BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

NGUYỄN THỊ NGỌC ANH

NGHIÊN CỨU KÍCH ỨNG DA VÀ TÁC DỤNG GIẢM ĐAU, CHỐNG VIÊM TẠI CHỖ CỦA BÀI THUỐC HTR TRÊN THỰC NGHIỆM

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Trần Văn Ơn

2. TS. Nguyễn Tiến Chung

HÀ NỘI, NĂM 2020

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành gửi lời cảm ơn tới Đảng Ủy, Ban Giám Hiệu Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam.

Tôi xin chân thành cảm ơn **PSG. TS. Trần Văn Ơn**, Trưởng Bộ môn Thực vật, Đại học Dược Hà Nội và **TS. Nguyễn Tiến Chung**, Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam; những người thầy đã tận tình hướng dẫn, truyền cảm hứng cho tôi, tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi hoàn thành luận văn.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới **PGS. TS. Phạm Thị Vân Anh**, Trưởng Bộ môn Dược lý trường Đại học Y Hà Nội; cùng với các thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên tại Bộ môn Dược lý đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi thực hiện các nghiên cứu trình bày trong đề tài.

Tôi xin cảm ơn các thầy cô, các anh chị tại Bộ môn Thực vật trường Đại học Dược Hà Nội đã cho tôi những chuyến đi thực tế, những trải nghiệm tìm hiểu cây thuốc trên rừng núi, giúp tôi ngày càng nhận ra những giá trị quý báu của các cây thuốc dân tộc, truyền lửa cho tôi thực hiện đề tài.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới các Thầy Cô Phó Giáo sư, Tiến sĩ trong Hội đồng thông qua đề cương đã đóng góp những ý kiến rất quý báu để tôi hoàn thiện luận án này.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đến gia đình, người thân, bạn bè đã luôn ở bên tôi cổ vũ, động viên và là chỗ dựa tinh thần cho tôi trong thời gian học tập và thực hiện khóa luận.

Hà Nội, ngày 05 tháng 03 năm 2020

Học viên

Nguyễn Thị Ngọc Anh

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là NGUYỄN THỊ NGỌC ANH, học viên cao học khóa 10 (2017-2019), 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 Thầy PGS. TS. Trần Văn Ơn và TS. Nguyễn Tiến Chung.

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 và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, 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 05 tháng 03 năm 2020

Người viết cam đoan

Nguyễn Thị Ngọc Anh

MỤC LỤC

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT 6
DANH MỤC CÁC BẢNG 7
DANH MỤC CÁC HÌNH 8
ĐẶT VẤN ĐỀ 1
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU 3
1.1. Tổng quan chấn thương phần mềm theo Y học hiện đại 3
1.1.1. Định nghĩa 3
1.1.2. Phân loại 3
1.1.3. Sinh bệnh học đụng dập phần mềm 4
1.1.4. Phân độ đụng dập phần mềm 6
1.1.5. Điều trị chấn thương phần mềm kín 7
1.1.6. Một số thuốc giảm đau, chống viêm dùng ngoài 8
1.2. Tổng quan chấn thương phần mềm theo Y học cổ truyền 10
1.2.1. Đại cương 10
1.2.2. Cơ chế bệnh sinh 11
1.2.3. Triệu chứng, chẩn đoán và điều trị toạ thương 12
1.3. Tổng quan về bài thuốc nghiên cứu 14
1.3.1. Cây Hoa tiên 14
1.3.2. Cây Tô sơn 17
1.3.3. Cây Rau má lông 20
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 23
2.1. Vật liệu nghiên cứu 23

2.2. Đối tượng nghiên cứu 23
2.2.1. Đối tượng nghiên cứu trên thực nghiệm 23
2.2.2. Thuốc, máy móc và dụng cụ nghiên cứu 24
2.3. Địa điểm nghiên cứu 25
2.4. Thời gian nghiên cứu 25
2.5. Phương pháp nghiên cứu 25
2.5.1. Đánh giá kích ứng da 25
2.5.2. Đánh giá tác dụng chữa chấn thương phần mềm 26
2.5.3. Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp mâm nóng 28
2.5.4. Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp rê kim 28
2.6. Phương pháp xử lý số liệu 29
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 32
3.1. Tác dụng kích ứng da của bài thuốc HTR 32
3.2. Tác dụng chữa chấn thương phần mềm của bài thuốc HTR 34
3.2.1. Màu sắc, mức độ phù nề tai thỏ 34
3.2.2. Độ dày vùng tổn thương trên tai thỏ 36
3.2.3. Diện tích vùng tổn thương 38
3.2.4. Thời gian phục hồi tổn thương 41
3.3. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp mâm nóng 41
3.4. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp rê kim 43
Chương 4: BÀN LUẬN 45
4.1. Phương pháp nghiên cứu 45
4.1.1. Phương pháp bào chế 45

4.1.2. Mô hình nghiên cứu 45
4.2. Tác dụng của bài thuốc HTR 46
4.2.1. Tác dụng kích ứng da của bài thuốc HTR 46
4.2.2. Tác dụng giảm đau, chống viêm tại chỗ của bài thuốc HTR 47
4.2.3. Tác dụng của bài thuốc HTR theo Y học cổ truyền 55
KẾT LUẬN 57
KIẾN NGHỊ VÀ ĐỀ XUẤT 59
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
AA	Viêm khớp bổ trợ	Adjuvant Arthritis
BN	Bệnh nhân	
CTPM	Chấn thương phần mềm	
ĐDPM	Đụng dập phần mềm	
LS	Lâm sàng	
OECD	Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế	Organization for Economic Cooperation and Development
MAPK	Protein kinase hoạt hóa	Mitogen- Activated protein kinase
NF-κB	Yếu tố nhân kappa B	NF-κB
PF4	Yếu tố tiểu cầu IV	Platelet factor 4
PMN	Bạch cầu đa nhân trung tính	Polymorphonuclear neutrophils
STI	Chấn thương phần mềm	Soft tissue injury
TGF-β	Yếu tố chuyển đổi tăng trưởng β	Transforming growth factor
TLCT	Trọng lượng cơ thể	
YHCT	Y học cổ truyền	
YHHĐ	Y học hiện đại	

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 2.1. Bảng đánh giá tính điểm cho hai triệu chứng ban đỏ và phù nề 26

Bảng 2.2. Bảng xếp loại mức độ kích ứng da…….....….26

Bảng 3.1. Bảng đánh giá ban đỏ trên các thỏ đánh giá kích ứng da của thuốc thử..... 32

Bảng 3.2. Bảng đánh giá phù nề trên các thỏ đánh giá kích ứng da của thuốc thử..... 33

Bảng 3.3. Chỉ số kích ứng (PII) trên thỏ đánh giá kích ứng da của thuốc thử 33

Bảng 3.4. So sánh màu sắc, mức độ phù nề tai thỏ tại các thời điểm…..…..34

Bảng 3.5. Tác dụng của thuốc thử trên độ dày vùng tổn thương trong vòng 3 ngày sau khi gây chấn thương..... 36

Bảng 3.6. Tác dụng của thuốc thử trên độ dày vùng tổn thương sau 3 ngày đến sau 7 ngày sau khi gây chấn thương 37

Bảng 3.7. Tác dụng của thuốc thử trên diện tích vùng tổn thương trong vòng 3 ngày sau khi gây chấn thương..... 39

Bảng 3.8. Tác dụng của thuốc thử trên diện tích vùng tổn thương sau 3 ngày đến sau 7 ngày sau khi gây chấn thương..... 39

Bảng 3.9. Tác dụng của thuốc thử trên thời gian hết hoàn toàn tổn thương ở tai thỏ..... 41

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của thuốc thử lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng..... 42

Bảng 3.11. Tác dụng giảm đau của của thuốc thử trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp rê kim 43

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cây Hoa tiên..... 15

Hình 1.2. Cây Tô sơn 18

Hình 1.3. Cây Rau má lông..... 20

Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu.....31

Hình 3.1. Tác dụng của thuốc thử trên độ dày vùng tổn thương tại các thời điểm nghiên cứu..... 37

Hình 3.2. Tác dụng của thuốc thử trên diện tích vùng tổn thương tại các thời điểm nghiên cứu…….....40

ĐẶT VẤN ĐỀ

Chấn thương phần mềm (CTPM) là tổn thương da, gân, cơ, dây chằng khá phổ biến và ngày càng gia tăng ở nước ta cũng như trên thế giới cùng với sự gia tăng các nguyên nhân do hỏa khí, tai nạn giao thông và tai nạn lao động. Tuy chưa có con số thống kê chính xác nhưng CTPM chiếm tỉ lệ đáng kể trong tai nạn thương tích [4], [12]. Theo số liệu thống kê của bệnh viện Việt Đức, trong quý II năm 1998, CTPM chiếm 77,1% số ca cấp cứu vì tai nạn giao thông [22]. Tại Hoa Kỳ, mặc dù rất khó để có được ước tính chính xác về tác động của riêng chấn thương phần mềm, nhưng thương tích nói chung dẫn đến hàng chục triệu lượt khám tại khoa cấp cứu và tốn hàng trăm tỷ đô la chăm sóc sức khỏe mỗi năm [50].

CTPM nếu không được điều trị đúng đắn và kịp thời có thể để lại nhiều biến chứng như nhiễm khuẩn, áp xe, cứng khớp, hạn chế vận động,…. Để điều trị CTPM, Y học hiện đại (YHHĐ) có nhiều phương pháp như dùng thuốc giảm đau, chống phù nề, chống viêm (steroid và non steroid) hay băng ép. Tuy nhiên việc dùng các thuốc này có thể gây tác dụng không mong muốn trên lâm sàng như: đau dạ dày, mẩn ngứa, dị ứng,… [6], [29].

Y học cổ truyền (YHCT) cũng có nhiều bài thuốc điều trị CTPM có hiệu quả cao như cao mỏ quạ, cao tiêu viêm, cao thống nhất… Từ xa xưa, các danh y như Tuệ Tĩnh, Lê Hữu Trác đã sử dụng Đại hoàng, Cam thảo, Mật ong để đắp vào vết thương, vết bỏng cho hiệu quả rất tốt. Hay để điều trị các trường hợp bong gân, đụng dập phần mềm, dân gian hay dùng lá náng hoa trắng, lá tướng quân,… cũng cho kết quả khả quan [25], [28], [31].

Những cây thuốc dân gian cùng với vốn sử dụng phong phú của đồng bào các dân tộc, đặc biệt là người Dao cũng là kho tàng quý giá để khám phá, tìm kiếm nhiều loại thuốc mới có hiệu lực trong công tác phòng bệnh và chữa

bệnh [7], [18]. Qua điều tra cây thuốc có tác dụng giảm đau của người Dao tại xã Tả Phìn, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai, chúng tôi có được bài thuốc HTR- kinh nghiệm của người Dao trong điều trị chấn thương phần mềm, đã được sử dụng lâu đời và có hiệu quả giảm đau, chống viêm tốt. Dân gian sử dụng bằng cách lấy lá, cây tươi giã đắp hoặc ngâm rượu xoa bóp tại chỗ chấn thương. Tuy đã được sử dụng từ lâu, nhưng chúng tôi vẫn chưa tìm thấy bất kì tài liệu trong nước nào nghiên cứu tính an toàn trên da cũng như tác dụng giảm đau, chống viêm tại chỗ trong điều trị CTPM của bài thuốc này. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: "Nghiên cứu kích ứng da và tác dụng giảm đau, chống viêm tại chỗ của bài thuốc HTR trên thực nghiệm" nhằm hai mục tiêu:

1. Đánh giá kích ứng da của bài thuốc HTR trên thực nghiệm.

2. Đánh giá tác dụng giảm đau, chống viêm tại chỗ của bài thuốc HTR trên thực nghiệm.

Chương 1
TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan chấn thương phần mềm theo Y học hiện đại

1.1.1. Định nghĩa

Chấn thương phần mềm (Soft tissue injury- STI) là tổn thương của cơ, dây chằng và gân trên khắp cơ thể. Chấn thương mô mềm thông thường thường xảy ra do bong gân, trật khớp, đòn đánh dẫn đến vết bầm tím hoặc một bộ phận cụ thể của cơ thể hoạt động quá sức. Chấn thương mô mềm có thể dẫn đến đau, sưng, bầm tím và mất chức năng [54].

CTPM có thể gây nên các tổn thương đơn lẻ như đụng dập, rách nát da, cơ, tổn thương thần kinh, mạch máu hoặc cũng có thể gây nên tổn thương xương khớp (tổn thương dây chằng, bao khớp toàn bộ cơ thể hoặc tổn thương tạng phủ) hoặc kết hợp các tổn thương trên một nạn nhân đa chấn thương. Mức độ nặng nhẹ phụ thuộc vào ngoại lực và vị trí tổn thương [32].

1.1.2. Phân loại

CTPM được chia làm 3 loại chủ yếu sau [10]

- Đụng dập phần mềm (ĐDPM): Tổn thương phần mềm chủ yếu là cơ (nhưng không có rách da) gây dập nát cơ, vỡ các mạch máu nhỏ gây chảy máu trong cơ với các biểu hiện sưng, nóng, đỏ, đau. Đụng dập phần mềm còn được gọi là chấn thương cơ hay CTPM kín.

- Bong gân: Tổn thương phần mềm chủ yếu là dây chằng, bao khớp. Bong gân là tổn thương dây chằng bị kéo giãn quá mức, bị rách hay đứt hoàn toàn do chấn thương, trật khớp đột ngột gây ra. Trong bong gân thường không có di lệch vĩnh viễn các mặt khớp mà chỉ dây chằng bị đứt hoặc giãn dài ra hơn bình thường. Gân là phần tận cùng của cơ bắp, tổn thương bong gân không liên quan gì đến cơ. Thuật ngữ bong gân là từ ngữ dân gian

gọi chính xác là tổn thương dây chằng. Bong gân ngày nay còn kể đến tổn thương của bao khớp và các cơ tham gia vào việc giữ vững khớp.

- Vết thương phần mềm: Vết thương phần mềm là các tổn thương gây rách, đứt da, niêm mạc hoặc các phần mềm khác của cơ thể. Vết thương phần mềm còn được gọi là chấn thương hở phần mềm.

Đề tài tập trung vào chấn thương phần mềm kín.

1.1.3. Sinh bệnh học đụng dập phần mềm

Đụng dập phần mềm không gây rách da nhưng làm bầm dập cơ và các tổ chức dưới da. ĐDPM diễn biến qua 2 giai đoạn [20], [58]:

* Quá trình viêm

Trong giai đoạn viêm, có sự tương tác tăng mạnh giữa bạch cầu và nội mô vi mạch bị tổn thương. Khi các mô bị tổn thương, dập nát hoặc đứt, các mạch máu trong cơ cũng bị tổn thương, máu chảy tràn vào các khoang kẽ, các tổ chức cơ gây máu tụ. Vết thương làm lộ cấu trúc collagen dưới màng cứng, dẫn đến sự tổng hợp của huyết khối. Ngay sau khi bị tổn thương mạch máu, tiểu cầu liên kết với collagen và giải phóng phopholipids của chúng, kích thích cơ chế đông máu nội tại. Tế bào mô bị tổn thương giải phóng thromboplastin, kích hoạt cơ chế đông máu ngoại sinh. Sự kết dính và kết tập tiểu cầu dẫn đến sự lắng đọng của yếu tố tiểu cầu IV (PF4) và các amin vận mạch. Các chất chuyển hóa của prostaglandin như thromboxan A cũng được tiết ra, do đó làm tăng sự co mạch được tạo ra bởi sự giải phóng lượng glucocorticoids và catecholamine để đáp ứng với chấn thương.

Sự co mạch kết hợp với việc đóng mạch bằng cơ chế đông máu tạo ra trạng thái thiếu oxy ở vùng vết thương, dẫn đến nhiễm toan. Các enzyme phân giải protein được giải phóng bởi các tiểu cầu kích hoạt hệ thống bổ thể và giải phóng các chất hóa học "thu hút" các tế bào viêm, chủ yếu là bạch cầu hạt (và các tế bào tròn đơn nhân sau này), đến khu vực vết thương. Các tế bào đầu

tiên di chuyển từ các mạch máu nhỏ vào mô bị tổn thương là bạch cầu đa nhân trung tính (PMN) và đại thực bào. PMN được huy động nhanh chóng và tạo ra một phản ứng ban đầu cực kỳ mạnh mẽ. Chức năng chính của các đại thực bào là loại bỏ các mô hoại tử và vi sinh vật (thực bào và bài tiết protease), sản xuất và bài tiết các cytokine [42], [58].

Các đại thực bào chịu trách nhiệm cho việc kích hoạt sớm các tế bào miễn dịch do cytokine tạo ra; ức chế, tiêu diệt vi khuẩn và loại bỏ các mảnh vụn của tế bào khỏi mô bị tổn thương. Tuy nhiên, khả năng của các đại thực bào cho thực bào bị hạn chế. Nếu khả năng của chúng bị quá tải bởi một lượng mô hoại tử quá mức, điều này sẽ làm giảm các hoạt động kháng khuẩn của các thực bào đơn nhân. Vì các hoạt động thực bào này có liên quan đến sản xuất superoxide và tiêu thụ oxy cao, các khu vực thiếu oxy và các khu vực mạch máu đặc biệt bị đe dọa bởi nhiễm trùng. Do đó, lý luận sinh lý bệnh học để thực hiện phẫu thuật loại bỏ triệt để mô chết là để hỗ trợ quá trình thực bào của đại thực bào [39], [47].

Các chất hóa học, chẳng hạn như kallikrein, cải thiện tính thấm và bài tiết của mạch máu bằng cách giải phóng nanopeptide bradykinin. Prostaglandin, có nguồn gốc từ các mảnh vụn mô, kích thích giải phóng histamine từ tế bào mast và gây tăng huyết áp cục bộ, cần thiết cho quá trình trao đổi chất chữa lành vết thương. Ngoài ra, các gốc oxy và hydroxyl phản ứng cao được giải phóng trong quá trình peroxy hóa lipid màng, gây ra sự mất ổn định hơn nữa của màng tế bào. Các cơ chế này dẫn đến suy giảm tính thấm nội mô mao mạch, một lần nữa thúc đẩy tình trạng thiếu oxy và nhiễm toan ở các khu vực bị tổn thương. Các bạch cầu hạt và đại thực bào xâm nhập với khả năng chống nhiễm trùng và nhấn chìm các mảnh vụn tế bào và vi khuẩn (mảnh vỡ vết thương sinh lý) đóng một vai trò quan trọng trong phản ứng viêm của mô bị tổn thương và do đó có tác dụng quyết định đối với các quá trình hồi phục sau đó [62].

* Quá trình tăng sinh và sửa chữa

Giai đoạn tăng sinh bắt đầu khi các nguyên bào sợi, tiếp theo là các tế bào nội mô, di chuyển vào khu vực của vết thương và tăng sinh ở đó. Điều này được kích thích bởi các yếu tố tăng trưởng tạo phân bào. Các Fibronectin-protein tách ra khỏi bề mặt nguyên bào sợi bằng cách thủy phân hóa học tạo điều kiện cho sự liên kết của collagen loại I với chuỗi α1. Đây là một điều kiện trước tiên quan trọng cho sự tăng sinh tế bào tiến triển, phục hồi.

Có một sự chuyển tiếp đến giai đoạn hồi phục và đồng thời, các tế bào nội mô tăng sinh hình thành các mao mạch xâm nhập, đặc trưng điển hình của mô hạt. Vào cuối giai đoạn sửa chữa, hàm lượng nước bị giảm và collagen được hình thành ban đầu được thay thế bằng collagen loại III liên kết ngang. Xơ hóa và sẹo theo sau. Vai trò của các yếu tố tăng trưởng trong sự hình thành sẹo vẫn chưa rõ ràng, nhưng dường như TGF-β đóng vai trò quyết định [55], [64].

Nhờ các đại thực bào dọn các tổ chức dập nát và máu tụ, các mạch máu mới được tái tạo để nuôi dưỡng tổ chức tổn thương và sinh ra các sợi cơ mới bù đắp vào nơi sợi cơ bị tổn thương, dần dần cơ được hồi phục. Càng về sau sự tăng sinh tế bào càng vượt mức tế bào hoại tử, ổ viêm được sửa chữa ngày càng hoàn thiện. Tùy theo mức độ tổn thương nhiều hay ít, nặng hay nhẹ của cơ và mạch máu mà thời gian này ngắn hay dài [20].

Triệu chứng lâm sàng của chấn thương kín phần mềm: Sau khi chấn thương tại chỗ sưng, nóng, đỏ, đau, hạn chế vận động, có thể thấy vết bầm tím do máu tụ [33].

1.1.4. Phân độ đụng dập phần mềm

Đụng dập phần mềm được chia làm 3 mức độ sau [27].
- Độ 1: Tổn thương gây giãn hoặc đứt rách dưới 25% số sợi cơ.
Lâm sàng (LS): BN đau tại chỗ, đau không ảnh hưởng tới tập luyện và

xuất hiện sau khi tập. Cơ kém đàn hồi, vùng chấn thương sưng nề nhẹ. Bầm tím nhẹ, không hạn chế vận động.

- Độ 2: Tổn thương gây giãn hoặc đứt rách 25% - 75% số sợi cơ.

LS: BN đau tại chỗ, đau trước và sau khi tập, chỉ tập được ở cường độ trung bình. Vùng tổn thương sưng nóng, có định khu rõ ràng và phù nề bầm tím mức độ trung bình. Xuất hiện hạn chế vận động.

- Độ 3: Đứt rách hoàn toàn bó cơ.

LS: BN đau trước, trong và cả sau khi tập. BN không tập được do đau, hoạt động bình thường cũng gây đau. Sưng nề và bầm tím rất rõ. Bó cơ mất hẳn tính liên tục, BN đau chói khi ấn trên vùng chấn thương.

1.1.5. Điều trị chấn thương phần mềm kín

- Phác đồ RICE [46]:

R- Rest (Nghỉ ngơi): Nghỉ ngơi là cần thiết để giảm nhu cầu trao đổi chất của các mô bị tổn thương và do đó tránh tăng lưu lượng máu. Cũng cần phải tránh stress cho các mô bị tổn thương có thể phá vỡ liên kết fibrin dễ vỡ, là yếu tố đầu tiên của quá trình sửa chữa. Nghỉ ngơi có thể được áp dụng chọn lọc để cho phép một số hoạt động chung, nhưng bệnh nhân phải tránh mọi hoạt động gây stress hoặc stress cho vùng bị thương có thể làm tổn hại đến quá trình chữa bệnh.

I- Ice (Chườm lạnh): Nước đá là phương tiện phổ biến nhất để đạt được sự làm mát. Thuật ngữ Ice để thể hiện ứng dụng của phương pháp chườm lạnh nói chung. Nước đá được sử dụng để hạn chế thiệt hại do chấn thương bằng cách giảm nhiệt độ của các mô tại vị trí tổn thương và do đó làm giảm nhu cầu trao đổi chất, gây co mạch và hạn chế chảy máu. Nó cũng có thể làm giảm đau bằng cách tăng mức ngưỡng trong các đầu dây thần kinh tự do và tại

các khớp thần kinh và bằng cách tăng độ trễ dẫn truyền thần kinh để thúc đẩy giảm đau.

C- Compression (Băng ép): Mục tiêu của băng ép là ngừng xuất huyết và giảm sưng. Băng ép được áp dụng để hạn chế lượng phù nề gây ra bởi sự tiết dịch từ mao mạch bị tổn thương vào mô. Kiểm soát lượng dịch tiết viêm làm giảm lượng fibrin và cuối cùng là sản xuất mô sẹo và giúp kiểm soát áp suất thẩm thấu của dịch mô ở vùng bị thương.

E- Elevation (Gác cao chi thể): Gác cao phần bị thương làm giảm áp lực trong các mạch máu cục bộ và giúp hạn chế chảy máu. Nó cũng làm tăng thoát dịch viêm qua các mạch bạch huyết, làm giảm và hạn chế phù nề và các biến chứng của nó.

- Không xoa bóp, xoa rượu, chườm nóng ngay sau chấn thương
- Dùng thuốc:

  Giảm đau: Thuốc chống viêm không steroid, Paracetamol, Diclophenac…

  Giảm phù nề: Alpha choay
- Vận động sớm ngay sau khi hết đau [6], [29].

1.1.6. Một số thuốc giảm đau, chống viêm dùng ngoài [23]

Đau là một triệu chứng thường gặp. Đó là một trong những dấu hiệu đầu tiên giúp người bệnh nhận thấy có điều gì bất ổn của cơ thể, là cơ sở để thầy thuốc có thể chẩn đoán bệnh. Tuy nhiên, đau cũng gây nhiều phiền toái, khó chịu cho bệnh nhân, nhất là khi đau kéo dài. Để giảm đau ngoài các thuốc dùng để uống, tiêm còn có loại thuốc giảm đau dùng ngoài.

Trong những trường hợp bị đau nhức ở phần nông của cơ thể như đau xương khớp, đau bắp thịt, bong gân, các sưng tấy va đập khác ở phần mềm... Kinh nghiệm dân gian đã có nhiều loại thuốc cao, thuốc xoa, thuốc đắp lên

chỗ đau rất có hiệu quả. Hiện nay, việc kế thừa y học cổ truyền của dân tộc và áp dụng các tiến bộ của khoa học hiện đại người ta đã sản xuất ra khá nhiều loại thuốc giảm đau dùng ngoài. Đây là những loại thuốc được dùng khá rộng rãi. Thuốc giảm đau dùng ngoài có thể được bào chế dưới nhiều dạng khác nhau như thuốc dạng gel, dạng thuốc mỡ dùng để xoa lên chỗ đau, thuốc dạng dung dịch để bôi lên bề mặt nơi sưng tấy, thuốc dạng phun mù và phổ biến nhất là thốc dạng tấm dán.

- *Thuốc dán:* Salonpas có tác dụng tại chỗ, "đau đâu dán đấy", không có tác dụng toàn thân được dùng để giảm đau trong các trường hợp đau đầu, đau khớp, đau cơ... Thành phần gồm 2 dược chất chính là melthyl salisilat 15%, menthol 7% và một số tá dược giúp cho thuốc thấm tốt và thấm sâu qua da. Sau khi các hoạt chất đã thấm được qua da sẽ phát huy tác dụng ngay, gây cảm giác nóng rát và làm tê đi, hiệu quả giảm đau thật nhanh chóng và hữu hiệu. Durogesic là loại tấm dán chống đau rất mạnh thuộc nhóm opioid, giảm cảm giác đau kéo dài 72 giờ, được dùng giảm đau cải thiện cuộc sống cho bệnh nhân mắc bệnh hiểm nghèo (ung thư) giai đoạn cuối.

- *Thuốc dùng để bôi, xoa:* Các thuốc này được bào chế dưới dạng gel, thuốc mỡ dùng để xoa lên chỗ đau thường chứa các chất giảm đau, chống viêm không steroid như diclofenac, ketoprofen, ibuprofen... Thuốc dùng giảm đau, giảm sưng, chống viêm trong các trường hợp chấn thương do luyện tập thể thao, đau cơ, đau khớp xương, đau lưng, bong gân, tê thấp...Tuỳ theo từng loại thuốc có thể thoa thuốc lên vùng bị đau 2 lần/ngày hoặc 3-4 lần/ngày. Xoa nhẹ để thuốc thấm qua da được tốt. Chú ý đối với các thuốc này nếu bôi trên diện rộng cũng có tác dụng toàn thân.

- *Thuốc xịt:* Phần lớn được dùng để gây tê trong thăm khám các bệnh về tai mũi họng làm giảm đau cho bệnh nhân và giảm các phản xạ ho, hắt hơi. Còn một dạng thuốc xịt được sử dụng trong thể thao như kelen. Khi cầu thủ bóng đá bị va đụng mạnh gây đau đớn các thầy thuốc thường đến ngay và

xịt thuốc vào chỗ đau, chỉ sau vài phút đau đỡ ngay. Đây là các thuốc có tác dụng bốc hơi cực nhanh và tạo thành tuyết tại nơi phun làm tê dại vùng bị đau nhức khiến không còn có cảm giác đau nữa.

- *Mật gấu:* Mật gấu có thể hoà vào nước hoặc rượu để xoa lên vết thương có tác dụng tiêu sưng, tiêu huyết tụ và giảm đau. Ngoài ra khi đau nhức do viêm người ta còn có thể dùng đá hay nước đá chườm lên chỗ đau cũng có tác dụng giảm đau rõ rệt.

1.2. Tổng quan chấn thương phần mềm theo Y học cổ truyền

1.2.1. Đại cương

CTPM thuộc phạm vi chứng thương khoa của YHCT. Thương khoa chuyên chữa về vấp ngã, bị đánh tổn thương. Tùy theo tổ chức tổn thương mà thương khoa lại chia ra [30]:

- Sang thương: Vết thương phần mềm
- Chiết thương (củ thương): Gãy xương
- Nỉu thương: Bong gân
- Tọa thương: Đụng dập phần mềm

Trong thương khoa, người xưa đã sử dụng rất nhiều dụng cụ để điều trị.

Trong đó, các dụng cụ cố định thường được dùng là:

- Trúc liêm: Cái mành mành để cố định chi
- Lam ly: Cái dát thưa để cố định chi
- Mộc thông: Miếng gỗ đệm vào lưng để cố định
- Yêu trụ: Cái đệm để cố định vùng lung
- Bào tất: Cái đệm vào đầu gối để cố định

Tại Việt Nam, thương khoa được nghiên cứu từ rất sớm. Thế kỷ XIV, trong "Nam dược thần hiệu" Tuệ Tĩnh đã chỉ ra "Thương khoa và dược vật ứng dụng". Trong đó ông đã chỉ ra các chứng, các bài thuốc, cách điều trị cho BN thuộc thương khoa như: Bẹ móc đốt ra tro để rắc, rịt; lá cây thanh hao giã nát ra để đắp; cây tổ rồng (cốt toái bổ) có tác dụng làm lành vết thương và liền xương.

Trong dân gian cũng có nhiều phương pháp điều trị CTPM đơn giản như: vấp ngã sưng đau thì đắp bã chè tươi giã với muối, đắp nước gỗ vang sắc với bã chè, chảy máu thì đắp lông cu li, bồ hóng, bong gân thì chườm, bó lá náng hơ nóng, lá ngải cứu, lá tướng quân [26], [31]…

1.2.2. Cơ chế bệnh sinh

Bệnh ngoại khoa tuy phần nhiều phát ở ngoài cơ thể nhưng các tạng phủ, kinh lạc, vệ, khí, dinh, huyết, có quan hệ chặt chẽ với nhau nên khi điều trị không thể chữa một cách lẻ loi với từng chứng trạng cục bộ được. Trong ngoại khoa, CTPM chủ yếu bị gây ra do các tác động cơ học như: va đập, đánh, ngã,… Vì thế, YHCT xếp các nguyên nhân gây CTPM vào nhóm bất nội ngoại nhân. CTPM là bệnh ở bên ngoài nhưng quá trình diễn biến luôn có quan hệ với toàn thân và do khí trệ huyết ứ gây bệnh là chủ yếu [30].

** Biện chứng về khí huyết*

Khí huyết trong cơ thể giúp đỡ lẫn nhau mà lưu hành, tuần hoàn trong kinh mạch, ở trong thì nuôi dưỡng tạng phủ, ở ngoài thì nuôi dưỡng cơ da để duy trì sự sống và có tác dụng chống ngoại tà. Vì vậy khí huyết vượng thịnh, bảo vệ bên ngoài sẽ mạnh thì ngoại tà không dễ xâm nhập; khí huyết hư yếu, bảo vệ bên ngoài sẽ kém thì các nguyên nhân gây bệnh rất dễ xâm nhập cơ thể mà gây nên bệnh. Trong sách Nội kinh nói: " Khí thương thì đau, hình (huyết) thương thì sưng. Sưng và đau là phản ứng bệnh lý không giống nhau của 2

loại khí huyết bị ngưng trệ. Vì vậy phát sinh ra tổn thương bệnh lý ngoại khoa nhất thiết phải do khí huyết ngưng trệ gây nên". Trong chấn thương, khí huyết ngưng trệ là bệnh lý chủ yếu phát sinh và hình thành bệnh.

*** Khí**: Khí là vật chất cơ bản nhất cấu tạo nên cơ thể con người, và duy trì hoạt động sống của con người. Khí có chức năng thúc đẩy sự hình thành của huyết và sự vận hành của huyết dịch đến mọi nơi trong cơ thể, thúc đẩy sự hoàn thiện chức năng sinh lý của các tổ chức, kinh lạc, tạng phủ trong cơ thể. Ngoài ra, khí còn có tác dụng bảo vệ bì phu, chống đỡ lại ngoại tà. Trong thương khoa, khí phụ trách đau, dễ thoát mủ, làm vết thương sạch sẽ. Nếu khí trệ nhiều thì đau chướng (chướng nhiều hơn đau). Khí chưa hư thì đau ít, thoát mủ dễ dàng, vết thương tươi, sạch. Khí đã hư thì vết thương bẩn, mủ

*** Huyết**: Huyết là vật chất quan trọng để duy trì sự sống của con người. Huyết được tạo thành do tinh hoa của thủy cốc, và được tinh tàng trữ ở thận sinh ra. Huyết được khí thúc đẩy đi trong lòng mạch đến nuôi dưỡng và tư nhuận cho các tạng phủ, tổ chức, cơ quan toàn thân, bên trong là lục phủ ngũ tạng, bên ngoài là bì phu, cân cơ, kinh lạc, không nơi nào là không đến. Huyết thịnh thì hình thịnh, huyết hư thì hình khô héo, huyết bại thì hình hủy hoại. Trong thương khoa, nếu huyết đủ thì máu chảy dễ cầm, vết thương khô, sạch miệng, chóng liền. Huyết ứ thì gây đau nhiều, đau dữ dội, tại chỗ có sưng, nóng, đỏ [24].

1.2.3. Triệu chứng, chẩn đoán và điều trị toạ thương

Tọa thương là dập nát phần mềm (chủ yếu là da, cơ, mạch máu, thần kinh), không bị rách da do ngoại lực trực tiếp gây nên.

**** Nguyên nhân***: do các vật cứng đập mạnh vào vùng da- cơ của cơ thể như đánh võ, ngã, thể dục, va đập [30]. Vùng hay bị tổn thương là đùi, mông, lưng, bọng chân, cánh tay, cẳng tay và vai gáy. YHHĐ gọi là chứng đụng dập.

Tổn thương này theo YHCT vẫn là khí trệ huyết ứ. "Thương khí tắc khí trệ, thương huyết tắc huyết ngưng". Khí trệ khiến huyết ngưng , huyết ngưng có thể cản trở khí hành, vì vậy huyết ứ là gây ra bệnh . Nếu huyết ứ ngưng cơ nhục , bì phu thì sưng, đau, bầm tím; ví dụ : tổn thương cơ, da, dây chằng (tổn thương phần mềm); nếu cản trở ở dinh vệ thì uất mà sinh nhiệt, có triệu chứng bệnh sưng, nóng, đỏ, đau ở da, cơ [30].

**** Triệu chứng***

1, Giai đoạn huyết ứ, khí trệ: Lúc đầu mới bị tổn thương biểu hiện các triệu chứng sưng, nóng , đỏ, đau rầm rộ, đau nhiều tại nơi ứ huyết nhiều, thể trạng còn tốt, hoạt động cơ năng của khớp ít bị hạn chế [32].

2, Giai đoạn sau dẫn đến khí hư: Triệu chứng sưng, nóng, đỏ giảm đi nhưng còn đau, vận động kém, teo cơ, người mệt mỏi, ăn ngủ kém, rêu lưỡi vàng mỏng, mạch nhu tế hoãn [32].

- ***Pháp điều trị***

Hoạt huyết, khử ứ, hành khí, thư cân

Nếu nề nhiều thì lợi thủy, thẩm thấp; nếu sưng nóng đỏ nhiều thì thêm lương huyết.

- ***Thuốc dùng ngoài***

- Cao thống nhất [30]:

Bột ngải cứu 4 phần

Bột cúc tần 8 phần

Sáp ong 4 phần

Bột đại hồi 0.4 phần

Bột quế chi 1.6 phần

Dầu thầu dầu 20 phần

Tất cả trộn đều, ép lên vải mỏng hoặc giấy dai rồi dán vào vùng tổn thương.

- Đắp cao song bá tán (trắc bách diệp, đại hoàng, bạc hà, trạch lan).
- Hoặc có thể dùng bài "Tán ứ hòa thương thang" [30]:

Phiên mộc miết 20g

Sinh bán hạ 20g

Rễ hành 50g

Hồng hoa 20g

Cốt toái bổ 12g

Cam thảo 12g

Cách dùng: Sắc để ấm, hòa với dấm ngâm nơi đau, ngày ngâm 1 lần.

1.3. Tổng quan về bài thuốc nghiên cứu

Bài thuốc HTR có nguồn gốc từ người Dao tại thôn Tả Chải, xã Tả Phìn, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai, bao gồm 3 vị: Phìu hỏa (Cây Hoa tiên), Cặm bung đẻng (Tô sơn) và Ngồng câu puông (Rau má lông). Tác dụng điều trị trong trường hợp đau xương khớp, ngã sưng đau, bầm tím. Thường dùng bằng cách lấy lá tươi giã đắp chỗ đau hoặc ngâm rượu xoa bóp.

1.3.1. Cây Hoa tiên (Asarum glabrum Merr., *Aristolochiaceae)*

1.3.1.1. Đặc điểm sinh học và phân bố

Chi Tế tân (*Asarum* L. - hay còn gọi là chi Hoa tiên, Trầu tiên) thuộc họ Mộc hương (Aristolochiaceae). Trên thế giới, chi này có khoảng 90 loài, phân bố chủ yếu ở các vùng ôn đới của Bắc bán cầu, với phần lớn các loài ở

Đông Á (Trung Quốc, Nhật Bản và Việt Nam), Bắc Mỹ và một loài ở châu Âu (*Asarum europaeum*) [37].

Ở Việt Nam, theo Phạm Hoàng Hộ (1999) [15], Nguyễn Tiến Bân (2001) [2] và Võ Văn Chi (2003) [9], chi *Asarum* L. gồm có 7 loài (*A. balansae* Franch; *A. blumei* Duch. in DC.; *A. caudigerum* Hance; *A. glabrum* Merr.; *A. petelotii* O. C. Schmidt; *A. reticulatum* Merr.và *A. wulingense* Liang) phân bố chủ yếu ở miền Bắc Việt Nam, trong đó có 3 loài được ghi trong Sách Đỏ Việt Nam năm 2007 (*A. balansae* Franch.; *A. caudigerum* Hance và *A. glabrum* Merr.) [3].

Hình 1.1. Cây Hoa tiên

Asarum glabrum Merr. là cây thân thảo sống lâu năm. Thân rễ nằm ngay dưới đất. Lá mọc từ thân rễ, có cuống dài 30-50cm, phiến lá hình tim dài, nguyên, nhẵn, mặt trên xanh bóng, mặt dưới xanh nhạt. Hoa màu tím loe ra gần như cái ống nhỏ, mọc riêng lẻ ở gốc cuống lá. Mùa hoa quả: tháng 4-6 [21].

Phân bố: Cây mọc hoang dại ở những vùng núi cao lạnh, chỗ ẩm có tán che, ven suối như Sapa (Lào Cai), Tam Đảo (Vĩnh Phúc), Ba Vì (Hà Tây), Yên Tử (Quảng Ninh) [21].

1.3.1.2. Thành phần hóa học và tác dụng

Chưa thấy tài liệu nghiên cứu về thành phần hóa học của cây. Trong hoa rất nhiều sắc tố anthoxyanozit [21].

Asarum glabrum Merr. - Hoa tiên, thuộc họ Mộc hương (Aristolochiaceae). Dùng cả cây đặc biệt là hoa để thay thế mật gấu; có tác dụng tiêu viêm, giải độc, ích gan, sáng mắt, chữa đau đầu và đau bụng do cảm gió [17]. Toàn bộ cây được sử dụng làm cây thuốc dân tộc để điều trị đau dạ dày, viêm phổi, ho gà, sốt rét và đau răng. Chiết xuất của *A. glabrum* được biết là có tác dụng chống viêm [45].Thành phần chính được tìm thấy trong tinh dầu từ phần trên mặt đất [60] là safrole (42,24%), apiole và (27,11%) trong khi safrole (41,9%) và phenylpropanoids được chứa trong mẫu từ một cuộc điều tra khác [59].

Asarum, một loại thuốc truyền thống của Trung Quốc có tên là "xixin", được phân phối rộng rãi ở phía đông bắc Trung Quốc [63]. Các loại thảo mộc đã được sử dụng để điều trị cảm lạnh, và như một phương thuốc giảm đau, chống ho hoặc chống dị ứng. Các nghiên cứu dược lý hiện đại đã chỉ ra rằng các loài Asarum thể hiện các đặc tính chống viêm, chống dị ứng, chống tăng lipid máu và chống thiếu máu cơ tim bằng cách tăng cường khả năng co bóp của cơ tim, hoạt động chống loạn nhịp và các cơ chế khác [43],[56].

Nghiên cứu của Wenqiang Zhang và cộng sự về tác dụng của dịch chiết *Asarum* trên thỏ viêm khớp bổ trợ cho thấy chiết xuất *Asarum* làm giảm đáng kể mức độ nghiêm trọng của viêm khớp bằng cách giảm sưng chân sau, chỉ số viêm khớp, chỉ số lách và mức độ biểu hiện TNF‑α, IL1β và IL-6 trong huyết tương. Trong ống nghiệm, chiết xuất Asarum đã ức chế các con đường truyền tín hiệu yếu tố hạt nhân NF‑κB và mitogen- activated protein kinase (MAPK). Những kết quả này chỉ ra rằng chiết xuất Asarum có thể là một tác nhân trị liệu cho viêm khớp bổ trợ (AA- adjuvant arthritis) và có thể tạo ra tác

dụng chống viêm bằng cách làm trung gian các con đường truyền tín hiệu NF-κB và MAPK [63].

Theo YHCT, cây Hoa tiên có vị cay, tính ấm; có tác dụng tán hàn chỉ khái, khu đàm trừ phong. Thường dùng trị: Phong hàn cảm mạo, đau đầu, ho, phong thấp đau nhức, nhức mỏi tay chân, đòn ngã bị thương [21].

1.3.1.3. Cách dùng

Người ta dùng hoa, rễ và lá tươi hoặc phơi hay sấy khô. Nhân dân dùng Hoa tiên làm thuốc bổ, tăng cường thể lực, hoa và rễ ngâm rượu uống. Ngày dùng 10- 16g dưới dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu. Lá dùng chữa ăn uống kém tiêu, đau bụng, dùng 6-12g dưới dạng thuốc sắc [21].

1.3.2. Cây Tô sơn (Toricellia angulata **Oliv.,** *Toricellieae)*

1.3.2.1. Đặc điểm sinh học và phân bố

Chi *Toricellia* DC. với 2 loài - *Toricellia tiliifolia* DC. và *T. angulata* Oliv. - được đặc trưng bởi những cây hoặc cây bụi có nhiều lá xen kẽ và sự khác biệt về hình thái giữa đực và cái. Các phạm vi phân phối của cây này ở phía Đông nam châu Á, bao gồm Bhutan, Trung Quốc, miền bắc Ấn Độ, Nepal và Sikkim; một trong hai loài là đặc hữu của Trung Quốc. *Toricellia*, được mô tả và xác nhận bởi A.P. de Candolle vào cuối năm 1830, được đặt theo tên của một nhà tự nhiên học, nhà vật lý và nhà toán học người Ý Evangelista Toricelli. Loài kỳ lạ Trung Quốc-Hy Lạp này được gán cho họ Cornaceae bởi H. Harms vào năm 1898 và W. Wangerin vào năm 1910- họ đã đặt nó vào họ Toricellieae. Tuy nhiên, W. Wangerin đã chỉ ra những khác biệt về hình thái rõ rệt tồn tại giữa chi duy nhất của họ này và 15 đại diện khác của Cornaceae Sensu Harms (Cornus L., Nyssa L., Helwingia Willd., Aucuba Thunb., Garrya Douglas ex Lindl. ., Mastixia Blume, v.v.). Dựa trên những khác biệt này, X.S. Hu đã có thể mô tả một họ Toricelliaceae mới vào năm 1934. Sau đó, vị trí của họ này được xác định bởi nghiên cứu giải phẫu vỏ cây

và gỗ của Adams, người đã ghi nhận tính nguyên thủy tương đối của các chi *Toricellia* được coi là một điểm cao trào của một thời gian dài dòng tiến hóa độc lập [53].

Hình 1.2. Cây Tô sơn

Toricellia angulata là cây gỗ nhỏ, rụng lá, cao đến 10m; nhánh tròn, không lông. Lá có phiến hình tim hay xoan, có 7-11 thuỳ can, dài 5-15cm, rộng 6-16cm, mép có răng cạn có tuyến, mỏng, không lông; cuống dài bằng phiến. Cụm hoa đực dài đến 18cm; hoa đực rộng 4-5mm; cánh hoa 5, đầu nhọn dài và cong vào trong; nhị 5; bầu lép nhỏ. Cụm hoa cái dài đến 45cm, dài 5 thuỳ, bầu dưới, vòi nhuỵ 3, dài 2mm. Quả hạch hình trứng, cao 6mm. Ra hoa tháng 5-6, có quả tháng 1-3 năm sau [9].

Phân bố: Ở Nam Trung Quốc và Bắc Việt Nam, thường ở độ cao từ 900-1.500m. Ở nước ta, cũng chỉ mới biết cây mọc trong rừng Sa Pa (Lào Cai) [9].

1.3.2.2. Thành phần hóa học và tác dụng

Các thành phần được phân lập và tinh chế bằng sắc ký cột lặp lại và cấu trúc của chúng được làm sáng tỏ bằng phân tích quang phổ. Mười hai hợp chất bao gồm beta-sitoterol (1), 7-hydroxy-3-ethylphthalide (2), 3-beta-

methoxy-stigmast-7-ene (3), stigmast-5-ene (4), trans-p-methylcinnam), stigmate-7-en-3beta-ol (6), o. p-dimethoxybenzoicacid (7), beta-daucosterol (8), ursolicacid (9), axit stearic (10), axit docosanoic (11), axit palmitic (12) đã được phân lập và xác định từ cây này [67].

Theo nghiên cứu của Guangyi Liang, một Iridoid mới, được đặt tên là Toricellate, đã được phân lập từ vỏ rễ của *Toricellia angulata var continia*, một cây thuốc dân gian Trung Quốc được sử dụng để điều trị gãy xương, viêm amidan và hen suyễn. Cấu trúc của nó đã được làm sáng tỏ bởi các phân tích quang phổ NMR, MS, IR và UV. Iridoid có tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh, chống viêm, tăng cường miễn dịch [48].

Theo nghiên cứu của Kannika Panyaphu và cộng sự, cây *Toricellia angulata* ở miền bắc Thái Lan có tác dụng giảm đau, chống viêm [52].

*Toricellia angulat*a Oliv. là cây thuốc cổ truyền từ Trung Quốc có tác dụng điều trị bệnh thấp khớp, cải thiện tuần hoàn máu, chữa bệnh gãy xương, viêm khớp dạng thấp, chấn thương, tê liệt, đau cơ [61].

Theo YHCT: Cây Tô sơn có vị đắng, cay, tính ấm; có tác dụng hoạt huyết khư ứ, khư phong trừ thấp, thư cân tiếp cốt, tiêu viêm, bình suyễn. Ở Trung Quốc, các bộ phận của cây Tô sơn lá có răng được dùng để trị gãy xương, đòn ngã tổn thương, bệnh khô máu (can huyết lao thương), sưng amydal, háo suyễn [9].

1.3.2.3. Cách dùng

Rễ giã nát, đắp ngoài để tiêu nọc sưng đau, nối xương, ngâm rượu uống trong có thể thư cân hoạt lạc. Vỏ rễ, hoa, quả điều huyết, tiếp xương, bổ hư, giải nhiệt, bình suyễn; dùng lá giã đắp trị gãy xương, đòn ngã tổn thương.

1.3.3. Cây Rau má lông (Glechoma longituba (Nakai) Kuprian., *Lamiaceae)*

1.3.3.1. Đặc điểm sinh học và phân bố

Cây Rau má lông (*Glechoma longituba* Kupr.) thuộc chi *Glechoma* L., Họ Bạc hà (Lamiaceae); Bộ Hoa môi (Lamiales); Liên bộ Hoa môi (Lamianae); Phân lớp Hoa môi (Lamiidae); Lớp Ngọc lan (Magnoliopsida); Ngành Ngọc lan (Magnoliophyta) [8].

Hình 1.3. Cây Rau má lông

Chi *Glechoma* L. được mô tả với các đặc điểm như sau: Cây thảo, có thân bò hoặc mọc thẳng, nhiều năm. Lá có cuống dài, gốc hình tim. Hoa mọc vòng ở nách lá, 2- 6 (hoặc nhiều) hoa trên một cụm. Đài hình ống tới chuông, hơi cong ở gần họng đài, 15 gân, chia 2 môi không rõ, môi trên 3 thùy, môi dưới 2 thùy. Tràng hoa hình ống, mở rộng ở đỉnh, 2 môi; môi trên thẳng, có khía hoặc chia 2 thùy; môi dưới trải rộng, 3 thùy. Nhị 4, 2 nhị dài đính vào 2 thùy bên của môi dưới, 2 nhị ngắn đính ở gần họng của thùy trên; chỉ nhị không lông, không phát triển ở hoa cái: bao phấn thuôn, các bao phấn song song hoặc không. Bầu nhẵn. Chỉ nhị mảnh, chẻ đôi ở đầu. Quả hạch nhỏ màu nâu đen, hình thuôn- trứng, không lông [65]. Mùa ra hoa vào tháng 4- 6. Gặp ở nơi sáng và ẩm, các bãi hoang, ven đường, ở độ cao 500- 1.500m [11].

Phân bố: Theo cuốn Từ điển thực vật thông dụng [9] loài được xác định là *G. longituba* phân bố ở Trung Quốc, Triều Tiên và Bắc Việt Nam.

Riêng ở Việt Nam thì có ở Cao Lộc (Lạng Sơn).

1.3.3.2. Thành phần hóa học và tác dụng

Trong lá chứa 3% tinh dầu, và các thành phần bao gồm trong đó là aldehyde và ceton. Các thành phần chính của tinh dầu dễ bay hơi có trong cây bao gồm pinocamphone- 1, C10H6O, và các thành phần khác được xác định là 1- menthone, C10H18O; 1- pulegone, C10H6O; α- pinen, C10H16, β- pinen, limonene, C10H16; p- cymene, C10H14; isomenthone; isopinocamphone; linalol, C10H18O; tinh dầu bạc hà, C10H20O; và α- tecpineol, C10H18O [21]. Cây còn chứa Glechomafuran sesquiterpene và Glechomanolide [36].

Thành phần của chất nhựa trong cây còn bao gồm một số acid amin, đó là: Proline, valine, tyrosine, acid aspartic, acid glutamic, threonine, serine, glycine, alanine cystine, methionine leucine, isoleucine, và phenylalanine [36].

Ngoài ra còn có các acid như acid ursolic, β- sitosterol, acid palmitic, acid isobutyric, acid caffeic, acid cinnamic, acid ferulic, acid p- hydroxycoumaric. Thành phần hóa học còn bao gồm tannin, choline, chất đắng, và stachyose [36].

Sử dụng phương pháp sắc ký và phân tích quang phổ đã phân lập được 9 thành phần từ *G . longituba*, bao gồm: Glecholone (1); 6R, 9R-3- oxo- alpha- ionol (2); S (±) dehydrovomifloliol, S (±) dehydrovomifoliol (3), Vomifoliol (4), Corosolic acid (5), Quercetin (6), Stigmastenol (7), Myristic acid (8) và Triacontanol (9), 2- alpha- pinan- 3 - one- 2- O- beta- glucopyranoside (10) và 5- alpha- pinan- 3- one- 5- O- beta- glucopyranoside (11) [68].

Loài *G. longituba* được chứng minh là có tác dụng kìm khuẩn với Staphylococcus aureus, Salmonella typhi, trực khuẩn lỵ (Shigella spp.) và Pseudomonas [66].

Theo nghiên cứu của Trần Thị Kim Anh, cao lỏng rau má lông có tác dụng giảm đau ở mức liều nghiên cứu 10,8g/kg và 14,4g/kg TLCT trên mô hình gây cơn đau quặn ở chuột nhắt trắng. Ở liều 14,4g/kg TLCT cao lỏng thể hiện tác dụng giảm đau mạnh hơn Aspirin với liều 100mg/kg [1].

Theo YHCT: Rau má lông có vị cay, hơi đắng, tính hàn; có tác dụng lợi niệu thông lâm, thanh nhiệt giải độc, tán ứ tiêu thũng. Còn có thể khư phong trừ thấp, hoạt huyết tán hàn. Rau má lông thường được dùng trị: Sỏi niệu đạo, sỏi bàng quang; thấp nhiệt hoàng đản, sỏi mật; cảm cúm, ho do phong hàn; phong thấp đau nhức khớp, đau răng sưng mặt; kinh nguyệt không đều, thống kinh; băng lậu, bạch đới [5], [13], [15].

Trên thế giới cây được dùng với tác dụng như lợi mật, điều trị các chứng về tử cung, phòng chống sỏi thận, hay tác dụng hạ nhiệt, giải độc, lợi tiểu, giảm đau, chống sưng [68].

1.3.3.4. Cách dùng

Liều dùng 15-30g, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài trị viêm tuyến mang tai, mụn nhọt, đòn ngã tổn thương gẫy xương, giã cây tươi đắp tại chỗ [5].

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Bài thuốc HTR có thành phần như sau:

Hoa tiên 70g

Tô sơn 70g

Rau má lông 150g

Tác dụng: Hành khí, hoạt huyết, hóa ứ, tiêu thũng.

Dạng nghiên cứu: Dịch chiết cồn của bài thuốc.

Bộ phận dùng: Dùng toàn cây cả thân và lá (hoa tiên, rau má lông), lá (tô sơn), được thu hái vào tháng 11/2018 tại xã Tả Phìn, huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai.

Sơ chế: Dược liệu thu về cắt nhỏ, sấy ở nhiệt độ 50^{o}C đến hàm ẩm 12%, bảo quản trong túi polypropylene.

Phương pháp ngâm lạnh (tháng 2/2019):

- Cho toàn bộ dược liệu vào bình ngâm với ethanol 70^{o}C, ngâm ngập dược liệu là khoảng 2,5 lít (tỉ lệ 1: 9), đậy kín ở nhiệt độ phòng.

- Để yên trong 3 ngày ở nhiệt độ phòng rồi rút dịch chiết. Lặp lại lần 2, lần 3. Gộp 3 dịch chiết lại, cô cách thủy (loại bỏ cồn) đến cao lỏng 1:1.

- Cao lỏng bảo quản trong tủ lạnh.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Đối tượng nghiên cứu trên thực nghiệm

+ Thỏ giống *Newzealand white* trọng lượng mỗi con từ 2- 2,5 kg, cả 2 giống, khỏe mạnh do Trung tâm chăn nuôi động vật thí nghiệm Hà Tây cung cấp.

+ Chuột nhắt trắng chủng *Swiss* trọng lượng 18 – 22g, cả 2 giống, khỏe mạnh, do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung Ương cung cấp.

Động vật thí nghiệm được nuôi trước 5 ngày và trong toàn bộ thời gian thí nghiệm bằng thức ăn chuẩn và uống nước tự do tại phòng thí nghiệm, Bộ môn Dược lý, trường Đại học Y Hà Nội.

2.2.2. Thuốc, máy móc và dụng cụ nghiên cứu

+ Thuốc Diclofenac:

- ✓ Biệt dược Voltaren dạng emugel bôi ngoài da 1% ống 20g.
- ✓ Hãng sản xuất: Novartis.
- ✓ Quốc gia sản xuất: Thụy Sĩ.

+ Lidocain 2% dạng kem bôi của hãng Pymepharco

+ Các loại máy móc và dụng cụ

- ✓ Máy gây đụng dập do trường Đại học Bách Khoa Hà Nội sản xuất
- ✓ Máy Hot plate model- DS37 do hãng Ugo Basile của Italia sản xuất.
- ✓ Máy đo phản ứng đau bằng phương pháp rê kim, sản xuất bởi Ugo Basile.
- ✓ Máy scan kí hiệu HP Scanjet G2410.
- ✓ Thước đo độ dày tai thỏ do hãng Hangzhou tools and measuring tools co. Ltd (Trung Quốc) sản xuất, độ chính xác đến 0,02 mm.
- ✓ Phần mềm tính diện tích hình ảnh ImageJ 1.45f.
- ✓ Băng, gạc vô khuẩn.
- ✓ Giấy bóng kính, bút dạ vẽ trên giấy bóng kính.
- ✓ Kính lúp.
- ✓ Nước lọc dùng để tẩm vào gạc đắp lên vùng đối chứng.
- ✓ Nước sạch dùng để rửa sạch vùng bôi thuốc.

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Phòng Thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.4. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 5/2019 đến tháng 10/2019

2.5. Phương pháp nghiên cứu

2.5.1. Đánh giá kích ứng da

Mô hình nghiên cứu được thiết kế và tiến hành dựa trên hướng dẫn của OECD (Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế) về việc đánh giá kích ứng da dành cho các sản phẩm dược phẩm và mỹ phẩm dùng ngoài da [51].

Quy trình nghiên cứu: Thỏ gồm 3 con. Thỏ được nuôi trong lồng riêng, cho ăn bằng chế độ ăn riêng, giữ ở nhiệt độ phòng trong vòng 1 tuần trước khi tiến hành nghiên cứu. Trước ngày nghiên cứu 24 giờ, thỏ được cạo lông ở phần lưng và hông. Chia phần da cạo lông làm 2 phần, chọn mỗi phần có diện tích khoảng 6cm^2 (2,5cm x 2,5 cm) trên mỗi thỏ được sử dụng để bôi 0,5 ml chế phẩm nghiên cứu, phần da không bôi thuốc được sử dụng làm đối chứng: bôi nước.

Chỉ để một nghiên cứu viên bôi thuốc trên da thỏ cho cả phần bôi thuốc (lấy gạc thấm dịch chiết để bôi) và phần bôi tá dược, bôi đồng đều, thay găng sau mỗi lần bôi để hạn chế sai số. Đắp gạc (diện tích 6cm^2) lên cả hai phần bôi thuốc và phần dùng làm chứng. Lưng thỏ được băng (không băng chặt) lại bằng băng gạc. Sau 4 giờ, tháo bỏ tất cả băng gạc ra khỏi lưng thỏ và rửa sạch thuốc một cách nhẹ nhàng bằng nước sạch [34].

Đánh giá và tính điểm các chỉ số về ban đỏ (erythema), phù nề (oedema) tại thời điểm 1 giờ, 24, 48, 72 giờ sau khi loại bỏ thuốc. Nếu có tổn thương, theo dõi thỏ 14 ngày để đánh giá khả năng phục hồi. Khi tổn thương đã hồi phục thì ngừng theo dõi.

Bảng 2.1. Bảng đánh giá tính điểm cho hai triệu chứng ban đỏ và phù nề

Ban đỏ	**Điểm**
- Không có	0
- Rất nhẹ (khó nhận thấy)	1
- Dễ nhận thấy	2
- Nhẹ đến nặng	3
- Nặng đến hình thành vảy trên da	4
Phù nề	**Điểm**
- Không có	0
- Rất nhẹ (khó nhận thấy)	1
- Dễ nhận thấy (da dày lên)	2
- Trung bình (dày lên 1mm)	3
- Nặng (dày hơn 1mm hoặc ra ngoài vùng bôi)	4

Bảng 2.2.Bảng xếp loại mức độ kích ứng da

Xếp loại	**Điểm**
Không kích ứng	0 – 0,4
Kích ứng nhẹ	0,5 – 1,9
Kích ứng vừa	2 – 4,9
Kích ứng nặng	5 - 8

2.5.2. Đánh giá tác dụng chữa chấn thương phần mềm

Số lượng thỏ 15 con được chia thành 3 lô gồm:

+ Lô 1: 5 con tương ứng là 10 tai thỏ, là lô mô hình, bôi nước.

+ Lô 2: 5 con tương ứng 10 tai thỏ, là lô chứng dương, được bôi voltaren.

+ Lô 3: 5 con tương ứng 10 tai thỏ, là lô thuốc thử, được bôi thuốc thử

Tiến hành gây CTPM trên tai thỏ:

+ Trước khi gây CTPM 24 giờ, tiến hành cạo sạch lông mặt ngoài tai thỏ.

+ Chọn phần gây tổn thương cách gốc tai 3cm

+ Quan sát màu sắc da vùng tai thỏ được cạo lông, đồng thời tiến hành đo chiều dày tai thỏ.

+ Tiến hành gây CTPM cấp trên tai thỏ bằng máy gây đụng dập, lực tác động giống nhau trên tất cả các thỏ.

+ Bôi thuốc vào vùng tổn thương ở tai thỏ sau 1 giờ, 5 giờ, 9 giờ sau khi gây tổn thương. Từ ngày thứ 2, tai thỏ được bôi thuốc 3 lần/ngày, cách nhau 4 giờ. Thời gian bôi thuốc là cho đến khi tai thỏ hết tổn thương. Thuốc được sử dụng ở các lô như sau:

- Lô 2 bôi voltaren liều 0,02 g/cm^2
- Lô 3 bôi thuốc thử liều 1 ml/thỏ

Tiến hành quan sát tại các thời điểm sau khi gây chấn thương: 1 giờ, 6 giờ, 24 giờ và cách mỗi 24 giờ sau đến khi hết tổn thương để đánh giá các chỉ số nghiên cứu sau:

+ Quan sát thương tổn (màu sắc, mức độ phù nề)

+ Vẽ lại diện tích thương tổn trên giấy bóng kính (sau đó tính diện tích bằng phần mềm ImageJ 1.45f)

+ Đo độ dày tai thỏ

+ Tính thời gian hồi phục thương tổn của thỏ: được tính từ khi gây CTPM trên tai thỏ đến khi hồi phục thương tổn.

So sánh tất cả những chỉ số nghiên cứu thu được giữa 3 lô động vật thực nghiệm với nhau.

2.5.3. Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp mâm nóng (hot plate) [35]

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con:

+ Lô 1 (Chứng sinh học): Bôi nước vào 2 gan bàn chân chuột.

+ Lô 2 (Voltaren): Bôi voltaren vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

+ Lô 3 (Lidocain): Bôi lidocain vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

+ Lô 4 (Thuốc thử): Bôi thuốc thử vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

Phương pháp bôi: Lấy gạc thấm dịch chiết bôi lên bề mặt gan bàn chân chuột, thoa nhiều lần để thuốc phân bố đều. Chỉ một kỹ thuật viên thực hiện việc bôi thuốc (hoặc tá dược) cho toàn bộ các lô chuột và toàn bộ các nghiên cứu để đảm bảo hạn chế sai số.

Sau thời gian 30 phút kể từ lúc được bôi, chuột được đo phản ứng đau bằng phương pháp mâm nóng.

Nguyên lý của phương pháp mâm nóng: Sử dụng nhiệt độ trên mâm nóng (tiếp xúc trực tiếp) tác động lên gan bàn chân chuột. Nhiệt độ được sử dụng là 56^oC. Sau một thời gian kể khi tiếp xúc với mâm nóng, chuột sẽ xuất hiện các phản xạ, điển hình là phản xạ liếm chân. Xác định thời gian từ khi tiếp xúc cho tới khi chuột xuất hiện phản xạ liếm chân để đo mức độ đau.

Phương pháp đo như sau: Đặt chuột lên mâm nóng (máy Hot plate), luôn duy trì ở nhiệt độ 56^oC bằng hệ thống ổn nhiệt. Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt được tính từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột có phản xạ liếm chân sau. Loại bỏ những chuột phản ứng quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây). So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước và sau khi bôi thuốc thử và so sánh giữa các lô chuột với nhau [41].

2.5.4. Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp rê kim [40]

Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con

+ Lô 1 (Chứng sinh học): Bôi nước vào 2 gan bàn chân chuột.

+ Lô 2 (Voltaren): Bôi voltaren vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

+ Lô 3 (Lidocain): Bôi lidocain vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

+ Lô 4 (Thuốc thử): Bôi thuốc thử vào toàn bộ 2 gan bàn chân chuột.

Phương pháp bôi tương tự mục 2.5.3.

Đánh giá phản ứng đau của chuột tại thời điểm 30 phút sau khi bôi.

Nguyên lý của phương pháp rê kim: Tác dụng một lực tăng dần bằng đầu kim lên gan bàn chân chuột. Khi đến ngưỡng đau, chuột phản ứng bằng cách co chân, máy đo sẽ tự động xác định thời gian từ khi chạm vào chân chuột cho tới khi xuất hiện phản xạ co chân. Lực tác động được cài đặt trước khi thực hiện nghiên cứu, sự gia tăng của lực này theo thời gian là giống nhau cho toàn bộ chuột trong quá trình nghiên cứu.

Phương pháp rê kim để đo ngưỡng đau được thực hiện như sau:

+ Cho toàn bộ 10 chuột của một lô vào các buồng đo, đợi khoảng 5 phút trước khi để chuột ổn định.

+ Rê kim (cảm ứng) sao cho đầu kim chạm vào giữa gan bàn chân chuột.

+ Bấm nút để thực hiện việc đo, máy tự động đo thời gian phản ứng với đau của chân chuột.

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

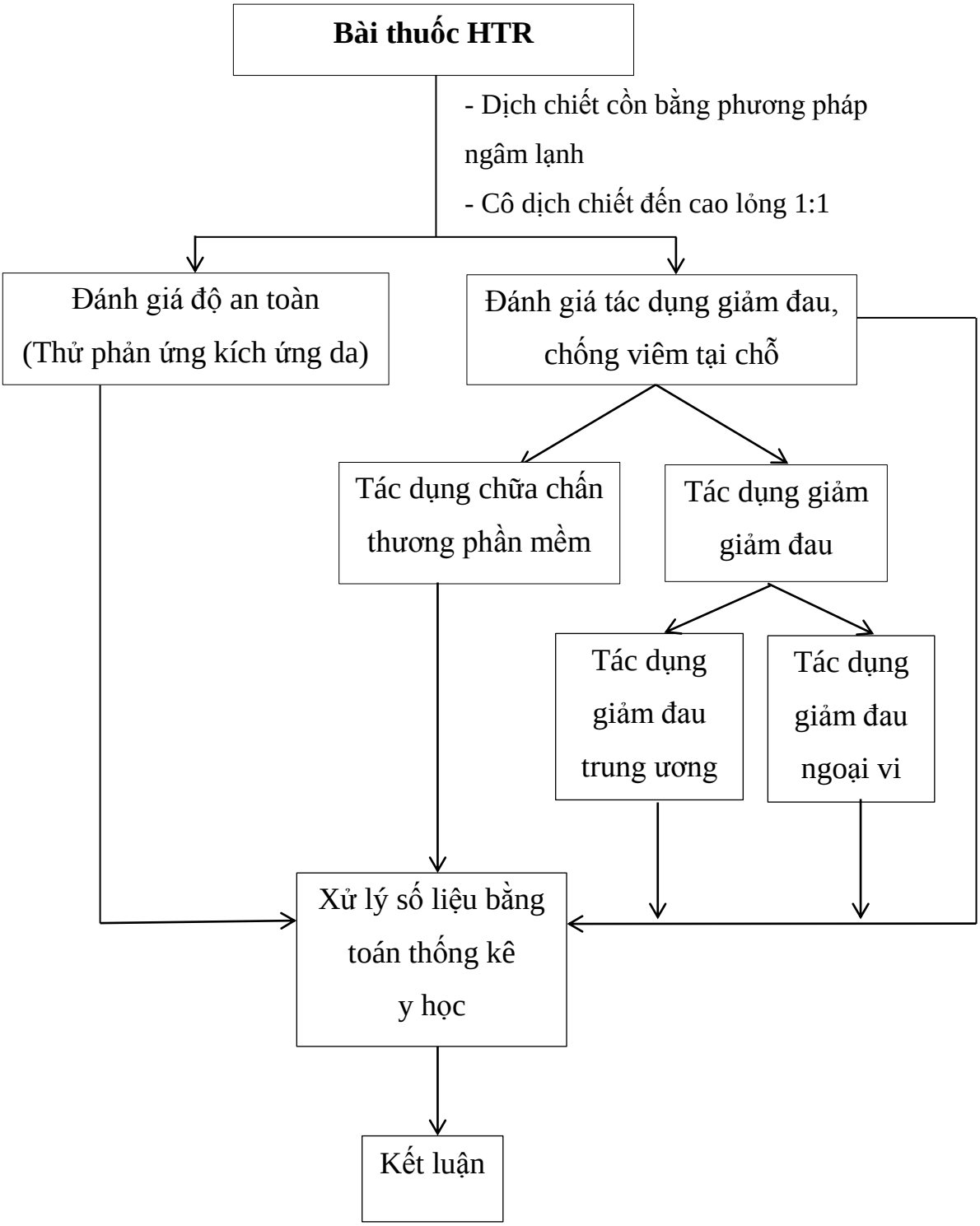
+ Tính diện tích phần mềm:

- ✓ Diện tích thương tổn được vẽ trên giấy bóng kính, sử dụng máy scan để đưa hình ảnh vào máy tính.
- ✓ Sử dụng phần mềm tính diện tích hình ảnh ImageJ 1.45f để tính ra diện tích cụ thể

+ Số liệu biểu diễn dưới dạng: MEAN ± SD

+ Số liệu được xử lý bằng thuật toán thống kê T- test Student bằng phần mềm Microsoft Excel.

+ Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.



Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tác dụng kích ứng da của bài thuốc HTR

Các triệu chứng ban đỏ, phù nề được đánh giá trên 3 thỏ tại các thời điểm 1h, 24h, 48h và 72h sau khi loại bỏ mẫu nghiên cứu bôi trên da; đánh giá điểm theo Bảng 2.1 và hình ảnh (Phụ lục 2). Kết quả được mô tả trong Bảng 3.1 và 3.2.

Bảng 3.1. Đánh giá ban đỏ trên các thỏ đánh giá kích ứng da của thuốc thử

Thỏ	**BAN ĐỎ**							
	1h		**24h**		**48h**		**72h**	
	TH	Ch	TH	Ch	TH	Ch	TH	Ch
Thỏ 1	2	0	0	0	0	0	0	0
Thỏ 2	2	0	0	0	0	0	0	0
Thỏ 3	1	0	0	0	0	0	0	0

TH: vùng da bôi mẫu nghiên cứu Ch: vùng da bôi nước sạch

Kết quả ở Bảng 3.1 cho thấy:

- Ở 3 thỏ, tại thời điểm 1h, trên vùng da bôi thuốc thử có xuất hiện ban đỏ mức độ dễ nhận thấy (thỏ 1, thỏ 2) hoặc rất nhẹ, khó nhận thấy (thỏ 3). Trên vùng da làm chứng không có hiện tượng ban đỏ.

- Ở 3 thỏ, tại các thời điểm 24h, 48h, 72h, ở vùng da bôi làm chứng và vùng da dùng thuốc thử đều không xuất hiện tình trạng ban đỏ.

Bảng 3.2. Đánh giá phù nề trên các thỏ đánh giá kích ứng da của thuốc thử

Thỏ	PHÙ NỀ							
	1h		24h		48h		72h	
	TH	Ch	TH	Ch	TH	Ch	TH	Ch
Thỏ 1	0	0	0	0	0	0	0	0
Thỏ 2	0	0	0	0	0	0	0	0
Thỏ 3	0	0	0	0	0	0	0	0

TH: vùng da bôi mẫu nghiên cứu Ch: vùng da bôi nước sạch

Kết quả Bảng 3.2 cho thấy:

- Ở 3 thỏ, tại các thời điểm 1h, 24h, 48h, 72h, trên vùng da bôi thuốc thử và vùng da bôi làm chứng đều không có hiện tượng phù nề.

Bảng 3.3. Chỉ số kích ứng (PII) trên thỏ đánh giá kích ứng da của thuốc thử

Thỏ	PII
Thỏ số 1	0
Thỏ số 2	0
Thỏ số 3	0

Từ kết quả ở Bảng 3.3, tính được chỉ số kích ứng (PII) của thuốc thử = 0.

Dựa vào bảng phân loại kích ứng da theo PII, thuốc thử không gây kích ứng da trên thỏ.

3.2. Tác dụng chữa chấn thương phần mềm của bài thuốc HTR

3.2.1. Màu sắc, mức độ phù nề tai thỏ

Sau khi tiến hành gây CTPM cấp trên tai thỏ bằng máy gây đụng dập, ta bôi thuốc và tiến hành quan sát tại các thời điểm sau khi gây chấn thương: 1 giờ, 6 giờ, 24 giờ và cách mỗi 24 giờ sau khi hết tổn thương để đánh giá màu sắc, mức độ phù nề. So sánh giữa 3 lô động vật thực nghiệm với nhau, được thể hiện ở Bảng 3.4.

Bảng 3.4. So sánh màu sắc, mức độ phù nề tai thỏ tại các thời điểm

THỜI ĐIỂM	LÔ 1 MÔ HÌNH	LÔ 2 VOLTAREL	LÔ 3 THUỐC THỬ
Trước khi gây chấn thương			
Sau 1 giờ khi gây chấn thương			

Nhận xét	Trên tất cả các tai thỏ, vùng tổn thương bầm tím, tụ máu, tuy nhiên tổn thương chưa lan rộng.		
Sau 24 giờ			
Nhận xét	Vùng tổn thương bắt đầu giảm bầm tím, tụ máu, tổn thương lan rộng, sung huyết. Mức độ bầm tím, tụ máu và diện tích tổn thương ở lô 2 và lô 3 chưa khác biệt rõ rệt so với lô 1.		
Từ sau 48 giờ	Các tổn thương bắt đầu giảm bầm tím, tụ máu, sung huyết, có sự khác biệt giữa các lô.		
Sau 4 ngày			
Nhận xét	Mức độ sung huyết và diện tích tổn thương ở lô 2 và lô 3 giảm đi rõ rệt so với lô 1. Mức độ tổn thương ở lô 3 giảm đi tương đối so với lô 2.		

Sau 5 ngày			
Nhận xét	Sau 5 ngày trở đi, vùng tổn thương ở tai thỏ trong tất cả các lô nghiên cứu đều giảm mức độ sung huyết, giảm diện tích vùng tổn thương và hết tổn thương. Tuy nhiên, thời gian hết tổn thương khác nhau giữa các lô. Mức độ tổn thương ở lô 3 giảm đi tương đối so với lô 1 và lô 2.		

3.2.2. Độ dày vùng tổn thương trên tai thỏ

Độ dày vùng tổn thương trên tai thỏ được đánh giá trên 3 thỏ tại các thời điểm trước khi gây chấn thương, sau 1 giờ, sau 6 giờ, 24 giờ và cách mỗi 24 giờ sau đến khi hết tổn thương. Kết quả được mô tả trong Bảng 3.5, 3.6 và Hình 3.1.

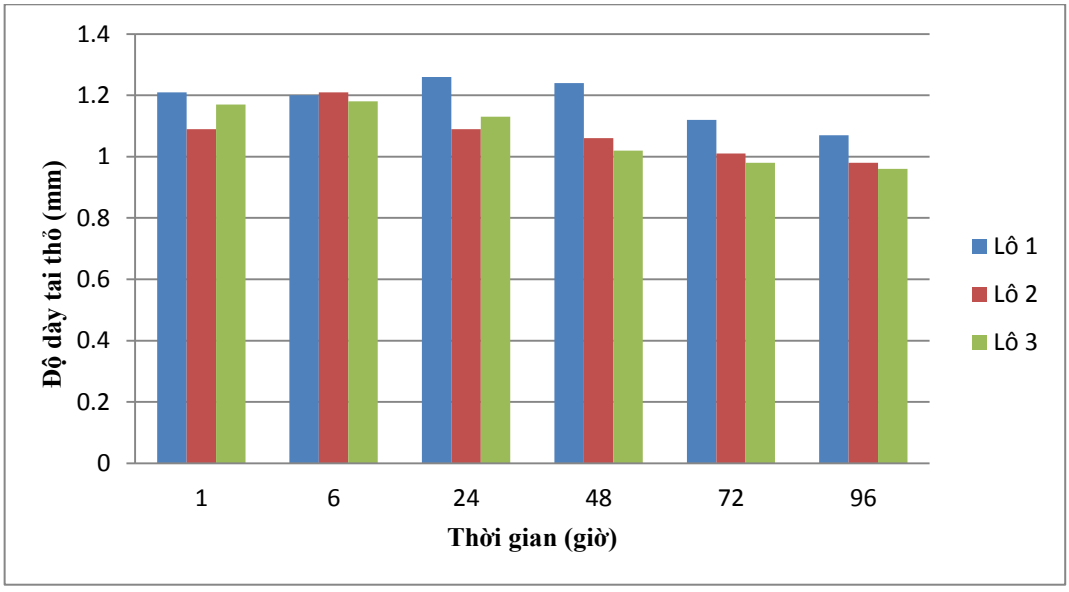
Bảng 3.5. Tác dụng của thuốc thử trên độ dày vùng tổn thương trong vòng 3 ngày sau khi gây chấn thương

Lô	**Độ dày tai thỏ (mm)**				
	Trước khi gây chấn thương	Sau 1 giờ	Sau 6 giờ	Sau 1 ngày	Sau 2 ngày
1	0,92 ± 0,05	1,21 ± 0,05	1,20 ± 0,24	1,26 ± 0,17	1,24 ± 0,10
2	0,88 ± 0,08	1,09 ± 0,15	1,20 ± 0,15	1,09 ± 0,15	1,06 ± 0,17
p_{2-1}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05
3	0,93 ± 0,08	1,17 ± 0,10	1,18 ± 0,10	1,13 ± 0,12	1,02 ± 0,06

p_{3-1}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05
p_{3-2}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 3.6. Tác dụng của thuốc thử trên độ dày vùng tổn thương sau 3 ngày đến sau 7 ngày sau khi gây chấn thương

Lô	**Độ dày tai thỏ (mm)**				
	Sau 3 ngày	Sau 4 ngày	Sau 5 ngày	Sau 6 ngày	Sau 7 ngày
1	1,12 ± 0,09	1,07 ± 0,10	0,96 ± 0,07	0,95 ± 0,08	0,94 ± 0,06
2	1,01 ± 0,09	0,98 ± 0,08	0,92 ± 0,08	0,90 ± 0,08	0,89 ± 0,07
p_{2-1}	< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
3	0,98 ± 0,08	0,96 ± 0,06	0,95 ± 0,08	0,92 ± 0,07	0,92 ± 0,07
p_{3-1}	< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p_{3-2}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05



Hình 3.1. Tác dụng của thuốc thử trên độ dày vùng tổn thương tại các thời điểm nghiên cứu

Kết quả ở hình Bảng 3.5, Bảng 3.6 và Hình 3.1 cho thấy:

- Trước khi gây mô hình, độ dày tai thỏ ở tất cả các lô đều tương đương nhau ($p > 0,05$).

- Ở tất cả các lô: sau khi gây mô hình chấn thương cấp tính trên tai thỏ, độ dày tai thỏ tăng rõ rệt, có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây mô hình ($p < 0,05$).

- Ở lô 2 (bôi Voltaren) và lô 3 (bôi thuốc thử):

+ Ở các thời điểm 1 giờ, 6 giờ sau khi gây chấn thương, độ dày tai thỏ ở lô 2 và lô 3 chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô 1.

+ Ở các thời điểm sau 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày và 4 ngày sau khi gây chấn thương, độ dày tai thỏ ở lô 2 và lô 3 giảm có ý nghĩa thống kê so với lô 1 ($p < 0,05$).

+ Ở các thời điểm còn lại, độ dày vùng tổn thương ở lô 2 và lô 3 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô 1 ($p > 0,05$).

+ Độ dày vùng tổn thương ở lô 3 không có sự khác biệt so với lô 2 ở các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

3.2.3. Diện tích vùng tổn thương

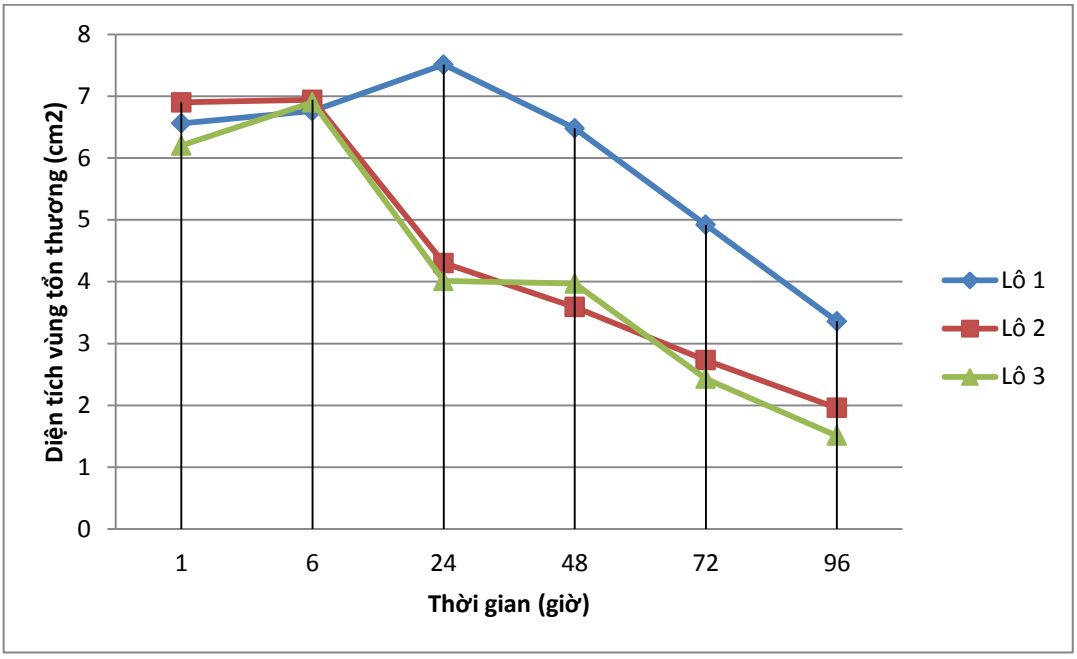
Diện tích vùng tổn thương tai thỏ được đánh giá trên 3 thỏ tại các thời điểm trước khi gây chấn thương, sau 1 giờ, sau 6 giờ, 24 giờ và cách mỗi 24 giờ sau đến khi hết tổn thương. Kết quả được mô tả trong Bảng 3.7, 3.8 và Hình 3.2.

Bảng 3.7. Tác dụng của thuốc thử trên diện tích vùng tổn thương trong vòng 3 ngày sau khi gây chấn thương

Lô	**Diện tích vùng tổn thương (cm^2)**			
	Sau 1 giờ	Sau 6 giờ	Sau 1 ngày	Sau 2 ngày
1	6,56 ± 2,26	6,76 ± 3,01	7,51 ± 2,79	6,48 ± 2,02
2	6,90 ± 1,78	6,94 ± 2,14	4,30 ± 2,09	3,59 ± 2,21
p_{2-1}	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05
3	6,18± 1,13	6,91 ± 1,74	4,01 ± 1,67	3,97 ± 2,15
p_{3-1}	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05
p_{3-2}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Bảng 3.8. Tác dụng của thuốc thử trên diện tích vùng tổn thương sau 3 ngày đến sau 7 ngày sau khi gây chấn thương

Lô	**Diện tích vùng tổn thương (cm^2)**				
	Sau 3 ngày	Sau 4 ngày	Sau 5 ngày	Sau 6 ngày	Sau 7 ngày
1	4,92 ± 1,74	3,36 ± 1,55	1,97 ± 1,41	1,49 ± 1,21	0,23 ± 0,50
2	2,73 ± 1,96	1,96 ± 1,53	0,80 ± 0,90	0,33 ± 0,57	0,09 ± 0,29
p_{2-1}	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05
3	2,43 ± 1,57	1,51 ± 1,36	0,67 ± 0,98	0,12 ± 0,39	0,09 ± 0,29
p_{3-1}	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05
p_{3-2}	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05



Hình 3.2. Tác dụng của thuốc thử trên diện tích vùng tổn thương tại các thời điểm nghiên cứu

Kết quả ở Bảng 3.7, Bảng 3.8 và Hình 3.2 cho thấy:

- Ở lô 1 (lô mô hình không bôi thuốc), diện tích vùng tổn thương tăng lên cao nhất vào thời điểm sau 1 ngày, sau đó giảm dần đến khi hết hoàn toàn tổn thương.

- Ở lô 2 (bôi Voltaren) và lô 3 (bôi thuốc thử):

+ Diện tích vùng tổn thương ở lô 2 và lô 3 ngay sau khi gây chấn thương 1 giờ và sau 6 giờ không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô 1 ($p > 0,05$).

+ Tại thời điểm sau 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày diện tích vùng tổn thương ở lô 2 và lô 3 giảm có ý nghĩa thống kê so với lô 1 ($p < 0,05$).

+ Diện tích vùng tổn thương không có sự khác biệt giữa lô 2 và lô 3 ($p > 0,05$) ở các thời điểm nghiên cứu.

3.2.4. Thời gian phục hồi tổn thương

Thời gian phục hồi tổn thương của tai thỏ được tính từ khi gây CTPM trên tai thỏ đến khi hồi phục thương tổn. Kết quả thể hiện qua Bảng 3.9.

Bảng 3.9. Tác dụng của thuốc thử trên thời gian hết hoàn toàn tổn thương ở tai thỏ

Lô	**Thời gian hết tổn thương (ngày)**
1	6,40 ± 1,51
2	4,50 ± 1,51
p_{2-1}	< 0,05
3	4,40 ± 1,65
p_{3-1}	< 0,05

Kết quả ở Bảng 3.9 cho thấy thời gian hết tổn thương trên tai thỏ ở lô 2 và lô 3 giảm có ý nghĩa thống kê so với lô 1 với $p < 0,05$.

3.3. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp mâm nóng

Phương pháp mâm nóng là sử dụng nhiệt độ trên mâm nóng tác động lên gan bàn chân chuột, sau một thời gian tiếp xúc với mâm nóng chuột sẽ xuất hiện phản xạ liếm chân sau. Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt được tính từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột có phản xạ liếm chân sau. Kết quả so sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt trước và sau khi bôi thuốc và giữa các lô với nhau được thể hiện qua Bảng 3.10.

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của thuốc thử lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng

Lô chuột	**Thời gian phản ứng với nhiệt độ (giây)**		**p trước-sau**
	Trước	**Sau**	
Lô 1 (chứng sinh học)	18,69 ± 4,50	19,99 ± 5,18	> 0,05
Lô 2 (Voltaren)	19,70 ± 3,98	28,06 ± 8,96	< 0,05
p_{2-1}	> 0,05	< 0,05	
Lô 3 (Lidocain)	19,92 ± 4,05	28,21 ± 9,57	< 0,05
p_{3-1}	> 0,05	< 0,05	
Lô 4 (Thuốc thử)	19,95 ± 4,76	28,75 ± 7,51	< 0,01
p_{4-1}	> 0,05	< 0,01	

Kết quả ở Bảng 3.10 cho thấy:

- Voltaren có tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi bôi thuốc và với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

- Lidocain có tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi bôi thuốc và với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

- Lô chuột được bôi thuốc thử, sau 30 phút có tác dụng kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng so với so với lô chứng ($p < 0,01$) và so với trước khi dùng thuốc ($p < 0,01$).

3.4. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp rê kim

Phương pháp rê kim là tác dụng một lực tăng dần bằng đầu kim lên gan bàn chân chuột. Khi đến ngưỡng đau, chuột phản ứng bằng cách co chân. Kết quả so sánh lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau trước và sau khi bôi thuốc; thời gian phản ứng đau từ khi kim chạm vào chân chuột cho đến khi xuất hiện phản xạ co chân; và so sánh giữa các lô với nhau thể hiện qua Bảng 3.11.

Bảng 3.11. Tác dụng giảm đau của của thuốc thử trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp rê kim

Lô chuột	**n**	**Lực gây đau trên máy đo ngưỡng đau (gam)**		**Thời gian phản ứng đau (giây)**	
		Trước	**Sau**	**Trước**	**Sau**
Lô 1 (chứng sinh học)	10	7,04 ± 1,18	7,10 ± 1,29	3,81 ± 0,60	3,90 ± 0,70
Lô 2 (Voltaren)	10	7,14 ± 0,96	7,61 ± 1,67 $p_{trước\text{-}sau} > 0,05$	3,91 ± 0,61	4,34 ± 1,01 $p_{trước\text{-}sau} > 0,05$
Lô 3 (Lidocain)	10	7,09 ± 1,69	7,20 ± 1,22 $p_{trước\text{-}sau} > 0,05$	3,87 ± 0,87	4,08 ± 0,74 $p_{trước\text{-}sau} > 0,05$

Lô 4 (Thuốc thử)	10	7,15 ± 1,35	8,67 ± 1,88* **$p_{trước-sau} < 0,01$** $p_{4-2} > 0,05$ $p_{4-3} > 0,05$	3,93 ± 0,87	4,96 ± 1,15* **$p_{trước-sau} < 0,01$** $p_{4-2} > 0,05$ $p_{4-3} > 0,05$

Kết quả ở Bảng 3.11 cho thấy:

- Voltaren và lidocain có tác dụng làm tăng lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với trước bôi thuốc và so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Thuốc thử bôi sau 30 phút có tác dụng làm tăng rõ rệt lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với trước bôi thuốc và so với lô chứng sinh học ($p < 0,05$).

Chương 4
BÀN LUẬN

4.1. Phương pháp nghiên cứu

4.1.1. Phương pháp bào chế

Để tiện cho việc sử dụng thì hầu hết các dược liệu cần phải sấy khô. Việc sấy ở nhiệt độ 50^oC là theo thông lệ nhiệt độ sấy từ 50 - 60^oC. Tuy nhiên, các dược liệu có tinh dầu hay các hoạt chất dễ bay hơi thì dễ bị nhiệt độ cao phá hủy, nhiệt độ sấy không quá 40^oC. Do đó, việc sấy này có thể làm bay bớt một số tinh dầu (Hoa tiên, Rau má lông), có khả năng ảnh hưởng phần nào đến tác dụng của bài thuốc HTR nếu tác dụng của bài thuốc do thành phần tinh dầu. Và tác dụng của bài thuốc có thể giảm so với cách dùng truyền thống là dùng tươi giã đắp. Nhưng việc bào chế dược liệu là có ý nghĩa thực tiễn và chúng ta cần một dạng bào chế chuẩn để tiếp tục nghiên cứu ứng dụng sau này.

4.1.2. Mô hình nghiên cứu

Việc lựa chọn mô hình gây chấn thương phần mềm cấp trên tai thỏ là để đánh giá tác dụng chống viêm tại chỗ cũng như đánh giá tác dụng chữa chấn thương phần mềm của bài thuốc HTR. Vùng tai thỏ chủ yếu là tổ chức sụn, mạch máu nhưng tai thỏ dễ dàng quan sát các tổn thương (màu sắc, mức độ phù nề), đo được độ dày tai thỏ và tính được diện tích tổn thương. Như vậy có thể đánh giá được tác dụng chữa CTPM thông qua các chỉ số này. Để nghiên cứu sâu hơn chúng ta có thể lựa chọn mô hình gây chấn thương ở cơ, mở ra hướng nghiên cứu tiếp theo.

Đánh giá tác dụng giảm đau tại chỗ của bài thuốc HTR bằng hai mô hình giảm đau bằng phương pháp mâm nóng (tác dụng giảm đau trung ương) và phương pháp rê kim (tác dụng giảm đau ngoại vi).

4.2. Tác dụng của bài thuốc HTR

4.2.1. Tác dụng kích ứng da của bài thuốc HTR

Bài thuốc HTR có nguồn gốc từ người Dao đỏ, tỉnh Lào Cai. Theo kinh nghiệm dân gian, bài thuốc được dùng đắp ngoài da hoặc ngâm rượu để xoa bóp. Dịch chiết bài thuốc HTR sử dụng trong nghiên cứu này cũng được sử dụng theo đường dùng ngoài da.

Theo OECD, kích ứng da là đáp ứng viêm không đặt hiệu, khu trú tại chỗ khi gây ra bởi một chất hoặc thuốc thử khi dùng trên da. Nghiên cứu kích ứng da là nghiên cứu *in vivo* nhằm mục đích đánh giá nguy cơ của một thuốc thử nào đó gây ra kích ứng khi tiếp xúc với da [51]. Vì vậy, đây là nghiên cứu cần thiết thực hiện trên động vật thực nghiệm với các thuốc thử có đường dùng dự kiến trên người là đường trên da như bài thuốc HTR. Trong nghiên cứu đánh giá kích ứng da thường được khuyến cáo nên tiến hành trên da thỏ vì da thỏ mỏng, nhạy cảm nhất trong các loài động vật và dễ kích ứng với các tác nhân khi tiếp xúc hơn da người. Chỉ số kích ứng được tính điểm nên có thể đánh giá chính xác và thỏa đáng hơn với chỉ số về ban đỏ (erythema), phù nề (oedema) tại các thời điểm nghiên cứu theo quy định sau khi loại bỏ mẫu thử. Nếu có tổn thương, theo dõi thỏ 14 ngày để đánh giá khả năng phục hồi. Khi tổn thương đã hồi phục thì ngừng theo dõi. Khả năng gây kích ứng da của bài thuốc HTR được tiến hành bằng cách bôi mẫu thuốc thử 0,5ml lên da thỏ (đây là quy định bắt buộc về liều lượng khi làm nghiên cứu kích ứng của OECD) [51].

Kết quả ở Bảng 3.1 và 3.2 cho thấy: Thỏ ở lô 1 (bôi nước) và lô 2 (bôi voltaren) tại thời điểm 1 giờ, trên vùng da bôi thuốc thử có xuất hiện ban đỏ mức độ dễ nhận thấy hoặc rất nhẹ; thỏ lô 3 bôi dịch chiết của bài thuốc xuất hiện ban đỏ ở mức độ khó nhận thấy; không có hiện tượng phù nề; trên vùng da làm chứng không có hiện tượng ban đỏ hay phù nề. Và không có bất kỳ

dấu hiệu kích ứng nào sau 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ bôi thuốc. Dựa vào Bảng 3.3 phân loại kích ứng da theo PII, thuốc thử không gây kích ứng da trên thỏ. Như vậy, theo hướng dẫn OECD, dịch chiết của bài thuốc được phép sử dụng bôi ngoài da.

Bài thuốc HTR xuất phát từ những vị thuốc nam: Hoa tiên, Tô sơn, Rau má lông; theo các tài liệu nghiên cứu, những vị thuốc trên không có độc tính khi dùng đường uống. Điều này cũng phù hợp với thực tế khi đồng bào dân tộc Dao sử dụng bài thuốc này dưới dạng thuốc bó, thuốc đắp ngoài da cho bệnh nhân cũng không thấy có biểu hiện phản ứng ngoài da.

4.2.2. Tác dụng giảm đau, chống viêm tại chỗ của bài thuốc HTR

4.2.2.1. Tác dụng chữa chấn thương phần mềm của bài thuốc HTR

CTPM là tổn thương của cơ, dây chằng và gân trên khắp cơ thể có thể do các nguyên nhân khác nhau gây ra [56]. Các thuốc được dùng để điều trị là thuốc chống viêm, giảm đau. Theo y học cổ truyền, CTPM thuộc phạm vi chứng thương khoa [30]. Y học cổ truyền xếp các nguyên nhân gây CTPM vào nhóm bất nội ngoại nhân. CTPM là bệnh ở bên ngoài nhưng quá trình diễn biến luôn có quan hệ với toàn thân. Pháp điều trị là hoạt huyết, khử ứ, hành khí, thư cân.

Bài thuốc HTR bao gồm 3 vị: Phìu hỏa (Cây Hoa tiên), Kèng bung đẻng (Tô sơn) và Ngùng câu puông (Rau má lông). Theo Y học cổ truyền, bài thuốc có tác dụng hành khí, hoạt huyết, hóa ứ, tiêu thũng nên được sử dụng để điều trị ngã sưng đau, bầm tím.

Nghiên cứu này được thực hiện để cung cấp bằng chứng thực nghiệm làm cơ sở cho việc sử dụng bài thuốc HTR trong điều trị chấn thương phần mềm. Tất cả các thỏ nghiên cứu đều được gây chấn thương cấp tính ở cùng vị trí tai thỏ, với cùng một áp lực. Sau đó, các thỏ được theo dõi và so sánh các

chỉ số nghiên cứu giữa lô dùng bài thuốc HTR với các lô mô hình và lô dùng Voltarel.

- Từ đặc trưng sinh bệnh học của CTPM cấp, các loại thuốc được nghiên cứu và thử nghiệm trên động vật được đánh giá tác dụng thông qua khả năng giảm quá trình sung huyết, phù nề. Sau khi gây CTPM cấp trên tai thỏ thực nghiệm tiến hành quan sát tốc độ lưu thông máu tại vị trí tổn thương bằng kính hiển vi và các loại máy quay máy tính vận tốc lưu thông dòng chảy, phù nề và thay đổi nhiệt độ. Tuy nhiên cũng trong nghiên cứu chỉ ra rằng, nhiệt độ tai thỏ là một tiêu chí không tin tưởng vì nó quá dễ thay đổi. Với điều kiện hiện tại, chúng tôi tiến hành nghiên cứu sau khi gây chấn thương sau đó tiến hành đánh giá các chỉ số nghiên cứu sau: quan sát sự phát triển thương tổn mức độ bầm tím thông qua màu sắc, diện tích tổn thương, mức độ phù nề thể hiện qua sự thay đổi độ dày tai và thời gian hồi phục thương tổn.

+ Từ kết quả khi quan sát màu sắc, mức độ phù nề tai thỏ cho thấy dịch chiết HTR chưa có tác dụng rõ rệt trong 24 giờ đầu sau khi gây chấn thương. Từ thời điểm 48 giờ sau, dịch chiết HTR có tác dụng làm giảm rõ tình trạng tụ máu, bầm tím, sung huyết của vùng tổn thương. Tác dụng này tương đương với lô bôi Voltarel và giảm đi rõ rệt so với lô 1 bôi nước. Sau 4 ngày, tai thỏ ở lô bôi HTR chỉ còn quan sát thấy một vài điểm sung huyết, trong khi lô bôi Voltarel vẫn còn vết bầm tím. Sau 5 ngày, tai thỏ ở lô bôi HTR mức độ sung huyết đã giảm đi; tai thỏ lô bôi Voltarel còn hơi bầm tím; lô chứng tai thỏ quan sát thấy vẫn còn tổn thương. Điều này chứng tỏ dịch chiết HTR có tác dụng làm giảm mức độ bầm tím, sung huyết so với các lô còn lại; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê từ thời điểm sau 48 giờ kể từ khi gây chấn thương ($p < 0,05$).

+ Từ kết quả đo độ dày và diện tích vùng tổn thương trên tai thỏ cho thấy lô bôi dịch chiết HTR có tác dụng làm giảm độ dày và diện tích vùng tổn

thương trên tai thỏ so với lô mô hình và không có sự khác biệt so với lô bôi Voltarel ở cùng thời điểm.

+ Từ kết quả về thời gian phục hồi tổn thương Bảng 3.9 cho thấy: Thời gian hết tổn thương trên tai thỏ ở lô 2 và lô 3 giảm có ý nghĩa thống kê so với lô 1 ($p < 0,05$).

- Qua các kết quả trên cho thấy tác dụng làm giảm diện tích, độ dày trên tai thỏ và thời gian phục hồi tổn thương của dịch chiết HTR là tương đương với Voltaren ở các thời điểm nghiên cứu. Voltaren là biệt dược của diclofenac. Diclofenac là dẫn chất của acid phenylacetic là thuốc chống viêm không steroid, có tác dụng chống viêm, giảm đau. Diclofenac là một chất ức chế mạnh hoạt tính của cyclooxygenase, do đó làm giảm đáng kể sự tạo thành prostaglandin, prostacyclin và thromboxan những chất trung gian của quá trình viêm [20], làm giảm triệu chứng đau viêm tại chỗ trong các trường hợp: chấn thương ở gân, dây chằng, cơ và khớp như bong gân, trật khớp, vết bầm và điều trị tại chỗ chứng thấp khớp ở mô mềm. Tác dụng của bài thuốc có thể giải thích là do tác dụng chống viêm, giảm sưng nề của các vị thuốc có trong bài.

- Bài thuốc HTR có một số thành phần có tác dụng chống viêm như chiết xuất của cây Hoa tiên [45], [63]; chiết xuất cây Tô sơn là Iridoid có tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh, chống viêm, tăng cường miễn dịch [48]. Cây Tô sơn là cây thuốc cổ truyền từ Trung Quốc có tác dụng điều trị bệnh thấp khớp, cải thiện tuần hoàn máu, chữa bệnh gãy xương, viêm khớp dạng thấp, chấn thương, tê liệt, đau cơ [61]. Đặc biệt, trong thành phần hóa học của cây Rau má lông có chứa tanin [68]. Tanin hay tannoid là một hợp mất polyphenol có trong thực vật có khả năng tạo liên kết bền vững với các protein và các hợp chất hữu cơ cao phân tử như amino acid và alkaloid. Chúng có khả năng kết hợp với các protein của da sống động vật làm cho vết thương ngoài da không

bị thối và bền. Tanin là hợp chất được coi là có tác dụng làm săn se niêm mạc và giảm sưng nề. Thành phần Rau má lông còn có các acid amin và acid caffeic [36] có tác dụng chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống viêm. Theo YHCT, các vị thuốc này đều có tác dụng hoạt huyết khứ ứ, khu phong trừ thấp [9], [15], [21]. Lá cây Tô sơn và Rau má lông giã đắp trị gãy xương, đòn ngã tổn thương [4], [9].

- So sánh với nghiên cứu của Phạm Thị Thu Hằng về tác dụng chữa chấn thương phần mềm của mỡ bôi da cây thuốc giấu trên mô hình gây đụng dập ở tai thỏ kết quả cũng tương đương. Từ thời điểm sau 4 ngày trở đi, vùng tổn thương ở tai thỏ trong tất cả các lô nghiên cứu đều giảm mức độ sung huyết, giảm diện tích vùng tổn thương và hết tổn thương. Thời gian hết hoàn toàn tổn thương ở tai thỏ của lô bôi mỡ cây giấu là khoảng 4 ngày, tương tự với lô bôi HTR [14].

- So sánh với nghiên cứu của Bùi Tiến Hưng, "Đánh giá tác dụng của kem LX1 trên bệnh nhân sau mổ gãy kín thân xương cẳng chân", sử dụng mô hình gây chấn thương phần mềm cấp tính tương tự; kết quả cũng làm giảm tình trạng tụ máu, bầm tím, sung huyết của vùng tổn thương, làm giảm độ dày và giảm diện tích vùng tổn thương so với lô mô hình, tương đương với lô bôi HTR. Thời gian hết hoàn toàn tổn thương ở tai thỏ là khoảng 8 ngày, chậm hơn so với lô bôi HTR [16].

Tóm lại, kết quả nghiên cứu cho thấy bài thuốc HTR có tác dụng làm giảm tình trạng chấn thương, với biểu hiện là giảm mức độ bầm tím, sưng tấy; giảm diện tích vùng tổn thương; giảm độ dày vùng tổn thương; đồng thời rút ngắn thời gian phục hồi so với lô không dùng thuốc. Tác dụng ở lô thỏ dùng HTR không có sự khác biệt so với lô dùng diclofenac. Với kết quả nghiên cứu này, có thể thấy rằng bài thuốc HTR có thể hiện tác dụng điều trị chấn thương phần mềm trên thực nghiệm.

Mặc dù cho đến nay, chúng tôi chưa tìm được nghiên cứu nào về tác dụng điều trị chấn thương phần mềm của sự phối hợp giữa hoa tiên, tô sơn và rau má lông, nhưng trên thế giới đã có những nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm của từng loại dược liệu này.

Nghiên cứu của Wenqiang Zang và cộng sự (2014) trên chuột cống cho thấy dịch chiết *Asarum* làm giảm mức độ sưng chân sau, giảm mức độ biểu hiện TNF- α, IL1β và IL-6 trong huyết tương. *In vitro*, chiết xuất *Asarum* ức chế các con đường truyền tín hiệu NF- κB và MAPK [63].

Nghiên cứu của Chen Hua- dong và cộng sự (2012) trên chuột nhắt cho thấy dịch chiết *Torricellia angulata Oliv.* có tác dụng làm giảm tình trạng viêm cấp tính gây ra bởi xylen và acid acetic [38].

Nghiên cứu của Jin Pyo Kim và cộng sự (2011) cho thấy các hoạt chất chiết từ G.*hederacea* var. *longituba có tác dụng ức chế sản xuất NF*-κB và cảm ứng enzym COX-2 trên tế bào HepG2 [44].

Như vậy, các dược liệu có trong bài thuốc HTR đã được các nhà nghiên cứu chứng minh tác dụng chống viêm. Theo y học hiện đại, cơ chế bệnh sinh của chấn thương phần mềm là quá trình viêm, theo sau là quá trình phục hồi, sửa chữa. Các kết quả nghiên cứu của các tác giả trên đây phần nào giúp giải thích tác dụng của bài thuốc HTR trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, để có thêm bằng chứng về cơ chế tác dụng cũng như hiệu quả của bài thuốc, chúng ta cần thực hiện thêm các nghiên cứu sâu hơn về sự phối hợp này.

4.2.2.2.Tác dụng giảm đau của bài thuốc HTR

Đau là một triệu chứng thường gặp trong các bệnh lý, trong đó có viêm. Các kích thích gây đau làm tăng giải phóng các hoạt chất trung gian của viêm như prostaglandin, bradykinin, histamin, yếu tố tăng trưởng...[49]. Trong chấn thương phần mềm, đau là một triệu chứng phổ biến và điều trị giảm đau là một bước quan trọng trong điều trị tình trạng này.

Bài thuốc HTR được sử dụng theo kinh nghiệm của người dân tộc Dao để điều trị tình trạng sưng đau, phù nề trong chấn thương phần mềm hoặc đau xương khớp. Để có cơ sở chứng minh tác dụng này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tác dụng giảm đau trên chuột nhắt trắng. Kết quả cho thấy bài thuốc HTR có tác dụng giảm đau rõ rệt trên cả 2 phương pháp được sử dụng.

1, Tác dụng giảm đau bằng phương pháp mâm nóng

Mô hình mâm nóng được sử dụng phổ biến để đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của thuốc. Trong nghiên cứu dùng tác nhân kích thích là nhiệt độ để đánh giá gián tiếp ngưỡng đau, thuốc giảm đau sẽ kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ và ngược lại. Bàn chân của chuột nhắt rất nhạy cảm với nhiệt độ mà ở nhiệt độ đó vẫn chưa gây tổn thương da. Đáp ứng của chuột bao gồm: động tác nhảy lên, rút bàn chân và liếm bàn chân. Thuốc giảm đau trung ương có khả năng kéo dài thời gian xuất hiện những đáp ứng này của động vật nghiên cứu [35].

Điều này được thể hiện rõ qua kết quả nghiên cứu ở Bảng 3.10, các thuốc đối chứng bao gồm Voltarel và Lidocain đều có tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với thời điểm trước khi bôi thuốc và với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Lô chuột được bôi thuốc thử, sau 30 phút có tác dụng kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng so với so với lô chứng ($p < 0,01$) và so với trước khi dùng thuốc ($p < 0,01$) và không có sự khác biệt so với lô 2 và lô 3. Chứng tỏ dịch chiết của bài thuốc HTR có tác dụng giảm đau trung ương tương đương với Voltarel và Lidocain. Như vậy, theo mô hình này cường độ kích thích gây ra cảm giác đau là dùng nhiệt tác động vào da và bộ phận nhận cảm giác đau gồm các loại thụ cảm thể nhận kích thích nhiệt. Khi kích thích bằng nhiệt, có sự dẫn truyền từ ngoại vi về tủy sống, từ tủy sống kích thích

lên não, chuột có phản xạ liếm chân sau. Dịch chiết HTR có tác dụng ức chế phản xạ dẫn truyền thần kinh từ ngoại vi về não, làm tăng ngưỡng nhận cảm đau tại các bộ phận nhận cảm giảm đau. Trong thành phần của bài thuốc có cây Rau má lông đã được chứng minh có tác dụng giảm đau, chống sưng [68]. Theo nghiên cứu của Trần Thị Kim Anh, cao lỏng rau má lông có tác dụng giảm đau bằng đường uống ở mức liều nghiên cứu 10,8g/kg và 14,4g/kg TLCT trên mô hình gây cơn đau quặn ở chuột nhắt trắng. Ở liều 14,4g/kg TLCT cao lỏng thể hiện tác dụng giảm đau mạnh hơn Aspirin với liều 100mg/kg [1].

So sánh với nghiên cứu của Đinh Thị Lam, đánh giá tác dụng giảm đau của Cao bách xà bằng mô hình mâm nóng, dùng trong điều trị viêm khớp dạng thấp; kết quả cho thấy Cao xoa Bách xà không làm kéo dài thời gian xuất hiện đáp ứng đau có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ($p>0,05$) [34]. Điều này mở ra hướng nghiên cứu mới sử dụng bài thuốc HTR trong điều trị các bệnh lý cơ xương khớp.

2, Tác dụng giảm đau bằng phương pháp rê kim

Phương pháp rê kim để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại vi, sử dụng tác nhân cơ học (đầu kim) tác động vào gan bàn chân chuột với lực gây đau tối đa là 5g (để tránh gây tổn thương mô) và tốc độ lực là 0,5g/giây, chuột sẽ phản ứng bằng cách rút gan bàn chân ra khỏi đầu kim. Thời gian phản ứng đau của từng chuột được ghi lại. Kết quả nghiên cứu ở Bảng 3.11 cho thấy: Voltarel và Lidocain có tác dụng làm tăng lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với trước bôi thuốc và so với lô chứng sinh học, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Thuốc thử bôi sau 30 phút có tác dụng làm tăng rõ rệt lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau trên máy đo ngưỡng đau của chuột so với

trước bôi thuốc và so với lô chứng sinh học ($p<0.05$). Đáng chú ý là trong khi diclofenac và lidocain bôi tại chỗ có xu hướng làm tăng lực tác dụng và thời gian đáp ứng với đau nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê thì HTR bôi tại chỗ làm tăng rõ rệt các chỉ số này so với nhóm chứng không dùng thuốc và so với khi chưa bôi thuốc.

Trên mô hình này, tác nhân gây đau là tác nhân cơ học, khi dùng thuốc thử bôi tại gan bàn chân chuột thấy có tác dụng kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng đau, chứng tỏ dịch chiết HTR có tác dụng giảm đau đối với các tổn thương do các tác nhân cơ học gây ra. Theo các nghiên cứu về thành phần hóa học của các dược liệu bài thuốc HTR cho thấy có thành phần là các flavonoid có tác dụng chống oxy hóa cao. Nhờ tác dụng này sẽ làm giảm gốc tự do, làm giảm sự oxy hóa lớp phospholipid màng tế bào và giảm giải phóng một số chất trung gian hóa học dẫn đến viêm và đau.

So sánh với nghiên cứu Cao bách xà của Đinh Thị Lam trên mô hình tương tự, kết quả cho thấy thời gian đáp ứng với đau của Cao bách xà là khoảng 2,4 giây, như vậy bài thuốc HTR kéo dài thời gian đáp ứng với đau hơn so với Cao bách xà [19].

Tóm lại, bài thuốc HTR thể hiện rõ cả tác dụng giảm đau trung ương (trong thử nghiệm Hot plate test) và cả tác dụng giảm đau ngoại vi (trong thử nghiệm rê kim). Tác dụng giảm đau ngoại vi có thể do cơ chế ức chế các prostaglandin và các chất trung gian hóa học khác như histamin, bradykinin, đồng thời có vai trò của tác dụng chống viêm làm giảm phù nề, chèn ép. Ngoài ra, có thể giải thích việc sử dụng bài thuốc HTR trong dân gian để điều trị các tình trạng sưng đau, phù nề, viêm xương khớp bằng kết quả nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới chứng minh tác dụng chống viêm của các thành phần trong bài thuốc, bao gồm: nghiên cứu của Wenqiang Zang (2014) với dịch chiết *Asarum; n*ghiên cứu của Chen Hua-dong (2012) trên chuột nhắt

với dịch chiết *Torricellia angulata* Oliv. và nghiên cứu của Jin Pyo Kim (2011) với các hoạt chất chiết từ *G.longituba* [38],[44],[63]. Nhờ tác dụng giảm viêm của từng dược liệu, bài thuốc với sự phối hợp của 3 loại dược liệu có tác dụng giảm đau do viêm gây ra. Tuy nhiên, để cung cấp các cơ sở khoa học thuyết phục hơn và chứng minh bài thuốc HTR không chỉ có tác dụng giảm đau do viêm gây ra mà còn có tác dụng giảm đau do các nguyên nhân khác, cần thực hiện các nghiên cứu sâu hơn và các nghiên cứu về cơ chế tác dụng giảm đau của bài thuốc này.

4.2.3. Tác dụng của bài thuốc HTR theo Y học cổ truyền

Theo Ngoại khoa Y học cổ truyền, chấn thương phần mềm kín nằm trong chứng Tọa thương (Đụng dập phần mềm), sau khi người bệnh bị đánh ngã, tai nạn, bị đụng dập phần mềm thì ngay khi đó tại chỗ xuất hiện hiện tượng khí trệ huyết ứ, thương tổn cơ nhục, cân, mạch; triệu chứng là đau nhức, máu tụ, bầm tím, sưng nề. Tổn thương này theo YHCT vẫn là khí trệ huyết ứ. "Thương khí tắc khí trệ, thương huyết tắc huyết ngưng". Khí trệ khiến huyết ngưng , huyết ngưng có thể cản trở khí hành, vì vậy huyết ứ là gây ra bệnh . Nếu huyết ứ ngưng cơ nhục , bì phu thì sưng, đau, bầm tím; ví dụ : tổn thương cơ, da, dây chằng (tổn thương phần mềm); nếu cản trở ở dinh vệ thì uất mà sinh nhiệt, có triệu chứng bệnh sưng, nóng, đỏ, đau ở da, cơ. Pháp điều trị là hoạt huyết, khử ứ, hành khí, thư cân.

Kế thừa bài thuốc nghiệm phương của đồng bào người Dao đỏ có tác dụng chữa đau xương khớp, ngã sưng đau, bầm tím được áp dụng chữa bệnh cho nhân dân mang lại hiệu quả tốt dựa trên cơ sở lý luận YHCT chúng tôi xây dựng bài thuốc HTR. Bài thuốc này đã chứng tỏ tác dụng làm giảm sưng nề, sung huyết, tác dụng ***phục hồi chấn thương phần mềm nhanh*** bao gồm 3 vị: Hoa tiên, Tô sơn, Rau má lông, trong đó:

Hoa tiên có vị cay, tính ấm; có tác dụng tán hàn chỉ khái, khu đàm trừ phong.

Tô sơn có vị đắng, cay, tính ấm; có tác dụng hoạt huyết khư ứ, khư phong trừ thấp, thư cân tiếp cốt, tiêu viêm.

Rau má lông có vị cay, hơi đắng, tính hàn; có tác dụng lợi niệu thông lâm, thanh nhiệt giải độc, tán ứ tiêu thũng. Còn có thể khư phong trừ thấp, hoạt huyết tán hàn.

Các vị thuốc có vị cay có tác dụng chữa các bệnh thuộc phần biểu, làm ra mồ hôi, chữa khí huyết ngừng trệ, làm tán phong hàn, làm giảm đau, chống co thắt, làm hoạt huyết, tiêu ứ. Vị đắng có tác dụng chỉ tả vào táo thấp. Đây là dương dược có tính chất thăng tán để điều trị âm chứng. Nếu có viêm sưng nóng là có thấp trệ hóa nhiệt nên dùng vị Rau má lông làm quân, dùng hàm lượng cao để thanh nhiệt giải độc, tán ứ tiêu thũng làm tà nhiệt trong viêm bị tiêu tán. Hoa tiên và Tô sơn làm thần có tác dụng hoạt huyết, tiêu ứ. Vì vậy, khi phối hợp các vị thuốc trong bài có tác dụng giảm đau, chống viêm hiệu quả.

Mặt khác, đây là các cây thuốc có sẵn ở địa phương với trữ lượng lớn, dễ trồng, dễ khai thác. Nếu được tổ chức khai thác hợp lý để bào chế sử dụng thì nó sẽ là nguồn cung cấp dược liệu lâu dài cho việc điều trị chấn thương đụng dập phần mềm, phù hợp với quan điểm "Nam dược trị Nam nhân" của đại danh y Tuệ Tĩnh.

Bài thuốc có độ an toàn cao, không gây kích ứng da, lại rẻ tiền, lại có tác dụng giảm đau, chống viêm nhanh nên đây cũng là vấn đề đặt ra hướng tiếp tục nghiên cứu tác dụng của bài thuốc trên lâm sàng.

KẾT LUẬN

1. Tác dụng kích ứng da của bài thuốc HTR

Kết quả cho thấy thuốc thử HTR tại thời điểm 1 giờ có xuất hiện ban đỏ mức độ dễ thấy và không có biểu hiện gây kích ứng da ở các thời điểm 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ sau nghiên cứu trên thỏ thực nghiệm.

2. Tác dụng giảm đau, chống viêm tại chỗ của bài thuốc HTR

2.1. Tác dụng chữa chấn thương phần mềm

- Bài thuốc HTR có tác dụng làm giảm rõ tình trạng tụ máu, bầm tím, sung huyết của vùng tổn thương từ thời điểm 24 giờ sau khi gây chấn thương khi quan sát ($p < 0,05$).

- Bài thuốc HTR với liều 1ml/thỏ có tác dụng làm giảm độ dày vùng tổn thương, giảm diện tích vùng tổn thương so với lô gây mô hình; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê từ thời điểm sau 24 giờ kể từ khi gây chấn thương ($p < 0,05$).

- Các tác dụng: giảm tình trạng tụ máu, bầm tím, sung huyết; giảm độ dày; giảm diện tích vùng tổn thương của bài thuốc HTR tương đương tác dụng của Voltarel ở cùng thời điểm ($p > 0,05$).

- Bài thuốc HTR có tác dụng làm rút ngắn thời gian phục hồi của tai thỏ bị tổn thương (tính bằng thời gian từ khi gây chấn thương đến khi quan sát thấy tai thỏ hết hoàn toàn tổn thương) ($p < 0,05$).

2.2. Tác dụng giảm đau

- Bài thuốc HTR sau 30 phút có tác dụng kéo dài thời gian phản ứng đau với nhiệt độ khi nghiên cứu trên mô hình mâm nóng trên chuột nhắt trắng ($p<0,01$).

- Bài thuốc HTR sau 30 phút có tác dụng làm tăng rõ rệt lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng với đau bằng máy đo ngưỡng đau (phương pháp rê kim) ($p<0,05$).

- Các tác dụng: kéo dài thời gian phản ứng đau với nhiệt độ (phương pháp mâm nóng), tăng lực gây phản xạ đau và thời gian đáp ứng đau (phương pháp rê kim) của bài thuốc HTR tương đương tác dụng của Voltarel và Lidocain ở cùng thời điểm ($p > 0,05$).

KIẾN NGHỊ VÀ ĐỀ XUẤT

Sau khi có kết quả nghiên cứu bài thuốc HTR đưa ra kiến nghị và đề xuất sau:

- Nghiên cứu sâu hơn về cơ chế giảm đau và độc tính bán trường diễn của bài thuốc.

- Nghiên cứu ngoài tác dụng giảm đau, chống viêm tại chỗ trong chấn thương phần mềm thì bài thuốc còn có tác dụng trong các bệnh lý cơ xương khớp khác.

- Phát triển dạng bào chế của bài thuốc.

Chuẩn bị đầy đủ cơ sở đánh giá về an toàn và hiệu quả của bài thuốc để tiến hành nghiên cứu trên lâm sàng trên bệnh nhân chấn thương phần mềm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. **Trần Thị Kim Anh** (2011), *Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hoá học và một số tác dụng sinh học cây rau má lông thu ở huyện Bát Xát, tỉnh Lào Cai (Glechoma longituba (Nakai) Kupr.)*, Khóa luận tốt nghiệp K61, tr 25-27.

2. **Nguyễn Tiến Bân** (chủ biên) (2003), *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, tập II, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, tr 125.

3. **Nguyễn Tiến Bân** (chủ biên) (2007), *Sách Đỏ Việt Nam*, Phần II - Thực vật, NXB Khoa học tự nhiên và Công nghệ, tr 94- 98.

4. **Bệnh viện Việt Đức** (1989), "Phân loại chọn lọc vết thương", *Hướng dẫn xử lý vết thương*, NXB Y học, tr 178- 180.

5. **Đỗ Huy Bích và CS** (2004), *Những cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, NXB Khoa học và kỹ thuật, tập II, tr 589.

6. **Bộ y tế** (1993), "Chấn thương phần mềm", *Hướng dẫn thực hành điều trị*, tập I, NXB Y học, tr 254- 256.

7. **Hoàng Bảo Châu** (1995), *Phương thuốc Y học cổ truyền*, NXB Y học, tr. 313- 318.

8. **Võ Văn Chi** (2007), *Sách tra cứu tên cây cỏ Việt Nam*, NXB Giáo dục.

9. **Võ Văn Chi** (2003), *Từ điển thực vật thông dụng*, tập I, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

10. **Nguyễn Thị Thùy Dung** (2013), *Đánh giá tác dụng của kem "Chấn thương BsQ" trong điều trị chấn thương phần mềm*, Luận văn thạc sĩ y học, tr 3- 4.

11. **Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Viết Tựu** (1985), *Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc*, NXB Y học- chi nhánh TP Hồ Chí Minh.

12. **Đặng Hanh Đệ** (chủ biên) (1990), "Triệu chứng học chấn thương cơ quan vận động", *Triệu chứng học ngoại khoa*, NXB Y học, tr 158- 168.

13. **Nguyễn Thị Đỏ** (2007), "Họ Lamiaceae", *Thực vật chí Việt Nam*, NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội.

14. **Phan Thị Thu Hằng** (2012), *Tính an toàn trên da và tác dụng chữa chấn thương phần mềm, giảm đau của mỡ bôi da cây thuốc giấu trên thực nghiệm*, Khóa luận tốt nghiệm bác sĩ y khoa, Đại học Y Hà Nội, tr 31- 35.

15. **Phạm Hoàng Hộ** (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, tập I, NXB Trẻ, tp Hồ Chí Minh, tr 305.

16. **Bùi Tiến Hưng** (2015), *Đánh giá tác dụng của kem "LX1" trên bệnh nhân sau mổ gãy kín thân xương cẳng chân*, Luận án Tiến sĩ, Đại học Y Hà Nội, tr 60- 64.

17. **Lê Thị Thanh Hương, Nguyễn Thị Thuận** (2011), "Những cây thuốc sử dụng thay thế mật gấu theo kinh nghiệm dân gian và đông y ở một số địa bàn tỉnh Thái Nguyên", *Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 4*, tr. 1171.

18. **Trần Công Khánh** (2007), "Thuốc tắm của người Dao", *Trung tâm nghiên cứu và phát triển cây thuốc dân tộc cổ truyền (CREDEP)*, tr 1.

19. **Đinh Thị Lam** (2017*), Nghiên cứu tính an toàn, tác dụng chống viêm, giảm đau của cao bách xà trên thực nghiệm và lâm sàng bệnh viêm khớp dạng thấp*, Luận án Tiến sĩ y khoa, Đại học Y Hà Nội, tr 82.

20. **Nguyễn Ngọc Lanh** (chủ biên) (2002), "Sinh lý bệnh quá trình viêm", *Sinh lý bệnh học*, NXB Y học, tr 202- 218.

21. **Đỗ Tất Lợi** (2004), "Hoa tiên", *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, tr 465.

22. **Nguyễn Mạnh Nhâm** (1998), "Cấp cứu tai nạn giao thông tại bệnh viện Việt Đức", *Tạp chí ngoại khoa 6/1998, Hội ngoại khoa Việt Nam*, tr 4- 8.

23. **Đinh Ngọc San** (2010), "Các loại thuốc giảm đau dùng ngoài", *Báo Sức khỏe & Đời sống.*

24. **Trần Thúy** (chủ biên) (2003), *Bài giảng Y học cổ truyền,* tập I, NXB Y học, tr 47- 50, 89- 91.

25. **Trần Thúy, Phạm Duy Nhạc, Hoàng Bảo Châu** (1987)**,** "Bong gân", *Bài giảng Y học dân tộc tập II***,** NXB Y học, tr 250- 252.

26. **Nguyễn Bá Tĩnh** (1993), "Bị thương vì đánh đập", *Nam dược thần hiệu,* NXB Y học, tr 382- 390.

27. **Nguyễn Văn Toàn, Bùi Tiến Dũng** (2015), *Nghiên cứu tác dụng chữa chấn thương phần mềm cấp tính của kem LX1 trên thỏ thực nghiệm,* Khóa luận tốt nghiệp bác sỹ y khoa, Đại học Y Hà Nội, tr 30.

28. **Lê Hữu Trác** (1994), *Hải thượng y tôn tâm lĩnh,* NXB tổng hợp Đồng Tháp, tr 1781- 1784.

29. **Lê Trinh** (1993), "Co cứng cơ và khớp"**,** *Phục hồi chức năng sau chấn thương,* NXB Y học, tr 7- 11.

30. **Phạm Văn Trịnh, Lê Thị Hiền** (2008), *Bệnh học ngoại phụ khoa Y học cổ truyền,* NXB Y học, tr 10- 27.

31. **Lê Thế Trung** (1992), "Các biện pháp điều trị Y học dân tộc trong ngoại khoa", *Bài giảng ngoại khoa sau đại học,* Học viện Quân Y, tr 47- 52.

32. **Lê Hữu Tuấn** (2002), *Đánh giá tác dụng của cao tiêu viêm của viện Y học cổ truyền Việt Nam trong điều trị bong gân, đụng dập phần mềm, do chấn thương*, Luận văn tốt nghiệp bác sỹ chuyên khoa II, Đại học Y Hà Nội, tr 15- 16.

33. **Đào Duy Từ** (1997), *Chấn thương thể dục thể thao* , NXB Thể dục thể thao, tr 8- 39, 62- 91

Tiếng Anh

34. **Ana Gallegos Saliner, Grace Patlewicz & Andrew P. Worth** (2007), "Review of Literature- Based Models for Skin and Eye Irritation and Corrosion", *European Communities.*

35. **Ankier, S, J** (1974), "New hot plate test to quantity anti nociceptive and narcotic antagonist activities", *Eur, J. Pharmacol*, 27, pp. 1- 4.

36. **Anthony C.Dweek** (1995), *The William gardener collection of Chinese medicinal plant*, pp 97.

37. **Chang-Tse LU and Jenn-Che WANG** (2009), *Three new species of Asarum (section Heterotropa) from Taiwan*, 50: pp 229- 240.

38. **Chen Hua-dong et al.** (2012), "Research on the active extracts of Torricella angulata Oliv. Of anti-inflammatory and analgesic effects", Strait Pharmaceutical Journal.

39. **Dorow C, Markgraf E** (1997), "Therapy of soft tissue injuries—biological strategies", *Zentralbl Chir*, 122(11): pp 962- 969.

40. **Gerhard Vogel H**. (2008), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assay*s, "Chepter H: analgesic, anti-inflammatory, anti-pyretic activity", Springer, pp 669- 774.

41. **Hans G. Vogel, Wolfgang H. Vogel** (2013), "Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays", *Pain in inflamed tissue test.*

42. **H.-J. Oestem and H. Tscheme** (1984), *Pathophysiology and Classification of Soft Tissue Injuries Associated with Fractures*, pp 2- 8.

43. **Han J, Sun CL and Ji MS** (2011*)*, "Recent advance of Chinese herb – *Asarum*", *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27:pp 46- 50.(In Chinese).

44. **Jin Pyo Kim et al.** (2011), "Anti-inflammatory activity of constituents from *Glechoma hederacea* var. longituba", Bioorgnic & Medicinal Chemistry Letters, vol 21, issue 1, 3483-3487.

45. **Juan QH, Batmunkh T, Nga DT, Eun-Mi S, Joo YH, Burm-Jong L, et al** (2007), "Antiinflammatory effect of Mongolia and Vietnamese medicinal plants against LPS-induced NO release in the RAW 264.7 cell", *Planta Medica*; 73:pp 534.

46. **Kerr, KM , L Daley , L Booth , and J Stark** (1998), "PRICE guidelines: guidelines for the management of soft tissue (musculoskeletal) injury with protection, rest, ice, compression, elevation (PRICE) during the first 72 hours (ACPSM)", *ACPOM 1998*, 6:pp 10- 11.

47. **LeVan TAL, Levin SL** (1995), "Principles of soft tissue handling", *Techniques Orthop,* 10: pp 94–104.

48. **Liang, G., Xu, B., Pan, W., Cao, P., Zhang, Y., Lu, Y., Wu, Y., Hao, X.** (2009), "A novel iridoid from *Torricellia angulata* var. intermedia", *Nat. Prod. Res*, 23: pp 1–4.

49. **Marchand F, Perretti M, McMahon SB**. (2005), Role of the immune system in chronic pain. Nat Rev Neurosci;6(7):521-532.

50. **Michael H. Bennett MBBS, MD, MM(Clin Epi), FANZCA, Herbert B. Newton MD, FAAN** (2008), *Physiology and Medicine of Hyperbaric Oxygen Therapy*, pp 453- 454.

51. **Organization for Economic Co-operation and Development** (2002), "Acute Demal Irritation/Corrotion",*Guideline for testing of chemicals*, OECD: 404.

52. **Panyaphu, K., Van On, T., Sirisa-Ard, P., Srisa-Nga, P., ChansaKaow, S., & Nathakarnkitkul, S.** (2011), "Medicinal plants of the Mien (Yao) in Northern Thailand and their potential value in the primary healthcare of postpartum women", *Journal of Ethnopharmacology*, *135*(2), pp 226-237.

53. **Plunkett, G. M., et al** (2018), "Torricelliaceae", *Flowering Plants. Eudicots. Springer, Cham*, pp. 549-556.

54. **R. M. Lovering** (2008), "Physical therapy and related interventions. In P.M. Tiidus (Eds.), skeletal muscle damage and repair", *United States of America: Human Kinetics*, pp 219- 230.

55. **Schmid P, Itin P, Cherry G, et al** (1998), "Enhanced expression of transforming growth factor-beta type I and type II receptors in wound granulation tissue and hypertrophic scar", *Am J Pathol;* 152(2):pp 485- 493.

56. **Shi XH, Han L, Jia B, Shen T, Peng C, You FM and Liu XL** (2009), "Effect of serum containing *Asarum heterotropoids* on Na+ transporter in cardiac myocyte in rats", *Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 19:pp 599- 609.(In Chinese).

57. **Sravan Kumar Bussa, Pradeep Bandela** (2010), "Analgesic activity of *Parthenium Camphora* in mice models of acute pain", IJPRD vov-2, issue-6

58. **Steenfos HH** (1994), "Growth factors and wound healing", *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg,* pp 95- 105.

59. **Thai TH, Ophélie B, Tran MH, Nguyen AT, Félix T, Joseph C, et al** (2013), "Chemical composition of the essential oils from two Vietnamese Asarum species: *A. glabrum* and *A.cordifolium*", *Natural Product Communications*, 8(2):pp 235-238.

60. **Thai TH, Nguyen TH, Do TM, Nguyen AT** (2010), "Chemical composition of the essential oil of *Asarum glabrum* Merr. in Vietnam", *Journal of Biology Vietnam*, 32(1):pp 94- 96.

61. **Umberto Quattrocchi, F.L.S** (2012), *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants*, pp 724.

62. **Van der Vusse GJ, van Bilsen M, Reneman RS** (1994), "Ischemia and reperfusion induced alterations in membrane phospholipids: an overview", *Ann N Y Acad Sci;* 723: pp 1- 14.

63. **Wenqiang Zhang, Juan Zhang and Ming Zhang** (2014), *Protective effect of Asarum extract in rats with adjuvant arthritis*, pp 1638- 1642.

64. **Wu L, Siddiqui A, Morris DE, et al** (1997), "Transforming growth factor beta 3 (TGF beta 3) accelerates wound healing without alteration of scar prominence. Histologic and competitive reversetranscription- polymerase chain reaction studies", *Arch Surg;* 132(7):pp 753- 760.

65. **Xi-wen Li, Jan C. Hedge** (2010), "Lamiaceae", *Flora of China*.

66. **Yang NY, Duan JA, Li P, Qian SH** (2006), "Chemical constituents of Glechoma longituba", *Acta pharmaceutica Sinica*, 41(5), pp 431- 434.

67. **Zhang, J. W., Guo, J. R., Tang, F., Zhang, X. Q., Xu, J. T., Yao, G. M., & Zhang, Y. H.** (2010), "Studies on the chemical constituents of *Toricellia angulata* var. intermedia", *Journal of Chinese medicinal materials*, *33*(11), pp 1725-1727.

68. **Zhu YD, Zou J, Zhao WM** (2008), "Two new monoterpenoid glycosides from Glechoma longituba", *Journal of Asian natural products research*, 10(1-2), pp 199- 204.

PHỤ LỤC 1

PHIẾU XÁC NHẬN TÊN KHOA HỌC + TIÊU BẢN MẪU CÂY NGHIÊN CỨU

PHỤ LỤC 2

HÌNH ẢNH KÍCH ỨNG DA THỎ TẠI CÁC THỜI ĐIỂM TRƯỚC VÀ SAU KHI LOẠI BỎ THUỐC

Thời điểm	Chứng	Thuốc
Trước bôi thuốc		
Sau 1h		
Sau 24h		

Sau 48h		
Sau 72h		