

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

BỘ Y TẾ



TRẦN CÔNG LUẬN

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA  
VIÊN NANG CỨNG “TD.NQ” TRÊN  
MÔ HÌNH THOÁI HÓA KHỚP GỐI  
THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO      BỘ Y TẾ  
HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



**TRẦN CÔNG LUẬN**

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA  
VIÊN NANG CỨNG “TD.NQ” TRÊN  
MÔ HÌNH THOÁI HÓA KHỚP GỐI  
THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**Chuyên ngành: Y học cổ truyền**

**Mã số: 8720115**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS BS Trần Thái Hà**

**HÀ NỘI - 2023**

## LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được gửi lời cảm ơn đến Đảng ủy, Ban Giám đốc Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, Phòng đào tạo Sau đại học, các Bộ môn, Khoa phòng của Học viện Y-Dược học cổ truyền Việt Nam, là nơi trực tiếp đào tạo và tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới toàn thể thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên, các em sinh viên đang nghiên cứu khoa học tại bộ môn Dược lý, Đại Học Y Hà Nội đã luôn bên tôi, giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện và nghiên cứu

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Trần Thái Hà, người thầy hướng dẫn trực tiếp luôn theo sát, thường xuyên giúp đỡ, cho tôi nhiều ý kiến quý báu, sát thực trong quá trình học tập và nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và lòng biết ơn sâu sắc tới PGS. TS Phạm Thị Vân Anh, Trưởng bộ môn Dược lý, Đại Học Y Hà Nội, người trực tiếp theo dõi, giúp đỡ và cho tôi nhiều ý kiến quý báu trong quá trình nghiên cứu.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới gia đình, bạn bè đã luôn đồng hành, động viên, chia sẻ với tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Luận văn hoàn thành có nhiều tâm huyết của người viết, song vẫn không thể tránh khỏi sai sót. Xin cảm ơn sự đóng góp chân thành của quý thầy cô, anh chị em bạn bè đồng nghiệp.

Xin trân trọng cảm ơn!

*Tác giả*

***Trần Công Luận***

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Trần Công Luận, học viên cao học khóa 14 Học viện Y-Dược Học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS. Trần Thái Hà.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được 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 hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

*Hà Nội, ngày ..... tháng .... năm 2023*

Tác giả

Trần Công Luận

# MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ.....</b>	<b>1</b>
<b>Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU .....</b>	<b>3</b>
1.1. Đại cương về thoái hóa khớp theo Y học hiện đại .....	3
1.1.1. <i>Khái niệm về thoái hóa khớp .....</i>	<i>3</i>
1.1.2. <i>Các yếu tố nguy cơ của thoái hóa khớp .....</i>	<i>4</i>
1.1.3. <i>Cơ chế bệnh sinh .....</i>	<i>6</i>
1.1.4. <i>Chẩn đoán thoái hóa khớp gối .....</i>	<i>8</i>
1.1.5. <i>Các phương pháp điều trị thoái hóa khớp gối .....</i>	<i>9</i>
1.2. Quan điểm thoái hóa khớp gối theo Y học cổ truyền.....	11
1.2.1. <i>Bệnh danh .....</i>	<i>11</i>
1.2.2. <i>Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh .....</i>	<i>12</i>
1.2.3. <i>Thể lâm sàng .....</i>	<i>14</i>
1.3. Tổng quan về viên nang cứng “TD.NQ” .....	17
1.3.1. <i>Nguồn gốc .....</i>	<i>17</i>
1.3.2. <i>Thành phần .....</i>	<i>18</i>
1.3.3. <i>Tác dụng .....</i>	<i>19</i>
1.3.4. <i>Phân tích bài thuốc theo tác dụng dược lý Y học hiện đại.....</i>	<i>20</i>
1.4. Mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm .....	21
1.4.1. <i>Mô hình sử dụng phẫu thuật gây thoái hóa khớp.....</i>	<i>21</i>
1.4.2. <i>Mô hình sử dụng hóa chất tiêm vào khớp gối .....</i>	<i>21</i>

1.5. Một số nghiên cứu .....	22
1.5.1. Trên thế giới .....	22
1.5.2. Tại Việt Nam .....	23
<b>Chương 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>25</b>
2.1. Chất liệu nghiên cứu .....	25
2.2. Đối tượng nghiên cứu .....	27
2.3. Hóa chất, thuốc, máy móc và thiết bị phục vụ nghiên cứu .....	27
2.4. Phương pháp nghiên cứu .....	28
2.5. Sơ đồ nghiên cứu .....	28
2.6. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	31
2.7. Xử lý số liệu.....	31
2.8. Sai số và khống chế sai số .....	31
2.9. Đạo đức trong nghiên cứu .....	31
<b>Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>33</b>
3.1. Kết quả tác dụng giảm đau của viên nang cứng TD.NQ trên thực nghiệm .....	33
3.1.1. Tác dụng giảm đau của TD.NQ trên mô hình gây đau bằng máy đo ngưỡng đau .....	33
3.1.2. Lực gây đau tại khớp gối.....	37
3.2. Đánh giá tác dụng chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của viên nang cứng TD.NQ trên thực nghiệm .....	39
<b>Chương 4: BÀN LUẬN .....</b>	<b>46</b>

4.1. Tác dụng giảm đau của viên nang cứng TD.NQ trên thực nghiệm ...	47
4.1.1. Tác dụng giảm đau của TD.NQ trên mô hình gây đau bằng máy đo ngưỡng đau .....	48
4.1.2. Lực gây đau tại khớp gối .....	53
4.2. Tác dụng tác dụng chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của viên nang cứng TD.NQ trên thực nghiệm .....	56
4.2.1. Tác dụng chống viêm của TD.NQ .....	56
4.2.2. Tác dụng chống thoái hóa của viên nang cứng TD.NQ .....	63
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>68</b>
<b>KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>69</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
ALT		Alanine aminotransferase
AST		Aspartate transaminase
CS		Chondroitin sulphat
CSC	Cột sống cổ	Cervical spine
CSTL	Cột sống thắt lưng	Lumbar spine
ĐVTN	Động vật thực nghiệm	
HA		Hyaluronic acid
IASP	Hiệp hội quốc tế nghiên cứu về đau	International Association for the Study of Pain
NSAID	Thuốc chống viêm không steroid	Nonsteroidal anti-inflammatory drugs
THK	Thoái hóa khớp	Osteoarthritis
WHO	Tổ chức Y tế thế giới	World Health Organization
YHCT	Y học cổ truyền	
YHHĐ	Y học hiện đại	
IGK	Ích Gối Khang	



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Thành phần viên nang cứng TD.NQ .....	18
Bảng 1.2. Một số nghiên cứu về tác dụng dược lý của các dược liệu trong thành phần viên nang cứng TD.NQ .....	20
Bảng 2.1. Thành phần của viên nang cứng TD.NQ .....	25
Bảng 2.2. Đối tượng nghiên cứu .....	27
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của TD.NQ lên lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau	33
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của TD.NQ lên thời gian phản ứng với đau .....	35
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của TD.NQ lên lực gây đau tại khớp gối .....	37
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của TD.NQ lên đường kính vùng khớp gối chuột cống .	39
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của TD.NQ lên nồng độ Interleukin-1 $\beta$ trong máu chuột cống .....	41
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của TD.NQ lên nồng độ TNF- $\alpha$ trong máu chuột cống .....	42
Bảng 3.7. Bảng điểm tổn thương mô bệnh học khớp gối .....	43

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Yếu tố nguy cơ trong THK .....	4
Hình 1.2. Tổn thương sụn trong thoái hóa khớp .....	7
Hình 3.1. Lô chứng sinh học .....	44
Hình 3.2. Lô mô hình .....	44
Hình 3.3. Lô mô hình .....	44
Hình 3.4. Lô uống diclofenac 3mg/kg (chuột số 19) (HE x 100) .....	45
Hình 3.5. Lô uống diclofenac 3mg/kg (chuột số 22) (HE x 100) .....	45
Hình 3.6. Lô uống TD.NQ 4,266g/kg (chuột số 85) (HE x 100) .....	45
Hình 3.7. Lô uống TD.NQ 4,266g/kg (chuột số 89) (HE x 100) .....	45
Hình 3.8. Lô uống TD.NQ 12,798g/kg (chuột số 72) (HE x 100) .....	45
Hình 3.9. Lô uống TD.NQ 12,798g/kg (chuột số 76) (HE x 100) .....	45

## DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu .....	28
-----------------------------------	----

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Thoái hóa khớp (THK) là một bệnh thường gặp, là một trong những nguyên nhân chính gây đau và khiếm khuyết vận động ở người cao tuổi. Theo Liên Hợp Quốc, đến năm 2050, những người trên 60 tuổi sẽ chiếm hơn 20% dân số thế giới, trong đó ước tính có 15% số người mắc THK và một phần ba số này có thể bị tàn tật, tương đương với khoảng 130 triệu người bị THK và 40 triệu người bị tàn tật [1]. Tỷ lệ mắc thoái hóa khớp gối tại Mỹ ước tính là khoảng 240 người trên 100000 người mỗi năm [2]. Tại Việt Nam, THK chiếm tỷ lệ cao trong các bệnh cơ xương khớp. Một nghiên cứu tại Bệnh viện Quân Y 103 năm 2016 - 2017 cho thấy THK gối chiếm 18,7%, đứng thứ 3 trong các bệnh lý thoái hóa khớp [3], [4]. Bệnh có chi phí điều trị tốn kém, hiệu quả chưa đạt được như mong muốn trong khi có nhiều tai biến nặng nề, tạo gánh nặng cho người bệnh và xã hội. THK gối đóng góp trên 27 tỷ USD hàng năm cho chi phí chăm sóc sức khỏe tại Hoa Kỳ [5]. Ở Việt Nam, mỗi đợt điều trị nội khoa THK khoảng 2 – 4 triệu đồng, chưa kể đến chi phí cho các dịch vụ khác liên quan đến điều trị [6].

Theo Y học hiện đại (YHHĐ), các phương pháp điều trị THK khớp gối bao gồm giáo dục bệnh nhân về cách phòng bệnh, chống các tư thế xấu, giảm các yếu tố nguy cơ, kết hợp điều trị nội khoa, vật lý trị liệu phục hồi chức năng và ngoại khoa [3], [7], [8]. Việc điều trị bằng thuốc giảm đau, chống viêm toàn thân hoặc tiêm trực tiếp vào khớp gối có tác dụng giảm đau, chậm quá trình THK, nhưng cũng có nhiều tác dụng không mong muốn và không điều trị kéo dài được [9], [10], [11]. Điều trị ngoại khoa chỉ được chỉ định trong những trường hợp có biến đổi giải phẫu khớp hoặc ở giai đoạn muộn của bệnh và thường gây tốn kém nhiều chi phí cho bệnh nhân. Việc nghiên cứu ra thuốc mới điều trị THK gối, đặc biệt là thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên, hạn chế tác dụng không mong muốn là rất cần thiết.

Theo Y học cổ truyền (YHCT), THK gỏi với bệnh danh Hạc tất phong thuộc phạm vi chứng Tý. Nguyên nhân do phong, hàn, thấp xâm phạm cùng với chính khí suy giảm mà gây bệnh. Các phương pháp điều trị dùng thuốc và không dùng thuốc đã được chứng minh có hiệu quả ở bệnh nhân chứng Tý [12]. Viên nang cứng “TD.NQ” gồm các vị thuốc: Hoàng bá, Sinh địa, Đào nhân, Bạch thược, Quy bản, Phục linh, Đỗ trọng, Đương quy, Đảng sâm, Phòng phong, Tầm gửi gạo, Tàn giao, Ngưu tất, Trần bì, Xuyên khung, Cam thảo, Độc hoạt, Quế chi, Tế tân, Vò liểu, cao xương, phối hợp với nhau nhằm đạt được tác dụng chính là khu phong, trừ thấp, thanh nhiệt, thông kinh hoạt lạc, bổ can thận. Viên nang cứng “TD.NQ” là chế phẩm thuốc YHCT được sản xuất bởi công ty Cổ phần Sao Thái Dương. Để khẳng định hiệu quả điều trị cũng như cung cấp bằng chứng khoa học về tính an toàn của sản phẩm, chúng tôi tiến hành đề tài **“Nghiên cứu tác dụng của viên nang cứng “TD.NQ” trên mô hình thoái hóa khớp gối thực nghiệm”** với hai mục tiêu sau đây:

1. *Đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang cứng “TD.NQ” trên thực nghiệm.*
2. *Đánh giá tác dụng chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của viên nang cứng “TD.NQ” trên thực nghiệm.*

## Chương 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. Đại cương về thoái hóa khớp theo Y học hiện đại

##### 1.1.1. Khái niệm về thoái hóa khớp

Trước kia, thoái hoá khớp (còn gọi là hư khớp) được coi là bệnh lý của sụn khớp, song ngày nay, bệnh được định nghĩa là tổn thương của toàn bộ khớp, bao gồm tổn thương sụn là chủ yếu, kèm theo tổn thương xương dưới sụn, dây chằng, các cơ cạnh khớp và màng hoạt dịch. Tổn thương diễn biến chậm tại sụn kèm theo các biến đổi hình thái, biểu hiện bởi hiện tượng hẹp khe khớp, tân tạo xương (gai xương) và xơ xương dưới sụn [3].

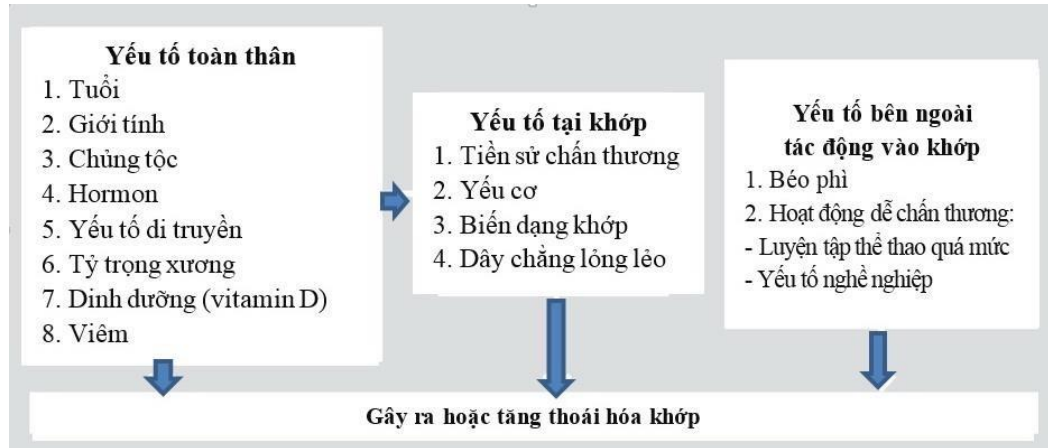
Thuật ngữ “Osteoarthritis” – thoái hóa khớp ra đời năm 1890 bởi AE Garrod. Sự ra đời của tia X vào cuối thế kỷ 19, với sự đóng góp của Kellgren, Moore và Lawrence đã nâng tầm hiểu biết về diễn biến của bệnh cũng như phân biệt được thoái hóa khớp nguyên phát và thoái hóa khớp thứ phát sau một chấn thương khớp [13].

Trước đây tổn thương thoái hóa khớp đặc trưng là sự mất sụn, sau này các nhà khoa học đã làm rõ thoái hóa khớp là tổn thương của cả cấu trúc khớp bao gồm: xương dưới sụn, tế bào sụn, dây chằng, gân và bao khớp (Hình 1.1). Viêm màng hoạt dịch được coi là một yếu tố then chốt trong cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp, biểu hiện các triệu chứng lâm sàng của viêm, tổn thương mô bệnh học trong mô màng hoạt dịch và tổn thương sụn tiếp giáp với màng hoạt dịch. Tổn thương xương dưới sụn cũng đóng một vai trò quan trọng trong thoái hóa khớp, biểu hiện bằng sự tái cấu trúc xương xảy ra chủ yếu trong giai đoạn đầu của thoái hóa khớp. Điều này có khả năng làm cho phần xương dưới sụn giảm khả năng hấp thu và phân tán lực tác động, kết hợp sự gia tăng khối lượng xương làm tăng thêm lực truyền qua khớp, dẫn đến tăng

tổn thương cấu trúc khớp [13].

### 1.1.2. Các yếu tố nguy cơ của thoái hóa khớp

Qua nhiều năm nghiên cứu về bệnh học thoái hóa khớp, các yếu tố nguy cơ góp phần gây ra bệnh dần được xác định một cách hệ thống.



**Hình 1.1. Yếu tố nguy cơ trong THK [14]**

#### *Tuổi*

Tỷ lệ mắc thoái hóa khớp liên quan đến tuổi, đặc biệt rõ rệt ở các khớp thường gặp như CSC, CSTL, đầu gối, háng và bàn tay. Mối liên quan giữa tuổi và nguy cơ thoái hóa khớp thông qua sự gia tăng theo tuổi của các yếu tố nguy cơ toàn thân và cơ - sinh học [15].

#### *Giới tính*

Giới tính nữ làm tăng nguy cơ thoái hóa khớp ở hai bàn tay và đầu gối, hoặc thoái hóa nhiều khớp cùng lúc. Sau 50 tuổi, tỷ lệ mắc bệnh ở nữ cao hơn đáng kể so với nam giới [13], [16].

#### *Chủng tộc*

Tỷ lệ mắc thoái hóa khớp và tỷ lệ khớp bị thoái hóa khác nhau giữa các chủng tộc và sắc tộc [14].

#### *Mãn kinh*

Thoái hóa khớp tăng lên theo tuổi có liên quan mật thiết với thời kỳ mãn kinh, hormon sinh dục đóng vai trò quan trọng trong thoái hóa khớp, đặc biệt

là tình trạng thiếu hụt oestrogen [15]. Oestrogen ảnh hưởng đến chức năng của các tế bào sụn ở nhiều mức độ thông qua tương tác với các yếu tố tăng trưởng tế bào, các phân tử bám dính và các cytokin.

#### *Di truyền*

Sự biến đổi về di truyền cũng ảnh hưởng đến thoái hóa khớp bàn tay, khớp háng và khớp gối ở cả hai giới [13]. Nhiều nghiên cứu cho thấy không chỉ có gen mà cả các yếu tố môi trường có vai trò quan trọng trong quá trình tiến triển của bệnh thoái hóa khớp [15].

#### *Béo phì*

Béo phì là một trong những yếu tố nguy cơ được nhắc đến nhiều nhất với thoái hóa khớp. Béo phì làm tăng tốc độ tiến triển của thoái hóa khớp. Cơ chế chính dẫn đến thoái hóa khớp của béo phì có thể do trọng lượng quá tải nén lên khớp, đặc biệt khi thực hiện các hoạt động chịu lực thường xuyên ở khớp, dẫn đến phá hủy sụn, tổn thương dây chằng và các cấu trúc hỗ trợ khác. Các yếu tố chuyển hóa như adipocytokin, glucose, lipid và tình trạng viêm mạn tính cũng góp mặt trong sinh bệnh học của thoái hóa khớp [13].

#### *Vitamin D và thoái hóa khớp*

Mối liên quan giữa sự thiếu hụt vitamin D và thoái hóa khớp được nhắc đến rất nhiều trong các nghiên cứu và thảo luận, tuy nhiên cho tới nay, mức độ rõ ràng của liên quan này chưa thể khẳng định, do phương pháp luận khác nhau, hạn chế về thiết kế nghiên cứu và giải thích, dữ liệu tổng hợp được đã đưa ra các kết luận mâu thuẫn nhau [17].

#### *Yếu tố cơ học, bệnh nghề nghiệp và chấn thương*

Các chấn thương cấp tính, bao gồm rách dây chằng, gãy xương, trật khớp làm tăng nguy cơ bị thoái hóa khớp thứ phát, hoặc làm bệnh nặng thêm. Ngoài ra, nguy cơ thoái hóa khớp cũng tăng lên khi chơi thể thao thời gian dài, tải trọng liên tục và quá tải do các hoạt động thể chất tạo áp lực lên khớp có thể dẫn đến thoái hóa [13].

### *Bệnh lý*

Nguy cơ mắc thoái hóa khớp tăng lên do các bất thường bẩm sinh dẫn đến sự chịu lực bất thường trong khớp, ví dụ như sụn, xương hay mô hoạt dịch. Một vấn đề quan trọng khác trong việc đánh giá thoái hóa khớp là sự hiện diện của bệnh đồng mắc (bệnh lý phối hợp). Ước tính thấy bệnh nhân thoái hóa khớp có trung bình 8,7 bệnh mạn tính đi kèm. Ba bệnh kèm theo phổ biến nhất là béo phì, tăng huyết áp và tăng cholesterol máu. Sau đó đến các bệnh đái tháo đường, trào ngược dạ dày thực quản, trầm cảm... [14].

#### **1.1.3. Cơ chế bệnh sinh**

Thoái hóa khớp là bệnh liên quan đến toàn bộ cấu trúc khớp, thể hiện bởi sự mất dần sụn khớp ở khớp hoạt dịch kết hợp với xơ cứng xương dưới sụn, xuất hiện gai xương ở rìa khớp và phản ứng viêm màng hoạt dịch không đặc hiệu, mức độ nhẹ, mạn tính. Thoái hóa khớp thường được coi là một tình trạng thoái hóa, nhưng không phát sinh chỉ vì sự hao mòn dần dần. Thay vào đó, nó nên được xem xét như một sự tái cấu trúc bất thường của các mô khớp, sụn khớp và xương, được thúc đẩy bởi nhiều chất trung gian hóa học gây viêm [13].

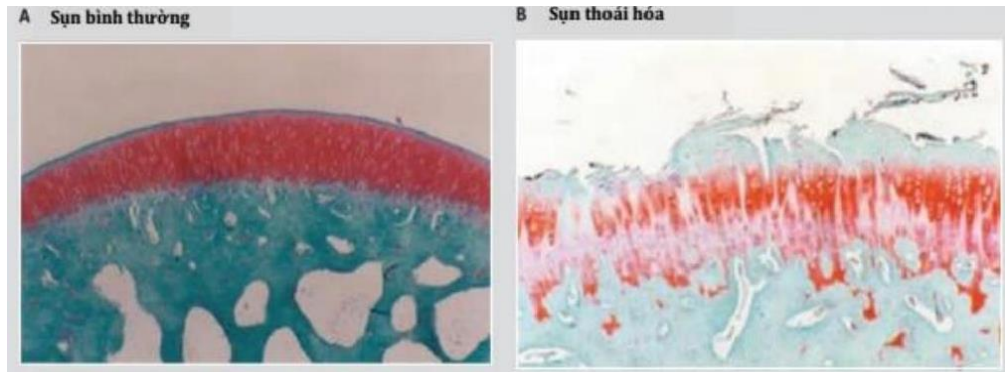
Lão hóa là yếu tố đóng góp chính cho sụn khớp “bất thường”, nhưng yếu tố di truyền ảnh hưởng đến cấu trúc và thành phần của chất nền, gây gián đoạn sự biệt hóa sụn và chức năng của sụn, có thể góp phần vào cơ chế bệnh sinh. Sự tải “bình thường” trên sụn “bất thường”, hoặc bất ổn cấu trúc do một chấn thương khớp lặp đi lặp lại, là nguyên nhân chính gây thoái hóa khớp ở người trẻ tuổi [13].

#### *Thoái hóa sụn*

Trong điều kiện bình thường, cân bằng nội môi sinh lý của sụn khớp được điều khiển bởi tế bào sụn, tạo ra cấu trúc nền chứa collagen (chủ yếu là collagen typ II), và proteoglycan. Mặc dù có sự tham gia của nhiều mô khớp, thoái hóa khớp từ lâu đã được đặc trưng chủ yếu bởi sự phá vỡ quá trình sửa



chứa sụn bị hư hỏng như là kết quả của sự thay đổi sinh hóa và cơ sinh học trong khớp [13].



**Hình 1.2. Tổn thương sụn trong thoái hóa khớp**

Trong thoái hóa khớp, các tế bào sụn không tổng hợp được chất nền có tính đàn hồi và bền vững, do đó không thể duy trì sự cân bằng giữa tổng hợp và giáng hóa của chất nền ngoại bào [13]. Các chất trung gian gây viêm như IL -1 và stress cơ học tác động lên tế bào sụn, làm cho tế bào sụn tạo ra ít collagen chức năng hơn, các proteoglycan nhỏ hơn và ít chiếm không gian hơn, nhiều enzym phân hủy và nhiều chất trung gian gây viêm, bao gồm NO và IL-1 hỗ trợ. Điều này gây ra một vòng luẩn quẩn, trong đó sự giáng hóa vượt quá sự tổng hợp của chất nền ngoại bào dẫn đến mất sụn khớp.

#### *Vai trò của sự thay đổi xương dưới sụn*

Vai trò của xương dưới sụn hiện được cho là có tầm quan trọng đặc biệt trong sinh bệnh học của thoái hóa khớp. Xương dưới sụn thực hiện nhiệm vụ hấp thụ các sốc cơ học, hỗ trợ trong các khớp bình thường và cung cấp chất dinh dưỡng cho sụn. Xương dưới sụn nằm ngay bên dưới sụn calci hóa, là một tấm xương đặc có đặc điểm sinh lý và cơ học tương tự như xương đặc ở các vị trí khác nhưng không cứng bằng xương đặc ở vị trí thân xương dài. Thuật ngữ “xương dưới sụn” đề cập đến cả hai phần xương đặc và xương xốp [13].

#### *Viêm màng hoạt dịch*

Màng hoạt dịch đóng một vai trò quan trọng trong chức năng của khớp,

nuôi dưỡng tế bào sụn qua dịch khớp, khe khớp và loại bỏ các chất chuyển hóa, sản phẩm giáng hóa từ cấu trúc nền [18]. Acid hyaluronic và lubricin được sản xuất trong các tế bào liên kết hoạt dịch giúp bảo vệ và duy trì cấu trúc sụn khớp. Tình trạng viêm của màng hoạt dịch trong thoái hóa khớp gây ra một số triệu chứng lâm sàng như đau, phản ánh sự tiến triển của rối loạn cấu trúc sụn [19].

#### **1.1.4. Chẩn đoán thoái hóa khớp gối**

Chẩn đoán thoái hóa khớp là chẩn đoán loại trừ vì hình ảnh XQ thoái hóa khớp luôn tồn tại ở người lớn tuổi song triệu chứng đau lại có thể do nguyên nhân khác. Hội Thấp khớp học Mỹ ACR đã đề ra một số tiêu chuẩn chẩn đoán đối với khớp gối [7].

Tiêu chuẩn chẩn đoán theo ACR 1991 (American College of Rheumatology) [20]:

1. Đau khớp gối.
2. Gai xương ở rìa khớp trên Xquang.
3. Dịch khớp là dịch thoái hóa.
4. Tuổi  $\geq 40$ .
5. Cứng khớp buổi sáng dưới 30 phút.
6. Lạo xạo ở khớp khi cử động.

Chẩn đoán xác định khi có yếu tố 1, 2 hoặc 1, 3, 5, 6 hoặc 1, 4, 5, 6.

Tiêu chuẩn này có độ nhạy > 94%. Độ đặc hiệu > 88% và là tiêu chuẩn phù hợp nhất với điều kiện Việt Nam [34].

#### **Chẩn đoán giai đoạn:**

Dựa vào sự có mặt của các thay đổi cấu trúc trên XQ, năm 1957 Kellgren và Lawrence đã đưa ra hệ thống phân loại thoái hóa khớp và được tổ chức Y tế thế giới chấp nhận từ năm 1961 như là tiêu chuẩn để chẩn đoán thoái hóa khớp gối trên XQ.

Tiêu chuẩn chẩn đoán thoái hóa khớp trên XQ của Kellgren và

Lawrence:

- Giai đoạn 0: Không có bất thường về khớp.
- Giai đoạn 1: Gai xương nhỏ hoặc nghi ngờ có gai xương.
- Giai đoạn 2: Có gai xương rõ, hẹp khe khớp nhẹ.
- Giai đoạn 3: Có nhiều gai xương kích thước vừa, hẹp khe khớp vừa, có thể có xơ xương dưới sụn.
- Giai đoạn 4: Có gai xương lớn, hẹp khe khớp nhiều kèm xơ xương dưới sụn rõ, biến dạng bề mặt khớp

### ***1.1.5. Các phương pháp điều trị thoái hóa khớp gối***

#### *1.1.5.1. Nguyên tắc điều trị*

- Giảm đau trong các đợt tiến triển.
- Phục hồi chức năng vận động của khớp, hạn chế và ngăn ngừa biến dạng khớp.
- Tránh các tác dụng không mong muốn của thuốc, lưu ý tương tác thuốc và các bệnh kết hợp ở người cao tuổi.
- Nâng cao chất lượng cuộc sống cho người bệnh [7].

#### *1.1.5.2. Điều trị nội khoa*

##### *❖ Vật lý trị liệu:*

Các phương pháp siêu âm, hồng ngoại, chườm nóng, liệu pháp sóng siêu âm, bìn có hiệu quả cao.

##### *❖ Thuốc điều trị triệu chứng tác dụng nhanh*

Chỉ định khi có đau khớp :

- Thuốc giảm đau: Paracetamol: 1g -2g/ ngày.

Đôi khi cần chỉ định các thuốc giảm đau bậc 2: Paracetamol phối hợp với Tramadol 1g-2g/ngày.

- Thuốc chống viêm không steroid (NSAIDs): lựa chọn một trong các thuốc sau:

+ Etoricoxia 30mg -60 mg/ngày, Celecoxib 200mg/ngày, Meloxicam 7,5-

15mg/ngày.

- + Thuốc chống viêm không steroid khác: Diclofenac 50-100mg/ngày, Piroxicam 20mg/ngày...
- Thuốc bôi ngoài da: bôi tại khớp đau 2-3 lần/ ngày. Các loại gel như: Voltaren, Emugel... có tác dụng giảm đau và rất ít tác dụng phụ.
- Corticosteroid: Không có chỉ định cho đường toàn thân.
- Đường tiêm nội khớp:
  - + Hydrocortison acetat: Mỗi đợt tiêm cách nhau 5-7 ngày, không vượt quá 3 mũi tiêm mỗi đợt. Không tiêm quá 3 đợt trong một năm.
  - + Các chế phẩm chậm: Methylprednisolon, Betamethasone dipropionate tiêm mỗi mũi cách nhau 6-8 tuần. Không tiêm quá 3 đợt một năm vì thuốc gây tổn thương sụn khớp nếu dùng quá liều.
  - + Acid hyaluronic (AH) dưới dạng hyaluronate: 1 ống/1 tuần x 3 - 5 tuần liền.

❖ *Thuốc điều trị triệu chứng tác dụng chậm (SYSADOA)*

Nên chỉ định sớm, kéo dài, khi có đợt đau khớp, kết hợp với các thuốc điều trị triệu chứng tác dụng nhanh nêu trên.

- + Piascledine 300mg (cao toàn phần không xà phòng hóa quả bơ và đậu nành): 1 viên/ngày.
- + Glucosamine sulfate: 1,5g/ngày.
- + Acid hyaluronic kết hợp Chondroitin sulfate: 30ml uống mỗi ngày.
- + Thuốc ức chế Interleukin 1: Diacerein 50mg x 2 viên/ngày.

❖ *Huyết tương giàu tiểu cầu tự thân (PRP)*

Huyết tương tự thân giàu tiểu cầu (PRP): lấy máu tĩnh mạch, chống đông, ly tâm tách huyết tương sau đó bơm vào khớp gối 6ml- 8ml PRP.

❖ *Cấy ghép tế bào gốc (Stem cell transplantation)*

- + Tế bào gốc chiết xuất từ mô mỡ tự thân (Adipose Derived Stemcell - ADSCs).

+ Tế bào gốc từ nguồn gốc tủy xương tự thân.

#### *1.1.5.3. Điều trị ngoại khoa*

❖ Điều trị dưới nội soi khớp

- Cắt lọc, bào, rửa khớp.
- Khoan kích thích tạo xương (microfracture).
- Cấy ghép tế bào sụn.

❖ Phẫu thuật thay khớp nhân tạo

Được chỉ định ở các thể nặng tiến triển, có giảm nhiều chức năng vận động. Thường được áp dụng ở những bệnh nhân trên 60 tuổi. Thay khớp gối một phần hay toàn bộ khớp.

#### *1.1.5.4. Theo dõi và quản lý*

- Chống béo phì.
- Có chế độ vận động thể dục thể thao hợp lý, bảo vệ khớp tránh quá tải.
- Phát hiện điều trị chỉnh hình sớm các dị tật khớp (lệch trục khớp, khớp gối vẹo trong, vẹo ngoài..) [3], [7], [21].

## **1.2. Quan điểm thoái hóa khớp gối theo Y học cổ truyền**

### ***1.2.1. Bệnh danh***

Thoái hóa khớp gối với bệnh danh Hạc tất phong thuộc phạm vi chứng Tý theo YHCT [22]. “Chứng tý” được ghi đầu tiên trong sách “Nội kinh” như sau: “Chứng tý là một trong những chứng nan trị vì trời có sáu thứ khí mà chứng tý lại do ba thứ khí hợp lại gây bệnh, theo các thuộc tính của ba thứ khí là phong thì đi nhanh, hàn thì vào sâu, thấp thì ướt đẫm và ứ đọng, khi phối hợp lại cùng gây bệnh sẽ tạo nên bệnh cảnh phức tạp” [23]. Tý đồng âm với Bí, nghĩa là bế tắc, ngăn lấp, không thông.

Sách ‘Loại Chứng Trị Tài’ viết rõ thêm: ‘Các chứng tý do dinh vệ hư, tấu lý không chặt, phong hàn thấp tà khí thừa lúc hư xâm nhập vào cơ thể, chính khí lưu thông bị tắc, sinh khí huyết ngưng trệ lâu ngày thành chứng tý’.

Tuệ Tĩnh cho là phát bệnh ở buổi sáng là do khí trệ dương hư, buổi chiều phát bệnh là huyết nhiệt âm tổn.

Theo Hải Thượng Lãn Ông “Chữa Phong nên bổ Huyết, chữa Hàn nên bổ Hỏa, chữa Thấp nên kiện Tỳ, tuy dùng thuốc trị Phong Thấp nhưng cần dùng bổ khí huyết để không chế bệnh tà không vào hai kinh Can Thận, bổ nguồn gốc của Tinh Huyết để tác dụng đến gân xương vì bệnh có bên trong hư mà gây nên”.

### ***1.2.2. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh***

Nguyên nhân chính là do ngoại cảm phong hàn thấp xâm nhập mạch lạc gây khí huyết ứ trệ, mạch lạc không thông gây đau (thống tắc bất thông) [23].

Chứng tý được phân loại theo nhiều cách như tam tý hoặc ngũ tý.

Tam Tý do ba thứ khí Phong Hàn Thấp gây bệnh, tùy thuộc vào biểu hiện của khí nào trội hơn sẽ mang tên ba loại bệnh tý như:

- Phong khí thắng gọi là Phong tý hay Hành tý.
- Hàn khí thắng gọi là Hàn tý hay Thống tý.
- Thấp khí thắng gọi là Thấp tý hay Trược tý.

Nếu phong thịnh thì đau, đau lúc nhẹ lúc nặng, đau không cố định mà di chuyển gọi là phong tý hay hành tý.

Nếu hàn thịnh thì khí huyết ngưng trệ nặng nên đau nhiều, bộ vị đau cố định không di chuyển gọi là hàn tý hay thống tý.

Nếu thấp thịnh thì đau nhức không nặng lắm nhưng có cảm giác ê mỏi nặng nề, gặp thời tiết âm u, mưa lạnh ẩm ướt thì đau tăng, đau không di chuyển gọi là thấp tý hay trược tý.

Ngũ tý cũng do ba thứ khí Phong Hàn Thấp gây bệnh nhưng tùy thuộc xâm nhập vào mùa nào sẽ có xu hướng gây bệnh cho phần cơ thể tương ứng gây nên năm loại bệnh Tý như:

- Mắc bệnh mùa xuân gọi là *Cân tý*.
- Mắc bệnh mùa hạ gọi là *Mạch tý*.
- Mắc bệnh mùa trưởng hạ gọi là *Nhục tý* hay *Cơ tý*.
- Mắc bệnh mùa thu gọi là *Bì tý*.
- Mắc bệnh mùa đông gọi là *Cốt tý*.

Nếu bộ phận cơ thể trên đã bị bệnh như chưa khỏi tiếp sau đó lại cảm nhiễm Phong Hàn Thấp lần thứ hai thì gọi là “Trùng cảm” hoặc “cảm phải Phục tà” (tà khí ẩn nấp bên trong do nhiễm từ lâu nhưng chưa phát bệnh) làm tổn thương đến tạng phủ bên trong tương ứng sinh ra chứng bệnh:

Nếu *Cân tý* không khỏi lại cảm phải Phong Hàn Thấp lần nữa hoặc cảm phải Phục tà thì nó sẽ ký túc vào Can gây bệnh gọi là *Can tý*.... Và như thế ta có chứng *Tâm tý*, *Tỳ tý*, *Phế tý* và *Thận tý*.

Kỳ Bá trong *Tổ vấn tiên lượng*, khi bệnh *Tý* mà:

- Tà khí ở bì phu thì bệnh còn nhẹ, dễ phát tán thì dễ trị.
- Tà khí vào gân xương, không còn ở bì phu, chưa vào nội tạng thì khó trị.
- Tà khí xâm nhập vào nội tạng làm cho tạng khí suy kiệt thì càng khó trị.

**Nhiệt tý:** Chứng nhiệt tý là nhiệt ở trong tạng phủ kinh lạc đã có nhiệt chứa sẵn, mà lại gặp tà khí của phong hàn thấp xâm lấn vào, nhiệt bị uất, vì hàn khí không thông được, lâu ngày hàn cũng hóa ra nhiệt thành “nhiệt tý”.

### ***Cơ chế bệnh sinh***

Chứng *Tý* hình thành trên cơ sở cơ thể đã có sẵn khí huyết hư suy, hoặc do ốm lâu tổn thương khí huyết hoặc tuổi già thiên quý suy ảnh hưởng làm cho can thận hư, tà khí phong hàn thấp thừa cơ xâm nhập mà gây nên bệnh. Hoặc là phong hàn thấp tà uất lâu hóa nhiệt, hoặc kinh lạc có tích nhiệt, lại có phong hàn thấp tà xâm nhập gặp nguyên khí hư suy mà sinh bệnh. Như sách *Kim quỹ yếu lược* viết: “Tạng phủ kinh lạc vốn bị tích nhiệt, lại bị tà khí

phong hàn thấp ẩm náu, nhiệt bị hàn uất, khí không lưu thông lâu ngày, hàn uất cũng hóa nhiệt thì lại càng đau nhức âm ỉ khó chịu”.

### **1.2.3. Thể lâm sàng**

#### **1.2.3.1. Thể phong hàn thấp tý**

Triệu chứng: Sau khi nhiễm ngoại tà (phong, hàn, thấp) xuất hiện đau, sưng nề, không nóng đỏ, hạn chế vận động khớp gối một hoặc hai bên, trời lạnh ẩm đau tăng, chườm ấm đỡ đau, kèm sợ lạnh, sợ gió, không sốt, rêu lưỡi trắng nhớt. Mạch phù hoãn.

Chẩn đoán:

- Chẩn đoán bát cương: Biểu, thực, hàn.
- Chẩn đoán kinh lạc: Bệnh tại khớp, cân, cơ, kinh lạc.
- Chẩn đoán nguyên nhân: Ngoại nhân (phong, hàn, thấp).

Pháp: Trừ thấp, khu phong, tán hàn, chỉ thống.

Phương:

Cổ phương: + Nếu thấp thắng: Ý dĩ nhân thang.

+ Nếu hàn tà thắng: Ô đầu thang.

Đối pháp lập phương: Lựa chọn các vị thuốc thuộc các nhóm thuốc theo pháp điều trị.

Nghiệm phương: Thấp khớp II (Viện Đông y).

Phương pháp không dùng thuốc:

- Châm tả và cứu các huyết:

Tại chỗ: A thị huyết, Độc tý (ST.35), Dương lăng tuyền (GB.34), Lương khâu (ST.34), Tắt nhãn, Âm lăng tuyền (SP.9), Huyết hải (IV-10), Ủy trung (BL.40).

Toàn thân: Phong long (ST.40), Túc tam lý (ST.36). Lưu kim 20 - 30 phút/lần/ngày, từ 10 đến 15 ngày/liệu trình.

Các kỹ thuật châm: Điện châm, điện mẫn châm, ôn điện châm, ôn



châm. Lưu kim 20 - 30 phút/lần/ngày, từ 15 đến 20 ngày/liệu trình.

- Điện nhĩ châm: các điểm bánh chè, cẳng chân (D2). Nhĩ châm 1 lần/ngày, từ 15 đến 20 ngày/liệu trình.
- Hoạch cấy chỉ vào các huyết: Công thức huyết như trong công thức huyết điện châm. Tùy tình trạng bệnh lý của người bệnh, thầy thuốc chọn công thức huyết cấy chỉ phù hợp. Mỗi lần cấy chỉ có tác dụng khoảng từ 7 đến 15 ngày, sau thời gian tự tiêu của chỉ có thể thực hiện liệu trình tiếp theo.
- Xoa bóp bấm huyết: Thực hiện các thủ thuật xoa, xát, miết, bóp, vờn, vận động. Day, ấn các huyết như trong công thức huyết điện châm. Mỗi lần xoa bóp bấm huyết 30 phút/lần/ngày, từ 10 đến 15 ngày/liệu trình.
- Thủy châm: Sử dụng các thuốc theo y lệnh có chỉ định tiêm bắp vào các huyết như điện châm, ngày 1 lần, mỗi lần 2 đến 3 huyết. Một liệu trình điều trị từ 10 đến 15 ngày. Tùy từng trường hợp cụ thể người thầy thuốc lựa chọn thuốc phù hợp với chẩn đoán.
- Laser châm: Công thức huyết như trong công thức huyết điện châm. Thời gian 15-30 phút/lần/ngày cho một lần laser châm. Một liệu trình từ 10 đến 15 lần, có thể nhiều liệu trình [22].

#### *1.2.3.2. Thể phong hàn thấp tý kèm can thận hư*

Triệu chứng: Người bệnh đau mỗi khớp gối, vận động co duỗi khó khăn, có thể biến dạng khớp. Sau khi nhiễm thêm ngoại tà (phong, hàn, thấp) xuất hiện đau tăng lên, khớp gối sưng nề, không nóng đỏ, hạn chế vận động khớp gối một hoặc hai bên, kèm đau mỗi lưng gối, ù tai, ngủ kém, râu lưỡi trắng nhớt. Mạch trầm hoãn.

Chẩn đoán:

- Chẩn đoán bát cương: Biểu lý tương kiêm, hư trung hiệp thực, hàn.
- Chẩn đoán tạng phủ/kinh lạc: Can thận hư/Bệnh tại khớp, cân, cơ, kinh lạc.
- Chẩn đoán nguyên nhân: Ngoại nhân (phong, hàn, thấp), bất nội ngoại nhân (nội thương).

Pháp: Trừ thấp, khu phong, tán hàn, chỉ thống, bổ can thận.

Phương:

Cổ phương: Độc hoạt ký sinh thang

Hoặc dùng bài Tam tỳ thang: Là bài Độc hoạt ký sinh thang gia thêm Hoàng kỳ, Tục đoạn.

Đối pháp lập phương: Lựa chọn các vị thuốc thuộc các nhóm thuốc theo pháp điều trị.

Nghiệm phương: Độc hoạt phong thấp hoàn (Viện Đông y).

Điều trị không dùng thuốc:

- Châm kết hợp với cứu.

Châm tả và cứu các huyết tại chỗ: như thể phong hàn thấp tỳ.

Châm bổ: Thận du (BL.23), Can du (BL.18), Tam âm giao (SP.6), Thái Khê (KI.3), Thái xung (LR.3), Quan nguyên (CV.4). Lưu kim 20 - 30 phút/lần/ngày, từ 15 đến 20 ngày/liệu trình.

- Xoa bóp bấm huyết, thủy châm, điện mẫn châm, cấy chỉ: như thể phong hàn thấp tỳ.
- Điện nhĩ châm: Châm tả bán chè, cẳng chân (D2), châm bổ Thần môn, Can, Thận. Lưu kim 20 - 30 phút/lần/ngày, từ 15 đến 20 ngày/liệu trình. Chú ý: Tổng số liệu trình điều trị có thể thay đổi tùy theo tình trạng bệnh lý của mỗi người bệnh [22].

### 1.2.3.3. *Thể phong thấp nhiệt kèm can thận hư*

Triệu chứng: Người bệnh đau mỗi khớp gối từ lâu, vận động cơ duỗi khó khăn, có thể có biến dạng khớp. Đợt này xuất hiện sưng, đau, nóng hoặc đỏ, một hoặc khớp gối hai bên, đau cự án. Thường kèm theo phát sốt, sợ gió, miệng khô khát, phiền táo bứt rứt không yên. Tiểu vàng lượng ít, lưỡi đỏ, rêu vàng bản. Mạch hoạt sắc.

Chẩn đoán:

- Chẩn đoán bát cương: Biểu lý tương kiêm, hư trung hiệp thực, nhiệt.

- Chẩn đoán tạng phủ/kinh lạc: Can thận hư/bệnh tại khớp, cân, cơ, kinh lạc.
- Chẩn đoán nguyên nhân: Bất nội ngoại nhân (nội thương), ngoại nhân (phong, thấp, nhiệt).

Pháp: Thanh nhiệt, khu phong, trừ thấp, chỉ thống, bổ can thận.

Phương:

Cổ phương: Dùng bài Ý dĩ nhân thang hợp với Nhị diệu tán. Hoặc dùng bài Bạch hổ quế chi thang.

Đổi pháp lập phương: Lựa chọn các vị thuốc thuộc các nhóm thuốc theo pháp điều trị.

Nghiệm phương (Hướng dẫn thuốc nam và châm cứu – Bộ Y tế).

Điều trị không dùng thuốc:

- Châm: Như thể phong hàn thấp tý kèm can thận hư. Châm tả thêm huyết Đại chùy (GV.14), Nội đình (ST.44).
- Điện nhĩ châm, điện mãng châm: Như thể phong hàn thấp tý kèm can thận hư.
- Sau khi khớp hết nóng, đỏ thì áp dụng phác đồ xoa bóp bấm huyết, thủy châm, cấy chỉ như thể phong hàn thấp tý kèm can thận hư [22].

### **1.3. Tổng quan về viên nang cứng “TD.NQ”**

#### **1.3.1. Nguồn gốc**

TD.NQ được phát triển trên cơ sở thành phần bài thuốc cổ phương “Độc hoạt tang ký sinh thang” với các vị thuốc gốc là Độc hoạt, Tần giao, Ngưu tất, Bạch thược, Đương Quy, Thục địa, Tang ký sinh, Đảng sâm, Phục linh, Phòng phong, Xuyên khung, Đỗ trọng, Cam thảo, Tế tân, Quế tâm được điều chỉnh và gia thêm các vị thuốc: Hoàng bá, Vỏ cây liễu, Quy bản, Trần bì, Đào nhân, cao xương để phù hợp với thực tiễn sử dụng và sản xuất tại Việt Nam.

TD.NQ gồm các dược liệu được kiểm định chất lượng theo tiêu chuẩn ĐDVN V và sản xuất theo tiêu chuẩn cơ sở tại công ty cổ phần Sao Thái

Dương dưới dạng viên nang cứng.

### 1.3.2. Thành phần

**Bảng 1.1. Thành phần viên nang cứng TD.NQ**

TT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng và Tỷ lệ	Tiêu chuẩn dược liệu
1	Hoàng bá	<i>Cortex Phellodendri</i>	1,0	Dược điển Việt nam V
2	Quy bản	<i>Plastrum Testudinis</i>	0,45	
3	Sinh địa	<i>Radix Rehmannia glutinosae</i>	0,31	
4	Bạch thược	<i>Radix Paeoniae lactiflorae</i>	0,30	
5	Phục linh	<i>Poria</i>	0,2	
6	Đỗ trọng	<i>Cortex Eucommiae</i>	0,2	
7	Đương quy	<i>Radix Angenicae sinensis</i>	0,1	
8	Đảng sâm	<i>Radix Codonopsis</i>	0,12	
9	Phòng phong	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	0,10	
10	Tâm gửi gạo	<i>Herba Loranthe</i>	0,10	
11	Tần giao	<i>Radix Gentianae</i>	0,10	
12	Ngưu tất	<i>Radix Archiranthidis bidentatae</i>	0,10	
13	Vỏ liễu	<i>Salix alba</i>	0,17	Tiêu chuẩn cơ sở
14	Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perettne</i>	0,08	Dược điển Việt nam V
15	Đào nhân	<i>Semen Pruni</i>	0,08	
16	Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>	0,06	
17	Cam thảo	<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>	0,05	
18	Độc hoạt	<i>Radix Angelicae pubescentis</i>	0,04	

19	Quế chi	<i>Ramulus Cinamomi</i>	0,03	
20	Tế tân	<i>Radix et Rhizoma Asari</i>	0,02	
21	Cao xương		0,29	Tiêu chuẩn cơ sở

Dạng bào chế: Viên nang cứng (Chứa 3,95g dược liệu/viên).

### 1.3.3. Tác dụng

Bài thuốc có tác dụng: khu phong, trừ thấp, thanh nhiệt, thông kinh hoạt lạc, bổ can thận.

Phân tích bài thuốc:

- Hoàng bá vị đắng, tính lạnh không độc, quy kinh Thận, bàng quang, đại trường có tác dụng thanh nhiệt, trừ thấp.

- Độc hoạt vị cay đắng, tính ấm, quy vào kinh bàng quang, can thận; Tầm gửi gạo vị đắng ngọt, tính bình, quy vào kinh can thận; vỏ cây liễu vị đắng, tính hàn, quy vào kinh can, thận, bàng quang có tác dụng khu phong trừ thấp, dưỡng huyết hòa vinh, hoạt lạc thông tỳ.

- Ngưu tất vị đắng chua, tính bình, quy vào kinh can, thận; Đỗ trọng vị ngọt, cay tính ôn, quy kinh Can thận; Sinh địa vị ngọt đắng, tính hàn, quy vào kinh tâm, can, thận, tiểu trường; Quy bản vị mặn, ngọt, tính lạnh, quy vào Can, thận, tâm, Tỳ; cao xương bổ ích can thận, cường gân tráng cốt.

- Xuyên khung vị cay, tính ấm, quy vào kinh can, đờm, tâm bào; Đương quy vị ngọt, cay, tính ấm, quy vào kinh tâm, can, tỳ; Bạch thược vị đắng chua tính hơi hàn, quy kinh Can, Tỳ, Phế bổ huyết, hoạt huyết.

- Đẳng sâm vị ngọt, tính bình, quy vào kinh Phế, tỳ; Phục linh vị ngọt, nhạt tính bình, quy kinh tâm, phế, thận, tỳ và vị; Cam thảo vị ngọt, tính bình, quy vào 12 kinh, tác dụng ích khí kiện tỳ, các vị này đều có tác dụng hỗ trợ cho Độc hoạt, Tầm gửi gạo, Vỏ cây liễu trừ phong thấp.

- Quế chi vị cay, ngọt tính ấm quy vào Phế, tâm, bàng quang; Đào nhân vị đắng ngọt, tính bình, quy vào kinh tâm, can, đại trường tác dụng thông

kinh, hoạt lạc, hành khí hoạt huyết.

- Tần giao vị đắng ngọt, tính bình, quy vào kinh can thận; Tế tân vị cay tính ấm Quy vào Thận, Phế, Tâm; Phòng phong vị cay, ngọt, tính ấm, quy vào kinh bàng quang, can có tác dụng khu phong, trừ thấp.

- Trần bì vị đắng, cay tính ấm, quy vào kinh Phế, Tỳ tác dụng hành khí, thông kinh hoạt lạc, chỉ thống.

Các vị thuốc hợp lại thành bài thuốc có tác dụng khu phong, trừ thấp, thanh nhiệt, thông kinh hoạt lạc, bổ can thận, chỉ định trong chứng Tý nguyên nhân là phong thấp nhiệt tà xâm phạm kèm can thận hư [24], [25], [26], [27].

#### ***1.3.4. Phân tích bài thuốc theo tác dụng dược lý Y học hiện đại***

Các vị thuốc trong viên nang cứng TD.NQ đã được nghiên cứu trên thế giới với các tác dụng chống viêm, giảm đau (điều trị triệu chứng của thoái hóa khớp), và tác dụng ức chế phá hủy sụn khớp, cải thiện cấu trúc sụn trong thoái hóa khớp.

**Bảng 1.2. Một số nghiên cứu về tác dụng dược lý của các dược liệu trong thành phần viên nang cứng TD.NQ**

<b>Dược liệu</b>	<b>Năm nghiên cứu</b>	<b>Kết quả nghiên cứu</b>
Phòng phong	2016	Tác dụng giảm đau do thành phần có cimifugin làm giảm biểu hiện COX-2 [28].
Độc hoạt	2013	Tác dụng chống viêm, giảm đau, ức chế phá hủy sụn khớp, tăng biểu hiện proteoglycan, collagen [29].
Hoàng bá	2014	Tác dụng chống viêm trên chuột nhắt: làm giảm các IL-6, IL-1 $\beta$ , ức chế tổng hợp nitric oxid [30].
Bạch thược	2014	Tác dụng chống viêm, giảm đau nhờ các chất

		như CML-1, JCICM-6, paeoniflorin, albiflorin [31].
Nguru tất	2014	Tác dụng điều trị thoái hóa khớp của Nguru tất trên chuột cống thông qua tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [32].
Tần giao	2012	Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột [33].

#### **1.4. Mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm**

Mô hình gây thoái hóa các khớp trên động vật là loại mô hình thực nghiệm tương đối mới, khó thực hiện trong nghiên cứu. Hiện nay có hai mô hình gây thoái hóa khớp chính, là phương pháp phẫu thuật và phương pháp sử dụng hóa chất.

##### ***1.4.1. Mô hình sử dụng phẫu thuật gây thoái hóa khớp***

Trong các mô hình thực nghiệm, phương pháp phẫu thuật gây thoái hóa khớp là phương pháp kết hợp giữa sự mất ổn định của cấu trúc khớp, biến đổi bề mặt tiếp xúc của khớp và viêm trong khớp. Đặc điểm này mô phỏng mô hình thoái hóa khớp sau chấn thương.

Phương pháp gồm có: phẫu thuật cắt bỏ một phần sụn khớp, cắt dây chằng chéo trước, phẫu thuật sắp xếp lại xương. Đây là một phương pháp khó, đòi hỏi phương tiện kỹ thuật cao và sự hiểu biết kỹ lưỡng về khớp chọn để phẫu thuật. Khớp gối là khớp thông dụng nhất được lựa chọn trong nghiên cứu nhưng có sự khác biệt giữa các loài động vật [34].

##### ***1.4.2. Mô hình sử dụng hóa chất tiêm vào khớp gối***

Các hóa chất tiêm vào khớp gồm có: các enzym (papain, collagenase, trypsin, hyaluronidase, các cytokin (interleukin-1, yếu tố TGF- $\beta$ ), và hóa chất như mono-iodoacetat (MIA) [40], [41], [42]. Phần lớn các tác nhân này gây ra tình trạng viêm cấp tính tại vị trí tiêm nên có thể không mô phỏng được chính

xác hoàn toàn quá trình diễn biến tự nhiên của thoái hóa khớp giống như trên người.

Mô hình gây thoái hóa khớp bằng MIA được dùng rộng rãi trong các nghiên cứu liên quan đến phản xạ đau và các thuốc giảm đau, Hợp chất này ức chế hoạt tính của glycer-aldehyde-3-phosphate dehydrogenase ở sụn khớp, dẫn đến sự gián đoạn của quá trình chuyển hóa năng lượng từ thủy phân đường, các quá trình tổng hợp và thậm chí là gây chết tế bào, gây ra sự tiến triển lặp đi lặp lại của sự tăng sản hoạt dịch và xâm nhập tế bào viêm, từ đó làm mất dần lớp sụn khớp và tổn thương cấu trúc xương dưới sụn, tạo ra tình trạng bệnh tương tự thoái hóa khớp trên lâm sàng. Mức độ nặng của khớp viêm phụ thuộc vào nồng độ và thời gian tiêm MIA [35].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng mô hình tiêm mono-iodoacetate (MIA) vào khớp gối của chuột cống của Joon-Ki Kim và cộng sự [36], [37], là mô hình thực nghiệm được sử dụng phổ biến nhất là dùng chất ức chế chuyển hóa mono-iodoacetate (MIA) tiêm vào khớp gối của chuột cống. Mô hình này có ưu điểm là dễ tiến hành và nhanh chóng cho kết quả như ý, mô phỏng tốt nhất mô bệnh học của khớp viêm và thoái hóa trên người.

## **1.5. Một số nghiên cứu**

### ***1.5.1. Trên thế giới***

Năm 2004, Teekachunhatean S và cộng sự nghiên cứu tác dụng của DJW gồm 13 dược liệu: Độc hoạt, Ngưu tất, Đương quy, Tang kí sinh, Địa hoàng, Xuyên khung, Quế chi, Phòng phong, Bạch thược, Đảng sâm, Cam thảo, Phục linh, Tế tân trên 200 bệnh nhân thoái hóa khớp gối cho kết quả: DJW cho hiệu quả tương đương diclofenac sau 4 tuần điều trị, nhưng khởi phát tác dụng chậm và tác dụng phụ tương đương diclofenac [38].

Năm 2016, Zhang W. và cộng sự nghiên cứu phân tích trong 12 thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên với 982 bệnh nhân thoái hóa khớp gối cho thấy



việc dùng phối hợp nước sắc “Độc hoạt ký sinh” và glucosamin hoặc meloxicam, glucosamin hoặc tiêm hyaluronat có hiệu quả trong giảm đau, cải thiện các chức năng sinh lý khớp [39].

Năm 2016, Chen Y. và cộng sự nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Độc hoạt tang ký sinh cho kết quả: Độc hoạt tang ký sinh có tác dụng chống viêm, giảm sự tiêu xương, sụn trên chuột chuyển gen TNF [40].

### ***1.5.2. Tại Việt Nam***

Năm 2016, Đào Thị Thanh Hiền nghiên cứu tác dụng của cao đặc Phong đàn cho kết quả: cao đặc Phong đàn có tác dụng giảm đau và ức chế phù bàn chân chuột, ức chế tạo u hạt trên chuột [41].

Năm 2017, Nguyễn Thị Huyền nghiên cứu tác dụng viên nang cứng Phong đàn cho kết quả: có tác dụng giảm đau, ức chế tạo u hạt, chống viêm cấp trên mô hình gây viêm màng bụng chuột [42].

Năm 2020, Nguyễn Thị Bích Hồng nghiên cứu đánh giá độc tính và hiệu quả điều trị của cao lỏng Ích gôi khang trên bệnh nhân thoái hóa khớp gôi cho kết quả: Cao lỏng Ích gôi khang chưa thể hiện độc tính trên nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn. Chế phẩm có tác dụng điều trị thoái hóa khớp gôi trên thực nghiệm. Ích gôi khang với liều 17,04g/kg/ngày và liều 51,12g/kg/ngày có tác dụng điều trị thoái hóa khớp gôi trên chuột thể hiện qua: Làm giảm đường kính khớp gôi, giảm đau và cải thiện hoạt động khớp gôi trên mô hình sử dụng máy đo ngưỡng đau theo phương pháp Randall Selitto và trên máy đo ngưỡng đau sử dụng kim Von frey. Làm giảm các chỉ số IL - 1 $\beta$  và TNF -  $\alpha$ . Tác dụng trên mô bệnh học cấu trúc sụn khớp: cải thiện cấu trúc sụn khớp. Cao lỏng Ích gôi khang có tác dụng điều trị bệnh thoái hóa khớp gôi nguyên phát. Bước đầu chưa thấy tác dụng không mong muốn của chế phẩm trên lâm sàng [43].

Năm 2020, Nguyễn Thị Thanh Hà nghiên cứu độc tính và tác dụng điều trị thoái hóa khớp gôi của viên hoàn cứng TD0015 trên thực nghiệm, cho kết

quả: TD0015 chưa thể hiện độc tính trên nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn. Tác dụng chống viêm cấp: TD0015 liều 1,2g/kg chưa thể hiện rõ tác dụng chống viêm cấp ở chuột cống trắng trên mô hình gây phù chân chuột, chỉ có tác dụng ở thời điểm sau 24 giờ gây viêm, và có tác dụng chống viêm cấp khi nghiên cứu trên mô hình gây viêm màng bụng chuột. TD0015 liều 3,6g/kg có tác dụng chống viêm cấp rõ rệt ở chuột cống trắng trên mô hình gây phù chân chuột, thể hiện ở tất cả thời điểm và có tác dụng chống viêm cấp khi nghiên cứu trên mô hình gây viêm màng bụng chuột. TD0015 liều 2,4g/kg/ngày và liều 7,2g/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính trên mô hình gây viêm mạn ở chuột nhắt trắng. Về tác dụng giảm đau: TD0015 liều dùng 2,4g/kg/ngày và liều 7,2g/kg/ngày có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau bằng acid acetic và trên máy đo ngưỡng đau ở chuột nhắt trắng, không có tác dụng giảm đau khi nghiên cứu trên mô hình mâm nóng. Tác dụng điều trị thoái hóa khớp: TD0015 liều 3,6g/kg có tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối trên chuột cống thể hiện qua, tác dụng mạnh hơn liều 1,2g/kg [44].

## Chương 2

### CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Chất liệu nghiên cứu

Viên nang cứng TD.NQ thành phần gồm các dược liệu được kiểm định chất lượng theo tiêu chuẩn DĐVN V và sản xuất theo tiêu chuẩn cơ sở tại công ty cổ phần Sao Thái Dương.

**Bảng 2.1. Thành phần của viên nang cứng TD.NQ**

TT	Thành phần	Tên khoa học	Hàm lượng và Tỷ lệ	Tiêu chuẩn dược liệu
Mỗi viên nang cứng hỗn hợp thảo mộc tương đương khối lượng thảo mộc:				
1	Hoàng bá	<i>Cortex Phellodendri</i>	1,0g	Dược điển Việt nam V
2	Quy bản	<i>Plastrum Testudinis</i>	0,45g	
3	Sinh địa	<i>Radix Rehmannia glutinosae</i>	0,31g	
4	Bạch thược	<i>Radix Paeoniae lactiflorae</i>	0,30g	
5	Phục linh	<i>Poria</i>	0,21g	
6	Đỗ trọng	<i>Cortex Eucommiae</i>	0,21g	
7	Đương quy	<i>Radix Angenicae sinensis</i>	0,13g	
8	Đảng sâm	<i>Radix Codonopsis</i>	0,12g	
9	Phòng phong	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	0,10g	
10	Tâm gửi gạo	<i>Herba Loranthi</i>	0,10g	

11	Tần giao	<i>Radix Gentianae</i>	0,10g	
12	Ngưu tất	<i>Radix Archiranthis bidentatae</i>	0,10g	
13	Vỏ liễu	<i>Salix alba</i>	0,17g	Tiêu chuẩn cơ sở
14	Trần bì	<i>Pericarpium Citri reticulatae perettne</i>	0,08g	Dược điển Việt nam V
15	Đào nhân	<i>Semen Pruni</i>	0,08g	
16	Xuyên khung	<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>	0,06g	
17	Cam thảo	<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>	0,05g	
18	Độc hoạt	<i>Radix Angelicae pubescentis</i>	0,04g	
19	Quế chi	<i>Ramulus Cinamomi</i>	0,03g	
20	Tế tân	<i>Radix et Rhizoma Asari</i>	0,02g	
21	Cao xương		0,29g	Tiêu chuẩn cơ sở

Dạng bào chế: Viên nang cứng. Theo quy trình sản xuất tại phụ lục 3 với tỷ lệ chiết 1/6. Viên nang cứng TD.NQ chứa 3,95g dược liệu/viên tương đương 600mg bột thuốc/ viên ( theo tiêu chuẩn cơ sở :  $600\text{mg} \pm 10\%$  )

Liều dùng dự kiến trên người : 9 viên/ngày/người (tương đương 5400mg bột thuốc/ngày/người).

Tính trung bình một người 50kg, quy đổi ra liều tương đương trên chuột cống với hệ số quy đổi là 06 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột cống là :  $5400\text{mg} \div 50 \times 6 = 648\text{mg}$ .

Như vậy dự kiến Liều 1 (liều lâm sàng) 648mg bột thuốc/kg/ngày (tương đương 4,266g dược liệu/kg/ngày). Liều cao (liều 2) gấp 3 lần là 1944mg bột thuốc/kg/ngày (tương đương 12,798g dược liệu /kg/ngày) [45].

## 2.2. Đối tượng nghiên cứu

**Bảng 2.2. Đối tượng nghiên cứu**

<b>Đối tượng</b>	<b>Đặc điểm</b>
Chuột cống trắng chủng <i>Wistar</i> (Học viện Quân Y cung cấp).	Cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng $180 \pm 40$ g

Động vật được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống theo tiêu chuẩn tại phòng thí nghiệm 3 tuần trước khi nghiên cứu và trong suốt quá trình nghiên cứu tại bộ môn Dược Lý - Đại Học Y Hà Nội.

## 2.3. Hóa chất, thuốc, máy móc và thiết bị phục vụ nghiên cứu

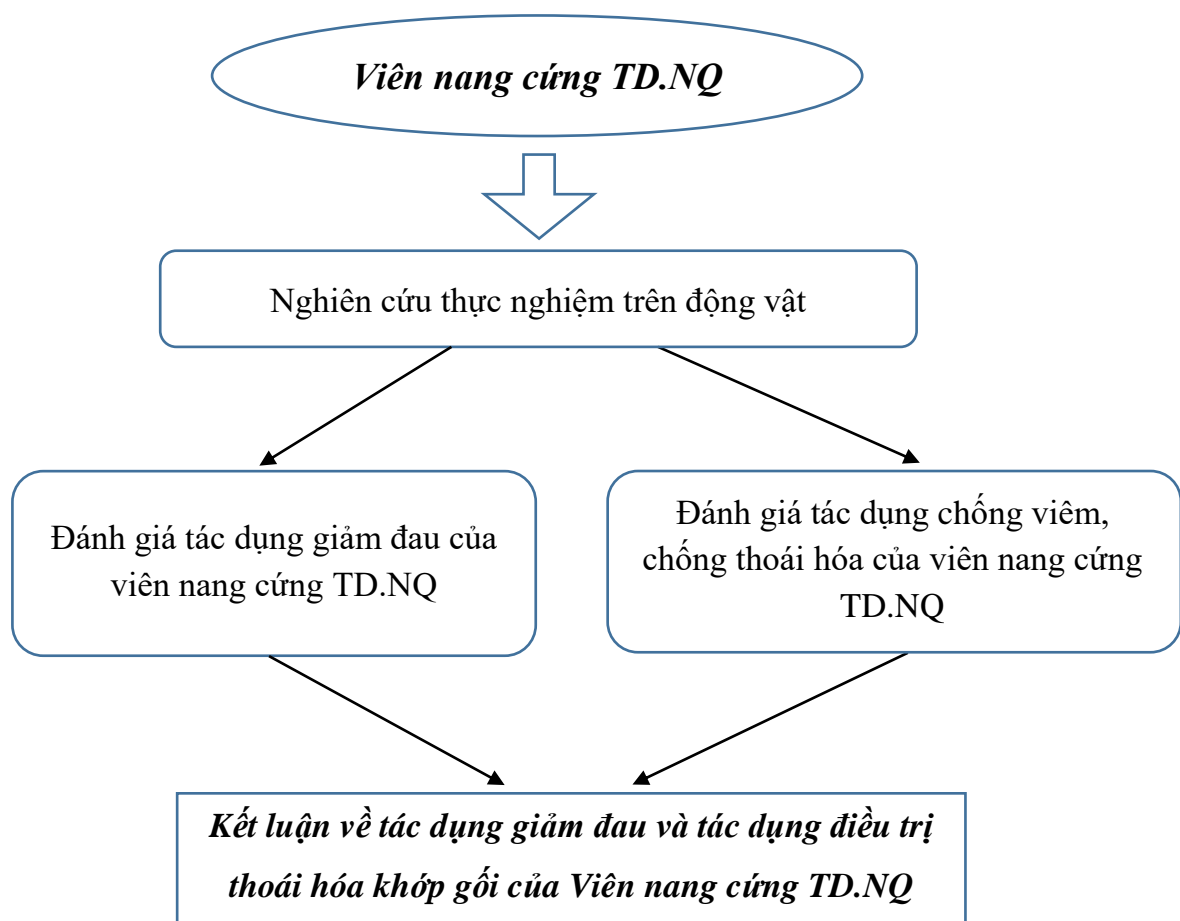
- Monosodium-iodoacetate lọ 25G do hãng *Sigma Aldrich* (Singapore) cung cấp
- Natri clorid 0,9% do hãng *Braun*, Việt Nam sản xuất
- Cồn 70 độ của hãng *HDPPharma* (Việt Nam)
- Dung dịch sát khuẩn Betadin của hãng *Mundipharma Pharmaceuticals Ltd.* (Síp)
- Kit TNF-alpha code SEA133RA dành cho chuột cống của hãng *Cloud Clone Corp.* (USA)
- Kit IL-1beta code SEA563RA dành cho chuột cống của hãng *Cloud Clone Corp.* - (USA)
- Các hoá chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.
- Hệ thống xét nghiệm ELISA của hãng *Biotek* (Mỹ)
- Máy đo phản ứng đau Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của hãng *Ugo Basile* (Ý)
- Thước điện tử đo độ dày (Độ chính xác: 0,02mm): MC 555 của hãng *Hangzhou tools and measuring tools Co., Ltd* (Trung Quốc)
- Máy đo áp lực khớp P.A.M pressure 38500 của *Ugo Basile* (Ý)

- Camera Canon Ixus 120IS (Nhật Bản)
- Phần mềm phân tích hình ảnh VLC media player.
- Kim chuyên dụng cho chuột nhắt/chuột cống uống thuốc
- Dụng cụ và vật liệu dùng cho phẫu thuật: kính lúp, dao mổ, kéo, panh, kim chỉ, bông, băng, gạc, bơm tiêm...

#### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

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

#### 2.5 Sơ đồ nghiên cứu



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ nghiên cứu

#### Đánh giá tác dụng giảm đau và điều trị THK của viên nang cứng TD.NQ

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con.

Lô 1 (chứng sinh học): tiêm vào khe khớp nước muối sinh lý, uống nước cất 1ml/100g chuột.

Lô 2 (mô hình): gây thoái hóa khớp bằng tiêm vào khe khớp MIA 3mg/khớp, uống nước cất 1ml/100g chuột.

Lô 3 (chứng dương): gây thoái hóa khớp bằng tiêm vào khe khớp MIA 3mg/khớp, uống diclofenac 3mg/kg

Lô 4 (thuốc thử): gây thoái hóa khớp bằng tiêm vào khe khớp MIA 3mg/khớp, uống TD.NQ liều 4,266g/kg/ngày

Lô 5 (thuốc thử): gây thoái hóa khớp bằng tiêm vào khe khớp MIA 3mg/khớp, uống TD.NQ liều 12,798g/kg/ngày

Tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu, chuột ở lô 2 đến lô 5 được gây mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm theo phương pháp của Kim và cộng sự [43], [44] bằng cách tiêm dung dịch MIA liều 3mg/khớp vào khớp gối bên phải của từng chuột. Riêng chuột lô chứng sinh học được tiêm nước muối sinh lý là dung môi pha thuốc vào khớp gối bên phải của từng chuột. Thể tích dung dịch tiêm vào khớp là 50 $\mu$ l/khớp.

Sau khi gây mô hình bằng tiêm MIA 3mg/khớp, các lô 1 và 2 được uống nước, lô 3 uống diclofenac liều 3mg/kg, lô 4 và 5 được uống TD.NQ liều 4,266g/kg/ngày và 12,798g/kg/ngày tương ứng. Các lô chuột uống thuốc và nước 1 lần/ngày trong 6 tuần liên tục. Thuốc thử được nghiền trong cối sứ, pha thuốc với nước cất trước khi cho chuột uống.

### **Các chỉ số đánh giá**

#### *Đường kính vùng khớp gối*

Đường kính vùng khớp gối được đo bằng thước điện tử chuyên dụng, tính đường kính lớn nhất đo được tại vùng khớp gối phải, đo vào các thời điểm: trước nghiên cứu, sau tiêm MIA và uống thuốc 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần. Chỉ số đánh giá là độ tăng đường kính vùng khớp gối ở mỗi thời điểm nghiên cứu so với trước nghiên cứu, đơn vị là milimet (mm) [46].

$$\Delta d = d_t - d_0$$

d: đường kính khớp gối (mm)

$\Delta d$ : độ tăng đường kính khớp gối giữa thời điểm t và trước nghiên cứu (mm)

*Tác dụng giảm đau của TD.NQ bằng máy đo ngưỡng đau*

Đo thời gian phản ứng với đau của chuột và lực gây đau đối với chuột (sử dụng máy Dynamic Plantar Aesthesiometer 37450 của Ugo Basile, thông qua thời gian và lực gây đau làm chuột nhấc chân khỏi kim Von Frey) tại vị trí gan chân sau, bên phải của chuột trước nghiên cứu, sau tiêm MIA và uống thuốc 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần, so sánh giữa các lô chuột với nhau. Từ đó đánh giá tác dụng giảm đau và khả năng vận động khớp gối phải của chuột [47].

*Tác dụng giảm đau của TD.NQ bằng máy đo áp lực đau tại khớp gối P.A.M pressure*

Đo lực gây đau tại vị trí khớp gối chân sau, bên phải (được tiêm MIA) của chuột ở các lô, sử dụng máy đo áp lực khớp P.A.M pressure 38500 của Ugo Basile ở các thời điểm trước nghiên cứu, sau tiêm MIA và uống thuốc 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần và so sánh giữa các lô chuột với nhau [48].

*Các chỉ số Interleukin*

Các Interleukin  $1\beta$  và TNF  $\alpha$  là các chỉ số đặc hiệu, tăng cao trong thoái hóa khớp, khi giảm được các chỉ số này nghĩa là làm chậm quá trình thoái hóa, cải thiện cấu trúc của sụn khớp. Các chỉ số này được định lượng trong huyết thanh của chuột ở thời điểm sau 6 tuần tiêm MIA [36], [49].

*Đánh giá mô bệnh học khớp gối*

Đánh giá ngẫu nhiên trên 30% số chuột ở các lô sau 6 tuần tiêm MIA và uống thuốc, chuột được gây mê và phẫu thuật tách khớp gối phải ra khỏi cơ thể, bảo quản trong dung dịch formaldehyd 10%, được đánh giá mức độ thoái hóa dựa theo bảng điểm của Kim Joon Ki trên tiêu bản giải phẫu mô bệnh học. Bao gồm các tiêu chí: Tổn thương xương dưới sụn, mất lớp



proteoglycan, có gai xương, tổn thương sụn, thoái hóa/hoại tử sụn, thâm nhiễm tế bào viêm trong mô hoạt dịch, tăng sinh tế bào hoạt dịch, độ dày màng hoạt dịch, hẹp khe khớp. Mỗi tiêu chí đánh giá (+) nhẹ, (++) trung bình, (+++) nặng [36].

Kết quả giải phẫu bệnh được đánh giá tại Bộ môn Giải phẫu bệnh – Trường Đại học Y Hà Nội.

## **2.6. Địa điểm và thời gian nghiên cứu**

Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 5 - tháng 10 năm 2023.

## **2.7. Xử lý số liệu**

Số liệu được nhập bằng phần mềm Excel 2019 và xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học, sử dụng phần mềm SPSS 20.0, biểu diễn dưới dạng  $X \pm SD$  (với số liệu phân bố chuẩn). Kiểm định các giá trị bằng t-test Student hoặc test trước-sau.

Quy ước: \*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ : p so với trước nghiên cứu

## **2.8. Sai số và không chế sai số**

Sai số các phương pháp thu thập số liệu.

Các phương pháp được áp dụng để hạn chế tối đa các sai số có thể xảy ra trong quá trình thu thập, phân tích và xử lý số liệu:

+ Động vật nghiên cứu được lựa chọn tương đối đồng đều, khỏe mạnh, không có dị tật hay dấu hiệu bất thường.

+ Thời gian thực hiện các bước thí nghiệm giữa các lô chuột là đồng nhất cùng một thời điểm.

+ Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm. Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.

+ Xử lý số liệu bằng phần mềm chuyên dụng trên máy tính.

## **2.9. Đạo đức trong nghiên cứu**

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột công trắng, số lượng động vật sử

dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

Những chuột chết trong quá trình làm thí nghiệm (nếu có) và số chuột sau khi thí nghiệm hoàn thành đều được xử lý theo đúng quy định.

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế” của Bộ Y tế.



(\*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$  so với trước can thiệp)

**Nhận xét:**

- Ở lô chứng sinh học:

+ Ở thời điểm sau 6 tuần tiêm MIA, lực gây đau tăng lên rõ rệt, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ).

- Ở lô uống diclofenac 3mg/kg:

+ Từ thời điểm sau 1 tuần đến sau 3 tuần tiêm MIA, lực gây đau không khác biệt so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

+ Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, lực gây đau không khác biệt so với chứng sinh học ( $p > 0,05$ ), lực gây đau giảm so với lô mô hình, đặc biệt là thời điểm 4 tuần và 6 tuần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg:

+ Thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA, lực gây đau không tăng so với lô mô hình.

+ Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, lực gây đau có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg:

+ Thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA, lực gây đau không tăng so với lô mô hình.

+ Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, lực gây đau có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.2. Ảnh hưởng của TD.NQ lên thời gian phản ứng với đau**

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng với đau (s)						
		Trước	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần	Sau 4 tuần	Sau 5 tuần	Sau 6 tuần
<b>Lô 1</b> (chứng sinh học)	10	21,55 ± 3,76	23,69 ± 2,15	19,64 ± 5,76	21,93 ± 7,44	19,62 ± 4,65	19,20 ± 5,68	19,38 ± 2,67
<b>Lô 2</b> Mô hình	10	23,41 ± 2,88	18,50 ± 3,84*	20,93 ± 2,39*	20,48 ± 4,05	21,68 ± 4,58	21,41 ± 5,25	23,03 ± 4,67
p <sub>2-1</sub>		> 0,05	<0,01	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
<b>Lô 3</b> Diclofenac 3mg/kg	10	23,31 ± 2,90	18,38 ± 4,38*	17,89 ± 5,46*	19,34 ± 6,29	16,55 ± 5,11**	19,15 ± 4,86*	18,58 ± 3,92*
p <sub>3-1</sub>		> 0,05	<0,01	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	>0,05
p <sub>3-2</sub>		> 0,05	>0,05	>0,05	>0,05	< 0,05	> 0,05	<0,05
<b>Lô 4</b> TD.NQ 4,266g/kg	10	20,23 ± 5,19	16,22 ± 4,93*	19,96 ± 2,83	17,15 ± 3,07	17,30 ± 5,65	20,07 ± 5,81	19,64 ± 5,09
p <sub>4-1</sub>		> 0,05	<0,001	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	>0,05
p <sub>4-2</sub>		> 0,05	> 0,05	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	>0,05
p <sub>4-3</sub>		> 0,05	> 0,05	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	>0,05
<b>Lô 5</b> TD.NQ 12,798g/kg	10	19,61 ± 5,12	17,18 ± 5,65	17,48 ± 5,50	18,85 ± 6,54	18,69 ± 6,42	16,81 ± 5,15	21,01 ± 6,01
p <sub>5-1</sub>		> 0,05	< 0,05	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	>0,05
p <sub>5-2</sub>		> 0,05	> 0,05	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	>0,05
p <sub>5-3</sub>		> 0,05	> 0,05	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	>0,05
p <sub>5-4</sub>		> 0,05	> 0,05	>0,05	>0,05	> 0,05	> 0,05	>0,05

(\*: p < 0,05; \*\*: p < 0,01; \*\*\*: p < 0,001 so với trước can thiệp)

**Nhận xét:**

- Ở lô chứng sinh học, thời gian chuột nhấc chân khỏi kim Von Frey không có sự khác biệt tại tất cả các thời điểm so với trước nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

- Ở lô mô hình:

+ Thời điểm sau tiêm MIA 1 tuần, thời gian phản ứng với đau giảm rõ với trước nghiên cứu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), giảm so với chứng sinh học ( $p < 0,01$ )

+ Ở thời điểm sau 4 đến 6 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng với đau tăng lên so với chứng sinh học. Lực gây đau ở thời điểm 6 tuần tăng cao có ý nghĩa thống kê so với so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ).

- Ở lô uống diclofenac 3mg/kg:

+ Từ thời điểm sau 1 tuần đến sau 3 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng với đau không khác biệt so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ).

+ Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 tuần đến 6 tuần, thời gian phản ứng với đau giảm so với lô mô hình, rõ nhất ở thời điểm 4 tuần và 6 tuần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg:

+ Thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng đau không tăng so với lô mô hình.

+ Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, thời gian phản ứng với đau có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

- Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg:

+ Thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng với đau không tăng so với lô mô hình.

+ Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, thời gian phản ứng với đau có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

### 3.1.2. Lực gây đau tại khớp gối

**Bảng 3.3. Ảnh hưởng của TD.NQ lên lực gây đau tại khớp gối**

Lô chuột	n	Lực gây đau tại khớp gối (g)						
		Trước	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần	Sau 4 tuần	Sau 5 tuần	Sau 6 tuần
<b>Lô 1</b> (chứng sinh học)	10	1442,67 ± 311,55	1531,33 ± 248,49	1403,94 ± 153,99	1411,61 ± 204,84	1294,96 ± 296,55	1295,03 ± 312,28	1356,79 ± 369,27
<b>Lô 2</b> (MIA 3mg/khớp)	10	1553,00 ± 263,76	604,76 ± 199,13 ***	780,26 ± 212,98 ***	572,33 ± 167,54 ***	769,25 ± 107,46 ***	660,85 ± 162,37 ***	818,44 ± 202,65 ***
p <sub>2-1</sub>		> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
<b>Lô 3</b> Diclofenac 3mg/kg	10	1564,57 ± 182,44	865,46 ± 199,34 ***	992,20 ± 168,82 ***	1260,34 ± 192,37 ***	962,42 ± 200,27 ***	1211,55 ± 182,20 **	1057,26 ± 225,68 ***
p <sub>3-1</sub>		> 0,05	< 0,001	< 0,001	> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,05
p <sub>3-2</sub>		> 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,05
<b>Lô 4</b> NQ 4,266g/kg	10	1472,99 ± 211,91	837,36 ± 256,92 ***	787,88 ± 245,22 ***	850,25 ± 266,69 ***	1016,29 ± 259,54 ***	935,94 ± 216,96 ***	915,07 ± 280,24 ***
p <sub>4-1</sub>		> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,05	< 0,01	< 0,01
p <sub>4-2</sub>		> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,01	> 0,05
p <sub>4-3</sub>		> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,01	> 0,05
<b>Lô 5</b> NQ 12,798g/kg	10	1538,79 ± 185,14	819,87 ± 239,23	1207,40 ± 331,74	1051,77 ± 263,89	946,29 ± 284,89	1127,33 ± 378,39	876,49 ± 197,95

Lô chuột	n	Lực gây đau tại khớp gối (g)						
		Trước	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần	Sau 4 tuần	Sau 5 tuần	Sau 6 tuần
			***	**	***	***	*	***
p <sub>5-1</sub>		> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,01	< 0,05	> 0,05	< 0,01
p <sub>5-2</sub>		> 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,001	> 0,05	< 0,01	> 0,05
p <sub>5-3</sub>		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05
p <sub>5-4</sub>		> 0,05	> 0,05	< 0,01	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

(\*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$  so với trước can thiệp)

#### Nhận xét:

- Ở lô chứng sinh học, lực gây đau tại khớp gối của chuột không có sự khác biệt tại tất cả các thời điểm so với trước nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).
- Ở lô mô hình, ở tất cả các thời điểm sau khi tiêm MIA, lực gây đau tại khớp gối chuột đều giảm rõ rệt so với trước nghiên cứu và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ).
- Ở lô uống diclofenac 3mg/kg, lực gây đau khớp gối tại tất cả các thời điểm sau tiêm MIA đều tăng rõ so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ )
- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, lực gây đau khớp gối tại tất cả các thời điểm sau tiêm MIA tăng so với mô hình, đặc biệt ở các thời điểm sau 1, 3, 4 và 5 tuần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ). Tác dụng này kém hơn diclofenac 3mg/kg.
- Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, lực gây đau khớp gối tại tất cả các thời điểm sau tiêm MIA tăng so với mô hình, đặc biệt ở thời điểm sau 1 tuần, 2, 3 và 5 tuần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ). Tác dụng này kém hơn diclofenac 3mg/kg.



### 3.2. Đánh giá tác dụng chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của viên nang cứng TD.NQ trên thực nghiệm

**Bảng 3.4. Ảnh hưởng của TD.NQ lên đường kính vùng khớp gối chuột cống**

Lô chuột	n	Độ tăng đường kính vùng khớp gối theo thời gian (mm)					
		Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần	Sau 4 tuần	Sau 5 tuần	Sau 6 tuần
<b>Lô 1</b> (chứng sinh học)	10	0,37 ± 0,1	0,32 ± 0,07	0,36 ± 0,12	0,39 ± 0,13	0,47 ± 0,13	0,41 ± 0,13
<b>Lô 2</b> Mô hình	10	1,03 ± 0,35	0,90 ± 0,25	1,03 ± 0,25	1,09 ± 0,34	1,14 ± 0,35	0,99 ± 0,30
p <sub>2-1</sub>		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>Lô 3 Diclofenac</b> 3mg/kg	10	0,74 ± 0,20	0,67 ± 0,20	0,79 ± 0,22	0,60 ± 0,20	0,51 ± 0,16	0,66 ± 0,22
p <sub>3-1</sub>		<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	>0,05	<0,01
p <sub>3-2</sub>		<0,01	<0,05	<0,05	<0,01	<0,001	<0,01
<b>Lô 4</b> NQ 4,266g/kg	10	1,02 ± 0,25	1,13 ± 0,40	1,04 ± 0,36	1,03 ± 0,17	0,97 ± 0,29	0,90 ± 0,29
p <sub>4-1</sub>		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p <sub>4-2</sub>		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
p <sub>4-3</sub>		<0,05	<0,01	>0,05	<0,001	<0,001	<0,05
<b>Lô 5</b> NQ 12,798g/kg	10	0,71 ± 0,21	0,69 ± 0,23	0,70 ± 0,17	0,77 ± 0,26	0,71 ± 0,19	0,75 ± 0,24
p <sub>5-1</sub>		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,01
p <sub>5-2</sub>		<0,05	>0,05	<0,01	<0,05	<0,01	>0,05
p <sub>5-3</sub>		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
p <sub>5-4</sub>		<0,01	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05

(\*: p < 0,05; \*\*: p < 0,01; \*\*\*: p < 0,001 so với trước can thiệp)

**Nhận xét:**

- Độ tăng đường kính vùng khớp gối của chuột ở các lô được tiêm MIA gây thoái hóa khớp, đặc biệt là lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học (chỉ tiêm nước muối sinh lý), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$  và  $p < 0,05$ ).
- Ở lô uống diclofenac 3mg/kg, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột giảm rõ rệt so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm nghiên cứu ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ ).
- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột không giảm so với lô mô hình ở thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA. Đến thời điểm sau 4 đến 6 tuần, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).
- Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột giảm so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm, đặc biệt ở thời điểm sau 1, sau 3, 4 và sau 5 tuần ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ). Tác dụng này kém hơn so với diclofenac 3mg/kg.

**Bảng 3.5. Ảnh hưởng của TD.NQ lên nồng độ Interleukin-1 $\beta$  trong máu chuột cống**

<b>Lô thí nghiệm (n = 10)</b>	<b>Interleukin-1<math>\beta</math> (pg/ml)</b>
<b>Lô 1:</b> Chứng sinh học	4,80 $\pm$ 1,49
<b>Lô 2:</b> Mô hình (MIA 3mg/khớp)	6,55 $\pm$ 1,85
<b>p<sub>2-1</sub></b>	<b>&lt; 0,05</b>
<b>Lô 3:</b> Diclofenac 3mg/kg	4,29 $\pm$ 1,00
p <sub>3-1</sub>	> 0,05
<b>p<sub>3-2</sub></b>	<b>&lt; 0,01</b>
<b>Lô 4:</b> TD.NQ 4,266 g/kg	3,21 $\pm$ 0,83
<b>p<sub>4-1</sub></b>	<b>&lt; 0,01</b>
<b>p<sub>4-2</sub></b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>p<sub>4-3</sub></b>	<b>&lt; 0,05</b>
<b>Lô 5:</b> TD. NQ 12,798 g/kg	3,97 $\pm$ 1,09
p <sub>5-1</sub>	> 0,05
<b>p<sub>5-2</sub></b>	<b>&lt; 0,01</b>
p <sub>5-3</sub>	> 0,05

**Nhận xét:** Sau 6 tuần tiêm MIA:

- Ở lô mô hình, nồng độ interleukin-1 $\beta$  tăng cao rõ rệt so với chứng sinh học ( $p < 0,05$ ).
- Ở lô uống diclofenac 3mg/kg, nồng độ interleukin-1 $\beta$  giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,01$ ), không khác biệt so với chứng sinh học ( $p > 0,05$ ).
- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, nồng độ interleukin-1 $\beta$  giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,001$ ), giảm rõ so với chứng sinh học ( $p < 0,01$ ) và so với diclofenac 3mg/kg ( $p < 0,05$ ).
- Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, nồng độ interleukin-1 $\beta$  giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,01$ ), không khác biệt so với chứng sinh học và so với diclofenac 3mg/kg ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.6. Ảnh hưởng của TD.NQ lên nồng độ TNF- $\alpha$  trong máu chuột cống**

<b>Lô thí nghiệm (n = 10)</b>	<b>TNF- <math>\alpha</math> (pg/ml)</b>
<b>Lô 1:</b> Chứng sinh học	23,29 $\pm$ 5,80
<b>Lô 2:</b> Mô hình (MIA 3mg/khớp)	38,27 $\pm$ 12,33
<b>p<sub>2-1</sub></b>	<b>&lt; 0,01</b>
<b>Lô 3:</b> Diclofenac 3mg/kg	20,06 $\pm$ 5,74
<b>p<sub>3-1</sub></b>	> 0,05
<b>p<sub>3-2</sub></b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Lô 4:</b> TD.NQ 4,266 g/kg	25,24 $\pm$ 8,25
<b>p<sub>4-1</sub></b>	> 0,05
<b>p<sub>4-2</sub></b>	<b>&lt; 0,05</b>
<b>p<sub>4-3</sub></b>	> 0,05
<b>Lô 5:</b> TD. NQ 12,798 g/kg	26,62 $\pm$ 8,46
<b>p<sub>5-1</sub></b>	> 0,05
<b>p<sub>5-2</sub></b>	<b>&lt; 0,05</b>
<b>p<sub>5-3</sub></b>	> 0,05

**Nhận xét:**

- Sau 6 tuần tiêm MIA:

+ Ở lô mô hình, nồng độ TNF- $\alpha$  tăng cao rõ rệt so với chứng sinh học ( $p < 0,01$ ).

- Ở lô uống diclofenac 3mg/kg, nồng độ TNF- $\alpha$  giảm rõ so với lô mô hình ( $p < 0,001$ ), không khác biệt so với chứng sinh học ( $p > 0,05$ ).

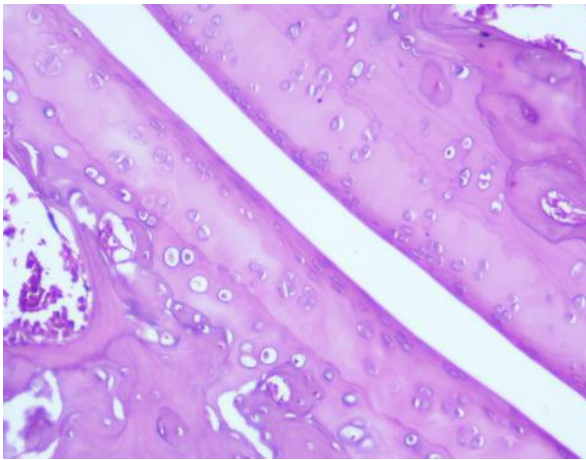
- Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg, nồng độ TNF- $\alpha$  giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ), không khác biệt so với chứng sinh học và diclofenac 3mg/kg ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.7. Bảng điểm tổn thương mô bệnh học khớp gối**

Tiêu chí	Mức độ	Số mẫu tổn thương trong từng lô										
		Chứng		Mô hình		Diclofenac		TD.NQ liều 4,266g/kg		TD.NQ liều 12,798g/kg		
			Tổng		Tổng		Tổng		Tổng		Tổng	
Tổn thương xương dưới sụn	+	0/3		0/3		2/3		1/3		2/3		
	++	0/3	0	3/3	6	1/3	4	2/3	5	1/3	4	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
Mất lớp proteoglycan	+	0/3		0/3		0/3		2/3		2/3		
	++	0/3	0	3/3	6	3/3	6	1/3	4	1/3	4	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
Có gai xương	+	0/3		0/3		1/3		2/3		2/3		
	++	0/3	0	3/3	6	2/3	5	1/3	4	1/3	4	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
Tổn thương sụn	+	0/3		0/3		1/3		2/3		2/3		
	++	0/3	0	3/3	6	2/3	5	1/3	4	1/3	4	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
Thoái hóa/hoại tử sụn	+	0/3		0/3		2/3		3/3		2/3		
	++	0/3	0	3/3	6	1/3	4	0/3	3	1/3	4	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
Thâm nhiễm tế bào viêm trong mô hoạt dịch	+	0/3		2/3		3/3		3/3		3/3		
	++	0/3	0	1/3	4	0/3	3	0/3	3	0/3	3	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
Tăng sinh tế bào hoạt dịch	+	0/3		1/3		1/3		1/3		1/3		
	++	0/3	0	2/3	5	2/3	5	2/3	5	2/3	5	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
Độ dày màng hoạt dịch	+	0/3		1/3		3/3		1/3		2/3		
	++	0/3	0	2/3	5	0/3	3	2/3	5	1/3	4	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
Hẹp khe khớp	+	0/3		0/3		1/3		2/3		3/3		
	++	0/3	0	3/3	6	2/3	5	1/3	3	0/3	3	
	+++	0/3		0/3		0/3		0/3		0/3		
<b>Tổng</b>				<b>0</b>		<b>50</b>		<b>40</b>		<b>36</b>		<b>35</b>

**Nhận xét:**

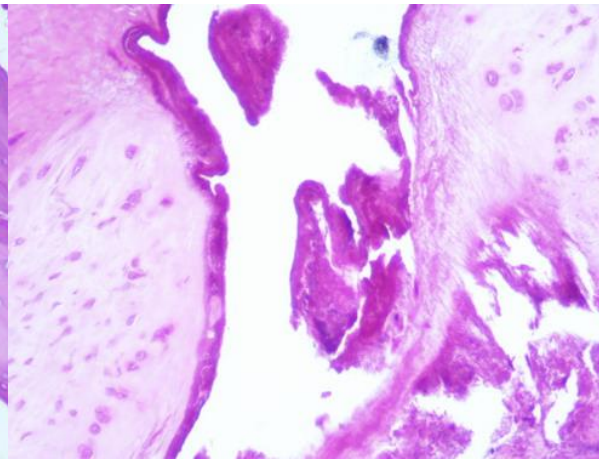
Lô chúng không có tổn thương trên mô bệnh học khớp gối. Ở lô mô hình tỷ lệ tổn thương thoái hóa khớp mức độ trung bình chiếm đa số, tổng số mẫu tổn thương là 50. Lô Diclofenac đa số tổn thương thoái hóa khớp mức độ nhẹ và trung bình. Ở lô TD.NQ liều 4,266g/kg và liều 12,798g/kg tỷ lệ tổn thương thoái khớp mức độ nhẹ chiếm đa số, tổng số mẫu tổn thương lần lượt là 36 mẫu ở lô TD.NQ liều 4,266g/kg và 35 mẫu ở lô TD.NQ liều 12,798g/kg.



**Hình 3.1. Lô chứng sinh học**

**(chuột số 1) (HE  
x 100)**

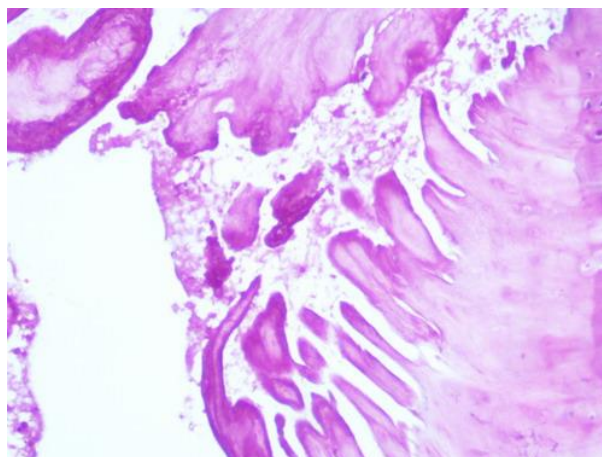
Sụn khớp bình thường



**Hình 3.2. Lô mô hình**

**(chuột số 11) (HE  
x 100)**

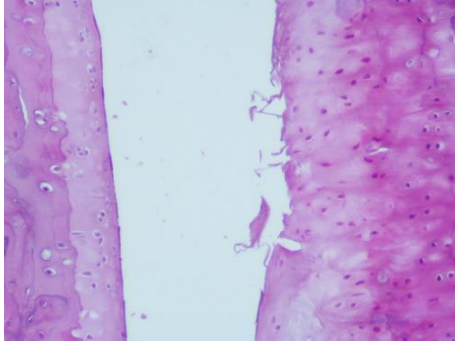
Sụn khớp thoái hóa, hoại tử, có gai xương



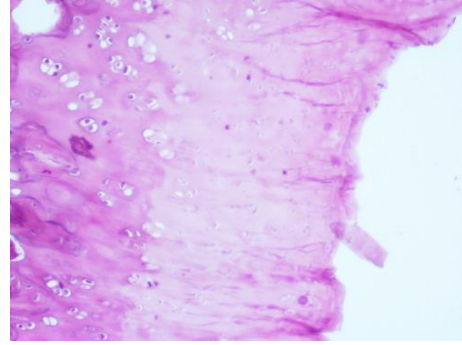
**Hình 3.3. Lô mô hình**

**(chuột số 12) (HE x 100)**

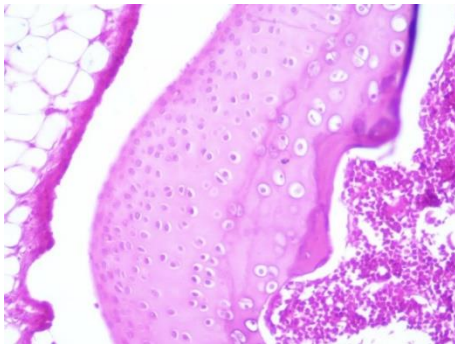
Sụn khớp thoái hóa hoại tử



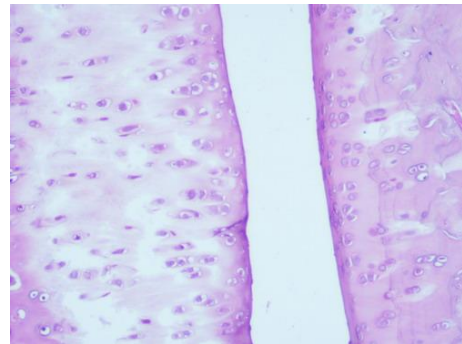
**Hình 3.4. Lô uồng diclofenac 3mg/kg (chuột số 19) (HE x 100)**  
Sụn khớp thoái hóa, bề mặt sụn tổn thương mức độ nhẹ



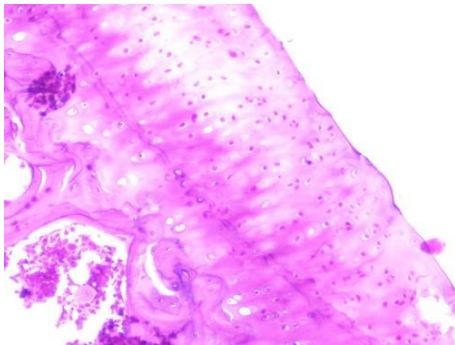
**Hình 3.5. Lô uồng diclofenac 3mg/kg (chuột số 22) (HE x 100)**  
Sụn khớp thoái hóa, bề mặt nhám nhờ



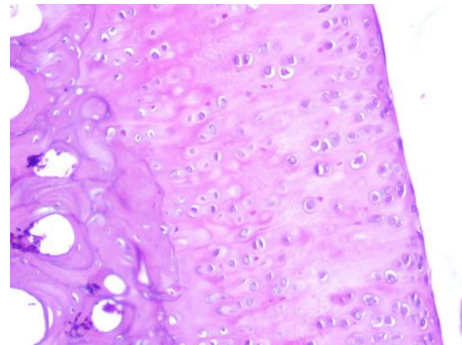
**Hình 3.6. Lô uồng TD.NQ 4,266g/kg (chuột số 85) (HE x 100)**  
Sụn khớp thoái hóa, thay đổi xương dưới sụn rõ, sụn tăng sinh mức độ vừa



**Hình 3.7. Lô uồng TD.NQ 4,266g/kg (chuột số 89) (HE x 100)**  
Sụn khớp thoái hóa mức độ nhẹ, sụn tăng sinh, bề mặt sụn nhẵn.



**Hình 3.8. Lô uồng TD.NQ 12,798g/kg (chuột số 72) (HE x 100)**  
Sụn khớp thoái hóa, khe khớp không đều, có chồi xương



**Hình 3.9. Lô uồng TD.NQ 12,798g/kg (chuột số 76) (HE x 100)**  
Sụn khớp thoái hóa, tế bào sụn giảm, bề mặt nhẵn

## **Chương 4**

### **BÀN LUẬN**

Viên nang cứng TD.NQ gồm 21 vị thuốc: Hoàng bá, Sinh địa, Đào nhân, Bạch thược, Quy bản, Phục linh, Đỗ trọng, Đương quy, Đảng sâm, Phòng phong, Tâm gửi gạo, Tần giao, Ngưu tất, Trần bì, Xuyên khung, Cam thảo, Độc hoạt, Quế chi, Tế tân, Võ liễn, cao xương phối hợp nhằm đạt tác dụng chính là khu phong, trừ thấp, thanh nhiệt, thông kinh hoạt lạc, bổ can thận; được chỉ định trong chứng Tý thể Phong thấp nhiệt kèm Can thận hư. Trong thành phần bài thuốc có những vị thuốc được chứng minh có hiệu quả trên các bệnh nhân có bệnh lý viêm khớp và thoái hóa khớp do có tác dụng trừ phong thấp, bổ khí huyết, ích can thận, chỉ thống tý. Theo YHHĐ, THK gỏi là sự tổn thương các cấu trúc tại khớp, gồm hai triệu chứng chính là viêm và đau. Thuốc điều trị THK gỏi hiện nay chủ yếu làm giảm đau, chống viêm và ức chế sự phá hủy sụn khớp. Các dược liệu hoặc phối hợp dược liệu có trong viên nang cứng TD.NQ được chứng minh có tác dụng giảm đau, chống viêm, ức chế phá hủy đồng thời tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen, có hiệu quả trong điều trị thoái hóa khớp. Viên nang đã được kiểm nghiệm đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn cơ sở và được sản xuất bởi Công ty Cổ phần Sao Thái Dương.

Liều dự kiến dùng trên người của viên nang cứng TD.NQ là 9 viên/ngày/người (tương đương 35,55g dược liệu/ngày/người). Tính trung bình một người 50kg, quy đổi ra liều tương đương trên chuột cống với hệ số quy đổi là 06 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột cống (Liều 1) là 4,266g dược liệu/kg/ngày (tương đương với liều lâm sàng). Liều cao (Liều 2) gấp 3 lần là 12,798g dược liệu/kg/ngày. Đây là cơ sở để tính liều dùng trên động vật thực nghiệm trong nghiên cứu này.



#### **4.1. Tác dụng giảm đau của viên nang cứng TD.NQ trên thực nghiệm**

Mô hình gây THK gối thực nghiệm bằng MIA (monosodium - iodoacetate) lần đầu được tiến hành tại Việt Nam, dùng chất chuyển hóa MIA tiêm vào khớp gối của chuột có tác dụng ức chế hoạt tính của glyceraldehyde - 3 - phosphatedehydrogenase ở sụn khớp, dẫn đến sự gián đoạn quá trình chuyển hóa năng lượng từ thủy phân đường, các quá trình tổng hợp và thậm chí là sự chết tế bào, gây ra sự tăng sinh hoạt dịch và xâm nhập tế bào viêm lặp đi lặp lại nhiều lần, từ đó làm mất dần lớp sụn khớp và tổn thương cấu trúc dưới sụn, tạo ra tình trạng bệnh tương tự thoái hóa khớp trên lâm sàng [35]. Mức độ nặng của khớp viêm phụ thuộc vào nồng độ và thời gian tiêm MIA, nhiều nghiên cứu đã chứng minh MIA liều 3mg/khớp tiêm 1 lần có hiệu quả nhất trong việc gây mô hình thoái hóa khớp để tiến hành thực nghiệm [50]. Trong nghiên cứu này đã sử dụng chuột cống trắng chủng Wistar làm đối tượng gây thoái hóa khớp gối, nghiên cứu đánh giá chủ yếu dựa vào các yếu tố: đánh giá triệu chứng đau, viêm; định lượng các cytokin đặc hiệu trong thoái hóa khớp; đánh giá tổn thương giải phẫu bệnh khớp.

Đau là triệu chứng của thoái hóa khớp gối. Triệu chứng đau gây ảnh hưởng tới chất lượng cuộc sống của người bệnh, do vậy giảm đau là một trong những mục tiêu điều trị THK gối. Trong mô hình thoái hóa khớp gối, đau được lượng giá ngay tại khớp gối tiêm MIA. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng hai phương pháp để đánh giá tác dụng giảm đau của viên nang cứng TD.NQ bao gồm gây đau bằng máy đo ngưỡng đau và bằng máy đo áp lực đau tại khớp gối P.A.M pressure.

Diclofenac được dùng làm thuốc chứng dương, là một NSAID thuộc họ axit phenylacetic. Diclofenac ức chế hoạt động của cyclooxygenase-1 (COX-1) và cyclooxygenase-2 (COX-2) bằng cách ức chế tổng hợp các prostanoid như prostaglandin-E2 (PGE2), prostacyclin và thromboxan, là những thành phần thiết yếu phản ứng viêm và phản ứng cảm thụ. Tác dụng ức chế COX-2

của Diclofenac hầu như xảy ra ở vị trí của các mô đích như bao hoạt dịch tại khớp. Diclofenac có tác dụng giảm đau ngoại vi do làm giảm các thụ thể đau ngoại vi nhạy cảm thông qua cơ chế điều chỉnh giảm, bằng cách kích thích con đường cGMP L-arginine nitric oxide thông qua kích hoạt các kênh kali nhạy cảm với ATP. Ngoài ra, bằng chứng cho thấy rằng Diclofenac cũng có hoạt tính trong việc làm giảm mức độ tăng trước đó của chất P, một loại neuropeptide gây viêm được biết đến với hoạt tính cảm thụ trong dịch khớp của bệnh nhân viêm khớp dạng thấp và thoái hóa khớp.

#### ***4.1.1. Tác dụng giảm đau của TD.NQ trên mô hình gây đau bằng máy đo ngưỡng đau***

##### ***4.1.1.1. Ảnh hưởng lên lực gây đau***

Phương pháp được thực hiện bằng cách đo thời gian phản ứng với đau của chuột và lực gây đau đối với chuột, thông qua thời gian và lực gây đau làm chuột nhấc chân khỏi kim Von Frey tại vị trí gan chân sau, bên phải của chuột. Từ đó đánh giá tác dụng giảm đau và khả năng vận động khớp gối phải của chuột. Có nhiều nguyên nhân gây hạn chế vận động khớp, trong thoái hóa phần lớn là do viêm, đau và tổn thương sụn dẫn đến các cử động khó khăn. Trên thế giới, việc đánh giá khả năng vận động của động vật thực nghiệm sử dụng những loại máy rất hiện đại, như hệ thống máy phân tích dáng đi, đánh giá khả năng phối hợp vận động và chịu lực lên hai chân sau ở động vật. Điều kiện kỹ thuật tại Việt Nam chưa cho phép nên nhóm nghiên cứu đã áp dụng phương pháp đánh giá khả năng vận động của chuột trên máy rê kim thông qua phản xạ chuột rút chân khỏi kim Von Frey.

Kết quả nghiên cứu qua Bảng 3.1 cho thấy: Ở lô chứng sinh học, lực gây đau làm chuột nhấc chân khỏi kim Von Frey không có sự khác biệt tại tất cả các thời điểm so với trước nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

Lô mô hình tại thời điểm sau tiêm MIA 1 tuần, lực gây đau là  $29,54 \pm 8,38\text{g}$  giảm so với trước nghiên cứu ( $p < 0,05$ ) và giảm so với lô chứng sinh học ( $p < 0,01$ ). Có thể lý giải kết quả này do tại thời điểm sau 1 tuần, khớp gối phải của chuột trong giai đoạn viêm đỉnh điểm nên chuột rất nhạy cảm với các lực tác động, chỉ cần một lực nhỏ cũng đủ để chuột phản ứng. Ở thời điểm sau 2 đến 5 tuần tiêm MIA, lực gây đau tăng lên, không có sự khác biệt so với lô chứng sinh học ( $p > 0,05$ ). Thời điểm sau tiêm MIA 6 tuần, lực gây đau tăng lên rõ rệt do khớp gối của chuột bị tổn thương thoái hóa, làm chậm hoạt động nhắc chân khỏi kim Von Frey, vì vậy làm lực tác động tăng lên. Lực gây đau ở thời điểm này tăng cao có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ).

Lô uống Diclofenac 3mg/kg: lực gây đau giảm so với trước can thiệp, có ý nghĩa thống kê ở các thời điểm sau 1 tuần, 2, 4, 6 tuần với  $p < 0,05$  và 5 tuần với  $p < 0,01$ . Từ thời điểm sau 1 tuần đến sau 3 tuần tiêm MIA, lực gây đau không khác biệt so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ). Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, lực gây đau giảm so với lô mô hình và không khác biệt so với chứng sinh học ( $p > 0,05$ ). Tại thời điểm 4 tuần sau tiêm MIA, lực gây đau là  $28,43 \pm 8,96\text{g}$  thấp hơn lô mô hình là  $37,16 \pm 7,98\text{g}$ ; tại thời điểm 6 tuần lực gây đau là  $29,29 \pm 7,03\text{g}$  thấp hơn lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Như vậy, ở lô uống Diclofenac lực gây đau giảm so với lô mô hình cho thấy hiệu quả giảm đau và sự cải thiện hạn chế hoạt động khớp gối của chuột.

Lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg lực gây đau sau 1 tuần tiêm MIA giảm có ý nghĩa thống kê so với trước can thiệp (với  $p < 0,05$ ). Tại thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA, lực gây đau không tăng so với lô mô hình với  $p > 0,05$ . Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, lực gây đau có xu hướng giảm so với lô mô hình. Sau 4 tuần, lực gây đau ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg là  $29,90 \pm 8,31\text{g}$  không khác biệt so với lô uống Diclofenac là  $28,43 \pm 8,96\text{g}$

với  $p > 0,05$ . Kết quả thấp hơn so với lô mô hình là  $36,13 \pm 9,06g$ , tuy nhiên sự khác biệt là không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Tại thời điểm sau 6 tuần, lực gây đau ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg là  $34,19 \pm 5,09g$  không khác biệt so với lô Diclofenac ( $p > 0,05$ ). Kết quả thấp hơn lô mô hình là  $37,65 \pm 6,86g$ , tuy nhiên sự khác biệt là không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Như vậy, lực gây đau có xu hướng thấp hơn lô mô hình từ thời điểm sau 4 đến 6 tuần, cho thấy Lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg bước đầu có hiệu quả giảm đau và giảm hạn chế vận động khớp gối của chuột, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê.

Lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg lực gây đau từ thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA không khác biệt so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ). Tại thời điểm sau tiêm MIA 4 tuần, lực gây đau là  $31,28 \pm 10,61g$  thấp hơn lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Ở thời điểm sau tiêm MIA 5 tuần và 6 tuần, lực gây đau lần lượt là  $28,12 \pm 8,50g$  và  $32,84 \pm 9,64g$  thấp hơn so với lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg ( $30,68 \pm 8,63g$  và  $34,19 \pm 5,09g$ ) với  $p > 0,05$ . Kết quả lực gây đau trong Lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô sử dụng Diclofenac.

Như vậy, viên nang cứng TD.NQ ở cả 2 liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg có xu hướng giảm lực gây đau so với lô mô hình từ thời điểm sau 4 đến 6 tuần tiêm MIA so với lô mô hình, từ đó cho thấy bước đầu có hiệu quả giảm đau và giảm hạn chế vận động khớp gối của chuột, tuy nhiên kết quả chưa rõ rệt.

#### *4.1.1.2. Ảnh hưởng đến thời gian phản ứng với đau*

Quá trình theo dõi chuột cống được tiêm MIA và uống thuốc liên tục trong 6 tuần, kết quả nghiên cứu thu được qua Bảng 3.2 như sau: lô chứng sinh học, thời gian chuột nhấc chân khỏi kim Von Frey không có sự khác biệt tại tất cả các thời điểm so với trước nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

Lô mô hình tại thời điểm sau tiêm MIA 1 tuần, thời gian phản ứng với

đau giảm rõ với trước nghiên cứu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), giảm so với chứng sinh học ( $p < 0,01$ ). Sau tiêm MIA 1 tuần, khớp gối phải của chuột trong giai đoạn viêm cấp nên chuột rất nhạy cảm với các lực tác động, chỉ cần một lực nhỏ cũng đủ để chuột phản ứng, thời gian phản ứng sẽ rất nhanh. Ở thời điểm sau 4 đến 6 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng với đau tăng so với lô chứng sinh học. Tại thời điểm sau 6 tuần, thời gian phản ứng với đau ở lô mô hình là  $23,03 \pm 4,67s$  cao hơn lô chứng sinh học  $19,38 \pm 2,67s$ , có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Tại thời điểm này, khớp gối của chuột bị tổn thương thoái hóa, làm chậm hoạt động nhắc chân khỏi kim Von Frey.

Lô uống Diclofenac 3mg/kg thời gian phản ứng với đau thấp hơn so với trước can thiệp, có ý nghĩa thống kê tại thời điểm sau tiêm MIA 1 tuần, 2, 5, 6 tuần với  $p < 0,05$  và sau 4 tuần với  $p < 0,01$ . Thời điểm từ sau 1 tuần đến sau 3 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng với đau khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p > 0,05$ ). Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 tuần đến 6 tuần, thời gian phản ứng với đau giảm so với lô mô hình, rõ nhất ở thời điểm 4 tuần và 6 tuần, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), cho thấy sự hạn chế hoạt động khớp gối của chuột được giảm đáng kể. Diclofenac có tác dụng giảm đau ngoại vi do vậy làm giảm hạn chế hoạt động khớp gối của chuột.

Lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg tại thời điểm sau 1 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng đau giảm so với trước can thiệp với  $p < 0,05$ . Tại thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng đau không khác biệt so với lô mô hình. Ở thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, thời gian phản ứng với đau giảm so với lô mô hình. Sau 4 tuần, thời gian phản ứng đau là  $17,30 \pm 5,65s$  không khác biệt so với lô Diclofenac là  $16,55 \pm 5,11s$  với  $p > 0,05$ . So sánh với lô mô hình, lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg có thời gian phản ứng đau thấp hơn ( $21,68 \pm 4,58s$ ), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống

kê ( $p > 0,05$ ). Tại thời điểm sau 6 tuần, thời gian phản ứng đau là  $19,64 \pm 5,09s$  không khác biệt so với lô mô hình là  $23,03 \pm 4,67s$ , với  $p > 0,05$ .

Lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng với đau không tăng so với lô mô hình. Thời điểm sau tiêm MIA 4 đến 6 tuần, thời gian phản ứng với đau có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô sử dụng Diclofenac với  $p > 0,05$ . Sau 6 tuần tiêm MIA, thời gian phản ứng đau ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg là  $21,01 \pm 6,01s$  tương đồng so với lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg là  $19,64 \pm 5,09s$  với  $p > 0,05$ .

Như vậy, viên nang cứng TD.NQ ở cả 2 liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg có xu hướng giảm thời gian phản ứng với đau so với lô mô hình từ thời điểm sau tiêm MIA từ 4 đến 6 tuần, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Kết quả không có sự khác biệt giữa hai liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg với  $p > 0,05$ .

Nghiên cứu của Nguyễn Thị Bích Hồng (2020) đánh giá độc tính và hiệu quả điều trị của cao lỏng Ích gối khang trên bệnh nhân thoái hóa khớp gối, kết quả đánh giá tác dụng giảm đau trên mô hình sử dụng máy đo ngưỡng đau: Ở lô mô hình sau tiêm MIA 1 tuần, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau giảm rõ với trước nghiên cứu, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), nhưng thời gian gây đau không khác biệt so với lô chứng sinh học ( $p > 0,05$ ). Từ thời điểm sau 3 tuần đến sau 5 tuần tiêm MIA, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau tăng lên nhưng mức độ tăng chưa rõ. Đến thời điểm sau 6 tuần tiêm MIA, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau tăng lên rõ rệt so với so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ). Ở lô uống Diclofenac 3mg/kg, sau tiêm MIA 6 tuần, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ). Ở lô uống IGK liều 17,04g/kg và 51,12g/kg, sau tiêm MIA 6 tuần, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau có xu hướng

giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Kết quả không khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi [43].

Nguyễn Thị Thanh Hà (2020) nghiên cứu độc tính và tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của viên hoàn cứng TD0015 trên thực nghiệm, với kết quả tác dụng giảm đau trên chuột nhắt trắng bằng máy đo ngưỡng đau: TD0015 cả 2 liều uống trong 5 ngày liên tục làm tăng rõ rệt lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột ( $p$  so với lô chứng sinh học  $< 0,05$ ,  $p$  so với trước khi uống thuốc  $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ ). Tác dụng này tương tự với codein 20mg/kg. Không có sự khác biệt rõ rệt giữa lô uống TD0015 liều 2,4g/kg/ngày với lô uống TD0015 liều 7,2g/kg/ngày. Có thể cho rằng, TD0015 có tác dụng giảm đau trung ương với nguyên nhân gây đau là cơ học. Kết quả không khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi [44].

Trịnh Thị Lua (2021) nghiên cứu tác dụng giảm đau của TD0019 trên chuột nhắt trắng bằng máy đo ngưỡng đau cho kết quả: TD0019 liều 2,46 g/kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục làm tăng rõ rệt lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước uống thuốc và so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$ ). Kết quả không khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi [51].

#### **4.1.2. Lực gây đau tại khớp gối**

Nghiên cứu thực hiện đo lực gây đau tại vị trí khớp gối chân sau, bên phải (được tiêm MIA) của chuột ở các lô, sử dụng máy đo áp lực khớp P.A.M pressure 38500 của Ugo Basile ở các thời điểm trước nghiên cứu, sau tiêm MIA và uống thuốc 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần và so sánh giữa các lô chuột với nhau, kết quả thu được trong bảng 3.3: ở lô chứng sinh học, lực gây đau tại khớp gối của chuột không có sự khác biệt tại tất cả các thời điểm so với trước nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

Lô mô hình ở tất cả các thời điểm sau khi tiêm MIA, lực gây đau tại

khớp gối chuột đều giảm rõ rệt so với trước nghiên cứu và so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ). Do khớp gối của chuột bị viêm, rất nhạy cảm với lực tác động gây đau.

Lô uống Diclofenac 3mg/kg lực gây đau tại khớp gối tại các thời điểm sau tiêm MIA đều giảm so với trước can thiệp với  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ . Lực gây đau khớp gối tại tất cả các thời điểm sau tiêm MIA đều tăng rõ so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ ). Diclofenac có tác dụng giảm đau từ đó làm giảm nhạy cảm của khớp gối chuột với lực gây đau.

Lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg: lực gây đau khớp gối tại các thời điểm sau tiêm MIA đều giảm so với trước can thiệp với  $p < 0,001$ . Lực gây đau khớp gối tại tất cả các thời điểm sau tiêm MIA tăng so với mô hình, trong đó sau 1, 3, 4 và 5 tuần tiêm MIA lực gây đau tăng rõ rệt so với lô mô hình có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ . Sau 1 tuần tiêm MIA, lực gây đau tại khớp gối là  $837,36 \pm 256,92g$  tương đồng với lô Diclofenac là  $865,46 \pm 199,34g$  (với  $p > 0,05$ ); kết quả tăng cao hơn so với lô mô hình ( $604,76 \pm 199,13g$ ) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Tại thời điểm Sau 5 tuần tiêm MIA, lực gây đau tại khớp gối là  $935,94 \pm 216,96g$  cao hơn lô mô hình ( $660,85 \pm 162,37g$ ) có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ ; tuy nhiên kết quả thấp hơn so với lô Diclofenac ( $1211,55 \pm 182,20g$ ) với  $p < 0,01$ . Như vậy, lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg cho kết quả lực gây đau tăng hơn so với lô mô hình có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ , tuy nhiên tác dụng này kém hơn diclofenac 3mg/kg.

Lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg: lực gây đau khớp gối sau tiêm MIA giảm so với trước can thiệp, có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$  sau 1, 3, 4, 6 tuần và  $p < 0,01$  sau 2 tuần và  $p < 0,05$  sau 5 tuần tiêm MIA. Lực gây đau khớp gối tại tất cả các thời điểm sau tiêm MIA tăng so với mô hình, đặc biệt ở thời điểm sau 1 tuần, 2, 3 và 5 tuần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p <$



0,05,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ). Tại thời điểm sau 6 tuần, lực gây đau tại khớp gối trong lô TD.NQ liều 12,798 g/kg là  $876,49 \pm 197,95$ g thấp hơn so với lô Diclofenac 3mg/kg ( $1057,26 \pm 225,68$ g) với  $p < 0,05$ . Kết quả có xu hướng tốt hơn so với lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg. Tại thời điểm sau 2 tuần tiêm MIA, lực gây đau tại khớp gối là  $1207,40 \pm 331,74$ g cao hơn lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg là  $787,88 \pm 245,22$ g, có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Viên nang cứng TD.NQ ở cả 2 liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg cho kết quả lực gây đau tại khớp gối tại tất cả các thời điểm sau tiêm MIA tăng hơn so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$  tại nhiều thời điểm. Như vậy, viên nang cứng TD.NQ ở cả hai liều có tác dụng giảm đau khớp gối rõ rệt trên mô hình P.A.M pressure.

Kết quả nghiên cứu phù hợp với nghiên cứu trên thực nghiệm của một số vị thuốc trong thành phần viên nang cứng TD.NQ như: vị thuốc Phòng phong có tác dụng chống viêm, giảm đau trên chuột cống được gây mô hình viêm khớp; có tác dụng giảm đau POG và chất chuyển hóa của nó là cimifugin có trong Phòng phong có tác dụng giảm đau do giảm biểu hiện của COX-2, tác dụng phụ thuộc liều dùng 1-30mg/kg, với ED50 là 1,6 mg [28]. Bạch thược có thành phần paeoniflodin có tác dụng giảm sự co cơ, ức chế co cơ trơn dạ dày, ruột và tử cung; giảm đau, chống co giật, giảm huyết áp và giãn mạch. Tần giao liều 100, 200, 400mg/kg tăng thời gian cảm thụ đau của chuột trong mô hình gây đau bằng mâm nóng, riêng ở liều 15ml/kg cao chiết Tần giao có tác dụng giảm đau cao hơn Aspirin. Ngoài ra một nghiên cứu của Shikha và cộng sự đã chỉ ra Tần giao có tác dụng làm giảm số cơn quặn đau của chuột cũng như kéo dài thời gian phản ứng với đau phụ thuộc nồng độ thuốc. Cụ thể, dịch chiết Tần giao với các liều 125 mg/kg, 250 mg/kg và 500 mg/kg làm giảm 66,66%, 77,55% và 88,78 % số cơn quặn đau trong 30 phút theo dõi, đồng thời làm tăng rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt của chuột. Tác dụng xuất hiện sau 15 phút và kéo dài ít nhất 180 phút sau uống [52].

Theo YHCT, thoái hóa khớp gối có liên quan đến can thận hư: can huyết hư không nuôi dưỡng được cân, thận hư không sinh tủy, không nuôi dưỡng được cốt tủy, kết hợp với phong, hàn, thấp, nhiệt xâm nhập làm kinh lạc bị tắc trở, khí huyết không được lưu thông, “thông tắc bất thông, thống tắc bất thông”. Các vị thuốc có tác dụng khu phong, trừ thấp, hoạt huyết làm khí huyết lưu thông, kinh lạc thông suốt có sẽ có tác dụng giảm đau. Trong viên nang cứng TD.NQ có các vị thuốc Độc hoạt, Tế tân, Phòng phong, Tần giao, Vô liểu có tác dụng trừ phong thấp mà chỉ thống; Quế chi phát hãn, giải cơ, ôn kinh thông dương; Tầm gửi gạo bỏ can thận, mạnh gân cốt lại trừ phong thấp. Xuyên khung có tác dụng hành khí hoạt huyết, khu phong, chỉ thống; Ngưu tất hoạt huyết, bỏ can thận, mạnh gân cốt; Đào nhân hoạt huyết, trừ đàm; Đương quy bổ huyết, hành huyết; Trần bì lý khí; Cam thảo hòa hoãn giảm đau; Bạch thược bổ huyết, liễm âm, nhuận can, chỉ thống, lợi tiểu. Hoàng bá có tác dụng thanh nhiệt, trừ thấp. Phối hợp bài thuốc có tác dụng khu phong trừ thấp, thanh nhiệt, thông kinh hoạt lạc, bỏ can thận, chỉ thống tỳ, từ đó có hiệu quả cải thiện triệu chứng đau, điều trị chứng Tý thể phong thấp nhiệt kèm can thận hư [25], [53], [54].

## **4.2. Tác dụng tác dụng chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của viên nang cứng TD.NQ trên thực nghiệm**

### **4.2.1. Tác dụng chống viêm của TD.NQ**

Thoái hóa khớp biểu hiện chủ yếu là đau và viêm tại khớp, ảnh hưởng đến chức năng vận động của bệnh nhân. Điều trị THK nhằm mục đích chống viêm, giảm đau trong đợt cấp và cải thiện chức năng vận động khớp cho người bệnh. Nhằm đánh giá khả năng chống viêm của viên nang cứng TD.NQ, nghiên cứu này thực hiện mô hình gây THK gối thực nghiệm bằng MIA: dùng chất chuyển hóa MIA tiêm vào khớp gối của chuột, tạo ra tình trạng bệnh tương tự thoái hóa khớp trên lâm sàng. Đánh giá chỉ số viêm trong mô hình thoái hóa khớp gối được đánh giá thông qua đường kính khớp gối

của chuột và các cytokin gây viêm.

Các nghiên cứu trước đây khi đánh giá tác dụng của thuốc về điều trị bệnh lý xương khớp là chưa gây được mô hình thoái hóa khớp thực nghiệm, do vậy khi đánh giá mới chỉ dừng lại ở tác dụng chống viêm, giảm đau trên động vật bình thường. Mặc dù là quá trình thoái hóa, song trong THK vẫn có hiện tượng viêm diễn biến thành từng đợt, biểu hiện bằng đau và giảm chức năng vận động của khớp tổn thương, tăng số lượng tế bào trong dịch khớp kèm theo viêm màng hoạt dịch kín đáo về tổ chức học. Nguyên nhân có thể do phản ứng của màng hoạt dịch với các sản phẩm thoái hóa sụn, các mảnh sụn hoặc xương bị long ra. Quá trình dị sản sụn liên quan đến sự giáng hóa của các proteoglycan đều được xúc tiến qua trung gian của các enzym tự tiêu, chúng có nguồn gốc từ các lysosome, bao gồm các protease acid, các glycosidase và các sulfatase. Các nghiên cứu in vitro và in vivo đã chứng minh IL-1 và TNF- $\alpha$  là các cytokine dị hóa nổi trội tham gia vào quá trình phá hủy sụn khớp trong bệnh thoái hóa khớp. IL-1 là cytokin – protein trọng lượng phân tử thấp do các tế bào một nhân tiết ra, kể cả các tế bào một nhân ở trong bao hoạt dịch và bởi chính cả các tế bào sụn. IL-1 kích thích tổng hợp prostromelysin (tiền stromelysin) và procollagenase (tiền collagenase). Khi có mặt một yếu tố giải phóng ra metalloproteinase thì các chất tiền stromelysin và tiền collagenase sẽ chuyển đổi dạng hoạt động là stromelysin và collagenase, cộng thêm với plasmin (hoặc được sản xuất ra tại chỗ hoặc từ nguồn toàn thân) sẽ gây phá hủy mô sụn. Yếu tố hoại tử u (TNF) cũng có tác dụng tương tự với IL-1 nhưng hiệu quả các yếu tố này trên các tế bào sụn yếu hơn nhiều so với hiệu quả của IL-1. IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$  là các cytokin chính tham gia vào quá trình phá hủy sụn khớp trong thoái hóa khớp. Ngoài hiệu quả cảm ứng các tế bào sụn tăng tổng hợp các enzym proteinase khác ra, IL-1 và TNF- $\alpha$  còn làm tăng quá trình tổng hợp các cytokin tiền viêm khác nữa, ví dụ như cytokin IL-17 và IL-18, và đến lượt các cytokin này lại

tham gia vào quá trình tăng thoái hóa khớp [55], [56].

#### 4.2.1.1. Ảnh hưởng của TD.NQ lên đường kính vùng khớp gối

Chỉ số viêm trong mô hình thoái hóa khớp gối được đánh giá thông qua đường kính khớp gối của chuột. Đường kính khớp gối phải được đo bằng thước chuyên dụng, tính khoảng cách lớn nhất giữa 2 cạnh khớp gối. Kết quả nghiên cứu qua bảng 3.4 cho thấy: độ tăng đường kính vùng khớp gối của chuột ở các lô được tiêm MIA gây thoái hóa khớp, đặc biệt là lô mô hình tăng rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$  và  $p < 0,05$ ). Điều này xảy ra do MIA phá hủy sụn khớp, giải phóng các chất trung gian hóa học gây viêm và làm tăng đường kính vùng khớp gối chuột.

Ở lô uống Diclofenac 3mg/kg, đường kính vùng khớp gối trên chuột giảm rõ rệt so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm nghiên cứu ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ ). Kết quả cho thấy hiệu quả chống viêm của Diclofenac. Thuốc ức chế hoạt động của cyclooxygenase-1 (COX-1) và cyclooxygenase-2 (COX-2) bằng cách ức chế tổng hợp các prostanoid như prostaglandin-E2 (PGE2), prostacyclin và thromboxan, là những thành phần thiết yếu phản ứng viêm và phản ứng cảm thụ.

Ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, đường kính vùng khớp gối trên chuột không giảm so với lô mô hình ở thời điểm sau 1 tuần đến 3 tuần tiêm MIA. Đến thời điểm sau 4 đến 6 tuần, độ tăng đường kính vùng khớp gối trên chuột có xu hướng giảm so với lô mô hình, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Sau 6 tuần tiêm MIA, độ tăng đường kính khớp gối ở lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg là  $0,90 \pm 0,29$ mm thấp hơn so với lô mô hình  $0,99 \pm 0,30$ mm ( $p > 0,05$ ). Kết quả độ tăng đường kính khớp gối kém hơn so với lô Diclofenac, có ý nghĩa thống kê tại thời điểm sau 2 tuần, 4 tuần và 5 tuần, có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$  và  $< 0,001$ ).

Ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg, đường kính vùng khớp gối trên

chuột giảm so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm, đặc biệt ở thời điểm sau 1 tuần, 3, 4 và sau 5 tuần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ . Tại thời điểm sau 4 tuần tiêm MIA, độ tăng đường kính khớp gối ở lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg là  $0,77 \pm 0,26\text{mm}$ ) cao hơn so với lô mô hình ( $1,09 \pm 0,34\text{mm}$ ) và lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg ( $1,03 \pm 0,17\text{ mm}$ ), có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ ; kết quả này không khác biệt so với lô Diclofenac, độ tăng đường kính khớp gối sau 4 tuần là  $0,60 \pm 0,20\text{ mm}$ , với  $p > 0,05$ .

Như vậy, TD.NQ liều 12,798 g/kg có tác dụng chống viêm rõ rệt, làm giảm đường kính vùng khớp gối bị tăng lên do phản ứng viêm gây ra, kết quả giảm đường kính khớp gối tốt hơn so với lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg.

So sánh với nghiên cứu Nguyễn Thị Bích Hồng (2020): Ở lô uống IGK liều 17,04g/kg, độ tăng đường kính khớp gối trên chuột giảm rõ so với lô mô hình ở thời điểm sau 3 ngày, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ), mức giảm này kém hơn so với diclofenac 3mg/kg. Độ tăng đường kính khớp gối có xu hướng giảm từ thời điểm sau 3 tuần, nhưng chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Ở lô uống IGK liều 51,12g/kg, độ tăng đường kính khớp gối trên chuột giảm rõ so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm, sự giảm có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ ), mức giảm này kém hơn so với diclofenac 3mg/kg ở hầu hết các thời điểm nghiên cứu ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ), kết quả không khác biệt nhiều so với nghiên cứu của chúng tôi [43].

Nguyễn Thị Thanh Hà (2020) nghiên cứu độc tính và tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của viên hoàn cứng TD0015 trên thực nghiệm cho kết quả: Ở lô uống TD0015 liều 1,2g/kg, độ tăng đường kính khớp gối trên chuột có giảm so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm, nhưng rõ nhất vào thời điểm sau 4 tuần, 5 và 6 tuần tiêm MIA, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Mức giảm ở thời điểm sau 4 tuần và 5 tuần tương đương với lô uống

Diclofenac 3mg/kg ( $p > 0,05$ ), sau 6 tuần kém hơn lô uống Diclofenac 3mg/kg ( $p < 0,05$ ). Ở lô uống TD0015 liều 3,6g/kg, độ tăng đường kính khớp gối trên chuột giảm rõ so với lô mô hình ở tất cả các thời điểm, rõ nhất là thời điểm sau 3 ngày, sau 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần và 6 tuần tiêm MIA ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ ), mức giảm này tương đương Diclofenac 3mg/kg ( $p > 0,05$ ), kết quả không khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi [44].

Một số nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh tác dụng chống viêm của các thành phần có trong TD.NQ. Chiết xuất Hoàng bá có thể điều chỉnh một cách hiệu quả sự giải phóng lipopolysaccharid (LPS) do NO và iNOS tạo ra. Ngoài ra, chiết xuất Hoàng bá cũng có thể làm giảm sự giải phóng LPS của TNF- $\alpha$  và IL-1 $\beta$ . Sự ức chế của NO cho thấy Hoàng bá có thể ngăn chặn sự chết tế bào thần kinh do NO gây ra [30]. Phục Linh được sử dụng rộng rãi trong điều trị chống viêm và giảm đau. Chiết xuất ethanol của Phục Linh được chứng minh làm giảm sản xuất các chất trung gian gây viêm bằng việc ức chế con đường dẫn truyền NF – kappaB trong đại thực bào RAW 264.7 bị kích thích bởi lipopolysaccharid [57]. Quế chi được báo cáo về tác dụng chống viêm trong in vivo và in vitro [58]. Tác dụng giảm đau và chống viêm của Tế tân cũng được nhắc đến trong nhiều y văn. Ngoài ra trong bài thuốc Ngưu tất có tác dụng tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [37]. Tác dụng điều trị thoái hóa khớp của polysaccharid trong Ngưu tất trên chuột cống SD thông qua hoạt hóa con đường truyền tin Wnt/ $\beta$  – catenin ở sụn, từ đó tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [59]. Tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối của Ngưu tất, Đương quy cũng được chứng minh [60].

#### 4.2.1.2. Ảnh hưởng của TD.NQ lên các cytokin gây viêm

Cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp gối liên quan đến IL-1 và TNF- $\alpha$ , là các cytokine dị hóa nổi trội tham gia vào quá trình phá hủy sụn khớp. Bảng 3.6 và 3.7 cho thấy, sau 6 tuần tiêm MIA:

Lô mô hình: nồng độ IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$  đều tăng rõ so với lô chứng sinh học ( $p < 0,05$  và  $p < 0,01$ ). Nồng độ IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$  nằm trong giới hạn bình thường của chuột cống. Như vậy, mô hình gây THK gỏi thực nghiệm bằng MIA cho thấy có sự tăng rõ rệt IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$ , chứng tỏ nồng độ cytokin gắn liền với bệnh thoái hóa khớp. Từ đây cũng cho phép đánh giá cơ chế tác dụng của các thuốc điều trị thoái hóa khớp một cách rõ ràng hơn.

Lô uống Diclofenac 3mg/kg: Sau 6 tuần tiêm MIA nồng độ interleukin-1 $\beta$  là  $4,29 \pm 1,00$  (pg/ml) và TNF- $\alpha$  là  $20,06 \pm 5,74$  (pg/ml) giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,01$  và  $p < 0,001$ ), không khác biệt so với chứng sinh học với  $p > 0,05$ .

Lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg: Nồng độ Interleukin-1 $\beta$  là  $3,21 \pm 0,83$  (pg/ml) giảm rõ rệt so với lô mô hình là  $6,55 \pm 1,85$  (pg/ml) với  $p < 0,001$ , giảm so với lô chứng sinh học ( $4,80 \pm 1,49$  pg/ml với  $p < 0,01$ ) và giảm so với lô diclofenac 3mg/kg là  $4,29 \pm 1,00$  (pg/ml) ( $p < 0,05$ ). Nồng độ TNF- $\alpha$  là  $25,24 \pm 8,25$  (pg/ml) giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $38,27 \pm 12,33$  pg/ml với  $p < 0,05$ ), kém hơn so với diclofenac 3mg/kg là  $20,06 \pm 5,74$  pg/ml ( $p > 0,05$ ), không khác biệt so với chứng sinh học ( $p > 0,05$ ).

Lô uống TD.NQ liều 12,798 g/kg: Nồng độ Interleukin-1 $\beta$  là  $3,97 \pm 1,09$  pg/ml, giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,01$ ), có xu hướng giảm hơn so với diclofenac 3mg/kg ( $p > 0,05$ ), không khác biệt so với chứng sinh học. Nồng độ TNF- $\alpha$  là  $26,62 \pm 8,46$  pg/ml, giảm rõ rệt so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ), kém hơn diclofenac 3mg/kg ( $p > 0,05$ ), không khác biệt so với chứng sinh học. Cả nồng độ IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$  đều có xu hướng cao hơn so với lô uống TD.NQ liều 4,266 g/kg, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Như vậy, TD.NQ liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg có tác dụng chống viêm, thông qua ức chế các cytokin gây viêm.

Nghiên cứu của Nguyễn Thị Bích Hồng (2020): Ở lô uống IGK liều

17,04g/kg và 51,12g/kg nồng độ IL -1 $\beta$  giảm rõ so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Ở lô uống IGK liều 51,12g/kg, tác dụng giảm nồng độ IL -1 $\beta$  mạnh hơn diclofenac 3mg/kg ( $p < 0,05$ ), có xu hướng mạnh hơn liều 17,04g/kg nhưng sự khác biệt chưa rõ ( $p > 0,05$ ). Ở lô uống IGK liều 17,04g/kg và 51,12g/kg, nồng độ TNF- $\alpha$  giảm rõ so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ). Tác dụng này mạnh hơn diclofenac 3mg/kg ( $p < 0,01$ ). Hai liều có tác dụng tương đương và đều làm giảm nồng độ TNF- $\alpha$  so với lô chứng sinh học ( $p < 0,001$ ). Kết quả không khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi [43].

Nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Hà (2020): Ở lô uống TD0015 liều 1,2g/kg, nồng độ IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$  có xu hướng giảm so với lô mô hình nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Ở lô uống TD0015 liều 3,6g/kg, nồng độ IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$  giảm rõ so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ), nồng độ tương đương với lô chứng sinh học ( $p > 0,05$ ) và có xu hướng giảm hơn lô uống diclofenac 3mg/kg nhưng khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) Kết quả không khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi [44].

Viên nang TD.NQ có tác dụng ức chế các cytokine IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$ , giảm đau, chống viêm, làm giảm đường kính khớp gối bị tăng lên do phản ứng viêm gây ra. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng các thành phần vị thuốc trong viên nang cứng TD.NQ có tác dụng chống viêm. Hoàng bá đã được nghiên cứu làm giảm các IL-6, IL-1 $\beta$ , ức chế tổng hợp nitric oxid. Hoàng bá liều 200mg/kg trên chuột nhắt làm giảm các interleukin cảm ứng lipopolysaccarid như IL-6, IL-1 $\beta$ , đồng thời ức chế tổng hợp nitric oxid, hoạt hóa các NF- $\kappa$ B thông qua giáng hóa và phosphoryl hóa I $\kappa$ B $\alpha$ , giảm phosphoryl hóa các protein kinase hoạt hóa ty thể, từ đó làm giảm quá trình viêm [30]. Ngưu tất có tác dụng điều trị thoái hóa khớp của polysaccarid trên chuột cống SD thông qua hoạt hóa con đường truyền tin Wnt/ $\beta$  – catenin ở sụn, từ đó tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [59]. Tác giả



Liu J và cộng sự đã chứng minh Ngưu tất, Đương quy có tác dụng điều trị thoái hóa khớp gối. Tác dụng chống viêm, giảm đau của Bạch thược (tinh chất JCICM-6), dịch chiết cò Phục linh, các saponin trong Đảng sâm cũng được nhiều tác giả nghiên cứu và đều cho kết quả tốt. Xu Y và cộng sự (2014) đã chứng minh Độc hoạt và Tế tân có tác dụng điều trị thoái hóa khớp. Nghiên cứu cho thấy tác dụng ức chế phá hủy sụn khớp và phản ứng viêm hoạt dịch, ức chế sự chết theo chương trình của các tế bào sụn và sự giải phóng các IL-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$ , tăng biểu hiện proteoglycan, collagen. Nghiên cứu DJW (Độc hoạt, Ngưu tất, Đương quy, Tang kí sinh, Địa hoàng, Xuyên khung, Quế chi, Phòng phong, Bạch thược, Đảng sâm, Cam thảo, Phục linh, Tế tân) trên 200 bệnh nhân thoái hóa khớp gối cho hiệu quả tương đương Diclofenac, tuy nhiên khởi phát tác dụng chậm và tác dụng phụ tương đương Diclofenac.

#### ***4.2.2. Tác dụng chống thoái hóa của viên nang cứng TD.NQ***

Đánh giá ngẫu nhiên trên 30% số chuột ở các lô sau 6 tuần tiêm MIA và uống thuốc, chuột được gây mê và phẫu thuật tách khớp gối phải ra khỏi cơ thể, bảo quản trong dung dịch formaldehyd 10%, được đánh giá mức độ thoái hóa dựa theo bảng điểm của Kim Joon Ki trên tiêu bản giải phẫu mô bệnh học [43]. Kết quả nghiên cứu mô bệnh học qua bảng 3.7 và hình 3.1 đến 3.9 cho thấy, ở lô mô hình có hình ảnh sụn khớp thoái hóa, hoại tử, có gai xương, như vậy MIA đã gây thoái hóa khớp gối ở chuột.

Ở lô chứng dương, Diclofenac đã có tác dụng chống viêm rõ rệt thông qua việc không còn yếu tố hoại tử trên hình ảnh mô bệnh học, bề mặt sụn chỉ còn tổn thương mức độ nhẹ.

Ở các lô trị, TD.NQ liều 12,798g/kg có tác dụng chống viêm tốt hơn lô uống liều 4,266g/kg, với hình ảnh sụn khớp chỉ có thoái hóa nhẹ, tế bào sụn giảm, bề mặt nhẵn.

Trong thành phần bài thuốc của viên nang cứng TD.NQ vị thuốc Ngưu

tất có tác dụng tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [37]. Tác dụng điều trị thoái hóa khớp của polysaccharid trong Nguu tất trên chuột cống SD thông qua hoạt hóa con đường truyền tin Wnt/ $\beta$  – catenin ở sụn, từ đó tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [59].

Thoái hóa khớp thuộc phạm vi chứng Tý theo Y học cổ truyền. “Chứng tý” được ghi đầu tiên trong sách “Nội kinh” như sau: “Chứng tý là một trong những chứng nan trị vì trời có sáu thứ khí mà chứng tý lại do ba thứ khí hợp lại gây bệnh, theo các thuộc tính của ba thứ khí là phong thì đi nhanh, hàn thì vào sâu, thấp thì ướt đẫm và ú đọng, khi phối hợp lại cùng gây bệnh sẽ tạo nên bệnh cảnh phức tạp” [23]. Tý đồng âm với Bí, nghĩa là bế tắc, ngăn lấp, không thông. Sách “Loại Chứng Trị Tài” viết rõ thêm: “Các chứng tý do dinh vệ hư, tẩu lý không chặt, phong hàn thấp tà khí thừa lúc hư xâm nhập vào cơ thể, chính khí lưu thông bị tắc, sinh khí huyết ngưng trệ lâu ngày thành chứng tý”. Tuệ Tĩnh cho là phát bệnh ở buổi sáng là do khí trệ dương hư, buổi chiều phát bệnh là huyết nhiệt âm tổn. Theo Hải Thượng Lãn Ông: “Chữa Phong nên bỏ Huyết, chữa Hàn nên bỏ Hỏa, chữa Thấp nên kiện Tỳ, tuy dùng thuốc trị Phong Thấp nhưng cần dùng bổ khí huyết để không chế bệnh tà không vào hai kinh Can Thận, bổ nguồn gốc của Tinh Huyết để tác dụng đến gân xương vì bệnh có bên trong hư mà gây nên”. Nguyên nhân chính là do ngoại cảm phong hàn thấp xâm nhập mạch lạc gây khí huyết ú trệ, mạch lạc không thông gây đau (thống tắc bất thông) [23].

Viên nang cứng TD.NQ với các vị thuốc là Độc hoạt, Phòng phong, Tang ký sinh, Tần giao, Quế chi, Xuyên khung, Đương quy, Sinh địa, Bạch thược, Đảng sâm, Phục linh, Cam thảo, Hoàng bá, Vỏ cây liễu, Quy bản, Trần bì, Đào nhân, cao xương hổn hợp. Trong thành phần viên nang cứng TD.NQ, Phòng phong có tác dụng giảm đau POG và chất chuyển hóa của nó là cimifugin có trong Phòng phong có tác dụng giảm đau do giảm biểu hiện của COX-2, tác dụng phụ thuộc liều dùng 1-30mg/kg, với ED50 là 1,6 mg [28].

Độc hoạt chống viêm, giảm đau, ức chế phá hủy sụn khớp, tăng biểu hiện proteoglycan, collagen. Dịch chiết nồng độ 60% với liều 1,5g/kg có khả năng ức chế phản ứng phù tai chuột 46,29 % ( $p < 0,05$ ) [29]. Độc hoạt cũng thể hiện khả năng giảm viêm trong nghiên cứu của Xiaorong Li, Jiangning Wang và Lei Gao.

Ngưu tất có tác dụng tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [32]. Tác dụng điều trị thoái hóa khớp của polysaccharid trong Ngưu tất trên chuột cống SD thông qua hoạt hóa con đường truyền tin Wnt/ $\beta$  – catenin ở sụn, từ đó tăng sinh sụn và tăng biểu hiện collagen typ II ở sụn [59].

Một nghiên cứu của Shikha và cộng sự đã chỉ ra Tần giao có tác dụng làm giảm số cơn quặn đau của chuột cũng như kéo dài thời gian phản ứng với đau phụ thuộc nồng độ thuốc. Cụ thể, dịch chiết Tần giao với các liều 125 mg/kg, 250 mg/kg và 500 mg/kg làm giảm 66,66%, 77,55% và 88,78 % số cơn quặn đau trong 30 phút theo dõi, đồng thời làm tăng rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt của chuột [52].

Nghiên cứu của Lee Bomi và cộng sự đã chứng minh Bạch thược có tác dụng làm giảm 39% số cơn quặn đau của chuột khi gây đau bằng tiêm acid acetic vào màng bụng chuột [61]. Paeoniflorin có trong Bạch thược có tác dụng giảm đau trung ương thông qua kappa opioid và alpha 2 adrenoceptor.

Hoàng bá làm giảm các IL-6, IL-1 $\beta$ , ức chế tổng hợp nitric oxid. Tác dụng chống viêm của Hoàng bá liều 200mg/kg trên chuột nhắt làm giảm các interleukin cảm ứng lipopolysaccharid như IL-6, IL-1 $\beta$ , đồng thời ức chế tổng hợp nitric oxid, hoạt hóa các NF- $\kappa$ B thông qua giáng hóa và phosphoryl hóa I $\kappa$ B $\alpha$ , giảm phosphoryl hóa các protein kinase hoạt hóa ty thể [30].

Như đã trình bày ở trên, cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp gối không thể thiếu sự xuất hiện của IL-1 và TNF- $\alpha$ , là các cytokine dị hóa nổi trội tham gia vào quá trình phá hủy sụn khớp. Có thể thấy các vị thuốc trong viên nang TD.NQ gộp lại đều có tác dụng ức chế các cytokine nói trên, giảm đau, chống

viêm, làm giảm đường kính khớp gối bị tăng lên do phản ứng viêm gây ra gần tương đương với Diclofenac.

Theo YHCT, Thoái hóa khớp gối với bệnh danh là Hạc tất phong thuộc phạm vi chứng Tý. Chứng Tý là chỉ tình trạng ngoại tà xâm nhập vào kinh mạch làm bế tắc, dẫn đến khí huyết vận hành không thông với triệu chứng bì phu (da), cân cốt (gân xương), cơ nhục, khớp xương tê bì đau nhức ê ẩm, sưng, co duỗi khó khăn. Chứng Tý hình thành trên cơ sở cơ thể đã có sẵn khí huyết hư suy hoặc do ứ lâu tổn thương khí huyết hoặc tuổi già thiên quý suy, ảnh hưởng làm cho can thận hư, tà khí thừa cơ xâm phạm mà gây bệnh. Hoặc là do phong hàn thấp tà ứ lâu ngày hóa nhiệt, hoặc kinh lạc có tích nhiệt lại có phong hàn thấp tà xâm nhập gặp nguyên khí hư suy mà sinh bệnh. Sách Kim quỹ yếu lược viết “Tạng phủ kinh lạc vốn bị tích nhiệt, lại bị tà khí phong hàn thấp ứ nấu, nhiệt bị hàn ứ, khí không lưu thông lâu ngày hàn ứ cũng hóa nhiệt thì lại càng đau nhức âm i khó chịu”. Điều trị chứng Tý theo YHCT gồm có khu phong, trừ thấp, tán hàn, thông kinh hoạt lạc, tư bổ can thận nhằm khôi phục sự cân bằng âm dương, phù chính khu tà. Phép chữa bệnh ban đầu (sơ) thì phải chữa mạnh, vì khi mới mắc bệnh tà khí chưa vào sâu, nên dùng thuốc thông lợi để trừ khử ngay. Bệnh ở giai đoạn trung thì dùng hai loại thuốc vừa mạnh, vừa hòa hoãn để bổ trợ nhau, vừa nuôi dưỡng chính khí vừa đuổi tà khí. Bệnh ở thời kì cuối (mạt) thì phép tắc nên hòa hoãn, dùng thuốc có tính hòa hoãn để an dưỡng khí huyết [62]. Theo Trung Y học khái luận, về mặt chữa bệnh, bệnh này do ba tà khí phong, hàn, thấp cùng xâm nhập mà phát ra cho nên phép chữa trị chủ yếu là khu phong, tán hàn, trừ thấp, nhưng lại cần xem xét thuốc về loại khí nào nặng hơn để chọn cách chữa khác nhau [63].

Trong viên nang cứng TD.NQ, Độc hoạt, Tầm gửi gạo, Vỏ cây liễu có tác dụng khu phong trừ thấp, dưỡng huyết hòa vinh, hoạt lạc thông tý. Ngưu tất, Đỗ trọng, Sinh địa, Quy bản, cao xương bổ ích can thận, cường cân tráng

cốt. Xuyên khung, Đương quy, Bạch thược bổ huyết, hoạt huyết. Đảng sâm, Phục linh, Cam thảo ích khí kiện tỳ, các vị này đều có tác dụng hỗ trợ cho Độc hoạt, Tầm gửi gạo, Vỏ cây liễu trừ phong thấp. Quế chi, Đào nhân để thông kinh, hoạt lạc, hành khí hoạt huyết. Tần giao, Tế tân, Phòng phong để khu phong, trừ thấp. Hoàng bá có tác dụng thanh nhiệt, trừ thấp. Trần bì hành khí, thông kinh hoạt lạc, chỉ thống. Phối hợp các vị thuốc có tác dụng khu phong, trừ thấp, thanh nhiệt, thông kinh hoạt lạc, bổ can thận. Được chỉ định trong chứng Tý mà nguyên nhân là phong thấp nhiệt xâm phạm kèm can thận hư trong đó có thoái hóa khớp gối.

## KẾT LUẬN

### **1. Kết luận về tác dụng giảm đau của viên nang cứng TD.NQ trên thực nghiệm.**

+ TD.NQ liều 4,266 g/kg có tác dụng giảm đau rõ trên mô hình P.A.M pressure, tác dụng giảm đau chưa rõ trên mô hình giảm đau bằng máy rê kim.

+ TD.NQ liều 12,798 g/kg có tác dụng giảm đau trên mô hình P.A.M pressure, tác dụng giảm đau chưa rõ trên mô hình giảm đau bằng máy rê kim.

### **2. Kết luận về tác dụng chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của viên nang cứng “TD.NQ” trên thực nghiệm.**

+ TD.NQ cả 2 liều 4,266 g/kg và 12,798 g/kg có tác dụng giảm các chỉ số interleukin-1 $\beta$  và TNF- $\alpha$ . Liều TD.NQ 12,798 g/kg giảm đường kính vùng khớp gối trên khớp gối bị viêm.

+ TD.NQ liều 12,798g/kg có tác dụng chống viêm, chống thoái hóa tốt hơn lô uống liều 4,266g/kg, với hình ảnh sụn khớp chỉ có thoái hóa nhẹ, tế bào sụn giảm, bề mặt nhẵn trong các chỉ số tại mô bệnh học khớp gối.

## **KIẾN NGHỊ**

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi xin đề xuất các kiến nghị sau:

- Thực hiện các nghiên cứu độc tính bán trường diễn của viên nang cứng “TD.NQ” trên mô hình thoái hóa khớp gối thực nghiệm.
- Thực hiện các nghiên cứu về tác dụng giảm đau, chống viêm, chống thoái hóa khớp gối của viên nang cứng “TD.NQ” trên lâm sàng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kaplan W., Wirtz V., Mantel A. và cộng sự. (2013). Priority medicines for Europe and the world update 2013 report. *Methodology*, **2(7)**, 99–102.
2. Brophy R.H. và Fillingham Y.A. (2022). AAOS clinical practice guideline summary: management of osteoarthritis of the knee (nonarthroplasty). *JAAOS-Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, **30(9)**, e721–e729.
3. Nguyễn Thị Ngọc Lan (2019). *Bệnh học cơ xương khớp nội khoa*, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, Hà Nội, 138-153.
4. Hà Hoàng Kiệt (2019). *Bệnh thoái hóa khớp, chẩn đoán, điều trị và dự phòng*, Nhà xuất bản thể thao và du lịch, Hà Nội, 7-34.
5. Arthritis Foundation (2017). Arthritis by the numbers. *Arthritis Found*, **15**, 1–70.
6. Nguyễn Thị Mộng Trang, Lê Thị Anh Thu (2004). Tình hình thoái hóa khớp tại khoa Nội cơ xương khớp Bệnh viện Chợ Rẫy trong 3 năm (2/2001 – 2/2004). *Báo cáo khoa học hội thảo khớp học lần thứ 3. Hội thảo khớp học Việt Nam*, 13–18.
7. Bộ Y Tế (2016). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh cơ xương khớp*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 124-127.
8. Li M., Xiao R., Li J. và cộng sự. (2017). Regenerative approaches for cartilage repair in the treatment of osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, **25(10)**, 1577–1587.
9. da Costa B.R., Hari R., và Jüni P. (2016). Intra-articular corticosteroids for osteoarthritis of the knee. *Jama*, **316(24)**, 2671–2672.
10. He W., Kuang M., Zhao J. và cộng sự. (2017). Efficacy and safety of intraarticular hyaluronic acid and corticosteroid for knee osteoarthritis: a meta-analysis. *International Journal of Surgery*, **39**, 95–103.



11. Jones I.A., Togashi R., Wilson M.L. và cộng sự. (2019). Intra-articular treatment options for knee osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, **15(2)**, 77–90.
12. Trần Thúy, Phạm Duy Nhạc, Hoàng Bảo Châu (2005). *Bài giảng Y học cổ truyền, Tập II*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 164.
- 13.8. Reginster Jean-Yves (2018). *Atlas of osteoarthritis*, 3rd edition, Springer Healthcare Ltd, 11-17,18-30,34-49.
14. Zhang Y. và Jordan J.M. (2010). Epidemiology of osteoarthritis. *Clinics in geriatric medicine*, **26(3)**, 355–369.
15. Arden N. và Nevitt M.C. (2006). Osteoarthritis: epidemiology. *Best practice & research Clinical rheumatology*, **20(1)**, 3–25.
16. Oliveria S.A., Felson D.T., Reed J.I. và cộng sự. (1995). Incidence of symptomatic hand, hip, and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organization. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, **38(8)**, 1134–1141.
17. Marks R. (2018). Vitamin D and Osteoarthritis: What is the Consensus?. *Int J of Orth*, **5(1)**, 849–862.
18. Horton W., Bennion P., và Yang L. (2006). Cellular, molecular, and matrix changes in cartilage during aging and osteoarthritis. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, **6(4)**, 379.
19. Sellam J. và Berenbaum F. (2010). The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, **6(11)**, 625–635.
20. Altman R. (1991). Criteria for classification of clinical osteoarthritis. *The Journal of rheumatology Supplement*, **27**, 10–12.
21. Ngô Quý Châu (2020). *Bệnh học nội khoa*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 201-208.
22. Bộ Y tế (2020). *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh theo Y học cổ*

*truyền kết hợp Y học cổ truyền với Y học hiện đại*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 15-20.

23. Hoàng Bảo Châu (1997). Chứng Tý. *Nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 574-585.
24. Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, 1076-1077, 1095, 1154-1156, 1157, 1169-1170, 1173-1175, 1184-1185, 1275, 1289-1290, 1292-1293, 1295, 1297-1298, 1325-1328, 1346, 1378.
25. Nguyễn Nhược Kim, Hoàng Minh Chung (2009). *Dược học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội,
26. Hoàng Bảo Châu (2006). *Nội khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, 528.
27. Đỗ Tất Lợi (2015). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, 48, 55, 65, 112, 197, 222, 309, 384, 507, 566, 654, 666, 721, 768, 811, 837, 857, 863, 1000.
28. Wu L.-Q., Li Y. và cộng sự. (2016). Antinociceptive effects of prim-O-Glucosylcimifugin in inflammatory nociception via reducing spinal COX-2. *Biomolecules & Therapeutics*, **24(4)**, 418.
29. Li X., Wang J., và Gao L. (2013). Anti-inflammatory and analgesic activity of RAP (Radix Angelicae Pubescentis) ethanol extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, **10(3)**, 422–426.
30. Choi Y.Y., Kim M.H., Han J.M. và cộng sự. (2014). The anti-inflammatory potential of Cortex Phellodendron in vivo and in vitro: down-regulation of NO and iNOS through suppression of NF- $\kappa$ B and MAPK activation. *International Immunopharmacology*, **19(2)**, 214–220.
31. Wang Q.-S., Gao T., Cui Y.-L. và cộng sự. (2014). Comparative studies of paeoniflorin and albiflorin from *Paeonia lactiflora* on anti-inflammatory activities. *Pharmaceutical Biology*, **52(9)**, 1189–1195.

32. Jiang X.K. (2014). Extraction and analgesic effects of polysaccharides from *Achyranthes bidentata* Blume. *Applied Mechanics and Materials*, **675**, 1600–1603.
33. Jia N., Li Y., Wu Y. và cộng sự. (2012). Comparison of the anti-inflammatory and analgesic effects of *Gentiana macrophylla* Pall. and *Gentiana straminea* Maxim., and identification of their active constituents. *Journal of ethnopharmacology*, **144(3)**, 638–645.
34. Little C.B. và Smith M.M. (2008). Animal models of osteoarthritis. *Current Rheumatology Reviews*, **4(3)**, 175–182.
35. Ferreira-Gomes J., Adães S., Sousa R.M. và cộng sự. (2012). Dose-dependent expression of neuronal injury markers during experimental osteoarthritis induced by monoiodoacetate in the rat. *Molecular pain*, **8**, 1744–8069.
36. Kim J.-K., Park S.-W., Kang J.-W. và cộng sự. (2012). Effect of GCSB-5, a herbal formulation, on monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2012**.
37. Al-Saffar F., Ganabadi S., Yaakub H. và cộng sự. (2009). Collagenase and sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis model in Sprague Dawley rats. *Asian J Sci Res*, **2**, 167–179.
38. Teekachunhatean S., Kunanusorn P., Rojanasthien N. và cộng sự. (2004). Chinese herbal recipe versus diclofenac in symptomatic treatment of osteoarthritis of the knee: a randomized controlled trial [ISRCTN70292892]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **4(1)**, 1–8.
39. Zhang W., Wang S., Zhang R. và cộng sự. (2016). Evidence of Chinese herbal medicine Duhuo Jisheng decoction for knee osteoarthritis: a systematic review of randomised clinical trials. *BMJ open*, **6(1)**.
40. Chen Y., Li J., Li Q. và cộng sự. (2016). Du-Huo-Ji-Sheng-Tang

attenuates inflammation of TNF-Tg mice related to promoting lymphatic drainage function. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2016**.

41. Đào Thị Thanh Hiền, Nguyễn Quốc Thịnh (2016). Đánh giá một số tác dụng sinh học của cao đặc bài thuốc chữa thấp khớp Phong Đan. *Tạp chí Dược liệu*, 21(4), 266–270.
42. Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Trọng Thông và cộng sự (2017). Tác dụng chống viêm, giảm đau của viên nang cứng Phong Đan trên động vật thực nghiệm. *Tạp chí Nghiên cứu Y dược học cổ truyền Việt Nam*, 53, 68–76.
43. Nguyễn Thị Bích Hồng. (2020). *Đánh giá độc tính và hiệu quả điều trị của cao lỏng Ích gối khang trên bệnh nhân thoái hóa khớp gối*, Luận án Tiến sĩ Y học, Đại Học Y Hà Nội, Hà Nội.
44. Nguyễn Thị Thanh Hà và cộng sự (2022). Tác dụng chống viêm của TD0015 trên động vật thực nghiệm. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, **157(9)**, 82–89.
45. Đỗ Trung Đàm (2006). Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm. *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật. *Tạp chí dược học*, số 479,38-41. .
46. Calado G.P., Lopes A.J.O. và cộng sự. (2015). *Chenopodium ambrosioides* L. reduces synovial inflammation and pain in experimental osteoarthritis. *PLoS One*, **10(11)**, e0141886.
47. Neugebauer V., Han J.S. và cộng sự. (2007). Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. *Molecular pain*, **3**, 1744–8069.
48. Vogel H.G. (2008). *Drug discovery and evaluation: pharmacological assays*, Springer Science & Business Media.
49. Yassin N.Z., El-Shenawy S.M., Abdel-Rahman R.F. và cộng sự. (2015). Effect of a topical copper indomethacin gel on inflammatory parameters in

- a rat model of osteoarthritis. *Drug Design, Development and Therapy*, 1491–1498.
50. Kobayashi K., Imaizumi R., Sumichika H. và cộng sự. (2003). Sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis and associated pain model in rats. *Journal of Veterinary Medical Science*, **65(11)**, 1195–1199.
51. Trịnh Thị Lua. (2021). *Đánh giá độc tính và hiệu quả điều trị của cao lỏng Ích gôi kháng trên bệnh nhân thoái hóa khớp gối*, Luận án Tiến sĩ Y học, Đại Học Y Hà Nội, Hà Nội.
52. Shikha P., Latha P., Suja S. và cộng sự. (2010). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of *Justicia gendarussa* Burm. f. Leaves. .
53. Bộ Y Tế (2009). *Phương tế học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 67-68.
54. Hoàng Duy Tân, Hoàng Anh Tuấn (2009). *Phương tế học*, Nhà xuất bản Thuận Hóa – Thừa Thiên Huế, 550-552.
55. Sakao K., Takahashi K.A., Arai Y. và cộng sự. (2009). Osteoblasts derived from osteophytes produce interleukin-6, interleukin-8, and matrix metalloproteinase-13 in osteoarthritis. *Journal of bone and mineral metabolism*, **27**, 412–423.
56. Altman R.D. (1991). Classification of disease: osteoarthritis. Elsevier, 40–47.
57. Jeong J.-W., Lee H.H., Han M.H. và cộng sự. (2014). Ethanol extract of *Poria cocos* reduces the production of inflammatory mediators by suppressing the NF-kappaB signaling pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14**, 1–8.
58. Eum H.-A., Lee W.-Y., Kim S.-H. và cộng sự. (2005). Anti-inflammatory activity of CML-1: an herbal formulation. *The American journal of Chinese medicine*, **33(01)**, 29–40.
59. Weng X., Lin P., Liu F. và cộng sự. (2014). *Achyranthes bidentata*

polysaccharides activate the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway to promote chondrocyte proliferation. *International journal of molecular medicine*, **34(4)**, 1045–1050.

60. Liu J., Pan J., Wang Y. và cộng sự. (2013). Component analysis of Chinese medicine and advances in fuming-washing therapy for knee osteoarthritis via unsupervised data mining methods. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, **33(5)**, 686–691.
61. Lee B., Shin Y.-W., Bae E.-A. và cộng sự. (2008). Antiallergic effect of the root of *Paeonia lactiflora* and its constituents paeoniflorin and paeonol. *Archives of pharmacal research*, **31**, 445–450.
62. Hải Thượng Lãn Ông (2008). *Y trung quan kiện*, Nhà xuất bản Y học, tập 2, 13.
63. Viện nghiên cứu Đông Y (1977). Chứng Tý, *Trung Y học khái luận*, Bệnh viện đông y Thanh Hóa, Tập hạ, 20.
64. Shara M, Stohs SJ. Efficacy and Safety of White Willow Bark(*Salix alba*) Extracts *Phytother Res.* Aug 2015;29(8):1112-6.doi:10.1002/ptr.5377.
65. Đỗ Huy Bích. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật; 2006.

## PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH NGHIÊN CỨU



Đánh giá tác dụng giảm đau của TD.NQ bằng máy đo áp lực đau tại khớp gối P.A.M pressure



Chuột cống trắng sử dụng trong nghiên cứu

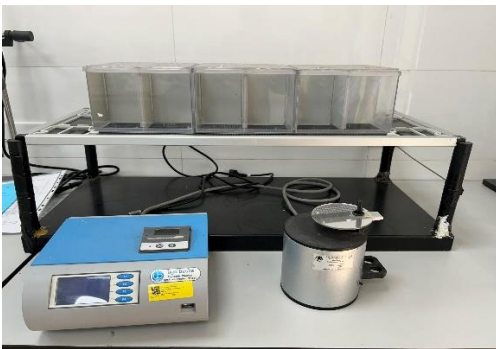
## Hình ảnh máy móc và thiết bị phục vụ nghiên cứu



Thước điện tử đo độ dày khi  
đo đường kính vùng khớp gối



Máy đo áp lực khớp P.A.M  
pressure 38500 của *Ugo  
Basile*



Máy Dynamic Plantar  
Aesthesiometer 37450 của  
*Ugo Basile*



## PHỤ LỤC 2: CÁC VỊ THUỐC TRONG VIÊN NANG CỨNG TD.NQ”

### 1. Hoàng bá [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Phellodendron amurense* Rupr.

Thuộc họ Cam Rutaceae

**Bộ phận dùng:** Hoàng bá (*cortex Phellodendri amurenensis*) là vỏ thân cạo sạch vỏ ngoài phơi hay sấy khô của cây hoàng bá hoặc xuyên Hoàng bá



**Thành phần hóa học:** Trong Hoàng bá có chung 1.6% becberein  $C_{20}H_{19}O_5N$ , một ít panmatin  $C_{21}H_{23}O_5N$ . Ngoài ra hoàng bá còn có những chất có tinh thể, không chứa nitơ như obakunon  $C_{26}H_{20}O_7$  và obakunlacton  $C_{26}H_{30}O_8$ , hợp chất sterolic. (theo Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam)

**Tác dụng dược lý:** Nhiều thí nghiệm chứng minh tác dụng kháng sinh của hoàng bá, dịch chiết bằng cồn ức chế các vi trùng staphylococ, ly, thổ tả, Salmonela.

**Tính vị, quy kinh:** Vị đắng, tính lạnh không độc. Quy vào Thận, bàng quang, đại trường

**Tác dụng:** Tả tương hỏa, thanh thấp nhiệt.

**Ứng dụng lâm sàng:** Chữa lỵ, ỉa chảy nhiễm khuẩn, trĩ (có berberrin), hoàng đản. Trị lâm lậu, xích bạch đới: Viêm bàng quang, âm đạo, cổ tử cung. Trị mụn nhọt, dị ứng, viêm vú, viêm mắt, đắp vết thương, chữa thấp khớp có sưng nóng đỏ đau.

**Liều lượng:** 5g - 10g/ ngày sắc, bột

### 2. Quy bản [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Chinemys reevesii*

Thuộc họ Rùa Testudinidae.

**Bộ phận dùng:** Yếm của con rùa



**Thành phần hóa học:** Theo Diệp Quyết Tuyền, trong quy bản có chất keo,

chất béo và muối canxi, Theo Thomas, thủy phân mai rùa được các axit amin sau đây glycocole 19,36%, alanin 2,95%, leuxin 3,6%, tyrosin 13,59%, xystin 5,19%, axit glutamic, histidin, lysin, acginin, tryptophan không có. ( theo Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam)

**Tính vị, quy kinh:** Vị mặn, ngọt, tính lạnh. Quy vào Can, thận, tâm, Tỳ

**Tác dụng :** Bổ thận âm, bổ huyết

**Ứng dụng lâm sàng :** Chữa cao HA, nhức trong xương, âm hư hỏa vượng, phiền khát. Chữa di tinh, khí hư bạch đới, trẻ gầy yếu, chậm liền thóp. Bổ huyết điều kinh: rong huyết, kinh trước kỳ, sốt rét dai dẳng

**Liều lượng :** Ngày uống 12-24g quy bản dưới dạng thuốc sắc, thuốc viên hay thuốc bột. Cao quy bản : Ngày uống 10-15g chia 3 lần uống.

### 3. Sinh địa [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.)

Thuộc họ Hoa mõm chó Scrophulariaceae

**Bộ phận dùng:** Thân rễ phơi hay sấy khô của cây địa hoàng hay cây sinh địa.

**Thành phần hóa học:** Trong sinh địa, các nhà nghiên

cứu Nhật Bản (1928) và Triều Tiên (1932) đã lấy ra được các chất manitit  $C_6H_8(OH)_6$ , rehmanin là một glucozit, glucoza và một ít caroten. Gần đây có tác giả ( Trung Quốc ) cho rằng trong sinh địa có ancaloit. (theo Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam)

**Tác dụng dược lý:** Nước sắc sinh địa có tác dụng hạ đường huyết, tác dụng đối với huyết quản, tác dụng lợi tiểu, tác dụng cầm máu và tác dụng đối với vi trùng.

**Tính vị quy kinh:** Vị ngọt đắng, tính hàn. Quy vào kinh tâm, can, thận, tiểu trường

**Tác dụng:** Lương huyết giải độc, điều kinh, an thai.

**Ứng dụng lâm sàng:** Chữa sốt cao kéo dài mất tân dịch, sốt cao gây chảy



máu. Trị mụn nhọt, viêm họng, viêm amidan. Chữa kinh nguyệt không đều, động thai do sốt nhiễm khuẩn (thai nhiệt). Chữa ho do phế âm hư, táo bón do mất tân dịch, khát nước do đái đường

**Liều lượng:** Ngày uống 9-15g dưới dạng thuốc sắc hay thuốc cao. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

#### 4. Bạch thược [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Paeonia albae*

Thuộc họ Mao Lương *Ranunculaceae*.

**Bộ phận dùng:** Rễ phơi hay sấy khô của cây thược dược.



**Thành phần hóa học:** Trong thược dược có tinh bột, tannin, canxi oxlat, một ít tinh dầu, axit benzoic, nhựa và chất béo, chất nhầy. Tỷ lệ axit benzoic chừng 1,07%

**Tác dụng dược lý:** Chất axit benzoic trong thược dược uống với liều cao có thể sinh co quắp, cuối cùng mê sảng và chết. Do thành phần này, thược dược có tác dụng trừ đờm, chữa ho. Ngoài ra nước sắc thược dược có tác dụng kháng sinh và có tác dụng trên sự co bóp ống tiêu hóa.

**Tính vị quy kinh:** Vị đắng chua tính hơi hàn. Quy kinh Can, Tỳ, Phế.

**Tác dụng:** Bổ huyết, liễm âm, nhuận can, chỉ thống, lợi tiểu

**Ứng dụng lâm sàng:** Dùng chữa kinh nguyệt không đều, thống kinh, bế kinh, xích bạch đới lâu năm không khỏi. Giảm đau: chữa tả lị đau bụng, đau lưng ngực, chân tay nhức mỏi. Tư âm giải biểu chữa người hư chứng bị cảm mạo, mồ hôi trộm. Chữa tiểu tiện khó khăn, trị băng huyết (sao cháy).

**Liều lượng:** 6-12g/ngày sắc, bột, rượu.

#### 5. Phục linh [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học :** *Poria cocos* Wolf.



Thuộc họ Nấm lỗ *Polyporaceae*

**Bộ phận dùng: Phục linh bì:** Là lớp ngoài Phục linh tách ra, lớn, nhỏ, không đồng nhất. Mặt ngoài từ nâu đến nâu đen, mặt trong màu trắng hoặc nâu nhạt. Chất tương đối xốp, hơi có tính đàn hồi.**Bạch phục linh:** Là phần bên trong, màu trắng.

**Thành phần hóa học:** Các axit có thành phần hợp chất tritecpen, đường đặc biệt của phục linh: Pachyman có trong phục linh tới 75%. Ngoài ra còn ergosterol, cholin, histidin, và rất ít men proteaza.

**Tác dụng dược lý:** Thuốc có tác dụng lợi tiểu, Thuốc có tác dụng kháng ung thư (do thành phần polysacharide của thuốc) do làm tăng miễn dịch cơ thể, an thần, có tác dụng hạ đường huyết, bảo vệ gan và chống loét bao tử. Nước sắc Phục linh có tác dụng ức chế đối với tụ cầu vàng, trực khuẩn đại tràng, trực khuẩn biến dạng. Còn ngâm kiệt thuốc có tác dụng giết chết xoắn khuẩn.

**Tính vị, quy kinh:** Vị ngọt, nhạt tính bình. Quy kinh tâm, phế, thận, tỳ và vị.

**Tác dụng:** Lợi thủy thâm thấp, kiện tỳ và định tâm

**Ứng dụng lâm sàng:** Dùng trong các bệnh tiểu tiện bí, đái buốt, nước tiểu đỏ, đục, lượng nước tiểu ít, người phù thũng. Dùng trong các bệnh của tạng tỳ bị hư nhược gây ỉa lỏng. Trị tâm thần bất an, tim loạn nhịp, hồi hộp, mất ngủ hay quên.

**Liều lượng:** Ngày dùng 5-10g dưới dạng thuốc sắc, bột, viên.

## 6. Đỗ trọng [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Eucommia ulmoides* Oliv.

Thuộc họ Đỗ Trọng Eucommiaceae

**Bộ phận dùng:** Vỏ thân

**Thành phần hóa học:** Theo J.Parkin (1921) trong đỗ trọng có 5% độ ẩm, 2,5% tro; 70% nhựa và 22,5% gutta pecka. Ngoài ra đỗ trọng có chứa chất màu, chất anbumin, chất béo, tinh dầu và muối vô cơ.



**Tác dụng dược lý:** Liều vừa phải có tác dụng kích thích. Với liều cao có tác dụng ức chế hệ thống thần kinh trung ương, nhất là vùng vỏ não. Tác dụng hạ huyết áp do tác dụng trên trung tâm vận mạch ở hành tủy và trên thần kinh. Đỗ trọng còn có tác dụng làm mạnh sự co bóp của cơ tim. Nước sắc đỗ trọng tăng lượng nước tiểu đối với chuột bạch.

**Tính vị, quy kinh:** Vị ngọt, cay tính ôn. Quy kinh Can thận

**Tác dụng:** Bổ can thận, an thai, hạ áp

**Ứng dụng lâm sàng:** Dùng sống: Bổ can hạ áp, Tẩm muối sao: Bổ thận chữa liệt dương, di tinh, tiểu nhiều, đau lưng, chân gối yếu mềm. Tẩm rượu sao: Trị phong thấp tê ngứa. Sao đen: Trị động thai, rong huyết.

**Liều lượng:** Ngày uống 5-12g dưới dạng thuốc sắc hay ngâm rượu.

## 7. Đương Quy [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Radix Angelicae sinensis*

**Bộ phận dùng:** Toàn rễ (toàn quy) đã phơi hay sấy khô của cây Đương quy (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.), họ Hoa tán (*Apiaceae*).

**Thành phần hóa học:** Tinh dầu, coumarin, acid hữu

cơ, polysaccharid, vitamin, polyacetylen, sterol, nguyên tố vi lượng.

**Tác dụng dược lý:** Ức chế sự co của tử cung, làm giãn nghỉ sự căng của tử cung, trực tiếp làm cho hành kinh không đau. Do cơ tử cung giãn nghỉ, huyết lưu thông mạnh, do đó có tác dụng cải thiện sự dinh dưỡng tại chỗ, làm cho tử cung chóng bình thường. Đương quy có tác dụng làm cho ruột trơn và có thể chữa táo bón, làm giảm xung huyết.

**Tính vị, quy kinh:** Vị ngọt, cay, tính ấm. Quy vào kinh tâm, can, tỳ.

**Tác dụng:** Bổ huyết, hoạt huyết, nhuận táo, hoạt trường, điều huyết, thông kinh.

**Ứng dụng lâm sàng:** Bổ huyết, bổ ngũ tạng: dùng trong trường hợp thiếu máu dẫn đến hoa mắt, chóng mặt, da xanh, người gầy yếu (dùng bài Tứ vật).



Hoạt huyết, giải uất kết: điều kinh, chữa phụ nữ huyết hư kinh nguyệt không đều, thống kinh, bế kinh. Kết hợp với thực địa, hà thủ ô đỏ, bạch thược. Chữa xung huyết, tụ huyết do sang chấn. Kết hợp với xuyên khung, đào nhân, hồng hoa...Chữa cơn đau dạ dày, đau các dây thần kinh, các cơ do lạnh. Đau đầu nhiều dùng đương qui sao tẩm rượu. Nhuận tràng thông tiện do huyết hư gây táo bón. Giải độc tiêu viêm.

**Liều lượng:** Ngày uống 6-15g dưới dạng thuốc sắc.

## **8. Đẳng sâm [24], [25], [26], [27]**

**Tên khoa học:** *Radix Angelicae sinensis*

**Bộ phận dùng:** Rễ của cây Đẳng sâm bắc và đẳng sâm nam



**Thành phần hóa học:** Sucrose, Glucose, Insulin, Alcaloid, Scutellarein Glucoside (Dược trung học)

**Tác dụng dược lý:** Đẳng sâm có tác dụng chống mệt mỏi tăng sự thích nghi với môi trường trong nhiệt độ cao, Tăng khả năng miễn dịch của cơ thể, tác dụng kháng viêm, hóa đàm, chỉ khái (giảm ho). Đẳng sâm có dụng kháng khuẩn với các loại vi khuẩn khác nhau: Não mô cầu khuẩn, Trực khuẩn bạch cầu, Trực khuẩn và Phó trực khuẩn đại tràng, tụ cầu khuẩn vàng. Trực khuẩn lao ở người (Trung dược học).

**Tính vị, quy kinh:** Vị ngọt, tính bình. Quy vào kinh Phế, tỳ.

**Tác dụng:** Bổ trung ích khí, sinh tân chỉ khát

**Ứng dụng lâm sàng:** Chữa tỳ hư ăn không tiêu, chân tay yếu mỏi. Tác dụng gần như nhân sâm nhưng thiên về bổ trung ích khí. Chữa phế hư sinh ho, phiền khát. Chữa viêm thượng thận, chân phù đau, nước tiểu có anbumin

**Liều lượng:** 6g - 12g/ ngày sắc, bột, rượu. Có thể dùng liều cao 30-40g/24h khi có anbumin niệu, sắc uống 7-14 ngày.

## 9. Phòng phong [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Saposhnikovia divaricata*

**Bộ phận dùng:** Rễ (Radix Sileris). Thứ rễ to, khỏe, da mỏng, mịn, đầu rễ không có lông, mặt cắt ngang có vòng màu nâu, ở giữa tâm màu vàng nhạt là loại tốt. Vỏ ngoài sù sì, đầu có lông kèm chồi cứng là loại kém.



**Thành phần hóa học:** Trong phòng phong (*Ledebouriella seseloides*) người ta thấy có các chất mantit, những chất có tính chất phenola, glucozit đắng và các chất đường.

**Tác dụng dược lý:** Tác dụng điều hòa nhiệt độ. Tác dụng kháng khuẩn: Nước sắc Phòng phong có tác dụng ức chế 1 số virus cúm, ngoài ra còn tác dụng giảm đau

**Tính vị quy kinh:** Vị cay, ngọt, tính ấm. Quy vào kinh bàng quang, can

**Tác dụng:** Phát tán giải biểu, trừ phong thấp.

**Ứng dụng lâm sàng:** Chữa cảm mạo phong hàn xuất hiện sốt rét, đau đầu, ho. Trừ phong thấp giảm đau, chữa đau nhức xương khớp, đau mình mẩy, buốt cơ, đau nửa đầu

**Liều lượng:** Ngày uống 4-10g dưới dạng thuốc sắc.

## 10. Tầm gửi gạo [27]

**Tên khoa học:** *Taxillus chinensis*

**Bộ phận dùng:** Toàn cây gồm: Thân, lá và cành nhỏ đều được dùng làm thuốc. Theo kinh nghiệm những lá to và dày, không mục nát thì tốt hơn những lá mỏng, nhỏ.



**Thành phần hóa học:** Trans-phytol, alpha-tocopherol quinone, afzeline, quercitrin, catechin và quercituron.

**Tác dụng dược lý:** Hoạt chất catechin trong dược liệu có tác dụng ngăn chặn hình thành sỏi can xi nên được điều trị sỏi tiết niệu. Có tác dụng chống viêm ở liều 20g/kg trọng lượng có hiệu quả tương đương với sử dụng Aspirin ở liều

150mg/kg trọng lượng. Ngoài ra còn có chống oxy hóa và làm giảm nguy cơ đột quỵ

**Tính vị quy kinh:** Vị đắng ngọt, tính bình. Quy vào kinh can thận

**Tác dụng:** Bổ can thận, mạnh gân xương, khử phong thấp, an thai

**Ứng dụng lâm sàng:** Dùng trị phong thấp, tê bại, lưng gối mỗi đau, gân xương nhức mỏi. Dưỡng huyết an thai và có tác dụng hạ áp.

**Liều lượng:** 10-20g/1ngày

**11. Tần giao** [24], [25], [26], [27]

**Tên gọi khác :** Tần cửu (Cây thuộc họ Ô rô),

**Tên khoa học :** *Radix gentianae*

**Bộ phận dùng :** Rễ đã được phơi hay sấy khô của một

số loài Tần giao : Tần giao (*Gentiana macrophylla* Pall.,

*Gentiana straminea* Maxim., *Gentiana dahurica* Fisch.),

họ Long đờm (*Gentianaceae*).

**Thành phần hóa học:** Có Gentianine, Gentianide, Alkaloid: Gentanine A, B, C... Glucoz và ít dầu bay hơi.

**Tác dụng dược lý:** Tác dụng kháng viêm rõ. Thuốc còn có tác dụng an thần, giảm đau, giải nhiệt, kháng Histamin, chống choáng do dị ứng. Nâng cao đường huyết, hạ huyết áp và giảm nhịp tim trong thời gian ngắn, lợi tiểu. Tần giao vừa có tác dụng trị viêm khớp lại vừa có tác dụng trị thống phong.

**Tính vị, quy kinh :** Vị ngọt, cay, tính bình hơi hàn. Quy vào kinh can, đờm, vị.

**Tác dụng :** Thanh hư nhiệt, trừ phong thấp, hoạt lạc thư cân, chỉ thống.

**Ứng dụng lâm sàng :** Chữa đau khớp, đau dây thần kinh. Chữa nhức trong xương, sốt về chiều do âm hư sinh nội nhiệt. Dùng cùng với thanh hao, tri mẫu, địa cốt bì, thực địa. Chữa hoàng đản nhiễm trùng : viêm gan siêu vi trùng, viêm đường dẫn mật do thấp nhiệt. Dùng với chi tử, khương hoàng. An thai vì động thai do sốt nhiễm trùng.





**Liều lượng :** 4g - 16g/ ngày.

### **12.Ngu ru tất** [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Radix Achyranthis bidentatae*

**Bộ phận dùng:** Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Ngu ru tất (*Achyranthes bidentata* Blume), họ Rau giền (*Amaranthaceae*).



**Thành phần hóa học:** Acid oleanolic, saponin, ecdysteron, inokosterol, polysaccharid, betain, emodin, physcion

**Tác dụng dược lý:** Chống viêm giai đoạn cấp tính. Giảm cholesterol máu. Co thắt cơ trơn. Dự phòng thương tổn gan. Giảm tiêu răng

**Tính vị quy kinh:** Vị đắng chua, tính bình. Quy vào kinh can, thận.

**Tác dụng:** Hoạt huyết (dùng sống), bổ can thận, mạnh gân cốt (dùng chín).

**Ứng dụng lâm sàng:** Hoạt huyết thông kinh lạc: điều kinh, chữa bế kinh, thống kinh. Thư cân, mạnh gân cốt: dùng chữa đau chứng nhức xương khớp, đặc biệt đối với khớp chân. Giải độc chống viêm: chữa các trường hợp họng sưng đau, loét miệng, răng lợi đau. Hạ áp: dùng trong các trường hợp tăng huyết áp do có khả năng làm hạ cholesterol. Lợi niệu thông lâm: Đái ra máu, đái ra sỏi, tiểu tiện rát, buốt.

**Liều lượng:** 6g-12g/1ngày

### **13. Vỏ liễu** [64],[65]

**Tên khoa học:** *Salix aba*

**Bộ phận dùng:** Vỏ cây từ nhiều loại liễu, liễu trắng hoặc liễu châu Âu. Thường hay dùng là Vỏ cây liễu trắng (Bạch liễu)



**Thành phần hóa học :** Thành phần hóa học quan trọng nhất là Salicin, ngoài ra còn có các thành phần khác như: flavonoid, tannin, chalcones, catechin, procyanidins và anthocyanins, acid phenolic, ở dạng tự do hoặc được este hóa, như benzyl, cinnamyl hoặc phenyl etyl este.

**Tác dụng dược lý:** Tác dụng giảm đau chống viêm: Hoạt chất salicin có trong cây vỏ liễu được chuyển hóa trong cơ thể thành acid salicylic, ức chế hoạt động của cyclo- oxyase 1(COX- 1) và cyclo - oxyase (COX - 2). Đây là cơ chế và tác động tương tự như NSAIDs (như aspirin) nhằm vào giảm đau chống viêm. Vì vậy vỏ cây liễu dùng để giảm đau: như đau đầu, đau cơ, đau bụng kinh, đau lưng, đau gối, Viêm khớp dạng thấp, Viêm xương khớp, gout, viêm cột sống dính khớp. Vỏ liễu có tác dụng hạ sốt do cảm lạnh thông thường, cảm cúm. Ngoài ra khi kết hợp vỏ liễu và ma hoàng có hiệu quả tăng cường hiệu suất thể thao và đốt cháy chất béo từ đó giúp giảm cân nặng. Và Vỏ liễu còn có tác dụng trị mụn do khả năng chống viêm mạnh.

**Tính vị quy kinh:** Vị đắng, tính hàn. Quy vào kinh can, thận, bàng quang.

**Tác dụng:** Khu phong trừ thấp, giảm đau, tiêu thũng, thông kinh hoạt lạc

**Ứng dụng lâm sàng:** Trừ phong thấp giảm đau, chữa tê thấp khớp xương sưng đau, chân tay tê dại, đau nhức trong xương, đau lưng, đau dây thần kinh. Chống viêm nhiễm, Hạ sốt, giảm đau răng, đau đầu và đau bụng kinh.

**Liều lượng:** Đối với đau lưng: chiết xuất vỏ liễu 120 - 240mg salicin/ ngày

#### 14. Trần bì [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Citrus deliciosa* Tenore.

**Bộ phận dùng:** Vỏ chín phơi khô

**Thành phần hóa học:** Tinh dầu 3,8% (2000 đến 2500 quả cho 1 lít tinh dầu) nước và thành bốc hơi được 61,25%; hesperidin C<sub>50</sub>H<sub>60</sub>O<sub>27</sub>, Vitamin A, B và chùng 0,8% tro.



**Tác dụng dược lý:** Tác dụng đối với cơ trơn của dạ dày và ruột: Tinh dầu Trần bì có tác dụng kích thích nhẹ đối với đường tiêu hóa, giúp cho ruột bài khí tích trệ ra ngoài dễ dàng, tăng tiết dịch vị, có lợi cho tiêu hóa, có tác dụng làm giãn cơ trơn của dạ dày và ruột. Tác dụng khu đàm, bình suyễn, kháng viêm, chống loét và tác dụng kháng khuẩn.

**Tính vị quy kinh:** Vị đắng, cay tính ấm. Quy vào kinh Phế, Tỳ

**Tác dụng:** Lý khí, kiện tỳ, táo thấp, tiêu đàm

**Ứng dụng lâm sàng:** Đau bụng do gặp lạnh, khí trệ gây đau bụng. Kích thích tiêu hóa, chữa đầy bụng, chậm tiêu. Chữa nôn mửa, ỉa chảy do lạnh. Hóa đàm, ráo thấp: Chữa ho đàm nhiều.

**Liều lượng:** 4g-12g/1ngày

**15. Đào nhân** [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Prunus persica Stokes*

**Bộ phận dùng:** Dùng nhân hạt quả đào

**Thành phần hóa học :** Amygdalin, Emulsin, Oleic acid, Linoleic acid, Glucosid khổ Hạnh nhân, Men khổ hạnh nhân, Vitamin B1 và dầu Lipip.

**Tác dụng dược lý:** Giãn mạch, tăng lưu lượng máu, ức chế máu ngưng tụ, nhuận trường, kháng viêm giai đoạn đầu, giảm ho

**Tính vị quy kinh:** Vị đắng ngọt, tính bình. Quy vào kinh tâm, can, đại trường

**Tác dụng:** Hoạt huyết, trừ đàm, nhuận tràng, thông đại tiện

**Ứng dụng lâm sàng:** Hoạt huyết khứ ú: Chữa kinh nguyệt không đều, bế kinh, thông kinh, ứ huyết sau sinh gây đau bụng. Nhuận tràng thông đại tiện: chữa táo bón do tân dịch khô ráo. Chữa ho đàm nhiều, giảm đau chống viêm do sang chấn.

**Liều lượng:** 6g-12g/1ngày

**16. Xuyên khung** [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Rhizoma Ligustici wallichii*

**Bộ phận dùng:** Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Xuyên khung (*Ligusticum chuanxiong* Hort.), Họ Hoa tán (*Apiaceae*).

**Thành phần hóa học :** Tinh dầu, dầu béo, acid ferulic, adenosin, adenin.

**Tác dụng dược lý:** Ức chế co bóp tử cung. Chống loạn nhịp, gây giãn động mạch vành. Ức chế kết tập tiểu cầu. Tăng lưu lượng máu mạch vành



**Tính vị quy kinh:** Vị cay, tính ấm. Quy vào kinh can, đờm, tâm bào.

**Tác dụng:** Hành khí, hoạt huyết, khu phong chỉ thống.

**Ứng dụng lâm sàng:** Hoạt huyết điều kinh: chữa kinh nguyệt không đều, bế kinh, thống kinh rau thai không xuống. Chữa nhức đầu, đau mình, đau các khớp do phong thấp. Giải uất chữa chứng can khí uất kết, đau mạng sườn, tình chí uất kết. Tiêu viêm chữa mụn nhọt. Bổ huyết: phối hợp với một số vị khác để bổ huyết dùng trong các trường hợp huyết hư.

**Liều lượng:** 6g - 12g/1 ngày

### 17. Cam Thảo [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Radix et Rhizoma Glycyrrhizae*

**Bộ phận dùng:** Rễ và thân rễ phơi hay sấy khô của cây Cam thảo (*Glycyrrhiza uralensis* Fish.; hoặc *G. inflata* Bat.; hoặc *G. glabra* L.) họ Đậu (*Fabaceae*).



**Thành phần hóa học:** Glycyrrhiza, flavonoid, oestrogen.

**Tác dụng dược lý:** Ức chế thần kinh trung ương. Giảm ho. Giảm co thắt cơ trơn. Chữa loét tiêu hóa, ức chế tăng tiết dịch vị của histamin. Bảo vệ gan, tăng tiết mật. Chống viêm gan, chống dị ứng. Chữa bệnh Addison. Giải độc trên tim. Lợi tiểu, chữa táo bón. Gây phù khi dùng thời gian dài

**Tính vị quy kinh:** Vị ngọt, tính bình. Quy vào 12 kinh.

**Tác dụng:** Bổ trung khí, dưỡng huyết nhuận phế chỉ ho, thanh nhiệt giải độc, hoà hoãn giảm đau.

**Ứng dụng lâm sàng:** Ích khí, dưỡng huyết, nhuận phế, chỉ ho. Tả hoả, giải độc: dùng trong bệnh mụn nhọt đĩnh độc sưng đau. Hoãn cấp, chỉ thống: trị đau dạ dày, loét đường tiêu hoá, đau bụng, gân mạch co rút kết hợp với bạch thực. Điều vị, giảm tác dụng phụ và dẫn thuốc khi dùng phối hợp.

**Liều lượng:** 4g - 10g/ ngày.

## 18. Độc hoạt [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Radix Angelicae Pubescentis*

**Bộ phận dùng:** Dùng rễ của cây độc hoạt

**Thành phần hóa học:** Ostol, bergapten, angelon và angelical.



**Tác dụng dược lý:** Thuốc có tác dụng giảm đau, an thần và kháng viêm rõ rệt. Thuốc nước và thuốc sắc Độc hoạt đều có tác dụng hạ áp rõ rệt nhưng thời gian ngắn. Ngoài ra Độc hoạt chích tĩnh mạch có tác dụng hưng phấn hô hấp. Độc hoạt còn có thành phần có tác dụng ức chế ngưng tập tiểu cầu trên ống nghiệm, chống loét bao tử, đối với hội tràng thỏ, thuốc có tác dụng chống co thắt.

**Tính vị quy kinh:** Vị cay đắng, tính ấm. Quy vào kinh bàng quang, can thận

**Tác dụng:** Phát tán phong hàn, trừ phong thấp.

**Ứng dụng lâm sàng:** Trừ phong thấp, dùng khi phong hàn thấp tý, tê liệt cơ thể. Chỉ thống: chữa đau nhức xương khớp, đau dây thần kinh, hay dùng cho các chứng đau từ thất lưng trở xuống, Chữa cảm mạo phong hàn.

**Liều lượng:** 6g - 12g/1 ngày. Dùng dạng sắc thường kết hợp với các vị thuốc khác.

## 19. Quế chi [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Cinnamomum cassia*

**Bộ phận dùng:** là cành nhỏ của một số loài quế

**Thành phần hóa học:** Cây quế chi có chứa tinh dầu từ 1 – 3%, một số cây có thể chứa đến 6%, các hợp chất

diterpenoid, flavonoid, tannin, phenylglycosid, coumarin, aldehyd cinnamic, bazylacetat, banzaldehyd, cinnamylacetat, aldehyd cinnamic.

**Tác dụng dược lý:** Kích thích tiêu hóa, tăng tuần hoàn, trợ hô hấp và thúc đẩy bài tiết, Tác dụng co mạch, co bóp tử cung và tăng nhu động ruột. Chống xơ vữa động mạch, kích thích vị giác và đường tiêu hóa.



**Tính vị quy kinh:** Vị cay, ngọt tính ấm Quy vào Phế, tâm, bàng quang

**Tác dụng:** Phát hãn giải cơ, ôn kinh, thông dương

**Ứng dụng lâm sàng:** Giải biểu tán hàn: chữa các bệnh cảm mạo phong hàn, mà biểu thực không ra mồ hôi có thể dùng bài Ma hoàng thang. Cảm mạo phong hàn mà có mồ hôi (biểu hư) có thể dùng bài “Quế chi thang”. Làm thông dương khí, khi dương khí bị ứ trệ, dẫn đến phần nước trong cơ thể bị ngưng đọng, gây phù nề; hoặc dùng trong chứng đàm ẩm, khí huyết lưu thông kém. Làm ấm kinh thông mạch, dùng điều trị phong hàn, thấp trệ dẫn đến đau nhức khớp xương, hành huyết giảm đau và làm ấm thận thủy.

**Liều lượng:** 4-20g/ ngày.

**20. Tế Tân** [24], [25], [26], [27]

**Tên khoa học:** *Herba Asari sieboldii*

Thuộc họ Mộc Thông Aristolochiaceae

**Bộ phận dùng:** Dùng toàn cây cả rễ

**Thành phần hóa học:** Có tinh dầu 2,750% thành phần

chủ yếu là Pinen, metyl-eugenola, hợp chất phenola, một hợp chất xenton, một lượng nhỏ acid hữu cơ, nhựa

**Tác dụng dược lý:** Giải nhiệt, kháng khuẩn đối với vi khuẩn gram dương và trực khuẩn thương hàn có tác dụng kháng khuẩn rõ rệt, Giảm đau: thuốc có tác dụng gây tê tại chỗ.

**Tính vị quy kinh:** Vị cay tính ấm Quy vào Thận, phế, tâm

**Tác dụng:** Phát tán phong hàn, thông kinh hoạt lạc, khứ ứ chỉ ho

**Ứng dụng lâm sàng:** Chữa cảm mạo phong hàn, đau đầu tắc mũi, chữa viêm xoang có thể phối hợp bạc hà, bạch chỉ, thương nhĩ tử. Khứ phong giảm đau: Đau đầu, đau răng, đau nhức khớp xương, đau dây thần kinh do lạnh. Chữa ho đờm nhiều, xuyên, khó thở. Lở mồm, lở lưỡi có thể dùng tế tân hoàng liên 2 vị bằng nhau. Đau răng, hôi miệng, ngậm tế tân

**Liều lượng:** 1-4g/ ngày.

**21. Cao xương tống hợp**[ 65] Chiết xuất từ xương động vật như: Trâu, bò, lợn, ngựa .



## PHỤ LỤC 3

# QUY TRÌNH SẢN XUẤT VÀ TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VIÊN NANG CỨNG TD. NQ



CÔNG TY CỔ PHẦN SAO THÁI DƯƠNG

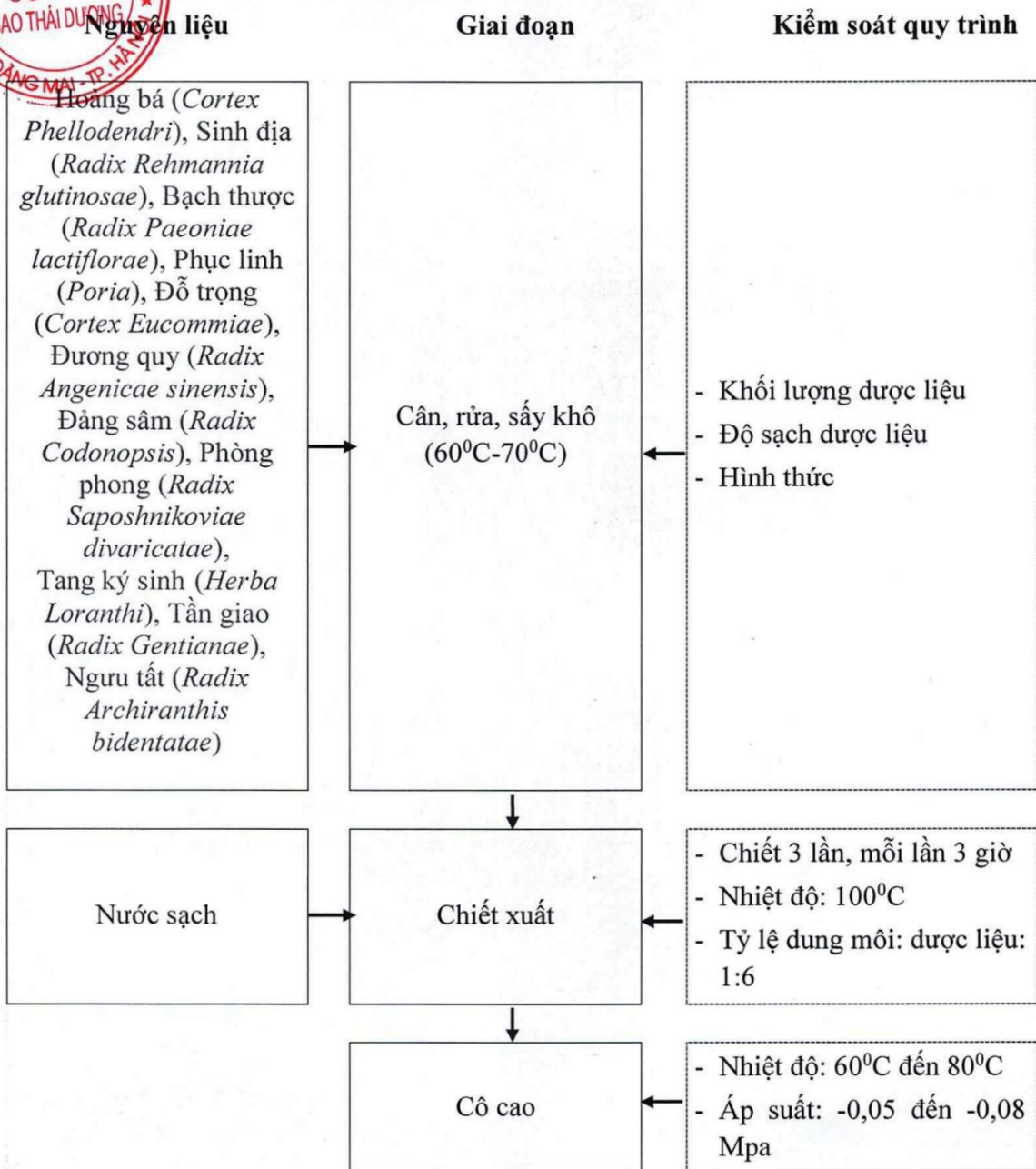
Lô CCI-III.13.4 thuộc dự án KĐT mới Pháp Vân – Tứ Hiệp, phường Hoàng Liệt, quận Hoàng Mai, thành phố Hà Nội, Việt Nam

Số điện thoại: +84 916 451 269 Fax: +84 916 451 269



### QUY TRÌNH SẢN XUẤT TD. NQ

#### Cao khô hỗn hợp dược liệu 1:

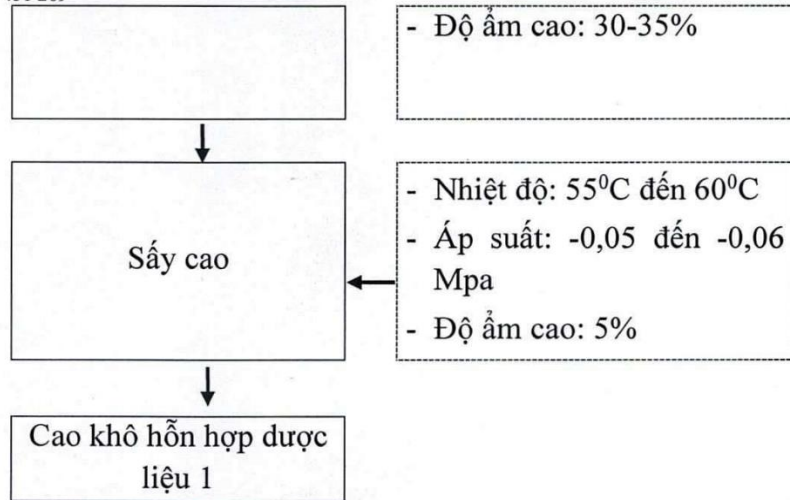




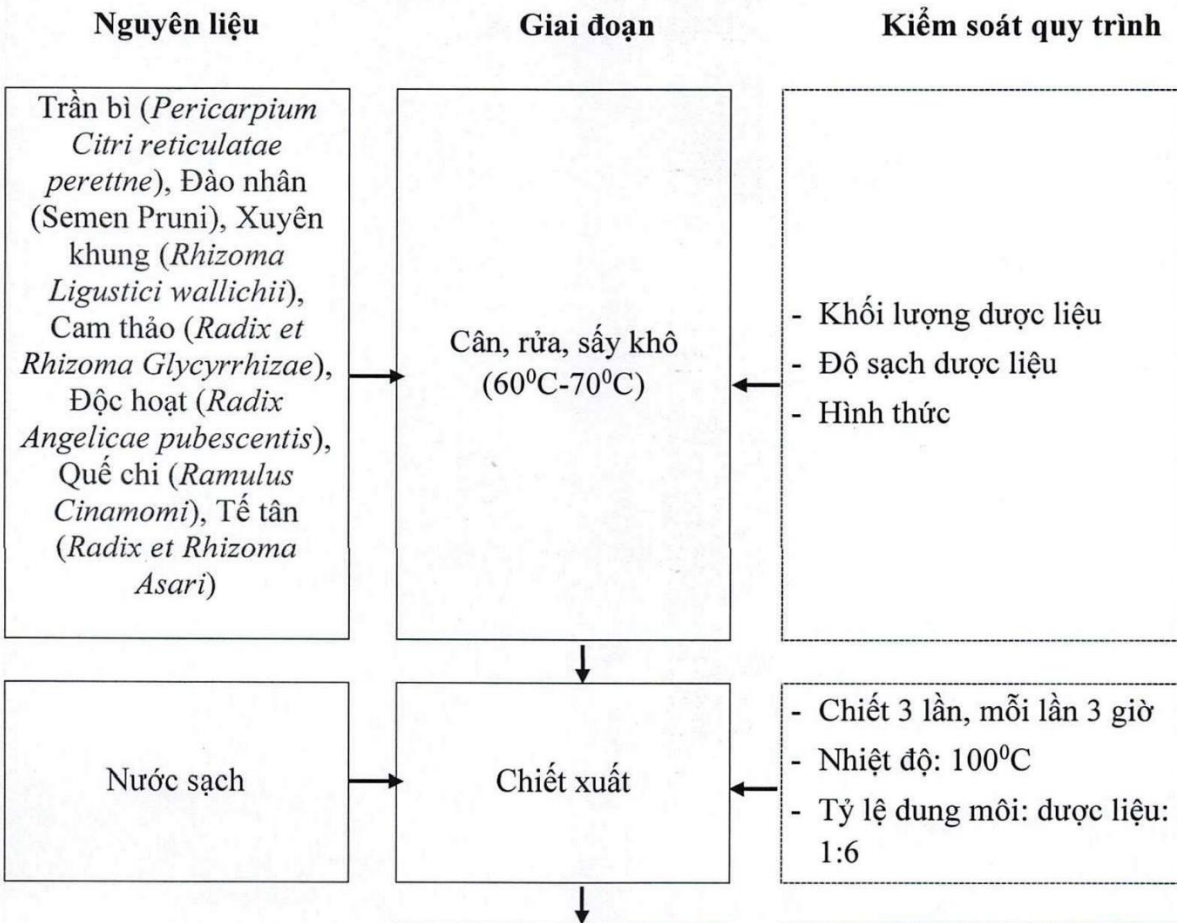
CÔNG TY CỔ PHẦN SAO THÁI DƯƠNG

Lô CC1-III.13.4 thuộc dự án KĐT mới Pháp Vân – Tứ Hiệp, phường Hoàng Liệt, quận Hoàng Mai, thành phố Hà Nội, Việt Nam

Số điện thoại: +84 916 451 269 Fax: +84 916 451 269



• Cao khô hỗn hợp dược liệu 2:



012  
CÔNG  
CỔ P  
THÁI  
NG M

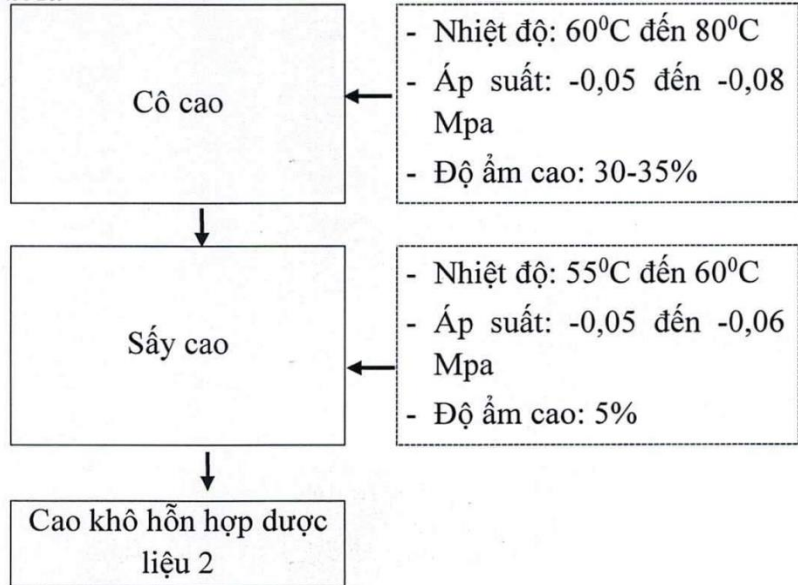




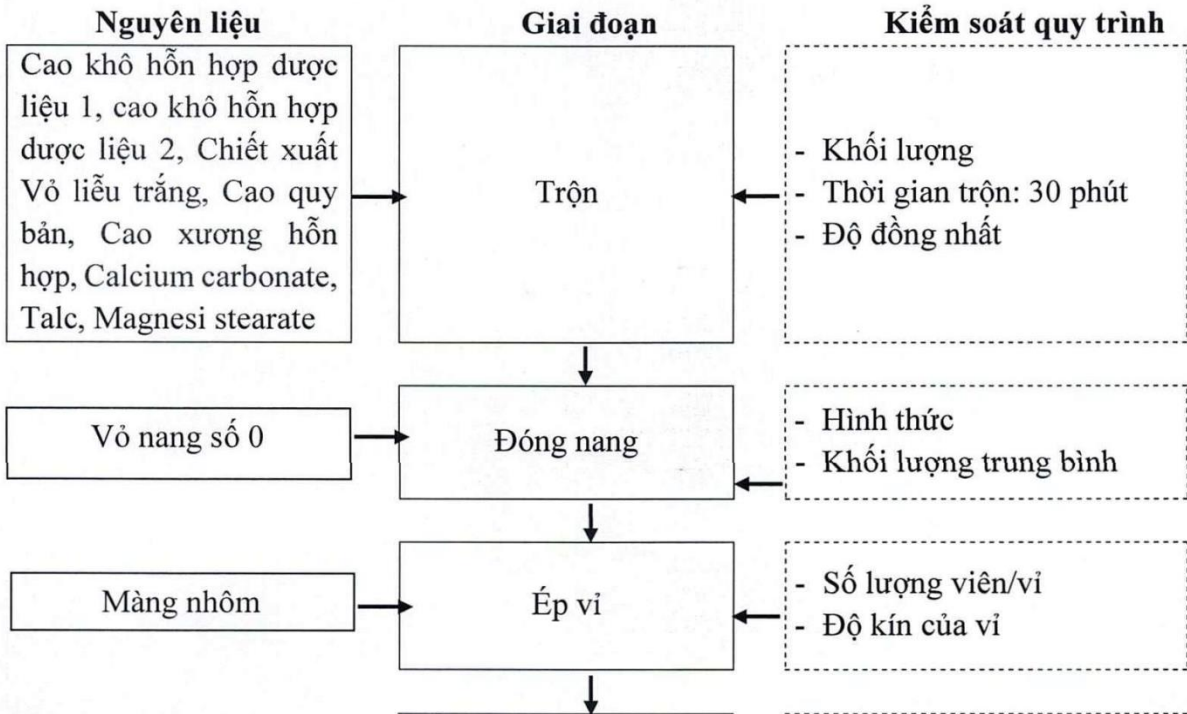
CÔNG TY CỔ PHẦN SAO THÁI DƯƠNG

Lô CC1-III.13.4 thuộc dự án KĐT mới Pháp Vân – Tứ Hiệp, phường Hoàng Liệt, quận Hoàng Mai, thành phố Hà Nội, Việt Nam

Số điện thoại: +84 916 451 269 Fax: +84 916 451 269



- Viên nang cứng TD.NQ



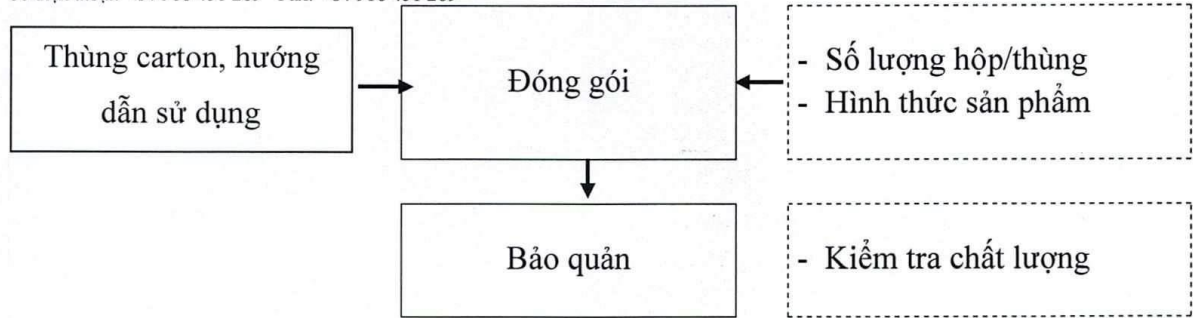
5235  
G T  
HÂN  
DUY  
41-TP



CÔNG TY CỔ PHẦN SAO THÁI DƯƠNG

Lô CC1-III.13.4 thuộc dự án KĐT mới Pháp Vân – Từ Hiệp, phường Hoàng Liệt, quận Hoàng Mai, thành phố Hà Nội, Việt Nam

Số điện thoại: +84 916 451 269 Fax: +84 916 451 269



# TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

CÔNG TY CỔ PHẦN SAO THÁI DƯƠNG	TD.NQ	Mã số: TD.NQ/2018/TCCS Ngày BH: 14/06/2018
-----------------------------------	-------	---

Tiêu chuẩn này áp dụng cho sản phẩm nghiên cứu  
**TD.NQ**

## I. YÊU CẦU KỸ THUẬT:

**1.1. Cảm quan:** Viên nang cứng màu xanh, bột đóng nang màu vàng cam đến nâu cam.

**1.2. Trọng lượng viên:** 540 mg – 660 mg/viên

**1.3. Giới hạn hàm lượng các kim loại:**

- Chì: Không quá 3,0 ppm
- Thủy ngân: Không quá 0,1 ppm
- Cadimi: Không quá 1,0 ppm

**1.4. Độ nhiễm khuẩn:**

- Tổng VKHK: Không quá  $10^4$  CFU/g
- Tổng số bào tử nấm mốc, nấm men: Không quá 100 CFU/g
- *Coliforms*: Không quá 10 MPN/g
- *E. Coli*: 0 CFU/g
- *S. aureus* : Không quá 3 CFU/g
- *Cl. perfringens* : Không quá 10 MPN/g
- *Salmonella*: 0 CFU/ 25g sản phẩm.
- *B. cereus*: Không quá 10 CFU/g

## 2. PHƯƠNG PHÁP THỬ:

**2.1. Cảm quan:** Kiểm tra bằng cảm quan chế phẩm phải đạt yêu cầu đã nêu.

**2.2. Trọng lượng viên:** Cân khối lượng của 1 nang. Tháo rời hai nửa vỏ nang, dùng bông lau sạch vỏ và cân khối lượng vỏ. Khối lượng chế phẩm trong nang là hiệu số giữa khối lượng nang và khối lượng vỏ nang. Tiến hành tương tự với 19 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Yêu cầu không được có quá 2 đơn vị có khối lượng nằm ngoài khoảng quy định.

**2.3. Giới hạn hàm lượng các kim loại:**

**2.3.1. Chì (Pb):** áp dụng 1 trong 2 phương pháp sau

**2.3.1.1. Phương pháp 1**



**Thuốc thử:** Theo ĐVN V

- Dung dịch chì chuẩn: 3 $\mu$ g/ml.
- Dung dịch đệm acetat (pH = 3,5):
- Dung dịch thioacetamid 4% (kl/tt)
- Amoniac đậm đặc (TT)
- Acid acetic băng (TT)
- Dung dịch phenolphtalein (CT)
- Thuốc thử thioacetamid: hòa tan hỗn hợp gồm 3 ml dung dịch natri hydroxyd 1M, 1ml nước cất và 4ml glycerin (85%) và 1,6ml dung dịch thioacetamid 4%, dùng ngay sau khi pha.

**Thiết bị**

- Chén sứ.
- ống Nesler 50ml

**Tiến hành:**

*Mẫu thử:* Cân chính xác khoảng 1 g mẫu thử vào chén sứ, đun trên bếp đến khô, tiếp tục đun nóng trên bếp đến khi hết khói, chuyển chén sứ vào lò nung và nung ở nhiệt độ 400°C cho đến khi thu được cặn màu trắng hoặc nhạt màu. Lấy mẫu thử ra khỏi lò nung, để nguội rồi hòa cặn với 8ml dung dịch acid hydrocloric 2M (TT), đem lọc.

*Mẫu chuẩn:* Hút chính xác 1ml dung dịch chì chuẩn và làm song song với mẫu thử.

*Mẫu chuẩn không vô cơ hóa:* Hút chính xác 1ml dung dịch chì chuẩn thêm 8ml dung dịch acid hydrocloric 2M (TT).

Thêm vào mỗi mẫu 0,1ml dung dịch phenolphtalein (CT) rồi thêm từng giọt dung dịch amoniac đậm đặc đến khi có màu hồng. Sau đó thêm acid acetic băng đến khi mất màu dung dịch, thêm dư 0,5ml nữa và 2ml đệm acetat pH 3,5. Thêm 1,2ml thuốc thử thioacetamid mới pha.

So sánh mẫu thử với mẫu chuẩn: Màu thu được của dung dịch thử không được đậm hơn màu của dung dịch chuẩn và dung dịch chuẩn không vô cơ hóa.

### **2.3.1.2 Phương pháp 2: phương pháp AAS**

**Hóa chất, thuốc thử, chất chuẩn:**

Loại tinh khiết dùng cho phép đo AAS

- Nước khử ion ( suất điện trở  $\leq 16$  M $\Omega$ )
- Dung dịch chuẩn gốc chì có nồng độ 1000 ppm.
- Acid nitric 65%
- Dung dịch acid nitric 1%
- Nước oxy già 30%
- Magnesi nitrat hexahydrat

- Amoni dihydrophosphat
- Dung dịch nền: Cân 0,2 g maginesi nitrat hexahydrat và 0,2 g amoni dihydrophosphat vào bình định mức 100 ml, hòa tan và vừa đủ thể tích bằng dung dịch acid nitric 1%.

**Thiết bị:**

- Thiết bị vô cơ hóa mẫu bằng lò vi sóng
- Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử
- Đèn cathode rỗng chì
- Cân phân tích chính xác tới 0,1 mg
- Dụng cụ thủy tinh chính xác: Bình định mức, pipet

**Phương pháp thử:**

Chuẩn bị mẫu thử:

Cân chính xác 0,5g mẫu vào cốc Teflon 100 ml của thiết bị vô cơ hóa mẫu bằng vi sóng: thêm 5ml acid nitric 65%, 1ml hydroperoxide 30%, để yên 1 giờ. Tiến hành vô cơ hóa mẫu theo chương trình nhiệt độ :

Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Áp suất (bar)	Công suất giới hạn (W)
15	120	20	500
10	120	20	1000
15	150	30	1000
10	180	30	1000

Khi quá trình vô cơ hóa kết thúc, để nguội, chuyển cốc phá mẫu ra khỏi thiết bị. Mở nắp cốc cho khói trong cốc thoát ra hết. Thêm 10ml nước khử ion, lắc đều, lọc vào bình định mức 50ml. Tráng rửa cốc phá mẫu, giấy lọc 2 lần, mỗi lần 10 ml nước khử ion, gộp dịch rửa vào bình định mức trên. Thêm nước khử ion vừa đủ thể tích, lắc đều được dung dịch S. Sử dụng dung dịch S để xác định hàm lượng Pb

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn:

Từ dung dịch chuẩn gốc chì có nồng độ 1000 ppm, tiến hành pha loãng với nước khử ion để được dung dịch chuẩn chì nồng độ 100 ng/ml. Pha loãng dung dịch chuẩn chì nồng độ 100 ng/ml với acid nitric 1% để được dung dịch chuẩn chì làm việc có các nồng độ 2, 5, 10, 20 ng/ml.

Tiến hành:

Thông số máy:

Loại đèn:	Cathod rỗng chì
Cường độ đèn (mA):	10-15
Bước sóng(nm):	283,3
Độ rộng khe sáng (nm):	0,7
Cuvet graphit:	electrographite
Thể tích mẫu:	10 µl

Thể tích dung dịch nền: 10  $\mu$ l

Nhiệt độ nguyên tử hóa: 2000°C

Tiến hành đo độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và thử trên thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử tại bước sóng 283,3 nm đặc trưng của nguyên tố chì, kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa, sử dụng cuvet graphit (pha loãng dung dịch thử nếu cần sao cho nồng độ chì nằm trong dãy nồng độ chuẩn. Mẫu trắng là dung dịch acid nitric 1%. Lập đường biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính giữa độ hấp thụ và nồng độ chì trong dãy chuẩn. Tính toán nồng độ chì trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.

#### Kết quả:

Hàm lượng chì ( $\mu$ g/g) trong mẫu được tính theo công thức:

$$m(\mu\text{g/g}) = \frac{C(\text{ng/ml}) \times D}{1000 \times m_t}$$

C (ng/ml): Nồng độ chì trong dung dịch thử

D: Hệ số pha loãng dung dịch thử.

$m_t$ : Lượng cân mẫu thử (g)

#### **2.3.2. Cadimi :** Sử dụng phương pháp AAS

Sử dụng dung dịch S để xác định hàm lượng Cadimi

#### Chuẩn bị các dung dịch chuẩn:

Từ dung dịch chuẩn gốc cadimi có nồng độ 1000 ppm, tiến hành pha loãng với nước khử ion để được dung dịch chuẩn cadimi nồng độ 100 ng/ml. Pha loãng dung dịch chuẩn cadimi nồng độ 100 ng/ml với acid nitric 1% để được dung dịch chuẩn cadimi làm việc có các nồng độ 2, 5, 10, 20 ng/ml.

#### Tiến hành:

##### Thông số máy:

Loại đèn:	Cathod rỗng cadimi
Cường độ đèn (mA):	5-12
Bước sóng(nm):	228,8
Độ rộng khe sáng (nm):	0,7
Cuvet graphit:	electrographite
Thể tích mẫu:	10 $\mu$ l
Nhiệt độ nguyên tử hóa:	2000°C

Tiến hành đo độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và thử trên thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử tại bước sóng 228,8 nm đặc trưng của nguyên tố cadimi, kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa, sử dụng cuvet graphit ( pha loãng dung dịch thử nếu cần sao cho nồng độ cadimi nằm trong dãy nồng độ chuẩn. Mẫu trắng là dung dịch acid nitric 1%. Lập đường biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính giữa độ hấp thụ và nồng độ cadimi trong dãy chuẩn. Tính toán nồng độ cadimi trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.

### Kết quả:

Hàm lượng cadimi ( $\mu\text{g/g}$ ) trong mẫu được tính theo công thức:

$$m(\mu\text{g/g}) = \frac{C(\text{ng/ml}) \times D}{1000 \times m_t}$$

C (ng/ml): Nồng độ cadimi trong dung dịch thử

D: Hệ số pha loãng dung dịch thử.

$m_t$ : Lượng cân mẫu thử (g)

**2.3.3. Thủy ngân:** Sử dụng phương pháp AAS.

**2.3.3.1. Hóa chất, thuốc thử, chất chuẩn:**

- Dung dịch chuẩn gốc thủy ngân 1000ppm (Merck)
- Acid nitric 65% tinh khiết cho AAS (Merck)
- Acid hydrochloric 37% (Merck)
- Hydroperoxide 30% (Merck)
- Kali permanganat (Merck)
- Acid sulfuric đặc (Merck)
- Nước trao đổi ion đã được lọc qua thiết bị milipore

**2.3.3.2. Thiết bị:**

- Thiết bị vô cơ hóa mẫu bằng lò vi sóng
- Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử được trang bị thiết bị phân tích thủy ngân bằng kĩ thuật hóa hơi lạnh
- Đèn cathode rỗng thủy ngân
- Cân phân tích chính xác tới 0,1mg
- Dụng cụ thủy tinh chính xác: Bình định mức, pipet

**2.3.3.3. Phương pháp thử:**

Lấy 40 ml dung dịch S cho vào bình định mức 50ml. Sau đó, thêm vào bình định mức 2,5ml acid sulfuric đặc, thêm từng giọt dung dịch kali permanganat 5% trong nước đến màu tím bền trong 15 phút. Trước khi tiến hành đo thủy ngân, thêm từng giọt dung dịch hydroxylamine clorid 5% trong nước vào cốc đến khi mất màu tím, vừa đủ bằng nước trao đổi ion.

**Quy trình đo thủy ngân bằng kĩ thuật hóa hơi lạnh**

*Chuẩn bị đường chuẩn:*

Pha loãng chính xác dung dịch chuẩn gốc thủy ngân 1000 ppm bằng nước trao đổi ion để được dung dịch chuẩn trung gian có nồng độ thủy ngân 100ppb. Hút chính xác lần lượt 2,0ml; 5,0ml; 15,0ml; 25,0ml của dung dịch chuẩn trung gian vào bình định mức 100ml. Thêm nước trao đổi ion vào các bình định mức đến khi trong bình chứa khoảng 50ml dung dịch. Sau đó, tiến hành tương tự như qui trình vô cơ hóa mẫu bắt đầu từ "Thêm vào bình định mức 5ml acid sulfuric đặc... vừa đủ bằng nước trao đổi ion"

Bốn dung dịch chuẩn dùng để xây dựng đường chuẩn được chuẩn bị như trên có lượng thủy ngân lần lượt là 2ppb, 5ppb, 15ppb và 25ppb.

Dung dịch trắng: tiến hành tương tự như trên nhưng không có chứa dung dịch chuẩn.

*Chuẩn bị tác nhân khử:*

Dung dịch khử: Cân khoảng 3g Natri borohydrid và 2g Natri hydroxyd trong 500ml nước trao đổi ion.

Dung dịch acid hydrochloric 5M

*Tiến hành*

Đo bằng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử ở bước sóng 253,7nm

**Kết quả:**

Hàm lượng thủy ngân trong mẫu:

$$X_{(ppm)} = \frac{C(ppb) \times 50 \times 50}{1000 \times 40 \times m}$$

Trong đó: C (ppb): Nồng độ thủy ngân trong dung dịch mẫu đem đo

m: Lượng cân mẫu thử (g)

#### 2.4. Độ nhiễm khuẩn:

Cân chính xác khoảng 10 g chế phẩm và tiến hành thử theo các SOP:

- Định lượng vi khuẩn hiếu khí: 15.17 SOP/KTCL
- Định lượng vi nấm: 15.33 SOP/KTCL
- Phát hiện vi khuẩn *E.coli*: 15.18 SOP/KTCL
- Phát hiện vi khuẩn *S.aureus*: 15.20 SOP/KTCL
- Phát hiện vi khuẩn *Salmonella*: 15.21 SOP/KTCL
- Định lượng *Coliform*: 15.29 SOP/KTCL
- Phát hiện và định lượng vi khuẩn *B.cereus*: 15.30 SOP/KTCL
- Phát hiện và định lượng *Cl.perfringens*: 15.31 SOP/KTCL



#### 3. ĐÓNG GÓI - GHI NHÃN - BẢO QUẢN:

3.1. Đóng gói:

- Sản phẩm được đóng trong vỉ Alu/Alu hoặc lọ PVC kín đạt tiêu chuẩn ATTP.
- Quy cách đóng gói: Mỗi vỉ 6 viên/10 viên/12 viên/15 viên. Lọ 60 viên/120 viên

3.2. Ghi nhãn: Đúng qui chế

3.3. Bảo quản: Nơi khô, tránh ánh sáng trực tiếp.

3.4. Thời hạn sử dụng: 60 tháng kể từ ngày sản xuất

Hà Nội ngày 14 tháng 06 năm 2018

Giám đốc công ty



TỔNG GIÁM ĐỐC  
*Nguyễn Hữu Cường*