hóa: ALT, AST, creatinin, protein toàn phần, albumin, glucose huyết, cholesterol, bilirubin.

Có thể xét nghiệm thêm một số chỉ số khác nếu cần như nồng độ kali, natri trong máu, gama glutamyl transpeptidase, các enzym gan khác, chức năng các tuyến... tùy theo khả năng gây độc của mẫu thử.

Đánh giá: Với các giá trị xác định được biểu thị bằng số, lập bảng tóm tắt các kết quả của cả nhóm và tính thống kê giá trị trung bình. So sánh kết quả của nhóm thử so với nhóm chứng theo thống kê, hoặc phương pháp thích hợp với các chi tiết không biểu thị bằng số. [33],[34],[32]

1.5. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và chống viêm mạn của thuốc

1.5.1. Tổng quan

Dựa trên những hiểu biết về nguyên nhân gây viêm, tiến triển của phản ứng viêm, triệu chứng lâm sàng của viêm, người ta tạo ra các mô hình viêm thực nghiệm dùng để nghiên cứu tác dụng chống viêm của thuốc. Các mô hình này có thể chia thành 3 loại:

- Mô hình gây viêm cấp và bán cấp
- Mô hình gây viêm mạn tính
- Mô hình nghiên cứu cơ chế chống viêm

1.5.2. Mô hình nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp của thuốc

Viêm có thể do nhiều nguyên nhân gây ra như nhiễm khuẩn, thiếu máu cục bộ, tương tác kháng nguyên - kháng thể, tổn thương do hóa chất, nhiệt độ, cơ học. Tuy nhiên, dù do nguyên nhân nào thì ở pha cấp tính của phản ứng viêm cũng xuất hiện 4 triệu chứng điển hình là sưng, nóng, đỏ, đau. Trong thực nghiệm, người ta

dùng các chất hóa học tạo ra các triệu chứng viêm tương tự trên lâm sàng để nghiên cứu tác dụng của thuốc. Thuốc làm giảm được các triệu chứng này được coi là có tác dụng chống viêm cấp. Các mô hình gây viêm cấp trên thực nghiệm bao gồm:

- Mô hình gây phù bàn chân chuột
- Mô hình gây phù tai chuột
- Mô hình gây tăng tính thấm thành mạch
- Mô hình gây viêm màng phổi
- Mô hình gây ban đỏ
- Mô hình tạo túi u hạt [35]

Trong các phương pháp thì gây phù (sung) là phương pháp hay được sử dụng nhất.

1.5.2.1. Mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin

Tác dụng chống viêm cấp được đánh giá trên mô hình gây phù chân chuột công trắng bằng Carrageenin, theo phương pháp của Winter và CS, 1962.[36]

❖ Tiến hành [37]

Sử dụng chuột công cả 2 giống, trọng lượng khoảng 100-150g. chia ngẫu nhiên thành các lô:

- Lô chứng: dùng dung môi pha thuốc
- Lô đối chiếu: dùng thuốc chống viêm đã biết
- Lô thử: dùng thuốc đang nghiên cứu tác dụng chống viêm

Chuột được để đói qua đêm. Cho chuột uống thuốc hoặc dung môi. Sau 30 phút, tiêm 0.05ml dung dịch carrageenin 1% vào gan bàn chân trái sau của chuột. Đo thể tích chân chuột tại các thời điểm: trước khi gây viêm; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, ...và 24 giờ sau khi gây viêm.

❖ Đánh giá

Tỉ lệ % tăng thể tích bàn chân của mỗi chuột biểu thị mức độ viêm cấp được tính theo công thức (1):

$$X\% = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100$$

Trong đó:

X%: tỉ lệ % tăng thể tích chân chuột

Vo: thể tích chân chuột trước khi gây viêm

Vt: thể tích chân chuột sau khi gây viêm t giờ

Sau đó tính trung bình tỉ lệ % độ tăng thể tích chân của các chuột trong mỗi lô.

Tỉ lệ % ức chế phù của lô thử so với lô chứng được tính theo công thức (2):

$$Y\% = \frac{M_c - M_t}{M_c} \times 100$$

Trong đó:

Y% là tỷ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột;

M_c là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột lô đối chứng

M_t là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng thuốc nghiên cứu.

1.5.2.2. Các mô hình tương tự

Tương tự với cách tiến hành và cách đánh giá như mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenin, nhiều nhà nghiên cứu đã cải sử dụng các chất gây viêm khác như: hỗn dịch *kaolin* 5%; dung dịch lòng trắng trứng 1%; *formalin* 1% (Turner 1965); *dextran* 1% đến 3% (Turner 1965); *dextran* 6% (Winter, 1963); dung dịch *carrageenin* 1% thêm 100 ng *PGE2* hoặc *PGI2*, hỗn dịch bột men bia 2,5%; 0,1 ml dung dịch *trypsin* 0,1%: dung dịch *collagenase*; dung dịch *serotonin* 0,02%; *bradykinin* 0,005%; *prostaglandin* E2 0,1 mg/ml; gel *bentonite*, 0,1 ml *Nystatin* 15000 đơn vị; *adriamycin* 0,5% (gây phù chân chuột nhất).[37]

1.5.3. Mô hình nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn của thuốc

1.5.3.1. Mô hình gây u hạt thực nghiệm

Nguyên tắc: Khi đưa vào cơ thể một vật lạ không có khả năng hấp thu được như amiang, bông...thì cơ thể sẽ phản ứng bằng cách tập trung nhiều loại tế bào tạo ra mô bào lưới và nguyên bào sợi bao quanh vật lạ, tạo thành một khối u gọi là u hạt thực nghiệm. Quá trình tiến triển tạo u hạt thực nghiệm tương tự với tiến triển của một viêm mạn tính. Một thuốc có khả năng ức chế sự hình thành u hạt sẽ góp phần điều trị các bệnh viêm mạn tính. Với các chất kích thích khác nhau ta có các mô hình gây u hạt thực nghiệm khác nhau. [35]

❖ Mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng amiang

- **Tiến hành**[38, 39],[40],[41]

Sử dụng chuột cống trắng cả 2 giống, trọng lượng 100-140g. chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô:

- Lô chứng: dùng nước muối sinh lý
- Lô đối chứng: dùng thuốc chống viêm đã biết
- Lô thử: dùng thuốc đang nghiên cứu tác dụng chống viêm.

Dùng 1 mẫu sợi amiang đường kính khoảng 2mm. trọng lượng 30 ± 1 mg được vê tròn và sấy tiệt khuẩn trong 2 giờ ở 160°C . Chuột được gây mê, cạo sạch lông vùng lưng phía trên. Dùng mũi kéo bấm một lỗ nhỏ ở da rồi luồn mũi kéo vào để tách da lưng ra khỏi cơ. Cấy sợi amiang vào nơi đã bóc tách. Đặt kẹp hoặc khâu nối liền chỗ mổ trên lưng. Phẫu thuật tiến hành trong điều kiện vô khuẩn.

Cho chuột uống hoặc tiêm dưới da thuốc hoặc nước muối sinh lý vào mỗi buổi sáng trong 5 ngày liên lục, lần đầu cho thuốc ngay sau khi cấy sợi amiang. Chiều ngày thứ 5 kể từ ngày cấy amiang. giết chuột bằng cloroform. Bóc tách khối u và cân tươi ngay.

- **Đánh giá**

Tính trọng lượng thực của u hạt bằng trọng lượng cân được trừ đi trọng lượng của sợi amiang cấy vào. Tính trọng lượng trung bình của u hạt ở các lô. Tính tỉ lệ % ức chế u hạt của lô thử so với lô chứng.

- ❖ **Một số mô hình gây u hạt thực nghiệm khác**

Với cách tiến hành và đánh giá tương tự mô hình trên, các nhà nghiên cứu đã đề xuất, cải tiến thêm nhiều mô hình gây u hạt thực nghiệm khác như gây áp xe bằng tinh dầu thông (Levy, 1968); gây u hạt bằng mảnh kính (Vogel, 1970); gây u hạt bằng bột biển (Saxena, 1960); gây u hạt bằng carragenin trên chuột lang (Robertson và Schwartz, 1953), trên thỏ (McCandless, 1960), chuột cống (Prodi và Romeo, 1967); gây u hạt bằng polyvinylclorua (Rudas, 1960) ...[37], [35]

1.6. Giới thiệu về chế phẩm viên nang cứng “Viên trĩ HV”

1.6.1. Thành phần viên nang cứng “Viên trĩ HV”

Mỗi viên nang cứng 500mg có chứa cao khô được chiết suất từ 7.7g dược liệu khô, gồm các thành phần:

Tên dược liệu	Tên khoa học	Liều lượng
Tạo giác thích (Đốt tồn tính)	<i>(Spina Gleditsiae australis)</i>	1.0g
Phòng phong	<i>(Radix Saposhnikoviae divaricatae)</i>	0.8g
Hòe hoa (Sao đen)	<i>(Flos Sophorae japonicae)</i>	1.0g
Xà sàng tử	<i>(Fructus Cnidii)</i>	0.6g
Chỉ xác	<i>(Fructus Citri aurantii)</i>	0.8g
Bạch tật lê (Sao đen)	<i>(Fructus Tribuli)</i>	0.8g
Khương hoạt	<i>(Rhizoma et Radix Notopterygii)</i>	0.6g
Ngũ bội tử	<i>(Galla chinensis)</i>	0.6g
Trắc bách diệp (Sao đen)	<i>(Cacumen Platycladi)</i>	1.0g
Đại hoàng	<i>(Rhizoma Rhei)</i>	0.5g

Tá dược vừa đủ 500mg/1 viên

Các dược liệu được dùng dưới dạng dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [42].

Từ các dược liệu khô của bài thuốc Viên trĩ HV, tiến hành nghiên cứu chiết xuất và bào chế thành viên nang cứng, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và kiểm định tiêu chuẩn cho viên nang cứng Viên trĩ HV.

1.6.2. Phân tích bài thuốc

Trong những năm gần đây xu hướng trên thế giới cũng như ở Việt Nam đang tìm kiếm các thuốc có nguồn gốc thảo dược để điều trị bệnh. Hơn nữa thuốc đông y thường ít có tác dụng không mong muốn, có thể điều trị kéo dài.[43]

Chế phẩm viên nang cứng “Viên trĩ HV” dựa trên bài thuốc nghiệm phương của PGS.TS. Đậu Xuân Cảnh có nguồn gốc từ bài “Tạo giác thích hoàn” (Chứng trị chuẩn thẳng), bài này còn gọi là Tạo thích hoàn (Trung y học đại từ điển) [44]. Bài thuốc đã được xây dựng từ nhiều năm kinh nghiệm lâm sàng điều trị với mục đích tiêu viêm, cầm máu đặc biệt đã cho kết quả rất tốt điều trị các chứng đi ngoài đau, ngứa, ra máu ra mủ, táo bón, trĩ nội, trĩ ngoại, tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa được đánh giá bằng nghiên cứu khoa học chính xác và cụ thể. Vậy nên, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm nghiên cứu chứng minh tính an toàn và hiệu quả của chế phẩm trên thực nghiệm. Từ đó

có thể tiến tới nghiên cứu lâm sàng và xa hơn có thể đưa chế phẩm vào điều trị rộng rãi.

Bài thuốc này bao gồm các vị thuốc : Tạo giác thích có tác dụng hoạt huyết, tiêu thũng, trừ độc, trừ mủ, sát trùng giúp chống viêm, tiêu sưng. Phòng phong, Hòe hoa, Bạch tật lê giúp khu phong, thanh nhiệt, tiêu viêm. Xà sàng tử, Ngũ bội tử tảo thấp thu liễm làm săn se vết thương, giảm dịch tiết do viêm. Hòe hoa, Trắc bách diệp sao đen có tác dụng lương huyết, chỉ huyết, chống viêm. Khương hoạt phát tán phong thấp, gia vị Đại hoàng nhuận tràng, thanh thấp nhiệt hạ tiêu, chỉ huyết để đại tiện dễ dàng hơn, giúp giảm đau do trĩ hay do các vết rách, nứt trên niêm mạc hậu môn. Qua đó thấy được tác dụng của tổng thể bài thuốc là thanh thấp nhiệt, lương huyết, chỉ huyết.

Viêm nhiễm là một trong những nguyên nhân gây ra bệnh trĩ (tức nguyên nhân gây giãn xoang tĩnh mạch). Nguyên nhân viêm nhiễm trong bệnh trĩ thường xảy ra sau thời gian bị kết lỵ, viêm đại tràng. Viêm làm tổn thương mô dưới niêm mạc, thương tổn đến mạch máu gây đại tiện ra máu và tạo thành búi trĩ lòi ra hậu môn [10]. Vì vậy với công dụng như đã nêu trên, bài thuốc có khả năng trong việc điều trị trĩ nội, trĩ ngoại, các chứng đi ngoài đau, ngứa, ra máu ra mủ.

1.7. Tình hình nghiên cứu trên thế giới và Việt Nam

❖ Một số nghiên cứu ở Việt Nam

- Tạ Văn Sang (2001) dùng kem “Bạch đồng nữ” điều trị cho bệnh nhân sau mổ trĩ đạt kết quả tốt. [45]
- Hà Thị Nga (2004), Hoàng Thị Ngọc (2004) dùng thuốc Bột ngâm trĩ điều trị vết thương cho bệnh nhân sau mổ trĩ với kết quả tốt 87% [46]
- Đỗ Quốc Hương (2005) dùng chè tan TVS kết hợp với thủ thuật thắt trĩ trên bệnh nhân trĩ nội độ II, III cho kết quả tốt. [47]
- Mai An Vân (2019) đánh giá tác dụng điều trị của viên nang cứng từ rau sam (*Portulaca Oleracea* L.), rau dền gai (*Amaranthus Spinosisus* L.) trên bệnh trĩ nội độ II chảy máu cho thấy mức độ đau tức hậu môn, thời gian trung bình hết chảy máu cải thiện tốt [48]

❖ Một số nghiên cứu trên thế giới

Jesmani, Elahe và Ebrahimzadeh Zagami, Samira và Kordi, Masoumeh và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu “*Tác dụng của thuốc mỡ dầu dừa đối với triệu chứng của bệnh trĩ*”. Thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên này được thực hiện trên 60 phụ nữ mang thai được chuyển đến các trung tâm dịch vụ y tế toàn diện ở Mashhad trong năm 2018-2019, thu được kết quả: Điểm trung bình của đau VAS, ngứa và tổng điểm của các triệu chứng bệnh trĩ ở nhóm thuốc mỡ dầu dừa giảm đáng kể so với nhóm đối chứng chỉ nhận được khuyến nghị sửa đổi lối sống dựa trên hướng dẫn quốc gia.[49]

Nhìn chung, kết quả các nghiên cứu cho thấy các thuốc YHCT có tỷ lệ cải thiện triệu chứng bệnh rất tốt. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước chỉ dừng lại ở nghiên cứu tác dụng giảm đau, cầm máu, chưa tập trung vào nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và chống viêm mạn dùng cho các trường hợp trĩ có viêm sung, ra mủ. Mặt khác, các dạng bào chế (thuốc mỡ, kem, bột ngậm, chè tan...) chưa được tối ưu, trong quá trình điều trị còn nhiều bất tiện.

CHƯƠNG 2:

ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu

Các dược liệu trong bài thuốc được dùng dưới dạng dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [42]

Từ các dược liệu khô của bài thuốc Viên trĩ HV, tiến hành nghiên cứu chiết xuất và bào chế thành viên nang cứng, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và kiểm định tiêu chuẩn cho viên nang cứng Viên trĩ HV. Viên nang cứng Viên trĩ HV đạt tiêu chuẩn cơ sở được sử dụng là chế phẩm nghiên cứu để đánh giá tính an toàn (độc tính cấp và độc tính bán trường diễn) trên động vật thực nghiệm. [42]

Viên nang cứng Viên trĩ HV được pha loãng trong nước cất thành các hỗn dịch có nồng độ khác nhau tùy theo mức liều sử dụng cho chuột uống, dùng để đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm.

Viên nang cứng Viên trĩ HV có liều dự kiến sử dụng trên người là 5g/ngày. Tính quân bình một người trưởng thành 50kg thì liều dùng dự kiến trên người sẽ là 0.1 g/kg/ngày. Quy đổi ra liều tương đương trên chuột cống với hệ số quy đổi là 07 sẽ là :

- Liều dự kiến có tác dụng (liều 1) là 0.7g/kg thể trọng chuột /ngày (tương đương với liều lâm sàng).

- Liều cao (Liều 2 - gấp 3 lần liều 1) là $0.7 \times 3 = 2.1$ g/kg thể trọng chuột/ ngày.

Hoặc gấp 2 lần trong nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và chống viêm mạn là $0.7 \times 2 = 1.4$ g/kg thể trọng chuột/ngày.

2.1.2. Động vật nghiên cứu

Chuột cống trắng trưởng thành dòng Wistar, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng trung bình mỗi con $180,0 \pm 20$ g.

Động vật thí nghiệm do Ban chăn nuôi - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

Động vật ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

Số lượng động vật mỗi loại được nêu cụ thể ở phần phương pháp nghiên cứu.



Hình 2.1. Chuột cống trắng chủng Wistar, 160 - 180g

2.1.3. Dụng cụ máy móc

- Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia, model 3000 Evolution, hóa chất của hãng.
- Máy phân tích huyết học Humancout 30TS, hãng Human, Đức, sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm, hóa chất của hãng.
- Máy ly tâm lạnh Microtube (MikRo 22R, Hettich - Đức).
- Cân phân tích Sartorius độ chính xác 0,0001g - Đức.
- Cân kỹ thuật điện tử ACB-Plus độ chính xác 0,01g - Anh.
- Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer, Cat. No 7140, Ugo Basile - Italy).
- Kim cong đầu tù dùng cho chuột uống thuốc, sản xuất tại Nhật Bản.
- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ.
- Tủ sấy - Trung Quốc.
- Đồng hồ bấm giây

- Hạt amiang vô khuẩn ($30 \pm 0,1$ mg) đã tiệt trùng (sấy 120°C trong 1 giờ)
- Một số dụng cụ, thiết bị nghiên cứu khác.



Hình 2.2. Máy xét nghiệm huyết học và sinh hóa sử dụng trong nghiên cứu

2.1.4. Hóa chất, thuốc thử

- Hóa chất xét nghiệm sinh hóa của hãng MEDIA, sản xuất tại Italia.
- Hóa chất xét nghiệm huyết học của hãng Human, Đức.
- Nước muối sinh lý 0,9% chai 500ml (B. Braun, Việt Nam).
- Prednisolon viên nén hàm lượng 5mg (Hà Nội Pharma JSC).
- Diclofenac sodium viên nén 50mg (công ty cổ phần dược phẩm Trung ương 2-Dopharma.JSC).
- Carrageenin của hãng Sigma - Hoa Kỳ và một số hóa chất khác.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm: Học Viện Quân Y
- Thời gian: T8/2020 – T9/2020

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm, có đối chiếu với nhóm chứng.

2.3.1. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của chế phẩm

❖ *Xác định độc tính bán trường diễn:*

Theo quy định của Bộ Y tế Việt Nam [8], hướng dẫn của WHO (Tổ chức Y tế thế giới) [50],[51], và hướng dẫn của OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [52],[51] về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc. Tiến hành nghiên cứu:

Chuột cống trắng, chủng *Wistar* cả 2 giống. Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm 5- 10 ngày trước khi nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng, uống nước tự do.

Chuột cống được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con như sau:

- + Lô chứng: Uống nước cất 10 ml/kg/ngày.
- + Lô trị 1: Uống Viên trị HV liều 0.7g/kg (*liều có tác dụng tương đương trên người, tính theo hệ số 7*).
- + Lô trị 2: Uống liều 2,1g/kg (gấp 3 lần liều lô trị 1).

Chuột được uống nước hoặc Viên trị HV thử trong 28 ngày liên tiếp, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

❖ *Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong quá trình nghiên cứu:*

- Tình trạng chung, thể trọng của chuột.
- Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.

- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số enzym và chất chuyển hoá trong máu: ALT, AST, albumin và cholesterol toàn phần.

- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.

Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 14 ngày và 28 ngày uống thuốc.

- Mô bệnh học: Sau 28 ngày uống thuốc, chuột được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, lách, thận của ít nhất 30% số chuột ở mỗi lô [8],[52].

Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Bộ môn khoa Giải phẫu bệnh - Pháp y, bệnh viện Quân y 103.

2.3.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột công trắng bằng Carrageenin

Tác dụng chống viêm cấp được đánh giá trên mô hình gây phù chân chuột công trắng bằng Carrageenin, theo phương pháp của Winter và CS, 1962. [36]

Chuột công trắng được chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 08 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Diclofenac sodium liều 15mg/kg/ngày.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống chế phẩm liều 0,7g/kg (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (Lô trị 2): Uống chế phẩm liều 1,4g/kg (gấp đôi liều 1).

Chuột được uống thuốc hoặc nước cất 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý, ngay trước khi tiêm) 0,1 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột. Chuột được nhịn đói qua đêm, nước uống tự do.

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer) vào các thời điểm: Trước khi gây viêm (V_0); sau khi gây viêm 2 giờ (V_2), 4 giờ (V_4), 6 giờ (V_6) và 24 giờ (V_{24}).

Mức độ tăng thể tích chân chuột được tính theo công thức:

$$X\% = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

Trong đó:

+ $X\%$ là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột

+ V_0 là thể tích bàn chân chuột ngay sau khi tiêm Carrageenin.

+ V_t là V_2 , V_4 , V_6 và V_{24} (thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau 2, 4, 6 và 24 giờ sau khi tiêm Carrageenin).

Tác dụng ức chế phù được biểu thị bằng % giảm mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô dùng thuốc nghiên cứu so với mức độ tăng của lô chứng sinh lý và được tính theo công thức:

$$Y\% = \frac{M_c - M_t}{M_c} \times 100$$

Trong đó:

Y% là tỷ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột;

M_c là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột lô đối chứng

M_t là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng thuốc nghiên cứu.

2.3.3. Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn theo mô hình gây u hạt trên chuột cống trắng

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Prednisolon liều 5mg/kg/ngày.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống chế phẩm liều 0,7g/kg (liều dự kiến có tác dụng).

+ Lô 4 (Lô trị 2): Uống chế phẩm liều 1,4g/kg (gấp đôi liều 1).

Gây viêm mạn bằng cách cấy hạt amian vô khuẩn ($30 \pm 0,1$ mg) đã tiệt trùng (sấy 120°C trong 1 giờ) vào dưới da lưng hai bên của chuột.

Sau khi cấy u hạt, các chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử liên tục trong 6 ngày. Ngày thứ 7 tiến hành giết chuột bằng cloroform, bóc tách khối u hạt, sấy khô ở nhiệt độ 56°C trong 18 giờ. Cân trọng lượng u hạt sau khi đã được sấy khô. [41],[53].

2.4. Xử lý số liệu

Phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 16.0. Kết quả được biểu diễn dưới dạng Mean \pm SD (Mean: giá trị trung bình từng lô, SD: độ lệch chuẩn). So sánh giá trị trung bình giữa các lô bằng one-way ANOVA, dùng hậu kiểm để so sánh giá trị trung bình của lô thử so với lô chứng. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn

3.1.1. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng của chuột cống trắng khi dùng dài ngày.

a. Tình trạng chung

Chuột cống trắng được theo dõi hàng ngày về tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết. Các chuột ở cả lô chứng và các lô dùng Viên trĩ HV đều hoạt động bình thường. Chuột lông mượt, da niêm mạc bình thường, ăn uống bình thường, phân thành khuôn.

b. Sự thay đổi thể trọng của chuột

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV đối với thể trọng chuột ($n = 10$, $\bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Trọng lượng cơ thể				
Trước thí nghiệm (a)	162,65 ± 4,62	164,32 ± 4,93	163,19 ± 4,26	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	186,48 ± 6,43	188,25 ± 6,38	189,06 ± 6,25	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	204,36 ± 6,37	205,10 ± 7,02	205,28 ± 6,92	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
P trong cùng lô	$P_{b,c-a} < 0,01; p_{c-b} < 0,01$			-

Nhận xét:

- Tại thời điểm ban đầu, thể trọng chuột ở các lô là tương đương ($p > 0,05$).
- So sánh giữa các thời điểm sau so với trước thấy thể trọng chuột của cả ba lô nghiên cứu đều tăng, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- Tại các thời điểm sau 14 ngày, 28 ngày uống thuốc, thể trọng chuột các lô cho uống Viên trĩ HV không có sự khác biệt so với ở lô chứng sinh lý ($p > 0,05$).

Như vậy Viên trĩ HV không ảnh hưởng đến sự phát triển thể trọng của chuột.

3.1.2. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV đối với một số chỉ tiêu huyết học của chuột.

Kết quả được trình bày ở các bảng 3.2, 3.3 và 3.4.

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột ($n = 10, \bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Giữa các lô
Số lượng hồng cầu chuột ($\times 10^{12}/l$)				
Trước thí nghiệm (a)	7,16 \pm 1,02	7,23 \pm 1,65	7,21 \pm 1,23	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	7,19 \pm 1,31	7,15 \pm 0,92	7,17 \pm 1,42	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	7,21 \pm 1,26	7,26 \pm 1,27	7,24 \pm 0,98	$p_{3-1} > 0,05$
Trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột (g/dL)				
Trước thí nghiệm (a)	12,58 \pm 1,42	12,63 \pm 1,19	12,80 \pm 1,45	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	12,74 \pm 1,25	12,55 \pm 1,06	12,69 \pm 1,32	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	12,60 \pm 1,13	12,46 \pm 1,27	12,64 \pm 1,39	$p_{3-1} > 0,05$
Trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy Viên trĩ HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng hồng cầu và hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột.

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên Hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột ($n = 10, \bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Giữa các lô
Hematocrit (%)				
Trước thí nghiệm (a)	31,25 ± 2,39	32,30 ± 2,18	32,18 ± 3,04	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	32,12 ± 5,36	32,46 ± 2,74	32,41 ± 2,90	
Sau 28 ngày (c)	32,20 ± 2,63	31,83 ± 2,65	32,67 ± 3,12	
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Thể tích trung bình hồng cầu (fl)				
Trước thí nghiệm (a)	45,24 ± 2,73	46,02 ± 2,58	46,21 ± 2,47	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	47,05 ± 2,36	44,95 ± 2,36	45,89 ± 2,44	
Sau 28 ngày (c)	45,86 ± 2,24	44,83 ± 2,15	46,02 ± 2,29	
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, Hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, Hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy Viên trĩ HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về Hematocrit và thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột.

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên số lượng bạch cầu và tiểu cầu trong máu chuột ($n = 10$, $\bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	pgiữa các lô
Số lượng bạch cầu (G/l)				
Trước thí nghiệm (a)	6,94 ± 3,42	6,81 ± 2,73	6,89 ± 1,36	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	6,72 ± 3,11	6,95 ± 1,38	6,76 ± 2,27	
Sau 28 ngày (c)	6,81 ± 2,62	6,74 ± 2,81	6,59 ± 2,82	
pt trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Số lượng tiểu cầu (G/l)				
Trước thí nghiệm (a)	481,40 ± 112,63	482,80 ± 95,42	473,40 ± 131,17	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	479,30 ± 126,72	496,30 ± 160,22	513,30 ± 193,45	
Sau 28 ngày (c)	486,10 ± 123,84	490,60 ± 115,18	542,10 ± 145,39	
pt trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy Viên trữ HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu chưa thấy gây ra các thay đổi trên các chỉ tiêu về số lượng bạch cầu và số lượng tiểu cầu trong máu chuột.

3.1.3. Đánh giá mức độ hủy hoại tế bào gan khi dùng Viên trữ HV dài ngày.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.5, bảng 3.6.

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Viên trữ HV đối với hoạt độ AST và ALT ($n = 10$, $\bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Hoạt độ AST (UI/l)				
Trước thí nghiệm (a)	96,42 $\pm 21,06$	98,36 $\pm 14,84$	98,14 $\pm 19,26$	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	95,48 $\pm 21,26$	99,25 $\pm 16,22$	97,34 $\pm 28,21$	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	96,01 $\pm 20,38$	98,49 $\pm 28,28$	99,31 $\pm 17,42$	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Hoạt độ ALT (UI/l)				
Trước thí nghiệm (a)	79,59 $\pm 15,21$	79,21 $\pm 14,64$	75,10 $\pm 16,23$	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	82,29 $\pm 22,53$	76,32 $\pm 17,36$	74,69 $\pm 20,14$	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	83,32 $\pm 19,01$	80,63 $\pm 12,69$	81,06 $\pm 15,25$	$p_{3-1} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hoạt độ các enzym AST và ALT trong máu của chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy Viên trĩ HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hoạt độ các enzym AST và ALT có ý nghĩa thống kê, cho thấy Viên trĩ HV không gây ra hủy hoại tế bào gan trên chuột nghiên cứu.

3.1.4. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng gan khi dùng Viên trĩ HV dài ngày.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu ($n = 10$, $\bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	Đ giữa các lô
Albumin huyết tương (g/l)				
Trước thí nghiệm (a)	22,06 ± 2,84	21,91 ± 2,24	22,12 ± 2,65	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	20,96 ± 2,68	21,54 ± 3,06	21,69 ± 2,28	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	21,18 ± 2,63	21,62 ± 3,16	22,01 ± 4,51	$p_{3-1} > 0,05$
Đ trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-
Bilirubin toàn phần (μmol/L)				
Trước thí nghiệm (a)	52,45 ± 8,39	53,03 ± 7,46	52,36 ± 6,41	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	53,14 ± 9,86	52,97 ± 6,65	53,26 ± 5,84	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	50,62 ± 6,50	51,49 ± 5,98	50,41 ± 6,85	$p_{3-1} > 0,05$
Đ trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy Viên trĩ HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số albumin và bilirubin toàn phần trong máu chuột nghiên cứu.

3.1.5. *Đánh giá ảnh hưởng lên cholesterol toàn phần máu khi dùng Viên trĩ HV dài ngày.*

Kết quả được trình bày ở bảng 3.7.

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên cholesterol toàn phần trong máu ($n = 10, \bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	P giữa các lô
Cholesterol toàn phần (mmol/l)				
Trước thí nghiệm (a)	2,03 ± 0,36	2,01 ± 0,48	1,98 ± 0,26	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	2,05 ± 0,32	1,95 ± 0,41	1,93 ± 0,25	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	2,00 ± 0,29	2,04 ± 0,36	1,95 ± 0,23	$p_{2-1} > 0,05$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$
P trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, các chỉ số Cholesterol toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, các chỉ số Cholesterol toàn phần máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy Viên trĩ HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi các chỉ số Cholesterol toàn phần máu chuột nghiên cứu.

3.1.6. Đánh giá ảnh hưởng lên chức năng thận khi dùng Viên trĩ HV dài ngày.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên hàm lượng creatinin máu chuột ($n = 10$, $\bar{X} \pm SD$)

Thời điểm XN	Lô chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	pgiữa các lô
Creatinin ($\mu\text{mol/l}$)				
Trước thí nghiệm (a)	83,04 \pm 11,49	85,26 \pm 11,95	84,44 \pm 12,98	$p_{2-1} > 0,05$
Sau 14 ngày (b)	88,48 \pm 11,99	83,80 \pm 10,59	84,35 \pm 11,01	$p_{3-2} > 0,05$
Sau 28 ngày (c)	84,66 \pm 11,75	81,99 \pm 12,53	82,01 \pm 12,66	$p_{3-1} > 0,05$
Trong cùng lô	$p_{b,c-a} > 0,05; p_{c-b} > 0,05$			-

Nhận xét:

- So sánh các lô với nhau trong cùng một thời điểm, hàm lượng creatinin máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô giữa các thời điểm thí nghiệm, hàm lượng creatinin máu chuột thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy Viên trĩ HV với các mức liều và thời gian sử dụng trong nghiên cứu không làm thay đổi hàm lượng creatinin trong máu chuột nghiên cứu.

3.1.7. Kết quả mô bệnh học tạng của chuột thí nghiệm

Quan sát đại thể bằng mắt thường và dưới kính lúp có độ phóng đại 25 lần thấy: màu sắc, hình thái của gan, lách và thận ở hai lô dùng Viên trị HV không khác so với chứng.



Ảnh 3.1: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô chứng (chuột 08, lô chứng)



Ảnh 3.2 : Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 1 (chuột 12, lô trị 1)

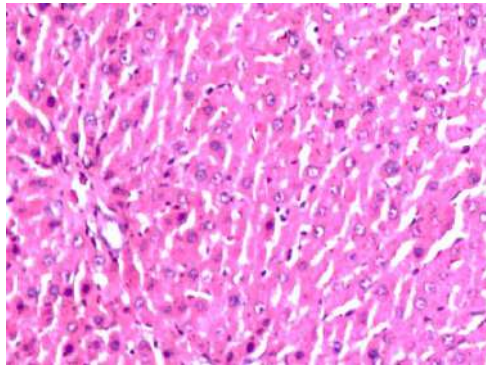


Ảnh 3.3: Hình ảnh đại thể gan, lách, thận chuột lô trị 2 (chuột 24, lô trị 2)

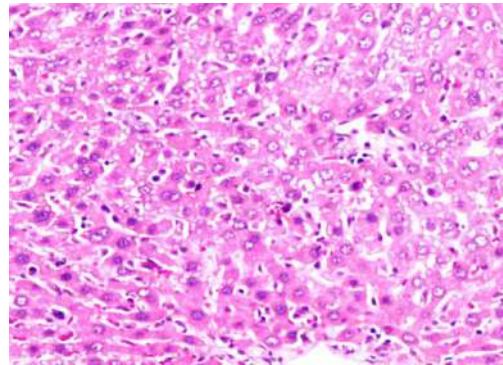
Nhận xét ảnh: Hình ảnh đại thể các tạng gan, lách, thận của chuột ở các lô trị 1 (ảnh 3.2), lô trị 2 (ảnh 3.3), là các lô cho uống Viên trị HV, có màu nâu đỏ thẫm đồng đều, bề mặt nhẵn, không có u cục hoặc xuất huyết, có đàn hồi khi ấn xuống, không khác biệt so với hình ảnh gan, lách, thận của chuột ở lô chứng (ảnh 3.1).

Các tiêu bản mô bệnh học đọc tại Bộ môn khoa Giải phẫu bệnh - Pháp y, bệnh viện Quân y 103. Kết quả nghiên cứu về mô bệnh học gan, lách, thận chuột cho thấy Viên trĩ HV dùng đường uống liên tục trong 28 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận, lách của chuột.

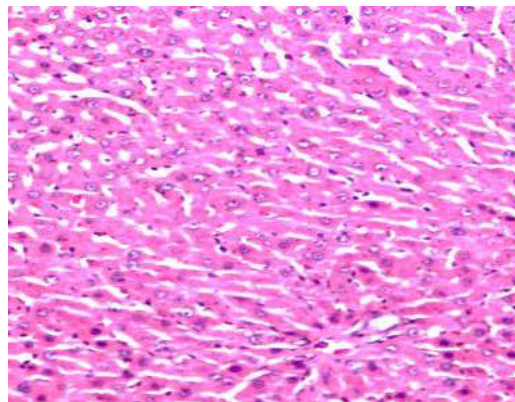
Hình ảnh mô bệnh học gan chuột sau 28 ngày uống thuốc



Ảnh 3.4: Hình ảnh vi thể gan chuột lô chứng (chuột 9, lô chứng). HE, x 400



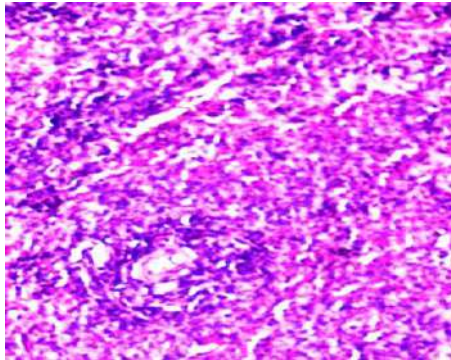
Ảnh 3.5: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột 16, lô trị 1). HE, x 400



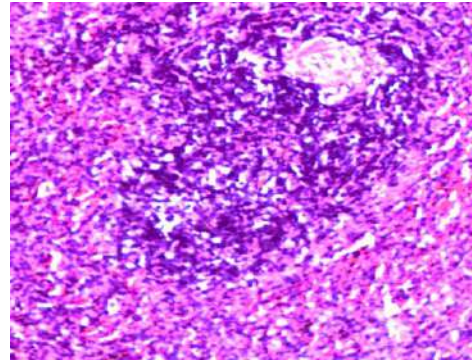
Ảnh 3.6: Hình ảnh vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột 27, lô trị 2). HE, x 400

Nhận xét ảnh: Hình ảnh vi thể gan dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.5) và lô trị 2 (ảnh 3.6), là các lô cho uống Viên trĩ HV, không khác biệt so với hình ảnh vi thể gan chuột ở lô chứng (ảnh 3.4). Trên hình ảnh không thấy ổ xuất huyết hoặc ổ hoại tử, thoái hóa tế bào gan.

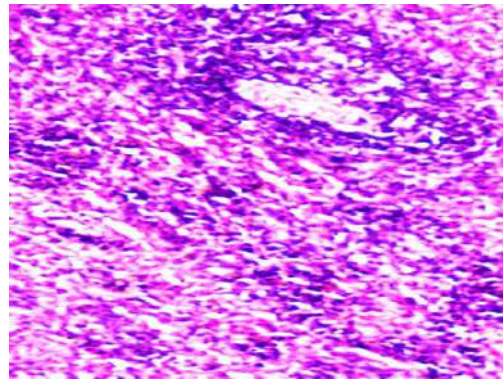
Hình ảnh mô bệnh học lách chuột sau 28 ngày uống thuốc



Ảnh 3.7: Hình ảnh vi thể lách chuột lô chứng (chuột 7, lô chứng). HE, x 400

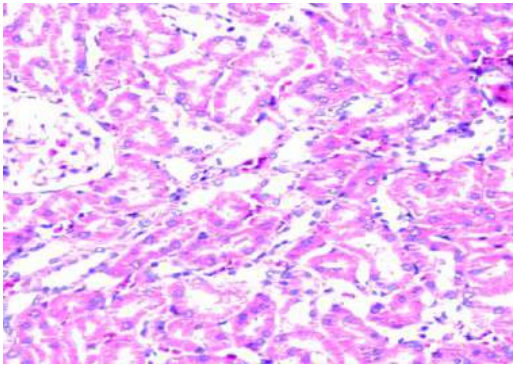


Ảnh 3.8 : Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 1 (chuột 14, lô trị 1). HE, x 400

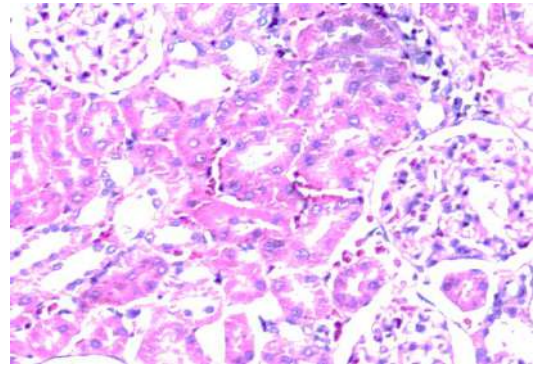


Ảnh 3.9: Hình ảnh vi thể lách chuột lô trị 2 (chuột 21, lô trị 2). HE, x 400

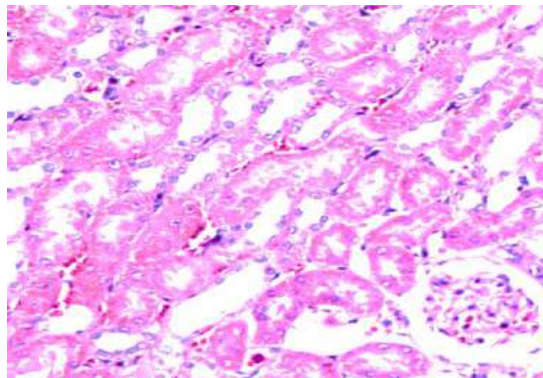
Nhận xét ảnh: Hình ảnh vi thể lách dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.8) và lô trị 2 (ảnh 3.9), là các lô cho uống Viên trĩ HV, không khác biệt so với hình ảnh vi thể lách chuột ở lô chứng (ảnh 3.7). Trên hình ảnh thấy vùng tủy trắng bắt màu xanh đậm, tập trung các nang lympho lớn. Vùng tủy đỏ có màu xanh đỏ, với các xoang nang chứa nhiều hồng cầu và một số đại thực bào. Không thấy ổ xuất huyết hoặc hoại tử.

Hình ảnh mô bệnh học thận chuột sau 28 ngày uống thuốc

Ảnh 3. 10: Hình ảnh vi thể thận chuột lô chứng (chuột 6, lô chứng). HE, x 400



Ảnh 3.11: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột 12, lô trị 1). HE, x 400



Ảnh 3. 12: Hình ảnh vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột 24, lô trị 2). HE, x 400

Nhận xét ảnh: Hình ảnh vi thể thận dưới kính hiển vi với độ khuếch đại 400 lần của chuột ở lô trị 1 (ảnh 3.11) và lô trị 2 (ảnh 3.12), là các lô cho uống Viên trĩ HV, không khác biệt so với hình ảnh vi thể thận chuột ở lô chứng (ảnh 3.10). Cấu trúc các vùng chức năng thận bình thường.

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột cống trắng bằng Carrageenin

Tác dụng chống viêm cấp của Viên trĩ HV được đánh giá trên mô hình gây phù chân chuột cống trắng bằng carragenin. Sau khi tiêm carragenin, tất cả các chuột đều xuất hiện phù bàn chân rõ. Tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau gây viêm phù cấp bằng carrageenin trên chuột cống trắng được trình bày ở bảng 3.9

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của chế phẩm tới tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau gây viêm.

Các lô thí nghiệm	% Tăng thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau gây viêm			
	X2%	X4%	X6%	X24%
Lô chứng (1)	53,95± 5,21	54,28± 5,16	45,94± 7,05	9,02± 5,58
Tham chiếu (Diclofenac) (2)	32,65*± 7,23	33,19**± 7,52	26,86**± 8,01	4,96± 2,18
Trị 1 (3)	33,16*± 6,62	34,05**± 6,13	29,58**± 6,42	5,19± 3,86
Trị 2 (4)	33,09*± 5,48	35,41**± 8,25	28,11**± 7,85	5,03± 3,58

* p < 0,05; **p < 0,01 khi so sánh với lô chứng sinh lý tại cùng thời điểm đo.

Nhận xét:

- Sau khi tiêm carragenin, tất cả các chuột đều xuất hiện phù bàn chân rõ. Ở tất cả các lô, chân chuột phù to nhất tại thời điểm sau gây viêm phù 4 giờ và tại thời điểm sau gây viêm phù 6 giờ đã thấy giảm dần.

- So với lô chứng, tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột của các lô dùng Viên trĩ HV và lô dùng diclofenac giảm rõ. Tại các thời điểm 2 giờ, 4 giờ và 6 giờ sau tiêm carragenin, tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột (ΔV_t) ở các lô các lô dùng Viên trĩ HV (ở cả hai mức liều) và lô tham chiếu diclofenac giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý với p < 0,01. Tại thời điểm 24 giờ sau tiêm carragenin, độ phù chân chuột của các lô thử và lô chứng sinh lý không còn có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, tác dụng gây viêm của carrageenin gần như hết.

- Tác dụng làm giảm độ phù chân chuột của các lô dùng Viên trĩ HV đều tăng khi liều dùng tăng (độ tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng liều cao nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp), tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$ tại tất cả các thời điểm đo).

- So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 15mg/kg, độ tăng thể tích bàn chân chuột ở các lô dùng Viên trĩ HV (ở cả 2 mức liều) không có sự khác biệt có ý nghĩa ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

* Tỷ lệ % ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột của các lô thử thuốc so với lô chứng sinh lý ở các thời điểm sau gây viêm bằng carrageenin trên chuột cống trắng được trình bày ở Bảng 3.10.

Bảng 3.10. Tỷ lệ % ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột.

Thời điểm sau gây phù	Tỷ lệ % ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột (I%)			
	Lô trị 1	Lô trị 2	Lô tham chiếu (diclofenac)	p
Sau 2 giờ	38,36	38,91	40,03	> 0,05
Sau 4 giờ	36,86	35,92	39,24	
Sau 6 giờ	35,89	39,26	41,48	
Sau 24 giờ	43,68	44,53	45,13	
Mean \pm SD	38,65 \pm 3,38	39,66 \pm 3,58	41,47 \pm 2,61	

Nhận xét:

- Tại thời điểm đo sau gây phù viêm, các lô dùng Viên trĩ HV cũng như lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac đều thể hiện tác dụng ức chế phù viêm. Giá trị của tỷ lệ % ức chế phù bàn chân chuột ở các lô dùng Viên trĩ HV và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac không khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn theo mô hình gây u hạt trên chuột cống trắng

Bảng 3.11. Tác dụng giảm trọng lượng u hạt (mg/100g) của viên nang cứng “Viên trĩ HV”

Lô		Trọng lượng trung bình u hạt	Phần trăm giảm cân nặng u hạt so với lô chứng (%)	p
Lô chứng	(1)	34,53 ± 3,62	0 %	-
Lô tham chiếu (Prednisolon)	(2)	27,26 ± 3,59	21,05 %	p-1 < 0,05
Lô trị 1	(3)	28,09 ± 2,54	18,65 %	
Lô trị 2	(4)	27,21 ± 3,20	21,20 %	

Nhận xét:

Cả Diclofenac và Viên trĩ HV ở 2 mức liều đều làm giảm khối lượng u hạt khi so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$). Trọng lượng trung bình u hạt ở lô dùng Viên trĩ HV liều cao dường như giảm hơn so với ở lô dùng liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). So sánh giữa các lô dùng Viên trĩ HV và diclofenac, tác dụng làm giảm khối lượng u hạt ở các lô này khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về tính an toàn của viên nang cứng “Viên trĩ HV”

Dựa trên kết quả thí nghiệm nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nang cứng “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm.

4.1.1. Bàn về nghiên cứu độc tính bán trường diễn

Nghiên cứu độc tính là một bước rất quan trọng trong nghiên cứu phát triển thuốc. Thuốc muốn được sử dụng ngoài hiệu lực thì cần phải an toàn. Xét về tổng thể thì an toàn còn quan trọng hơn hiệu lực, vì một thuốc dù hiệu lực đến đâu, nhưng nếu không an toàn thì cũng không được sử dụng[33]. Theo hướng dẫn của WHO và quy định của Bộ y tế Việt Nam, ngoại trừ các bài thuốc cổ phương được chiết xuất theo phương pháp truyền thống, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu phải đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên động vật trước khi đưa vào thử nghiệm trên người. Ngoài ra, tùy từng loại thuốc bắt buộc phải thử thêm các độc tính khác như độc tính trên sinh sản và phát triển, độc tính sinh miễn dịch... Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ tiến hành đánh giá độc tính bán trường diễn của chế phẩm “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm.

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn là nghiên cứu được thực hiện bằng cách cho động vật thí nghiệm uống thuốc thử hàng ngày liên tục trong một thời gian nhất định. Đối tượng nghiên cứu của độc tính bán trường diễn thường là thỏ hoặc chuột cống trắng hoặc cả hai loài [33]. Trong nghiên cứu này chúng tôi lựa chọn đối tượng nghiên cứu là chuột cống trắng, do loài này dễ nuôi hơn và các chỉ số nghiên cứu cũng tương đối ổn định.

Chế phẩm viên nang cứng “Viên trĩ HV” dựa trên bài thuốc nghiệm phương, vì vậy việc nghiên cứu độc tính bán trường diễn là hoàn toàn cần thiết và là yêu cầu bắt buộc để đảm bảo vấn đề y đức trong nghiên cứu. Theo quy định, thời gian nghiên cứu độc tính bán trường diễn ít nhất bằng 04 lần thời gian sử dụng thuốc trên lâm sàng. Thời gian nghiên cứu độc tính bán trường diễn càng dài so với thời gian nghiên cứu trên lâm sàng thì càng tăng thêm tính chặt chẽ, khoa học trong nghiên cứu. Trong nghiên cứu của chúng tôi, thời gian dùng thuốc dự kiến trên lâm sàng là

7 ngày và chúng tôi đã tiến hành thử độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng trong thời gian 28 ngày. Như vậy, nghiên cứu đã đảm bảo tốt yêu cầu về mặt thời gian về mặt khoa học.

Để tính liều thuốc thử cho ĐVTN, phải xác định liều dùng dự kiến trên người theo kinh nghiệm. Từ đó tiến hành tính liều trung bình trên người theo kg thể trọng trung bình (50kg) theo quy ước chung của Hiệp hội Dược học quốc tế. Trong nghiên cứu này, chế phẩm viên nang cứng “Viên trĩ HV” có liều dùng dự kiến trên người là 5g/người(tương đương 50kg)/ngày. Như vậy, tương ứng với 0,1g/kg thể trọng người/ngày. Theo quy định về quy liều tương đương từ liều dùng trên người đối với liều dùng trên ĐVTN, với chuột cống trắng thì hệ số gấp 7 liều dùng trên người. Quy đổi ra thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột cống (liều 1) là 0,7g/kg (thể trọng chuột) /ngày (tương đương với liều lâm sàng). Liều cao (Liều 2) gấp 3 lần liều 1 là 2.1g/kg thể trọng chuột/ngày. Hoặc gấp 2 lần trong nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp và chống viêm mạn là $0.7 \times 2 = 1.4$ g/kg.

Theo WHO, tình trạng chung, trọng lượng cơ thể và các chỉ số huyết học là những xét nghiệm bắt buộc khi đánh giá độc tính của thuốc thử. Nếu thuốc có độc tính sẽ ảnh hưởng đến tình trạng toàn thân, hình thái và một số cơ quan trong cơ thể như cơ quan tạo máu và chức năng gan, thận.

Tình trạng chung : Tình trạng chung và sự thay đổi thể trọng phản ánh tình trạng sức khỏe của động vật. Trong thời gian thí nghiệm, chuột cống trắng ở cả 3 lô hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Không thấy biểu hiện gì đặc biệt ở cả 3 lô chuột cống trắng trong suốt thời gian nghiên cứu.

Thay đổi thể trọng chuột cống trắng : Kết quả ở bảng 3.1 cho thấy : sau 14 ngày và 28 ngày uống thuốc thử, trọng lượng chuột cống trắng ở cả 3 lô (lô chứng và 2 lô trị) đều tăng so với trước khi nghiên cứu ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về mức độ gia tăng trọng lượng chuột cống trắng giữa lô chứng và các lô dùng Viên trĩ HV ($p > 0,05$).

Như vậy, các chuột cống trắng thí nghiệm đều phát triển tốt, tăng cân do chuột cống trắng đang ở độ tuổi trưởng thành. Kết quả cho thấy thuốc nghiên cứu không làm ảnh hưởng đến tình trạng chung và trọng lượng của chuột cống trắng.

Ảnh hưởng của Viên trĩ HV đến cơ quan tạo máu :

Máu là một tổ chức rất quan trọng vì máu liên quan mật thiết với mọi bộ phận, cơ quan trong cơ thể. Về mặt bệnh lý, máu chịu ảnh hưởng của tất cả các tổ chức đó nhưng đồng thời cũng bị ảnh hưởng và phản ánh tình trạng riêng của cơ quan tạo máu [54].

Theo kết quả nghiên cứu của các bảng 3.2; 3.3; 3.4 cho thấy sau 14 ngày và 28 ngày uống Viên trĩ HV, các chỉ số huyết học của chuột cống trắng ở cả hai lô trị thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc ($p > 0,05$) và so với lô chứng ở cùng thời điểm. Như vậy, Viên trĩ HV không thể hiện độc tính trên cơ quan tạo máu.

Ảnh hưởng của Viên trĩ HV đến chức năng gan :

Trong cơ thể, gan là cơ quan đảm nhận nhiều chức năng rất quan trọng : chức năng chuyển hóa (protid, lipid, glucid) ; chức năng dự trữ (dự trữ máu, dự trữ glucid, dự trữ B12, dự trữ sắt) ; chức năng tạo mật và chức năng chống độc. Để thực hiện các chức năng này là nhờ vào các enzym gan. Các enzym này tham gia vào quá trình chuyển hóa các chất trong cơ thể. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, người ta thường định lượng nồng độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh. Các enzym đó là: AST (aspartate transaminase) và ALT (alanin transaminase). Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan.

Chức năng chuyển hóa lipid của gan thể hiện ở quá trình tổng hợp cholesterol và sản xuất triglyceride. Ngoài ra, gan tổng hợp toàn bộ albumin của huyết tương. Bên cạnh đó, một chức năng quan trọng của gan là chức năng tạo mật. Mật là sản phẩm bài tiết của tế bào gan. Dịch mật gồm có nhiều thành phần, trong đó, có một số thành phần quan trọng như: muối mật, sắc tố mật,

cholesterol... Sắc tố mật (hay còn gọi là bilirubin trực tiếp, bilirubin kết hợp) là một chất hình thành ở gan từ sản phẩm thoái hóa hemoglobin trong cơ thể và sau đó được thải ra theo dịch mật. Vì vậy, xét nghiệm bilirubin trong máu để thăm dò chức năng bài tiết mật của gan.

Kết quả ở các bảng 3.5; 3.7 cho thấy sau 14 ngày và 28 ngày uống Viên trĩ HV, các xét nghiệm đánh giá chức năng gan như AST, ALT, nồng độ bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol trong máu chuột cống trắng ở cả 2 lô (lô uống Viên trĩ HV liều 0.7g và 2.1 g/kg thể trọng/ngày) khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc và so với lô chứng ($p > 0,05$). Như vậy, Viên trĩ HV không làm ảnh hưởng đến chức năng gan.

Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên chức năng thận:

Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Nhu mô thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh. Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận. Đánh giá chức năng thận sau khi dùng thuốc, thường dùng xét nghiệm định lượng creatinin máu. Creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận. Creatinin máu là chỉ tiêu tin cậy nên hiện nay dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận [54].

Theo kết quả của bảng 3.6; sau 14 ngày và 28 ngày uống Viên trĩ HV, ở cả lô trị 1 (uống Viên trĩ HV liều 0.7 g/kg thể trọng/ngày) và lô trị 2 (uống Viên trĩ HV liều 2.1 g/kg thể trọng/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột cống trắng thay đổi không có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống thuốc và so với lô chứng ($p > 0,05$). Như vậy, Viên trĩ HV không làm ảnh hưởng đến chức năng thận.

Ảnh hưởng của Viên trĩ HV lên cấu trúc đại thể và vi thể gan thận :

Giải phẫu đại thể và vi thể gan thận là chỉ số bắt buộc khi đánh giá độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn của WHO. Hơn nữa xét nghiệm vi thể là tiêu chuẩn vàng để đánh giá tổn thương 2 cơ quan chính chịu trách nhiệm chuyển hóa và thải trừ thuốc.

Đại thể : Trên tất cả các chuột cống trắng thực nghiệm (cả lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hoá của chuột cống trắng.

Vi thể : Các hình ảnh vi thể trong các ảnh của gan chuột cống trắng ở lô chứng và các lô trị cho thấy ở lô chứng và lô trị 1 hình ảnh gan bình thường, có một số vị trí bị thoái hóa nhẹ ; lô trị 2 (uống Viên trĩ HV liều gấp 3 lần liều lâm sàng) có hình ảnh gan bình thường. Các ảnh cho thấy hình ảnh vi thể thận trong tất cả các lô đều bình thường.

Như vậy với liều tương đương liều dùng trên lâm sàng và liều gấp 3 liều dùng trên lâm sàng, Viên trĩ HV không làm tổn thương hình ảnh vi thể gan thận chuột cống trắng sau 28 ngày uống thuốc.

Trên thế giới có một số nghiên cứu về độc tính của Xà sàng tử. Xà sàng tử với tổng số 429 thành phần hóa học đã được làm sáng tỏ và được phân loại thành coumarin, các thành phần dễ bay hơi, các hợp chất hòa tan trong liposit, cromon, glucosit monoterenoid, terpenoid, glycosid, glucid và các hợp chất khác. Trong đó, các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào Osthole và một số hợp chất khác. Đối với độc tính, các nghiên cứu hiện tại chủ yếu tập trung vào osthole. Trong một nghiên cứu, liều lượng gây chết trung bình (LD50) được đo là 17,45g/kg [55]. Ngược lại, số LD50 trong một nghiên cứu khác lại thấp tới 3,45mg/kg [56]. Mặc dù các phát hiện đã đưa ra nhiều lo ngại liên quan đến độc tính nội tạng và các tác dụng phụ khác. Liều lượng gây ra vẫn còn gây tranh cãi do sự chênh lệch dữ liệu đáng kể của nó[57]. Tuy nhiên, theo ghi chép trong Dược điển Trung Quốc (ấn bản 2015), Xà sàng tử có một mức độ độc tính hạn chế. Các tác dụng phụ nhỏ đã được báo cáo sau khi sử dụng, bao gồm đắng miệng, buồn ngủ và khó chịu ở dạ dày. Phần lớn độc tính của xà sàng tử là thoáng qua và có thể hồi phục [58].

Ngoài xà sàng tử, chúng tôi chưa tìm thấy báo cáo nào về độc tính của các vị dược liệu khác có trong thành phần Viên trĩ HV, tham khảo trong một số tài liệu như “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam” của Đỗ Tất Lợi (2015) không thấy đề cập tới những độc tính nghiêm trọng của các vị dược liệu này [59]. Điều này là phù hợp với kết quả đánh giá độc tính của chúng tôi.

Tổng kết lại, kết quả nghiên cứu cho thấy Viên trĩ HV không gây ảnh hưởng đến tình trạng chung, thể trọng, cũng như chức năng tạo máu, cấu trúc và chức năng gan và thận của chuột. Như vậy, Viên trĩ HV không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng theo đường uống trong 28 ngày liên tục với cả 2 mức liều nghiên cứu.

4.2. Bàn luận về tác dụng chống viêm cấp và tác dụng chống viêm mạn của viên nang cứng “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm

Viêm là phản ứng sinh lý phức tạp của cơ thể, có vô số các yếu tố có thể gây viêm, và bất cứ cơ quan nào cũng có thể bị viêm. Y học biết tới viêm rất sớm, khái niệm về viêm có từ trước Công nguyên và thay đổi theo sự tiến bộ của y học. Chung nhất, có thể nói viêm là phản ứng mang tính bảo vệ của cơ thể, biểu hiện bằng sự thực bào có tác dụng loại trừ tác nhân gây viêm hoặc tăng sinh tế bào sửa chữa tổn thương,... Khi động vật tiến hóa đến sự xuất hiện hệ tuần hoàn kín thì viêm bao giờ cũng kèm theo sự thay đổi vận mạch, với sự tham gia của hệ thần kinh, nhằm đưa tế bào thực bào (có mặt trong lòng mạch) tập trung vào vị trí viêm (ở ngoài lòng mạch). Như vậy, viêm vừa là một phản ứng bảo vệ cơ thể chống lại yếu tố gây bệnh, vừa là phản ứng bệnh lý vì quá trình viêm gây ra tổn thương, hoại tử, rối loạn chức năng cơ quan,... ở nhiều mức độ, có thể rất nặng nề, nguy hiểm [60]. Vì vậy, việc kiểm soát quá trình viêm là cần thiết.

Theo diễn biến của quá trình viêm, phản ứng viêm được chia làm 2 loại: cấp và mạn.

Cấp, khi thời gian diễn ra ngắn (có thể từ vài phút, hoặc vài ngày), đặc điểm thường có tiết dịch chứa nhiều protein huyết tương và xuất ngoại nhiều bạch cầu đa nhân trung tính.

Mạn, nếu diễn biến vài ngày - hoặc vài tháng (hoặc năm), biểu hiện về mô học là sự xâm nhập của lympho bào và đại thực bào, và mức tổn thương ngang mức sửa chữa (với sự tăng sinh của mạch máu và mô xơ) [60]

Trong nghiên cứu này, tác dụng chống viêm của Viên trĩ HV được đánh giá một cách tương đối đầy đủ trên các mô hình chống viêm cấp (mô hình gây phù chân chuột bằng carragenin), mô hình chống viêm mạn (ức chế sự hình thành u hạt).

4.2.1. Tác dụng chống viêm cấp

❖ *Mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin (mô hình chống viêm cấp)*

Carrageenin là một polysaccharid, mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenin là một mô hình kinh điển để đánh giá tác dụng chống viêm của một hoạt chất hay một dược liệu, được sử dụng rộng rãi trên thế giới nhiều năm nay[61],[36],... Sự sưng tấy do carrageenin gây ra ở chân chuột dựa trên khả năng giải phóng các chất trung gian giống kinin từ cơ chất huyết tương[62]. Kinin là một chất mới được hình thành do rối loạn chuyển hóa và tổn thương mô trong quá trình viêm cấp, bản chất là các protein có khối lượng phân tử nhỏ từ 8-12 acid amin do rối loạn tiêu protein, chúng có tác dụng giãn mạch, gây đau, điển hình là bradykinin[60].

Trong 4 đặc điểm của quá trình viêm cấp (sưng, nóng, đỏ, đau) thì sưng là chỉ tiêu dễ dàng được đánh giá nhất thông qua đo mức độ phù chân chuột. Chúng tôi đã tiến hành tiêm carrageenin 1% vào bàn chân chuột gây phù chân chuột, sau đó đánh giá khả năng ức chế phù của viên nang cứng Viên trĩ HV, từ đó xác định được tác dụng chống viêm cấp.

Trong nghiên cứu này, Tác dụng chống viêm cấp của viên nang cứng Viên trĩ HV được so sánh với Diclofenac liều 15mg/kg thể trọng. Đây là thuốc chống viêm thuộc loại không steroid, có tác dụng chống viêm thông qua các cơ chế:

- Ức chế sinh tổng hợp PG do ức chế cyclooxygenase, làm giảm những chất trung gian hóa học của quá trình viêm.

- Làm vững bền màng lysosom, ngăn cản sự giải phóng enzym phân giải, ức chế quá trình viêm.

Từ kết quả Bảng 3.8; 3.9 cho thấy Diclofenac liều 15mg/kg có tác dụng làm giảm rõ rệt thể tích chân chuột ở các thời điểm 2 giờ, 4 giờ và 6 giờ ($p < 0,05$). Sau 24 giờ, thể tích chân chuột ở lô Diclofenac vẫn giảm hơn so với lô chứng nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, Viên trĩ HV ở liều dùng tương đương với liều dùng trên lâm sàng có tác dụng chống viêm cấp ở thời điểm 6 giờ.

Trên mô hình gây phù chân chuột, Viên trĩ HV làm giảm phù có ý nghĩa thống kê tại tất cả các thời điểm đo, chứng tỏ có tác dụng ức chế đối với nhiều loại chất

trung gian autacoid. Cho thấy Viên trĩ HV liều 0.7 g/kg/ngày và liều 1.4g /kg/ngày có tác dụng ức chế phù bàn chân chuột tương đương nhau và tương đương với lô dùng Diclofenac liều 15mg/kg thể trọng ($p > 0,05$).

Vì vậy, có thể kết luận Viên trĩ HV góp phần làm giảm thể tích phù chân chuột bằng carrageenin.

4.2.2. Tác dụng chống viêm mạn

Hầu hết các đặc điểm của viêm cấp tính tiếp tục diễn ra khi tình trạng viêm trở thành mãn tính, bao gồm sự giãn nở của các mạch máu (giãn mạch), tăng lưu lượng máu, tính thấm của mao mạch và sự di chuyển của bạch cầu trung tính vào mô bị nhiễm trùng qua thành mao mạch (diapedesis). Tuy nhiên, thành phần của bạch cầu sớm thay đổi và các đại thực bào và tế bào lympho bắt đầu thay thế các bạch cầu trung tính tồn tại trong thời gian ngắn. Do đó, dấu hiệu của viêm mãn tính là sự xâm nhập của các tế bào viêm nguyên phát như đại thực bào, tế bào lympho và tế bào plasma trong mô, tạo ra các cytokine gây viêm, các yếu tố tăng trưởng, các enzym và do đó góp phần vào sự tiến triển của tổn thương mô và sửa chữa thứ cấp bao gồm cả xơ hóa và hình thành u hạt, v.v [63],[64],[65],[66]

❖ Mô hình gây u hạt thực nghiệm

Tác dụng chống viêm mạn được thử theo mô hình gây u hạt thực nghiệm trên chuột cống trắng. [51]

Tác dụng chống viêm mạn được nghiên cứu bằng cách cấy amiang vào dưới da gáy chuột. Amiang là một vật lạ không có khả năng tiêu khi đưa vào cơ thể. Khi đó cơ thể sẽ phản ứng viêm bằng cách tập trung nhiều tế bào, tạo ra mô bào lưới, nguyên bào sợi bao quanh vật lạ, tạo nên hình ảnh u hạt của mô hình viêm mạn trên thực nghiệm. Thuốc có tác dụng chống viêm mạn sẽ ức chế sự tạo thành u hạt, làm giảm khối lượng u hạt tạo thành so với nhóm chứng không dùng thuốc. Thông qua việc so sánh trọng lượng u hạt giữa các lô uống thuốc và lô đối chứng, có thể đánh giá được thuốc có tác dụng chống viêm mạn hay không.

Trong nghiên cứu này, để so sánh tác dụng chống viêm mạn, chúng tôi chọn thuốc đối chứng là Prednisolon. Prednisolone chống viêm thông qua các cơ chế: làm giảm số lượng các tế bào lympho, bạch cầu ưa acid, bạch cầu đơn nhân

trong máu ngoại biên và giảm sự di chuyển của chúng vào vùng bị viêm, ức chế chức năng của các tế bào lympho và của các đại thực bào của các mô. Ngoài ra, Prednisolone còn giảm đáp ứng viêm do giảm tổng hợp prostaglandin do ức chế phospholipase A2, tăng nồng độ lipocortin, giảm tính thấm mao mạch.

Kết quả nghiên cứu cho thấy: cả Prednisolon và Viên trĩ HV ở 2 mức liều đều làm giảm khối lượng u hạt khi so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$). Trọng lượng trung bình u hạt ở lô dùng Viên trĩ HV liều 2 dường như giảm hơn so với ở lô dùng liều 1, tuy nhiên sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). So với lô dùng prednisolon, tác dụng làm giảm khối lượng u hạt của các lô dùng Viên trĩ HV khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Như vậy, Viên trĩ HV có tác dụng chống viêm với cả viêm cấp và viêm mạn.

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn và tác dụng chống viêm của Viên trĩ HV trên thực nghiệm, chúng tôi kết luận.

1. Độc tính bán trường diễn

Trên các lô chuột cống trắng cho uống Viên trĩ HV liều 0,7g/kg/ngày (tương đương liều điều trị đã quy đổi từ liều trên người sang liều trên chuột cống trắng), và liều 2,1 g/kg/24h, liên tục trong 28 ngày, cho thấy:

- Tình trạng chung gồm hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, da, niêm mạc, chất tiết của chuột bình thường.

- Không gây ảnh hưởng đến sự phát triển cân nặng của chuột.

- Không làm thay đổi các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, nồng độ huyết sắc tố, Hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu).

- Không làm thay đổi các chỉ tiêu sinh hóa máu bao gồm hoạt độ các enzym AST, ALT, Bilirubin toàn phần, Albumin, Creatinin và Cholesterol toàn phần.

- Không gây tổn thương mô bệnh học gan, lách, thận.

Như vậy Viên trĩ HV an toàn ở các mức liều dùng và thời gian sử dụng trong nghiên cứu thực nghiệm trên chuột cống trắng.

2. Về tác dụng chống viêm của Viên trĩ HV

2.1. Về tác dụng chống viêm cấp

Viên trĩ HV liều 0,7g/kg/ngày (tương đương liều điều trị đã quy đổi từ liều trên người sang liều trên chuột cống trắng), và liều 1,4g/kg/24h thể hiện tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột cống trắng bằng caragenin, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng gây bệnh không dùng thuốc, và tương đương so với Diclofenac sodium liều 15mg/kg/ngày.

2.2. Về tác dụng chống viêm mạn

Viên trĩ HV liều 0,7g/kg/ngày (tương đương liều điều trị đã quy đổi từ liều trên người sang liều trên chuột cống trắng), và liều 1,4g/kg/24h thể hiện tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây viêm mạn ở chuột cống trắng bằng amian, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng gây bệnh không dùng thuốc, và tương đương so với Prednisolon liều 5mg/kg/ngày.

KIẾN NGHỊ

Từ những kết quả của nghiên cứu thu được đưa ra các khuyến nghị tiếp tục nghiên cứu thực nghiệm và tiến hành nghiên cứu lâm sàng để qua đó có thể áp dụng chế phẩm rộng rãi trên lâm sàng an toàn và hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2008). *Quyết định 26/2008/QĐ-BYT về Quy trình kỹ thuật y học cổ truyền*, Hà Nội.
2. Nguyễn Mạnh Nhâm (2002). *Hậu môn học 2*, Hội Hậu môn trực tràng học Việt Nam, 11-18.
3. Hà Văn Quyết (2006). *Bài giảng bệnh học ngoại khoa 2*, 67-71.
4. Mạc Xuân Huy, Nguyễn Vũ Phương, Nguyễn Công Bình và cộng sự (2017). Đánh giá kết quả điều trị phẫu thuật bệnh trĩ theo phương pháp longo tại bệnh viện trường Đại học y khoa Thái Nguyên, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ-Đại học Thái Nguyên*, 165(05), 61-5.
5. Bộ Y tế, Bệnh viện Bạch Mai (2016). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội khoa*, 558-559.
6. Khoa y học cổ truyền - Đại học y Hà Nội (2007). *Ngoại khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y Học, 76-80.
7. World Health Organization (2013). Chiến lược Y học cổ truyền của Tổ chức Y tế Thế giới: 2014-2023 [WHO traditional medicine strategy: 2014-2023].
8. Bộ Y tế (2018). *Quy định về thử thuốc trên lâm sàng*. Thông tư số 29/2018/TT-BYT ngày 29 tháng 10 năm 2018, editor.
9. Bộ Y Tế. Thông tư 05/2015/TT-BYT Ban hành các danh mục thuốc đông y, thuốc từ dược liệu và vị thuốc y học cổ truyền thuộc phạm vi thanh toán của bảo hiểm y tế. 2015.
10. Phạm Song, Nguyễn Hữu Quỳnh (2008). *Bách khoa thư bệnh học 2*, Nhà xuất bản Giáo dục, 121-127.
11. Bộ Y tế (2010). *Bệnh học đại cương*, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 13-135.
12. Lê Quang Nghĩa, Nguyễn Thúy Oanh, Nguyễn Văn Chùng (2002). *Bệnh trĩ*, Nhà xuất bản Y học.
13. Gyu Young Jeong (2019). Hemorrhoids. *Practices of Anorectal Surgery*, Springer. 31-44.

14. Lê Thị Hiền và cộng sự Phạm Văn Trinh (2008). *Bệnh học ngoại - phụ y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y Học.
15. Abdullah Şişik, Fatih Başak, Mustafa Hasbahçeci et al. (2020). Recovery from hemorrhoids and anal fissure without surgery, *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 31(4), 289.
16. Phạm Thị Hân (2016). *Đánh giá tác dụng hướng điều trị trĩ và độc tính của bài thuốc Tottri trên động vật thực nghiệm*, Khóa luận tốt nghiệp dược sĩ, Trường Đại học dược Hà Nội.
17. Trần Vĩnh Hưng và cộng sự (2017). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị năm 2017 1*, Sở y tế TP.Hồ Chí Minh 80.
18. Turgut Bora Cengiz, Emre Gorgun (2019). Hemorrhoids: A range of treatments, *Cleveland Clinic journal of medicine*, 86(9), 612-20.
19. Trần Thị Hồng Phương (2009). *Nghiên cứu tính an toàn và hiệu quả của chè tan bổ trung ích khí gia vị điều trị trĩ nội chảy máu*, Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học y Hà Nội.
20. Khoa Y học cổ truyền- Trường đại học y Hà Nội (2006). *Nội Kinh*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
21. Nguyễn Bá Tĩnh (2007). *Tuệ Tĩnh toàn tập*, Nhà xuất bản Y học, 203-210.
22. Lê Hữu Trác (2005). Bách bệnh cơ yếu. *Hải Thượng Y tông tâm lĩnh*. 1, Nhà xuất bản Y học. 61-3.
23. Tuệ Tĩnh (1993). *Nam dược thần hiệu*, Y học.
24. Lê Hữu Trác (2005). Hành gián trần nhu. *Hải Thượng Y tông tâm lĩnh*. 2, Nhà xuất bản Y học. 193-6.
25. Lương Trần Khuê (2000). *Nghiên cứu tác dụng điều trị của bài thuốc Hoè Hoa Tán trong các đợt trĩ cấp tính*.
26. Lại Đức Trí (2002). *Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc “Chè trĩ số 9” kết hợp với thủ thuật thắt trĩ để điều trị trĩ nội*, Luận văn thạc sĩ y học, Đại học y Hà Nội.
27. Trần Thúy, Phạm Duy Nhạc, Hoàng Bảo Châu (2005). *Bài giảng y học cổ truyền 2*, Nhà xuất bản Y Học, 297-300.

28. Nguyễn Nhược Kim, Trần Quang Đạt (2008). *Châm cứu và các phương pháp chữa bệnh không dùng thuốc*, Nhà xuất bản y học, 79-143.
29. Nguyễn Nhược Kim (2016). *Bệnh học nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
30. Trần Văn Kỳ (2014). *Dược học cổ truyền*, Nhà xuất bản Đồng Nai.
31. Hoàng Anh Tuấn Hoàng Duy Tân (2016). *Phương tế học*, Nhà xuất bản Thuận Hóa.
32. Bộ y tế - Cục khoa học công nghệ và đào tạo (2015). *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*, Hà Nội.
33. Đỗ Trung Đàm (2014). *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
34. Bộ y tế (1996). *Quy chế đánh giá tính an toàn và hiệu lực thuốc cổ truyền*, Hà Nội.
35. Lê Thị Nga (2008). *Tổng quan về các mô hình nghiên cứu tác dụng chống viêm của thuốc*, Khóa luận tốt nghiệp dược sĩ đại học, Trường Đại học dược Hà Nội.
36. Charles A Winter, Edwin A Risley, George W Nuss (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs, *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 111(3), 544-7.
37. Wolfgang H.Vogel, Bernward A. S., Jurgen S. et al. (2002). Drug Discovery and Evaluation, *Springer*, 72-771.
38. L Julou, JC Guyonnet, R Ducrot et al. (1971). Etude des propriétés pharmacologiques d'un nouvel anti-inflammatoire l'acide (benzoyl-3 phenyl)-2 propionique (19583 RP), *J Pharmacol(Paris)*, 2, 259.
39. Mai Lê Hoa, Nguyễn Gia Chấn, Nguyễn Thượng Đông et al. (1998). Nghiên cứu tác dụng chống viêm của cây lão quan di thực ở Việt Nam, *Tạp chí Dược liệu*, 3, 78-81.
40. Đỗ Trung Đàm (1996). Tác dụng chống viêm mạn tính của bài thuốc chữa thấp khớp SASP-5221, *Tạp chí dược học*, 10, 23.

41. Jian-ping Wang, Ya-ming Zhou, Yu-jie Ye et al. (2011). Topical anti-inflammatory and analgesic activity of kirenol isolated from *Siegesbeckia orientalis*, *Journal of ethnopharmacology*, 137(3), 1089-94.
42. Bộ Y Tế (2017). *Dược điển Việt Nam V 2*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
43. Nguyễn Thùy Dương (2014). *Đánh giá tác dụng của viên nang cứng Hồi xuân hoàn trên động vật thực nghiệm*, Luận văn thạc sĩ y học, Học viện y dược học cổ truyền Việt Nam.
44. Hoàng Trọng Quang Tào Duy Cần (2009). *Phương thang Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, 1335-1343.
45. Tạ Văn Sang (2001). *Nghiên cứu tác dụng của kem Bạch đồng nữ lên vết thương sau mổ trĩ*, Luận văn thạc sĩ y học, Đại học y Hà Nội.
46. Hà Thị Nga (2004). *Đánh giá tác dụng của Bột ngâm trĩ áp dụng cho điều trị vết thương sau mổ trĩ*, Luận văn thạc sĩ y học, Đại học Y Hà Nội.
47. Đỗ Quốc Hương (2005). *Đánh giá tác dụng của chè tan TVS kết hợp với thủ thuật cắt trĩ trên bệnh nhân trĩ nội độ II, III* *Đánh giá tác dụng của chè tan TVS kết hợp với thủ thuật cắt trĩ trên bệnh nhân trĩ nội độ II, III*, Luận văn thạc sĩ y học, Đại học Y Hà Nội.
48. Mai An Vân (2019). *Đánh giá tác dụng điều trị của viên nang cứng từ rau sam (Portulaca Oleracea L.), rau dền gai (Amaranthus Spinousus L.) trên bệnh trĩ nội độ II chảy máu*, Luận văn thạc sĩ y học, Đại học y Hà Nội.
49. Elahe Jesmani, Samira Ebrahimzadeh Zagami, Masoumeh Kordi et al. (2020). Effect of Coconut oil ointment on the symptom of Hemorrhoids in pregnant women: Randomized clinical trial, *The Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility*, 22(11), 66-74.
50. Viện dược liệu (2015). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam 2*, Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật, 94-1075.
51. Viện dược liệu (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc thảo dược*, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật, 195-201.
52. Test No OECD (2008). 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section, 4*.

53. Nguyễn Văn Thoan, Trần Thị Thu Hiền, Nguyễn Duy Thuần (2016). Tác dụng chống viêm cấp và mạn của hợp chất ent-7 β -hydroxy-15-oxokaur-16-en-18-yl acetate từ vỏ sâm cho lá, *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, 32(2).
54. Nguyễn Thế Khánh và Phạm Tử Dương (2001). *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học.
55. Zhao J.N. Hua H., Yan L.C., Deng Z.W., Li M. (2012). Toxic effect spectrum and dose-response relationship of Cnidium., *Pharm Clin Chin Mater Med*, 28, 134-7.
56. Xiao G. Li W.N., Lu D., Xie J.X. (2013). LD50 determination of osthole in mice, *J Mod Med Health*, 24, 1444-5.
57. Y. Sun, Yang, A., & Lenon, G. B. (2020). Phytochemistry, Ethnopharmacology, Pharmacokinetics and Toxicology of Cnidium monnieri (L.) Cusson, *International journal of molecular sciences*, 21(3), 1006.
58. Y. M. Li, Jia, M., Li, H. Q., Zhang, N. D., Wen, X., Rahman, K., ... & Qin, L. P. (2015). Cnidium monnieri: a review of traditional uses, phytochemical and ethnopharmacological properties, *The American journal of Chinese medicine*, 43(05), 835-77.
59. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
60. Bộ y tế (2011). *Sinh lý bệnh và miễn dịch*, Nhà xuất bản y học.
61. Nakajima T Tan-no K, Shoji T, Nakagawasai O, Niijima F, Ishikawa M, Endo Y, Sato T, Satoh S, Tadano T (2006). Anti-inflammatory effect of propolis through inhibition of nitric oxide production on carrageenin-induced mouse paw edema *Biol Pharm Bull*, 29, 96-9.
62. L. Sorrentino M. Di Rosa (1968). The mechanism of the inflammatory effect of carrageenin, *European Journal of Pharmacology*, 4(3), 340-2.
63. Ibrahim W Yousuf A, Greening NJ, Brightling CE (2019). T2 Biologics for Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *J Allergy Clin Immunol Pract*, 7(5), 1405-16.

64. Stanton EH Milenkovic VM, Nothdurfter C, Rupprecht R, Wetzel CH. (2019). The Role of Chemokines in the Pathophysiology of Major Depressive Disorder, *Int J Mol Sci*, 20(9).
65. Soldano S Cutolo M, Smith V. (2019). Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights, *Expert Rev Clin Immunol*, 15(7), 753-64.
66. Helmy A Needham EJ, Zanier ER, Jones JL, Coles AJ, Menon DK (2019). The immunological response to traumatic brain injury, *J Neuroimmunol*, 15(332), 112-25.
67. 熊正国, 张长城, 袁丁 (2007). 皂角刺药理作用的研究进展, *山东医药*, 47(20), 112-3.
68. 蒋志平, 彭骞, 何周康 (2008). 皂角刺的现代研究进展, *儿科药理学杂志*, 14(5), 57-9.
69. G Jin, J Li, H Piao (1992). Chemical constituents of *Ledebouriella seseloides* Wolff, *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, 17(1), 38-40, 64.
70. Mohamed IS Abdelhady, Amel M Kamal, Samir M Othman et al. (2015). Total polyphenolic content, antioxidant, cytotoxic, antidiabetic activities, and polyphenolic compounds of *Sophora japonica* grown in Egypt, *Medicinal Chemistry Research*, 24(2), 482-95.
71. Đỗ Huy Bích và cộng sự (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam 1*, 724-727, 972-976.
72. 张春梅, 冯霞, 钟艺 (2006). 蛇床子的药理研究进展, *实用药物与临床*, 9(1), 55-7.
73. 沈丽霞, 任雷鸣 (1999). 蛇床子素对学习记忆的影响及其机制分析, *药学学报*, 34(6), 405-9.
74. Đỗ Huy Bích và cộng sự (2006). *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam 2*, 97-99, 1090-1093.

75. 王如意, 陈光, 喻长远 (2009). 白蒺藜果实的化学成分研究, *北京化工大学学报: 自然科学版*, 36(B11), 79-82.
76. 刘宇, 顾仁樾, 周端 et al. (2001). 白蒺藜有效组分对兔动脉粥样硬化和主动脉壁血小板源性生长因子—A 基因表达影响, *中国中医基础医学杂志*, 7(8), 14-7.
77. Martina Blunder, Xin Liu, Olaf Kunert et al. (2014). Polyacetylenes from Radix et Rhizoma *Notopterygii incisi* with an inhibitory effect on nitric oxide production in vitro, *Planta medica*, 80(05), 415-8.
78. 朱秀丽, 陈强, 唐荣银 et al. (2002). 五倍子对 5 种常见牙周细菌抑制作用的体外研究, *牙体牙髓牙周病学杂志*, 12(5), 255-7.
79. 傅兴圣, 陈菲, 刘训红 et al. (2011). 大黄化学成分与药理作用研究新进展, *中国新药杂志*, 20(16), 1534-8.
80. 陈德昌, 景炳文 (2000). 大黄对危重症患者胃肠道的保护作用, *中国危重病急救医学*, 12(2), 87-90.

PHỤ LỤC 1

Phân tích các vị thuốc trong bài thuốc

❖ Tạo giác thích

- Tên khoa học: *Spina Gleditsiae australis*. Họ: Thuộc họ Vang (Caesalpiniaceae)

- Bộ phận dùng: Gai bò kết

- Thành phần hóa học: Chủ yếu có chứa Saponin triterpenoid bao gồm: gledenin, gledigenin, gleditschia saponin ceryl alcohol, nonacosane, stigmasterol, sitosterol, phenols, flavonoids, amino acids

- Tác dụng dược lý: Chứa các hoạt chất kháng khuẩn và nấm, nước sắc gai bò kết có tác dụng ức chế tụ cầu vàng.[67]

- Tính vị: vị cay, tính ôn, có tiểu độc

- Quy kinh: can, vị

- Công năng: Tiêu thũng, trừ độc, trừ mủ, sát trùng.

- Chủ trị: Mụn nhọt, tuyến vú sưng đau. Các chứng ung, sang độc sơ khởi hoặc chưa vỡ mủ do nhiệt độc; uống trong hoặc đắp ngoài.[68] Các chứng đau nhức khớp xương do đàm thấp

- Liều dùng: 3 - 10g

- Kiên kị: Phụ nữ có thai, âm hư hỏa vượng không dùng [42],[59]

❖ Phòng phong

- Tên khoa học: *Radix Saposhnikoviae divaricatae*. Họ: Hoa tán Apiaceae

- Bộ phận dùng: Rễ phơi sấy khô

- Thành phần hóa học: Manit, phenola với độ chảy 92%, glycozid đắng và các chất đường, chứa 0.05% tinh dầu.[69]

- Tác dụng dược lý: Hạ sốt, giảm đau, kháng khuẩn.

- Tính vị: Vị cay, ngọt, tính ôn.

- Quy kinh: Vào kinh Bàng quang, Can, Phế, Tỳ, Vị.

- Công năng: Giải biểu, trừ phong hàn trừ phong thấp, trừ co thắt.

- Chủ trị: Đau đầu do hàn, mê đay, phong thấp tê đau, uôn ván

- Liều dùng: 5-12g

- Kiêng kỵ: Người âm hư hỏa vượng, không có phong tà không nên dùng. [42],[59]

❖ **Hòe hoa**

- Tên khoa học: *Flos Sophorae japonicae*. Họ: Fabaceae.

- Bộ phận dùng: Hoa chưa nở ở, phơi hay sấy khô của cây Hòe

- Thành phần hóa học: 6- 30% rutin. Rutin là một glucozit, thủy phân sẽ cho quexitin, glucoza, ramnoza; Betulin, Soporradiol, Glucuronic acid sophoricoside, genistin, genistein, kaempferol, baicalein, baicalin, naringinin, narperininininin.

- Tác dụng dược lý: Cầm máu, giảm bớt tính thấm của mao mạch và làm tăng độ bền của thành mao mạch, hạ huyết áp, hạ mỡ máu, chống viêm, chống nhiễm trùng, chống co thắt và chống loét, chống tiêu chảy.[70]

- Tính vị: Vị đắng, tính bình

- Qui kinh: Vào kinh Can, Đại trường.

- Công năng: Thanh nhiệt, lương huyết, chỉ huyết.

- Chủ trị: Chữa xích bạch ly, trĩ ra máu, thổ huyết, chảy máu cam, phụ nữ băng huyết, tăng huyết áp

- Liều dùng: 5 - 20g dạng thuốc sắc

- Kiêng kỵ: Không có thực hỏa, thực nhiệt cấm dùng, kỵ sắt [42],[59], [71]

❖ **Xà sàng tử**

- Tên khoa học: *Fructus Cnidii*. Họ: Hoa tán Apiaceae

- Bộ phận dùng: Quả phơi, sấy khô của cây xà sàng.

- Tính vị: Vị cay đắng, tính bình, hơi có độc

- Qui kinh: Tam tiêu, Thận.

- Thành phần hóa học: Tinh dầu: Với tỷ lệ 1,3% có mùi hắc đặc biệt. Thành phần chủ yếu của tinh dầu là chất L. pinen, camphen và bocnylisovalerianat. Chất ostola tinh thể không màu có công thức C_3H_6O , độ chảy 8295-83°5. Chất dầu màu đen xanh có thành phần chủ yếu là 92,66% axit béo không no, 4,56% axit béo no và 0,38% chất không xà phòng hoá được, 3,27% glyxerin. [42],[59]

- Tác dụng dược lý:[72]

- + Tác dụng kháng khuẩn: Có tác dụng ức chế đối với tụ cầu khuẩn vàng (*Staphylococcus aureus*) nhờn thuốc, trực khuẩn mũ Xanh Code phocyanus), một số loại nấm gây lở ngứa ngoài da (*microsporum*, *epidermophyton*, *trichophyton*), trùng roi;
- + Giảm đau, gây tê cục bộ, cải thiện chức năng não, tăng trí nhớ.[73]
- + Có tác dụng chống rối loạn nhịp tim và hạ huyết áp.
- + Có tác dụng cắt cơn hen (bình suyễn), trừ đờm, giãn phế quản
- + Có tác dụng tăng cường chức năng miễn dịch, chống dị ứng.
- + Xà sàng tử có tác dụng như testosterone.
- Công năng: Ích thận khử phong táo thấp, cường dương.
- Chủ trị: Chữa liệt dương, bộ phận sinh dục âm ngứa, phụ nữ lạnh tử cung, không có con, khí hư, xích bạch đới.
- Liều dùng hàng ngày: 4-12g dưới dạng thuốc sắc uống riêng hoặc phối hợp với các vị thuốc khác. [42],[59],[74]

❖ **Chỉ xác**

- Tên khoa học: *Fructus citri Aurantii*. Họ: Cam Rutaceae.
- Bộ phận dùng: Quả chưa chín đã phơi hay sấy khô của quả cam
- Thành phần chủ yếu: Hesperidin, vỏ quả chứa 4% tinh dầu thành phần chủ yếu là D- citral; Neohesperidin, Naringin. [42],[59]
- Tác dụng dược lý:
 - + Tác dụng cường tim, tăng huyết áp do thành phần chủ yếu là Neohesperidin nhưng không làm tăng nhịp tim. Thuốc có tác dụng co mạch, tăng lực cản của tuần hoàn ngoại vi, tăng co bóp của cơ tim, tăng lượng cGMP của cơ tim và huyết tương nơi chuột nhắt.
- Tính vị: Vị the, chua, đắng, mùi thơm, tính hơi hàn.
- Quy kinh: Tỳ, vị.
- Công dụng và chủ trị: Tiêu tích trệ, hạ khí, thông trường vị, trừ đờm, tiêu thực (sao giòn), cầm máu (sao tồn tính).

Nước sắc chỉ xác đều có tác dụng ức chế cơ trơn ruột cô lập của chuột nhắt, chuột lang và thỏ, là cơ sở dược lý của thuốc dùng để trị chứng dạ dày sa xuống, dạ

dày giã, lòi dom, sa trực tràng... Tác dụng hưng phấn rõ rệt đối với tử cung thỏ có thai hoặc chưa có thai, cô lập hoặc không

- Liều dùng: 4 – 12g.

- Kiên kị: Tỳ, Vị hư hàn mà không có thấp tích. Phụ nữ có thai, gây yêu không dùng [42],[59]

❖ **Bạch tật lê**

- Tên khoa học: *Fructus Tribuli*. Thuộc họ Tật lê

- Bộ phận dùng: Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây tật lê

- Thành phần hoá học: Ancaloit 0,001%, chất béo 3,5%, tinh dầu, rất nhiều natri, phylloerythrin, tannin, flavonozit, nhiều saponin mà trong đó có diosgenin là hoạt chất có tác dụng tăng cường sinh lý. [42],[59],[75]

- Tác dụng dược lý: Tác dụng giảm đau, bảo vệ tim, hạ lipid máu [76]

- Tính vị: Tân, khô, vi ôn

- Quy kinh: Can, Phế

- Công năng: Bình can giải uất, tán phong, thông huyết, trừ thấp, tả phế, sáng mắt, cường dương, giải độc.

- Chủ trị: Chữa đau mắt đỏ, mắt ngứa, nước mắt ra nhiều, nhức đầu, đau mỗi cổ họng, phụ nữ sưng vú, tắc sữa, khí kết hoặc huyết kết trong bụng, phong ngứa. Ngoài ra còn có tác dụng bổ thận, trị đau lưng, tinh dịch không bền (chống xuất tinh), gầy yếu, chảy máu cam, ly, dùng xúc miệng chữa loét miệng.

- Liều dùng: 6 – 9g dạng thuốc sắc[42],[59]

❖ **Khương hoạt**

- Tên khoa học: *Rhizoma et Radix Notopterygii* - Họ: Hoa tán Apiaceae

- Bộ phận dùng: Thân rễ

- Thành phần hoá học: Angelical, Isoimperatorin 0,38%, Cnidilin 0,3470, Notoperol 1,2%, Bergapten 0,009%, Demethylfuropinnarin 0,012%, 5Hydroxy-8 (3', 3'-Dimethylallyl)-Psoralen, Bergaptol 0,088%, Nodakenetin 0,04%, Bergaptol-O-b-D-Glucopyranoside 0,075%, 6'-O-Trans Feruloylnodakenin 0,022%.

- Tác dụng dược lý: Hạ sốt, giảm đau, chống viêm, chống dị ứng, kháng khuẩn, chống loạn nhịp tim.

- Tính vị: Vị ngọt, đắng, tính bình, không độc.
- Quy kinh: Vào kinh Bàng quang, Thận
- Công năng: Tán phong hàn, khu phong thấp, lợi quan tiết, giảm đau.
- Chủ trị: Trị phong thấp đau nhức, cảm phong hàn.[77]
- Liều lượng: 8 – 12g. [42],[59],[74]

❖ Ngũ bội tử

- Tên khoa học: *Galla chinensis*
- Bộ phận dùng: tổ đã phơi hay sấy khô của ấu trùng sâu Ngũ bội tử [*Melaphis chinensis* (Bell.) Baker *Schlechtendalia chinensis* Bell.]. Loài ấu trùng sâu này ký sinh trên cây Muối, tức cây Diêm phu mộc (*Rhus chinensis* Muell.), họ Đào lộn hột (Anacardiaceae).

- Thành phần hoá học chính: Tỷ lệ tanin của ngũ bội tử Việt Nam là 50%, loại tốt lên tới 60 – 70%, có khi tới 80% sau khi đã trừ đi độ ẩm. Tanin ngũ bội tử còn gọi là axit galotanic. Thủy phân axit sẽ cho axit galic. Ngoài tanin ra, trong ngũ bội tử còn có axit galic tự do, 2 – 4% chất béo, nhựa và tinh bột

- Tác dụng dược lý: Săn se niêm mạc, giảm bài tiết dịch, cầm máu, tác dụng gây tê nhẹ. Tanin còn có tác dụng tủa với các chất alcaloid làm giảm sự hấp thụ do đó có tác dụng giải độc.

- Tính vị: Toan, sáp, hãm, bình.
- Qui kinh: Vào các kinh Phế, Đại trường, Thận
- Công năng: Sáp trường chi tả, chỉ huyết, liễm sang, giải độc, liễm phế.
- Chủ trị: Tiêu chảy lâu ngày, lỵ lâu ngày, mồ hôi trộm, tiện huyết, nôn ra máu, trĩ chảy máu, ngoại thương xuất huyết, nhọt độc, sang độc, ngoài da loét do thấp, phế hư ho lâu ngày, phế nhiệt ho có đờm.[78]
- Liều lượng: Mỗi lần 4 - 12g, dạng thuốc sắc hoặc dùng ngoài lượng thích hợp [42],[59]

❖ Trắc bách diệp

- Tên khoa học: *Cacumen Platycladi* (*Biota orientalis* Endl). Họ Trắc bách (Cupressaceae.)

- Bộ phận dùng: Lá của cây trắc bách diệp.

- Thành phần hoá học chính: Thujene, thujone, fenchone, Pinene caryophyllene, aromadendrin, quercetin, myricetin, hinokiglavone, amentoflavone, tannin, vitamin C.

- Tác dụng dược lý:

+ Trên thực nghiệm trên chó và thỏ nước sắc trích bách diệp có tác dụng giống như vitamin K tức là làm tăng thời gian prothrombin trong máu sau khi đã dùng thuốc chống đông, tác dụng co mạch, dịch chiết xuất còn có tác dụng giảm ho, long đờm.

+ Thuốc có tác dụng kháng khuẩn: Ức chế tụ cầu khuẩn vàng, trực khuẩn lỵ, thương hàn, bạch hầu, liên cầu khuẩn B, trực khuẩn lao, Virút cúm 68-1, virút ban phỏng.

+ Chống viêm, chống oxi hóa

- Tính vị: Khô, sáp, hàn

- Quy kinh: Phế, Can, Tỳ

- Công năng: Lương huyết, chỉ huyết, thanh huyết phạm thấp nhiệt, nhuận tràng thông tiện.

- Chủ trị: Nôn ra máu, chảy máu cam, ho ra máu, đại, tiểu tiện ra máu, băng huyết, rong huyết.

- Liều lượng: 6-12g dạng thuốc sắc. [42],[59]

❖ Đại hoàng

- Tên khoa học: *Rhizoma Rhei*. Họ Rau Răm (Polygonaceae)

- Bộ phận dùng: Thân rễ cạo bỏ vỏ phơi, sấy khô

- Thành phần hóa học: Anthraquinone, Rhein, Rheinoside A, B, C, D: Aloe-Emodin, Emodin, Physcion, Chrysophanol, Physcion-8-O-Glucoside, Aloe-Emodin-8-O-Glucoside, Chrysophanol-8-O-Glucoside, Emodin 10Glucoside, Emodin-8-O-Glucoside, Chrysophanol-1-O-Glucoside, Rhein8-O-Glucoside.

- Tác dụng dược lý: Kích thích sự co bóp của ruột. Do các chất reotanoglucozid đại hoàng có tính chất bổ, thêm vào tính chất gây co bóp nhẹ với liều thấp của các antraglicozid. Ngoài ra có tác dụng diệt khuẩn (Staphylococcus, lỵ, thương hàn, tả) [79],[80].

- Tính vị: vị đắng, tính hàn.

- Quy kinh: Tỳ, Vị, Đại trường, Can, Tâm bào.

- Công năng: Thanh trường thông tiện, tả hòa giải độc, trục ú thông kinh.

- Chủ trị: Táo bón do thực nhiệt, đau bụng, hoàng đản, bế kinh, chấn thương tụ máu, chảy máu cam, nhọt độc sưng đau.

- Liều lượng: Nhuận tràng, tẩy, xô: Ngày dùng từ 3 g đến 12 g. Dùng tả hạ không nên sắc lâu. Dùng ngoài: Lượng thích hợp, tán bột trộn dầu để bôi, đắp nơi đau.

Kiên kỵ: Không có uất nhiệt tích đọng thì không nên dùng. Phụ nữ có thai không được dùng. [42],[59], [71]

PHỤ LỤC 2
CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ
VIÊN NANG CỨNG “VIÊN TRĨ HV”

1. YÊU CẦU KỸ THUẬT

1.1. Công thức điều chế cho 1 viên nang cứng:

STT	THÀNH PHẦN	KHỐI LƯỢNG	
1	Hoạt chất: Cao khô hỗn hợp dược liệu	Năm trăm miligam	500mg
2	Tá dược: Silic dioxyd dạng keo khan, magnesi stearat, talc, ethanol 96%, nước tinh khiết.		
3	Nang rỗng số 0 (xanh – xanh)	01 cái	

1.2. Chất lượng nguyên liệu:

STT	THÀNH PHẦN	TIÊU CHUẨN
1	Cao khô hỗn hợp dược liệu	Nhà sản xuất
2	Silic dioxyd dạng keo khan	Nhà sản xuất
3	Magnesi stearat	BP 2018
4	Talc	USP 41
5	Ethanol 96%	ĐDVN V
6	Nước tinh khiết	BP 2018
7	Nang cứng rỗng số 0	Nhà sản xuất

1.3. Chất lượng thành phẩm:

STT	CHỈ TIÊU	MỨC CHẤT LƯỢNG
1	Cảm quan	Viên nang cứng số 0 màu xanh – xanh, bên trong chứa bột thuốc màu nâu, mùi thơm dược liệu
2	Độ đồng đều khối lượng	$\pm 7.5\%$ so với KLTB thuốc trong nang
3	Mất khối lượng do làm khô	$\leq 9,0\%$
4	Độ rã	≤ 30 phút
5	Định tính: - Phòng phong - Hòe hoa - Chi xác - Khương hoạt - Ngũ bội tử	Dương tính Dương tính Dương tính Dương tính Dương tính
6	Giới hạn nhiễm khuẩn: - Tổng số vi sinh vật hiếu khí/ g - Tổng số nấm/ g - Vi khuẩn Gram âm dung nạp mật/ g - <i>Salmonella</i> / 10g - <i>Escherichia coli, staphylococcus aureus</i> / g	≤ 10.000 cfu ≤ 100 cfu ≤ 100 cfu Không được có Không được có

1.4. Đóng gói- bảo quản – hạn dùng:

- Đóng gói: hộp 50 viên nang cứng, kèm toa.
- Bảo quản: nhiệt độ không quá 30°C, tránh ẩm.
- Hạn dùng: 24 tháng kể từ ngày sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP THỬ:

2.1. Cảm quan:

- Kiểm tra cảm quan, chế phẩm phải đạt các tiêu chuẩn đã nêu.

2.2. Độ đồng đều khối lượng: Theo ĐĐVN V, phụ lục 11.3, phương pháp 2

Lấy ngẫu nhiên 20 viên thuốc, xác định lượng thuốc chứa trong từng viên thuốc bằng cách:

Cân 1 viên thuốc (m_1), mở viên thuốc đổ hết thuốc bên trong ra, dùng tấm bông lau sạch thuốc còn dính ở bên trong vỏ nang.

- Cân khối lượng vỏ nang rỗng (m_0).
- Lượng thuốc chứa trong viên thuốc là hiệu của hai khối lượng ($m_1 - m_0$).
- Lặp lại thao tác trên cho 19 viên nang còn lại.
- Tính khối lượng trung bình thuốc trong 20 viên nang.
- Cho phép không có quá 2 viên có khối lượng thuốc vượt quá giới hạn $\pm 7,5\%$ khối lượng trung bình thuốc trong nang và không được có viên nào có khối lượng vượt quá giới hạn $\pm 15\%$ khối lượng trung bình thuốc trong nang.

2.3. Mất khối lượng do làm khô: Theo ĐĐVN V, phụ lục 9.6

Cân chính xác khoảng 1g chế phẩm đã nghiền mịn, tiến hành theo ĐĐVN V, phụ lục 9.6, phương pháp sấy trong tủ sấy tĩnh ở 105°C , áp suất thường đến khối lượng không đổi.

2.4. Độ rã: Theo ĐĐVN V, phụ lục 11.6

- Môi trường: 900ml nước.
- Cho 6 viên vào 6 ống thử của giỏ thử độ rã, thêm vào mỗi ống thử 1 cục đập.
- Đặt giỏ thử vào cốc thủy tinh dung tích 1000ml đã chứa 900ml môi trường thử nêu trên và đã duy trì ở nhiệt độ $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Vận hành máy và quan sát sự rã của các viên. Các viên phải rã trong vòng 30 phút.
- Nếu có 1 viên không đạt, phải thử lại lần thứ 2 trên 6 viên khác và lần này tất cả các viên phải đạt.

2.5. Định tính:

Lấy lượng bột của 50 viên (đã bỏ vỏ nang), nghiền trộn đều dùng cho các phép thử bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng. Điều kiện sắc ký và cách tiến hành tham khảo mục 2.5.1, 2.5.2, 2.5.3, 2.5.4, 2.5.5 tiêu chuẩn cơ sở của viên nang cứng Viên trĩ HV

2.6. Giới hạn nhiễm khuẩn:

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 13.6 (thử giới hạn nhiễm khuẩn), phương pháp đĩa thạch.