

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



ĐỖ THỊ HƯỜNG

**ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ
TÁC DỤNG DƯỢC LÝ ĐIỀU TRỊ TRĨ CỦA
“VIÊN TRĨ HV” TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN BÁC SĨ NỘI TRÚ

HÀ NỘI, NĂM 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



ĐỖ THỊ HƯỜNG

**ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP VÀ
TÁC DỤNG DƯỢC LÝ ĐIỀU TRỊ TRĨ CỦA
“VIÊN TRĨ HV” TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN BÁC SĨ NỘI TRÚ

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

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

HÀ NỘI, NĂM 2022

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được gửi lời cảm ơn chân thành nhất đến Ban giám đốc, phòng đào tạo Sau đại học Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam đã giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin được bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới TS.BS Trần Thái Hà, thầy đã luôn theo sát, trực tiếp dạy dỗ, chỉ bảo, giúp đỡ và cho tôi những ý kiến quý báu trong quá trình thực hiện và hoàn thành đề tài.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Giám đốc, Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong việc nghiên cứu, thu thập, hoàn thiện số liệu để hoàn thành đề tài.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến các thầy cô trong Hội đồng thông qua đề cương, Hội đồng chấm luận văn Bác sĩ nội trú Học Viện Y – Dược học Cổ truyền Việt Nam, những người thầy, người cô đã đóng góp cho tôi nhiều ý kiến quý báu để tôi hoàn thành nghiên cứu.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới tập thể các thầy cô, đồng nghiệp và bạn bè những người luôn ở bên cạnh tôi chia sẻ, động viên giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin dành những tình cảm trân trọng nhất cảm ơn cha mẹ tôi, những người thân thiết đã luôn bên cạnh tôi, động viên, lo lắng, vất vả sát cánh bên tôi, để tôi có được thành công ngày hôm nay.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày tháng năm

Đỗ Thị Hương

LỜI CAM ĐOAN

Tôi tên là: **ĐỖ THỊ HƯƠNG**, học viên lớp Bác sĩ nội trú khóa 2 - 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 TS.BS Trần Thái Hà.

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

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

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

Hà Nội, ngày tháng năm

Người viết cam đoan

Đỗ Thị Hương

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	
LỜI CẢM ƠN	
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1	3
TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. TỔNG QUAN VỀ BỆNH TRĨ.....	3
1.1.1. Bệnh trĩ theo y học hiện đại.....	3
1.1.2. Quan niệm của y học cổ truyền về bệnh trĩ.....	6
1.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP CỬA THUỐC.....	7
1.2.1. Một vài định nghĩa hiện đang sử dụng.....	7
1.2.2. Tầm quan trọng của việc xác định LD50	8
1.2.3. Cách xác định LD50.....	8
1.3. NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ BỆNH TRĨ TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM.....	12
1.3.1. Đánh giá tác dụng cầm máu	12
1.3.2. Đánh giá tác dụng chống viêm trực tràng	15
1.3.3. Đánh giá tác dụng giảm đau	17
1.4. TỔNG QUAN VỀ “VIÊN TRĨ HV”	19
1.4.1. Xuất xứ	19
1.4.2. Thành phần:	20
1.5. CÁC NGHIÊN CỨU ĐIỀU TRỊ BỆNH TRĨ BẰNG THUỐC Y HỌC CỔ TRUYỀN.	21
1.5.1. Trên thế giới.....	21
1.5.2. Tại Việt Nam.....	22
CHƯƠNG 2	23
ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	23
2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu	23

2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu	23
2.1.2. Động vật nghiên cứu.....	24
2.1.3. Dụng cụ máy móc.....	25
2.1.4. Hóa chất, thuốc thử.....	26
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	27
2.3. Phương pháp nghiên cứu	27
2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp của chế phẩm.....	27
2.3.2. Nghiên cứu tác dụng cầm máu của “Viên trĩ HV”	27
2.3.3. Nghiên cứu tác dụng chống viêm trực tràng của “Viên trĩ HV”	29
2.3.4. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của theo mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) sử dụng acid acetic.	31
2.4. Các chỉ tiêu nghiên cứu.....	32
2.5. Sơ đồ nghiên cứu.....	33
2.5. Xử lý số liệu	33
CHƯƠNG 3	34
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	34
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của “Viên trĩ HV”	34
3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột.....	34
3.1.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô.....	35
3.2. Kết quả đánh giá tác dụng điều trị trĩ của “Viên trĩ HV”	36
3.2.1. Kết quả đánh giá tác dụng cầm máu của “Viên trĩ HV”	36
3.2.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm trực tràng của “Viên trĩ HV”.	
3.2.2.1. Kết quả định lượng TNF- α và IL-6 trong máu chuột nghiên cứu	38
3.2.3. Tác dụng giảm đau của “Viên trĩ HV” trên mô hình gây đau quặn	44
CHƯƠNG 4	48
BÀN LUẬN.....	48
4.1. Bàn luận về độc tính cấp của “Viên trĩ HV”	48
4.2. Bàn luận về tác dụng điều trị trĩ của “Viên trĩ HV”	50

4.2.1. Bàn luận về tác dụng cầm máu	50
4.2.2. Bàn luận về tác dụng chống viêm trực tràng	52
4.2.3. Bàn luận về tác dụng giảm đau	59
KẾT LUẬN.....	63
KHUYẾN NGHỊ.....	65
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
AST		Aspartate aminotransferase
ALT		Alanine aminotransferase
ĐVTN	Động vật thử nghiệm	
INF		Interferon
HE		Hematoxylin Eosin
IL		Interleukin
LD50		Lethal dose 50%
SD		Standard Deviation
TW	Trung Ương	
TLCT	Trọng lượng cơ thể	
TN	Thí nghiệm	
XN	Xét nghiệm	
YHCT	Y học cổ truyền	
YHHĐ	Y học hiện đại	

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 1.1. Thẻ tích tối đa dung dịch thuốc có thể dùng cho động vật.....	11
Bảng 2.1. Thang điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng.....	30
Sơ đồ 2.1. Mô hình nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng dược lý trên mô hình thực nghiệm của “Viên trĩ HV”.....	33
Bảng 3.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột.....	34
Bảng 3.2. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô.....	35
Bảng 3.3. Thời gian chảy máu của các lô chuột nghiên cứu.....	36
Bảng 3.4. Kết quả đo quang ở các lô chuột nghiên cứu.....	37
Bảng 3.5. Kết quả định lượng TNF- α và IL-6 trong máu chuột nghiên cứu...38	
Bảng 3.6. Chỉ số trực tràng của các lô chuột nghiên cứu.....	40
Bảng 3.7. Hàm lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng của các lô chuột nghiên cứu.....	41
Bảng 3.8. Số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng của các lô chuột nghiên cứu.....	43
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới thời gian xuất hiện đau quặn.....	44
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới số cơn đau quặn ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic	45
Biểu đồ 3.1. Số cơn đau quặn của các lô nghiên cứu đo được ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic.....	46
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới tổng số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic.....	47

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Ảnh 2.1. Chuột cống trắng và chuột nhắt trắng.....	25
Ảnh 2.2. Máy đo quang Biochrom.....	26
Hình 3.1. Hình ảnh tiêu bản nhuộm HE mô bệnh học trực tràng chuột nghiên cứu	42

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh trĩ là bệnh xảy ra do dẫn quá mức các đám rối tĩnh mạch trĩ (hay sự phình tĩnh mạch) ở mô xung quanh hậu môn [1]. Bệnh trĩ tuy không đe dọa đến tính mạng của người bệnh nhưng gây khó chịu, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của người bệnh. Bệnh trĩ là một bệnh thường gặp với tỷ lệ mắc cao trong cộng đồng [2]. Tại Hoa Kỳ, bệnh trĩ là bệnh lý tiêu hóa được chẩn đoán ngoại trú đứng hàng thứ tư, chiếm 3,3 triệu lượt khám cấp cứu [3]. Trên toàn cầu, nhiều nghiên cứu khác nhau đã được thực hiện để đánh giá mức độ phổ biến của bệnh trĩ. Tỷ lệ mắc bệnh trĩ cao hơn ở Úc (38,93%), tiếp theo là Israel (16%) và Hàn Quốc (14,4%) [4]. Tỷ lệ bệnh trĩ ở Ai Cập được soi ruột già là 18% [5]. Tại Việt Nam, theo nhiều báo cáo, bệnh trĩ chiếm tỷ lệ cao trong cộng đồng. Điều tra dịch tễ học của Nguyễn Mạnh Nhâm và cộng sự ở 5 tỉnh miền Bắc phát hiện được 1446/2651 người dân mắc bệnh trĩ chiếm tỷ lệ 55% [6].

Chẩn đoán bệnh trĩ dựa vào các triệu chứng lâm sàng và soi hậu môn bằng ống cứng. Mục tiêu cơ bản của điều trị bệnh trĩ là giảm thiểu các triệu chứng gây khó chịu và cải thiện chất lượng sống cho người bệnh. Theo Y học hiện đại điều trị bệnh trĩ có thể bằng nội khoa, thủ thuật, phẫu thuật. Các phương pháp điều trị theo Y học cổ truyền cũng rất đa dạng: gồm các phương pháp dùng thuốc (uống thuốc, ngâm thuốc, đắp thuốc, bôi thuốc) và không dùng thuốc (châm cứu, day ấn huyệt). Có nhiều bài thuốc, vị thuốc y học cổ truyền đã và đang được áp dụng điều trị bệnh trĩ đem lại hiệu quả tốt trong đó có các vị thuốc như Diếp cá, Rau sam, Dền gai, Hòe hoa, Địa du [7], [8], [9]... Bên cạnh các bài thuốc uống trong cổ phương lâu đời, gắn với ý tưởng tìm kiếm, phát triển nguồn dược liệu Việt Nam, nhiều chế phẩm thuốc y học cổ truyền đã được đưa vào nghiên cứu, sản xuất và cung cấp cho công tác điều trị.

“Viên trĩ HV” là chế phẩm y học cổ truyền dạng viên nang cứng, chuyển dạng từ bài thuốc kinh nghiệm của PGS.TS Đậu Xuân Cảnh nhằm mục đích giúp thuận tiện cho sử dụng và góp phần hiện đại hóa YHCT, phát triển nền YHCT Việt Nam. Thuốc muốn được sử dụng phải an toàn và có hiệu lực. Thử độc tính tiền lâm sàng là một trong những nội dung quan trọng trong nghiên cứu phát triển dược phẩm. Thông tin về độc tính của thuốc cần được cung cấp trước khi thực hiện các thử nghiệm trên người. Do vậy, hầu hết các chất được dùng làm thuốc trong điều trị dự phòng và chữa bệnh đều phải được thử nghiệm xác định độc tính.

Tại Việt Nam, nghiên cứu về độc tính cũng như độ an toàn của thuốc được quy định trong hướng dẫn của Bộ y tế về đánh giá tính an toàn và tác dụng của thuốc [10], [11]. Theo quy định của Bộ y tế, thử nghiệm độc tính cấp là bắt buộc đối với tất cả các chế phẩm y học cổ truyền không phải bài thuốc cổ phương bào chế dạng truyền thống. Hiện tại ở Việt Nam chưa có tác giả nào nghiên cứu về độc tính cấp và tác dụng giảm đau, chống viêm trực tràng và cầm máu của “Viên trĩ HV” trên thực nghiệm do vậy để cung cấp bằng chứng khoa học về tính an toàn và hiệu quả của “Viên trĩ HV”, chúng tôi tiến hành đề tài **“Đánh giá độc tính cấp và tác dụng dược lý điều trị trĩ của “Viên trĩ HV” trên thực nghiệm”** với hai mục tiêu:

1. *Xác định độc tính cấp của “Viên trĩ HV” trên chuột nhắt trắng.*
2. *Đánh giá tác dụng cầm máu, chống viêm trực tràng, giảm đau của “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. TỔNG QUAN VỀ BỆNH TRĨ

1.1.1. Bệnh trĩ theo YHHD

1.1.1.1. Nguyên nhân

Nguyên nhân của bệnh trĩ chưa được xác định một cách rõ ràng. Đa số các tác giả cho rằng bệnh trĩ xuất hiện trên những cơ địa đặc biệt (di truyền), thể trạng nhất định, do những yếu tố thuận lợi phát sinh bệnh gây ra như [12], [13]:

- Yếu tố gia đình, nòi giống

- Rối loạn lưu thông ruột, táo bón kinh niên: Bệnh nhân mỗi khi đi đại tiện phải rặn nhiều, khi rặn áp lực trong lòng ống hậu môn tăng lên gấp 10 lần. Táo bón lâu ngày làm xuất hiện các búi trĩ.

- Yếu tố nghề nghiệp: tỉ lệ mắc bệnh trĩ sẽ cao ở người phải đứng lâu, ngồi nhiều, ít đi lại như thư kí bàn giấy, nhân viên bán hàng, thợ may...

- Tăng áp lực ổ bụng

- U hậu môn trực tràng và tiểu khung khi to có thể gây chèn ép và cản trở đường về tĩnh mạch hồi lưu làm cho các đám rối trĩ căng phồng lên tạo thành bệnh trĩ.

- Các bệnh của hậu môn, trực tràng: Viêm đại tràng mạn, viêm loét đại trực tràng chảy máu, ly amip mạn...

- Tuổi: Tuổi càng nhiều càng dễ mắc.

- Giới: Nữ nhiều hơn nam, ở Việt Nam thì ngược lại.

- Chế độ ăn không điều độ.

Ngoài ra còn một số yếu tố khác như: Béo phì, đái tháo đường là những yếu tố thuận lợi dễ phát sinh ra bệnh trĩ.

1.1.1.2. Cơ chế bệnh sinh

Hiện nay có rất nhiều thuyết về nguồn gốc phát sinh ra bệnh trĩ như thuyết giãn tĩnh mạch do tăng áp lực tĩnh mạch trĩ, thuyết loạn sản mạch máu, thuyết viêm nhiễm tuyến Hermann – Desfosses, thuyết huyết động và thuyết cơ học [12], [13]:

Thuyết cơ học: Trĩ nội được giữ tại chỗ đúng vị trí nhờ các dải xơ cơ có tính đàn hồi. Khi có hiện tượng thoái hóa keo thì các dải này nhẽo dần đến đứt hoặc tình trạng các mô lỏng lẻo. Thành tĩnh mạch không được các tổ chức bao quanh nâng đỡ sinh ra trĩ. Hiện tượng thoái hóa này bắt đầu từ độ tuổi 20 bởi vậy bệnh trĩ ít thấy ở trẻ em. Khi đã có sự trùng nhẽo đứt các dây chằng, tổ chức nâng đỡ và áp lực trong các khoang bụng tăng lên do táo bón kinh niên, rối loạn đại tiện hay các nguyên nhân khác thì các búi trĩ nội phòng to bị đẩy ra ngoài hậu môn. Lúc đầu trĩ còn nằm trong lòng hậu môn nhưng khi các dải treo đứt hẳn chúng sa ra ngoài và thường xuyên nằm ngoài ống hậu môn.

Thuyết huyết động: Được mô tả theo các nghiên cứu mô học và quan sát trên kính hiển vi điện tử, thuyết này liên quan đến cả tuần hoàn động- tĩnh mạch. Diện vi tuần hoàn của ống hậu môn chứa các Shunt động- tĩnh mạch có khả năng phản ứng với các kích thích nội tiết hoặc sinh lý thần kinh. Các Shunt động- tĩnh mạch ở tuần hoàn nông dưới niêm mạc đóng lại khi nghỉ ngơi cho phép sự trao đổi máu trong mô. Khi chúng nở ra đột ngột dưới tác động của các kích thích làm gia tăng lượng máu trong động tĩnh mạch trĩ, kết quả là mô không được nuôi dưỡng. Hiện tượng này đi kèm theo sự co thắt mạch và làm gia tăng áp lực đột ngột và giãn đám rối tĩnh mạch trĩ. Điều này giải thích tại sao chảy máu trong bệnh trĩ lại là máu đỏ tươi do đám rối tĩnh mạch trĩ giãn ra và chứa đầy máu động mạch. Các triệu chứng lâm sàng có thể nặng lên do viêm nhiễm và huyết khối, khi dòng máu tĩnh mạch bị tắc nghẽn bởi gắng sức do táo bón do trĩ sa.

Thuyết giãn tĩnh mạch do tăng áp lực tĩnh mạch trĩ: Cho rằng bệnh trĩ là một tình trạng giãn tĩnh mạch trĩ bởi rất nhiều nguyên nhân có tính cơ hội

như: Đứng lâu, ngồi nhiều, ly, táo bón kéo dài, xơ gan, tăng áp tĩnh mạch cửa... làm cho hệ thống tĩnh mạch trĩ sa, giãn.

Thuyết loạn sản mạch máu: Cho rằng bệnh trĩ là tình trạng tăng sinh liên tục của hệ thống tĩnh mạch vùng hậu môn trực tràng, làm cho hệ thống tĩnh mạch này ngày một dày lên. Chính vì thế bệnh trĩ của mỗi người bệnh là không hoàn toàn giống nhau kể cả mức độ và số lượng các búi trĩ, mặt khác bệnh trĩ có tỷ lệ tái phát rất cao mặc dù đã được phẫu thuật, đồng thời nó cũng có tỷ lệ tăng dần theo lứa tuổi bệnh nhân.

Thuyết viêm nhiễm tuyến Hermann – Desfosses: Xung quang ống hậu môn là một hệ thống tuyến nằm ngay dưới lớp niêm mạc của ống hậu môn trực tràng, do bất kể một nguyên nhân nào đó làm cho viêm hệ thống tuyến dẫn đến phù nề, xung huyết hệ thống tĩnh mạch trĩ.

1.1.1.3. Chẩn đoán

Bệnh trĩ lúc mới xuất hiện thường biểu hiện không rõ ràng. Chẩn đoán bệnh chủ yếu dựa vào các dấu hiệu lâm sàng và soi ống hậu môn [14].

***Biểu hiện lâm sàng**

Gồm 2 triệu chứng hay gặp nhất [13]:

- Đại tiện ra máu tươi.
- Sa trĩ.

***Thăm và soi hậu môn**

- Thăm khám: Nhìn có thể thấy trĩ ngoại (da thừa), sa búi trĩ- niêm mạc hậu môn.
- Thăm trực tràng là động tác bắt buộc với bệnh nhân trĩ.
- Soi trực tràng bằng ống cứng để đánh giá tổn thương của bệnh trĩ, qua soi hậu môn trực tràng bằng ống cứng để phân độ trĩ nội và cho phép đánh giá tổn thương khác như nứt kẽ, polyp trực tràng, viêm loét trực tràng và đặc biệt là phát hiện ra ung thư trực tràng về đại thể [13], [15].

1.1.2. Quan niệm của y học cổ truyền về bệnh trĩ

1.1.2.1. Nguyên nhân gây bệnh

Trĩ hậu môn đã được các y văn cổ của YHCT mô tả trong các chứng “Tiện huyết”, “Thấp nhiệt hạ trú”, “Trung khí hạ hãm”, “Trĩ sang”, “Hạ trĩ”.

Trong “Trung y ngoại khoa học giảng nghĩa” tóm tắt có các loại nguyên nhân sau:

- Nguyên nhân về ăn uống: Ăn quá nóng, no đói thất thường, ăn đồ ăn sống lạnh, uống nhiều rượu, ăn béo ngậy, ăn quá cay.
- Nguyên nhân về chế độ sinh hoạt: Đứng lâu, ngồi lâu, vác nặng đi xa, phòng sự quá độ.
- Nguyên nhân khác: Ỉa chảy mạn, táo bón kéo dài, thể chất quá suy yếu, mang thai nhiều lần [16].

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

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

Hiện tượng chảy máu từ búi trĩ có thể do:

- Hạ trĩ thể khí huyết hư, trong đó do Tỳ hư không thống nhiếp huyết gây xuất huyết.
- Hạ trĩ thể huyết nhiệt và thấp nhiệt: Do nhiệt bức huyết vong hành gây xuất huyết
- Hạ trĩ do sang thương, phân táo rặn nhiều gây xuất huyết.

1.1.2.2. Phân loại trĩ theo Y học cổ truyền

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

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

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

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

1.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP CỦA THUỐC

1.2.1. Một vài định nghĩa hiện đang sử dụng [11], [17].

- Độc tính của thuốc: Độc tính (toxicity) của thuốc là tính chất được biểu hiện bằng tác dụng không mong muốn, có hại cho cơ thể. Độc tính của thuốc có thể nhẹ như thay đổi hành vi, thay đổi vận động, buồn nôn, mẩn ngứa, có thể rất nặng, thậm chí gây chết.

- Độc tính cấp của thuốc: Độc tính cấp (acute toxicity) của thuốc là độc tính xảy ra sau khi dùng thuốc một lần hoặc vài ba lần trong ngày. Nghiên cứu độc tính cấp của thuốc trên động vật thí nghiệm, mục đích chính là xác định liều chết trung bình (mean lethal dose) tức là liều làm chết 50% số con vật thí nghiệm trong những điều kiện nhất định và được ký hiệu là LD50 (lethal dose 50%).

- Liều chết: Là liều gây chết con vật dùng thuốc, ký hiệu là LD (lethal dose). Liều chết không áp dụng thử cho người mà chỉ thử trên các con vật thí nghiệm.

- Liều chết tuyệt đối: Liều chết tuyệt đối được viết tắt là ALD (absolute lethal dose), thường được ký hiệu là LD100. Đó là liều nhỏ nhất gây chết 100% các con vật thí nghiệm. Tất nhiên nếu dùng liều cao hơn LD100 thì tất cả các con vật đều bị chết cả.

- Liều chết trung bình: Liều chết trung bình viết tắt là MLD (mean lethal dose) thường được ký hiệu là LD50. Đó là liều làm chết 50% số con vật thí nghiệm.

- Liều chết tối thiểu: Liều chết tối thiểu là liều khi thử trên một lô động vật thấy có một con chết. Do đó nếu thử 20 con có một con chết thì liều chết tối thiểu là liều gây chết 5% (LD5); chết 10% (LD10); còn nếu chỉ thử 4 con có một con chết thì liều chết tối thiểu là liều gây chết 25% (LD25).

- Liều dưới liều chết: Liều dưới liều chết (ILD: infralethal dose) còn gọi là liều dung nạp tối đa (MTD: Maximum tolerated dose) được ký hiệu là LD0 là liều lớn nhất, nhưng không làm chết con vật nào.

- Liều an toàn: Là mức liều cao nhất mà không gây ra bất kỳ tai biến nào có thể quan sát được (NOAEL: No observed adverse effect level).

1.2.2. Tầm quan trọng của việc xác định LD50

- LD50 là một thông số rất quan trọng để đánh giá độc tính của một thuốc

- Biết LD50 sẽ có phương hướng dùng liều thí nghiệm được lý một cách đúng đắn. Theo kinh nghiệm, liều có tác dụng được lý vào khoảng 1/10 của LD50 (trong giới hạn từ 1/20 đến 1/5 của LD50). Do đó, nên xác định LD50 trước khi nghiên cứu được lý.

- Liều LD50 và liều có tác dụng được lý (ED: effective dose) trên động vật thí nghiệm là một trong những cơ sở để suy ra liều dùng trong điều trị ở người dựa vào một số phương pháp tính ngoại suy.

- Biết LD50 mới xác định được chỉ số điều trị, một thông số quan trọng để quyết định xem có nên đưa thuốc vào dùng trên người hay không.

1.2.3. Cách xác định LD50

1.2.3.1. Nguyên tắc chung

- Xác định LD50 là tìm liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm

- Động vật được chia thành nhiều lô tương tự nhau về giới tính (đực, cái), khối lượng.

- Mỗi lô dùng một liều (tính theo kg cân nặng). Các lô khác nhau dùng liều khác nhau chặt định nghiên cứu.

- Đánh giá theo nguyên tắc “tắt hoặc không” (chết hoặc sống).

1.2.3.2. Động vật thí nghiệm

- Loài động vật thí nghiệm: Tốt nhất là tiến hành trên 2 loài động vật thí nghiệm, một loài gặm nhấm và một loài không phải gặm nhấm. Tuy nhiên, thường được thử trên chuột nhắt trắng hoặc chuột cống trắng. Những loài khác (chó, khỉ) thường chỉ thử trên 3-5 con để nghiên cứu sự dung nạp và các biểu hiện độc đối với mỗi liều, chứ ít có khả năng xác định được LD50.

- Giới tính: Có thể chỉ thử trên các con đực, hoặc chỉ thử trên các con cái. Cũng có thể dùng cả đực và cái, khi đó nên chia đều số đực cái cho các lô.

- Trạng thái sinh lý, bệnh lý: Phải dùng các con vật khỏe mạnh, đã trưởng thành hoặc sắp trưởng thành. Không dùng các con vật già, có thai hoặc đang nuôi con bú. Không dùng các con vật bị bệnh.

- Điều kiện nuôi dưỡng và chăm sóc: Động vật thử phải được nuôi giữ trong điều kiện môi trường thí nghiệm, yên tĩnh, thoáng khí, nhiệt độ từ 20-30°C, độ ẩm phù hợp. Có đủ các phương tiện để hạn chế ảnh hưởng của tiếng ồn, nhiệt độ quá nóng hoặc quá lạnh. Động vật cần được lưu giữ trong điều kiện thí nghiệm ít nhất 2 ngày (với động vật nhỏ) và 5 ngày (với động vật lớn) trước khi làm thí nghiệm. Chế độ ăn uống bình thường đủ năng lượng, dinh dưỡng và phải đảm bảo đồng đều giữa các lô.

- Số lượng con vật trong mỗi lô: Số lượng tối thiểu cần cho mỗi lô vẫn chưa thống nhất. Có tài liệu nên tối thiểu phải từ 6 con trở lên, có tài liệu lại yêu cầu tối thiểu 20 con. Tất nhiên, số lượng con vật trong mỗi lô càng nhiều càng chính xác. Nhưng theo kinh nghiệm và nhiều tài liệu trên thế giới thường dùng mỗi lô 10 con chuột nhắt trắng hoặc chuột cống trắng. Nếu là loài không phải gặm nhấm (chó, khỉ) thường dùng 3-5 con. Có tài liệu quy định cần dùng 4 con: 2 con đực và 2 con cái. Số các con vật trong mỗi lô nên bằng nhau.

Trường hợp không bằng nhau thì có thể lấy số trung bình để tính toán, nhưng mức độ chính xác có giảm.

- Số lô động vật thí nghiệm: Số lô động vật thí nghiệm ít nhất là 5 lô

- Cách dùng cho đủ số con vật thí nghiệm: Nếu không thể dùng thuốc cho tất cả các con vật trong một ngày thí nghiệm, nên dùng mỗi lô một ít động vật và bổ sung thêm vào ngày hôm sau để giảm đến tối thiểu ảnh hưởng của những điều kiện thí nghiệm. Như thế tốt hơn cách dùng đủ số con vật cho một vài lô liều vào một thời gian, sau đó lại dùng đủ số con vật cho một số lô liều khác vào các thời gian khác.

1.2.3.3. Về dùng thuốc

- Đường dùng thuốc: Có thể dùng đường uống, tiêm bắp thịt, tiêm dưới da, tiêm phúc mạc, tiêm tĩnh mạch. Tốt nhất là dùng đường dự định sẽ dùng cho người trên lâm sàng sau này. Cho uống bằng ống xông phải chú ý tránh cho thuốc vào khí quản vì chuột sẽ chết mà không phải do tác dụng độc của thuốc.

- Thể tích dùng: Tốt nhất là tính theo ml/kg cân nặng cho tất cả các lô. Nếu vậy, nồng độ thuốc dùng cho các lô khác nhau phải khác nhau. Riêng với chuột nhất trắng, nếu dùng uống thì thể tích dùng tốt nhất là 0,2-0,5 ml cho một con chuột nặng 20g. Trường hợp buộc phải dùng thể tích lớn hơn, có thể dùng đến thể tích 0,8-1 ml cho một con chuột 20g. Nếu muốn cho uống thể tích lớn hơn, nên chia ra làm 2-3 lần uống trong ngày. Cần chú ý là khi dùng thể tích lớn (từ 1ml trở lên cho một con chuột 20g), nếu chuột không chết, ta có thể khẳng định là ở liều đó chuột không chết. Nếu chuột chết thì có thể là do độc tính của thuốc, nhưng cũng có thể chết là do đã dùng một thể tích quá lớn làm dạ dày chuột căng quá mức hoặc vỡ bụng ra. Qua đường tiêm, có thể tiêm tĩnh mạch, tiêm bắp thịt, tiêm phúc mạc, tiêm dưới da, tùy theo đường tiêm dự kiến trên người. Khi tiêm thể tích lớn, đặc biệt là tiêm tĩnh mạch, cần làm ấm dung dịch tiêm lên khoảng 37°C trước khi tiêm để tránh cho con vật không lạnh khi bị tiêm thuốc. Phải đảm bảo tốc độ tiêm hoặc truyền theo đúng

chỉ định, pH dịch tiêm phải giống như pH dự kiến dùng cho người, dụng cụ tiêm cần phải vô trùng. Trong một số trường hợp cần tiêm thể tích lớn vào bắp thịt hoặc dưới da, có thể tiêm vào nhiều vị trí khác nhau. Thể tích tối đa dung dịch thuốc có thể dùng cho một số động vật được trình bày trong bảng 1.1.

- Số lần dùng thuốc: Khi thử độc tính cấp, về nguyên tắc chỉ dùng thuốc một lần. Trong những trường hợp đặc biệt, có thể dùng vài lần trong ngày.

- Dung môi hòa tan thuốc: Dung môi hòa tan thuốc tốt nhất là dùng nước cất. Trường hợp thuốc không tan trong nước cất thì:

Nếu dùng uống: phải nghiền thuốc thật mịn trong nước cất, tạo thành hỗn dịch đồng nhất. Nếu cần, thêm dịch gôm để hỗn dịch phân tán được đồng đều và chậm lắng.

Nếu dùng tiêm: phải dùng loại dung môi dự kiến sẽ dùng chế thuốc để tiêm cho người sau này.

Bảng 1.1. Thể tích tối đa dung dịch thuốc có thể dùng cho động vật

Loài động vật	Thể tích tối đa có thể dùng (ml) theo đường dùng					
	Tĩnh mạch	Bắp thịt	Phúc mạc	Dưới da	Uống	Trực tràng
Chuột nhắt 20g	0,5	0,05	1	1	1	0,05
Chuột cống 100g	1	0,1	2-5	5	5	0,2
Thỏ 2,5kg	5-10	0,5	20	10	20	1
Mèo 3kg	5-10	1	20	10	50	1
Chó 10kg	10-20	5	50	10	100	3
Khỉ 6kg	10-20	5	50	5	50	3

1.3. NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ BỆNH TRĨ TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

1.3.1. Đánh giá tác dụng cầm máu

1.3.1.1. Tổng quan về chảy máu

- Theo y học hiện đại

Chảy máu hay còn gọi là xuất huyết là tình trạng máu, bao gồm đủ 2 thành phần: huyết tương và thành phần hữu hình thoát ra khỏi hệ thống tuần hoàn. Tùy theo tính chất, mức độ và vị trí mà có tên gọi khác nhau.

Chảy máu nguyên nhân có thể là do chấn thương hoặc bệnh lý. Xuất huyết là triệu chứng của rất nhiều bệnh khác, nhiều khi nó là triệu chứng của bệnh như: xuất huyết dạ dày-ruột, sốt xuất huyết, trĩ (bệnh), xuất huyết dưới da, bệnh ưa chảy máu...

Các yếu tố có vai trò trong xuất huyết bao gồm: yếu tố thành mạch, yếu tố tiểu cầu, yếu tố đông máu trong huyết tương, yếu tố tan Fibrin [23].

Điều trị chảy máu bằng cách cầm máu theo các cách khác nhau. Tùy theo nguyên nhân gây chảy máu mà đưa ra các phương pháp điều trị cho phù hợp. Dưới đây là đôi nét về quá trình cầm máu.

Cầm máu là quá trình ngăn cản sự chảy máu. Khi mạch máu bị tổn thương hoặc đứt, quá trình cầm máu phải đáp ứng nhanh chóng, khu trú tại vùng tổn thương và được kiểm soát chặt chẽ. Quá trình cầm máu được thực hiện nhờ những cơ chế: co mạch, hình thành nút tiểu cầu, đông máu, tan cục máu đông hoặc phát triển mô xơ trong cục máu đông để đóng kín vết thương

Co mạch

Ngay khi mạch máu bị tổn thương, thành mạch co lại do các cơ chế sau: Phản xạ thần kinh do đau; Sự co mạch tại chỗ, được khởi phát trực tiếp bởi thương tổn thành mạch; Các yếu tố thể dịch từ tổ chức thương tổn và tiểu cầu (thromboxane A₂, serotonin và epinephrine).

Thành mạch bị thương tổn càng nhiều thì co mạch càng mạnh. Sự co mạch tại chỗ có thể kéo dài nhiều phút đến vài giờ. Trong thời gian này có thể diễn ra sự hình thành nút tiểu cầu và đông máu. Sự co mạch tức thời này hạn chế lượng máu ra khỏi thành mạch tổn thương.

Sự hình thành nút tiểu cầu

Diễn ra theo các pha như sau: Kết dính tiểu cầu, tiểu cầu giải phóng các yếu tố hoạt động, kết tập tiểu cầu

Nếu thương tổn ở mạch máu là nhỏ thì bản thân nút tiểu cầu có thể làm ngừng chảy máu, nhưng nếu thương tổn lớn hơn thì phải nhờ thêm sự hình thành cục máu đông. Sự hình thành nút tiểu cầu có vai trò đặc biệt quan trọng trong việc bít kín các thương tổn nhỏ ở các mạch máu nhỏ xảy ra hàng trăm lần mỗi ngày.

Quá trình đông máu

Quá trình đông máu là một chuỗi các phản ứng xảy ra theo kiểu bậc thang được chia thành 3 giai đoạn như sau: Giai đoạn thành lập phức hợp prothrombinase, giai đoạn thành lập thrombin, giai đoạn thành lập fibrin và cục máu đông (cục máu đông bít thành mạch tổn thương ngăn cản mất máu).

Trong quá trình đông máu, con đường ngoại sinh và nội sinh được khởi phát đồng thời. Tuy nhiên, con đường ngoại sinh diễn ra nhanh hơn. Nó chỉ cần 15 giây, trong khi con đường nội sinh phải cần 1-6 phút để gây đông máu. Sau khi được hình thành 20-60 phút, cục máu đông co lại và tiết ra một chất dịch gọi là huyết thanh. Như vậy, huyết thanh khác huyết tương ở chỗ là mất đi các yếu tố đông máu [23].

Sự co cục máu đông đã kéo các bờ của thương tổn mạch máu sát vào nhau nên càng làm vết thương được bít kín hơn và ổn định được sự chảy máu.

Tan cục máu đông - Sự hình thành mô xơ

Hiện tượng tan cục máu đông diễn ra như sau: khi cục máu đông được hình thành, plasminogen cũng bị giam giữ bên trong nó. Dưới tác dụng của

yếu tố hoạt hoá plasminogen tổ chức (t-PA), plasminogen sẽ chuyển thành plasmin có tác dụng tiêu protein. Plasmin sẽ tiêu huỷ các sợi fibrin cũng như một số yếu tố đông máu và làm cục máu đông tan ra. t-PA được tổ chức tổn thương hoặc tế bào nội mạc tiết ra khoảng 1 ngày (hoặc muộn hơn) sau khi cục máu đông được hình thành. Ngoài ra, thrombin và yếu tố XIIa cũng đóng vai trò quan trọng trong việc hoạt hoá plasminogen thành plasmin.

Sự tan cục máu đông giúp dọn sạch các cục máu đông trong tổ chức và tái thông mạch máu, tạo điều kiện liền sẹo. Đặc biệt nó giúp lấy đi các huyết khối nhỏ trong mạch máu nhỏ để tránh thuyên tắc mạch [23].

- Theo y học cổ truyền

Theo lý luận của y học cổ truyền khi huyết dịch không lưu chuyển bình thường trong mạch lạc để tràn ra các khiếu: mũi, miệng dẫn đến chảy máu cam, ho ra máu...phía dưới xuất ra theo đường nhị tiện: tiểu ra máu, đại tiện ra máu...hay thâm nhập vào bì phu dẫn đến các chấm xuất huyết, các ban xuất huyết dưới da. Những biểu hiện lâm sàng này nằm trong phạm vi huyết chứng

Nguyên nhân gây xuất huyết thường gặp đa phần do hỏa vượng và khí hư dẫn đến. Vì hỏa vượng gây bức huyết vong hành, khí là soái của huyết, là động lực cho huyết vận hành, cho nên khí nghịch thì huyết động, khí ngưng thì huyết ứ. Bên cạnh các nguyên nhân trên còn có các nguyên nhân khác như do uống rượu quá độ, ăn nhiều thức ăn cay nóng dẫn đến tảo nhiệt tích tụ trong vị trường, đại trường lâu ngày hóa hỏa hỏa gây ảnh hưởng đến mạch lạc của vị trường, đại trường gây nôn ra máu, đại tiện ra máu. Trong nghiên cứu nói về chứng đại tiện ra máu hay tiện huyết. Điều trị tiện huyết theo pháp chính là thanh nhiệt, hoạt huyết, chỉ huyết [16].

1.3.1.2. Mô hình đánh giá tác dụng cầm máu

Đánh giá tác dụng cầm máu thường được tiến hành trên chuột cống hoặc chuột nhắt trắng. Vị trí gây chảy máu tùy theo mục đích nghiên cứu có

thể gây chảy máu ở nhiều vị trí khác nhau như ở đùi, ở vùng mắt... Mô hình thường được sử dụng nhiều nhất là mô hình gây chảy máu đuôi chuột ở chuột cống trắng [18], [19] do mô hình có tính ổn định, động vật bị gây tổn thương ít, đuôi chuột cống tính chất chảy máu ổn định hơn, dễ quan sát hơn so với mô hình tiến hành ở chuột nhắt. Nguyên tắc tiến hành như sau:

Khi mạch máu bị tổn thương, sẽ hoạt hóa quá trình cầm máu do một số cơ chế: co mạch, hình thành nút tiểu cầu, đông máu, tan cục máu đông hoặc phát triển mô xơ trong cục máu đông để đóng kín vết thương. Thuốc có tác dụng cầm máu được đánh giá dựa trên 2 chỉ tiêu là thời gian chảy máu và lượng máu chảy ra. Thuốc có thể có tác dụng rút ngắn thời gian chảy máu, hoặc làm giảm lượng máu mất, hoặc cả hai, dựa trên tác dụng vào quá trình cầm máu theo cơ chế nào, mức độ mạnh yếu ra sao. Thông qua mô hình cắt đuôi chuột, xác định thời gian chảy máu bằng đồng hồ bấm giây và lượng máu chảy ra bằng phương pháp đo quang, từ đó đánh giá tác dụng cầm máu của thuốc nghiên cứu. Theo phương pháp đo quang, số lượng hồng cầu mất do chảy máu được ly giải hoàn toàn để giải phóng Hemoglobin, và được phân tán trong một thể tích nhất định. Số lượng máu mất càng nhiều, lượng hemoglobin trong dung dịch (có thể tích cố định) càng lớn, mật độ quang đo được càng lớn.

1.3.2. Đánh giá tác dụng chống viêm trực tràng

1.3.2.1. Tổng quan về quá trình viêm

Theo y học hiện đại viêm là phản ứng của cơ thể tại mô liên kết một mô có mặt ở mọi cơ quan - biểu hiện bằng sự thực bào tại chỗ, có lác dụng loại trừ tác nhân gây viêm và sửa chữa tổn thương; đồng thời kèm theo những biểu hiện bệnh lý. Viêm bao giờ cũng kèm theo thay đổi mạch máu, với sự tham gia của thần kinh, nhằm đưa các tế bào thực bào (có mặt trong lòng mạch) tới vị trí diễn ra phản ứng viêm (ở ngoài lòng mạch). Như vậy, viêm vừa là một phản ứng bảo vệ cơ thể chống lại yếu tố gây bệnh, vừa là phản ứng

bệnh lý vì quá trình viêm gây ra tổn thương, hoại tử, rối loạn chức năng cơ quan... có thể ở mức độ rất nặng nề, nguy hiểm.

Hiện nay có nhiều cách để phân loại viêm, mỗi cách lại đưa ra một lợi ích riêng như dựa vào nguyên nhân có viêm nhiễm khuẩn và viêm vô khuẩn, dựa vào vị trí có viêm nông và viêm sâu, dựa vào tính chất dịch rỉ viêm: Viêm thanh dịch, viêm tự huyết, viêm mủ

Theo diễn biến viêm được chia thành: viêm cấp và viêm mạn. Cấp khi thời gian diễn biến ngắn (vài phút - vài ngày) và có đặc điểm tiết dịch chứa nhiều protein huyết tương và xuất ngoại nhiều bạch cầu đa nhân trung tính. Còn mạn, nếu diễn biến vài ngày - tháng hoặc năm và biểu hiện về mô học là xâm nhập của lympho - bào và đại thực bào, sự tổn thương và sửa chữa (với sự tăng sinh của mạch máu và mô xơ).

Trong viêm cấp, có đáp ứng tức thời và sớm với tổn thương. Một chức năng cốt lõi của đáp ứng là huy động bạch cầu tới vị trí tổn thương, ở đó chúng có thể giúp làm sạch vi khuẩn và các tác nhân gây viêm khác, đồng thời làm tiêu huỷ các mô hoại tử do viêm gây ra. Tuy nhiên, chính bạch cầu lại có thể kéo dài viêm và cảm ứng sự tổn thương mô do giải phóng các enzym, chất trung gian hóa học và các gốc oxy có độc tính. Viêm cấp có 3 hiện tượng cấu thành: * Làm dẫn mạch, do đó tăng lượng máu tới ổ viêm; * thay đổi cấu trúc trong mạch vi tuần hoàn, cho phép các protein huyết tương ra khỏi mạch máu; và * di tản bạch cầu từ vi tuần hoàn và tích tụ chúng vào nơi tổn thương. Những cấu phần trên gây sưng, nóng và đỏ trong viêm cấp, còn đau và rối loạn chức năng cơ quan thì xuất hiện muộn hơn trong quá trình phát triển của viêm: do hóa chất trung gian và bạch cầu thực bào. Các hóa chất trung gian sản xuất trong quá trình viêm bao gồm các chất gây viêm như LPS của vi khuẩn, TNF, IL -1, IL -6, IL - 8, PG, NO,..những chất này là nguyên nhân dẫn đến đau trong viêm [20].

Theo y học cổ truyền viêm có nguyên nhân phần nhiều do thấp nhiệt.

Thấp nhiệt đơng trong cơ thể lâu ngày ở các vị trí khác nhau gây các chứng khác nhau như ở đại trường gây thấp nhiệt đại trường, ở bàng quang gây thấp nhiệt bàng quang, ở can đờm gây chứng can đờm thấp nhiệt. Tùy vào nguyên nhân và vị trí gây bệnh mà đưa ra các pháp điều trị khác nhau nhưng đều có pháp chung là thanh nhiệt, trừ thấp [16].

1.3.2.2. Mô hình gây trĩ đánh giá tác dụng chống viêm trực tràng

Tác dụng chống viêm trực tràng được đánh giá trên mô hình chuột cống trắng gây trĩ, theo phương pháp được mô tả bởi S. Faujdar và cộng sự (2019) [21].

Nguyên tắc tiến hành như sau:

Dầu croton là một chất gây viêm mạnh, từ lâu đã được sử dụng như tác nhân gây viêm tại chỗ. Việc đặt dầu croton lên ống hậu môn đã được chứng minh là gây viêm và phá hủy mô, đặc biệt đối với các mạch máu gây tăng tính thấm thành mạch, phá hủy cấu trúc tế bào biểu mô, hoại tử lớp chất nhày, thâm nhiễm các tế bào viêm, dẫn mạch, tăng tiết dịch. Điều này tạo nên các triệu chứng tương tự bệnh sinh của bệnh trĩ. Tiến hành gây trĩ thực nghiệm (gây viêm trực tràng) bằng dầu croton, tập trung đánh giá các chỉ tiêu về tình trạng viêm toàn thân thông qua các cytokine như TNF- α và IL-6; đánh giá tình trạng viêm tại chỗ thông qua chỉ số trực tràng, mức độ thoát mạch ở mô trực tràng, và đánh giá mô bệnh học trực tràng, qua đó đánh giá tác dụng của thuốc điều trị trĩ.

1.3.3. Đánh giá tác dụng giảm đau

1.3.3.1. Tổng quan về đau

Theo hiệp hội quốc tế nghiên cứu về đau (International Association for the Study of Pain - IASP) đau là một cảm nhận thuộc về giác quan và xúc cảm do tổn thương đang tồn tại hoặc tiềm tàng ở các mô gây nên và phụ thuộc vào mức độ nặng, nhẹ của tổn thương ấy. Cảm giác đau có thể bắt nguồn từ bất cứ một điểm nào trên đường dẫn truyền đau.

Theo Geissner và Wurtele , đau theo sinh lý học thần kinh là một khái niệm trừu tượng phụ thuộc những yếu tố như: cơ địa, cảm xúc và sự chịu đựng khác nhau của từng người bệnh [22].

Cảm giác đau là một cảm giác đặc biệt, khác với các cảm giác khác. Cảm giác này thông báo cho não biết kích thích có hại cho cơ thể và cần có các cơ chế sinh lý và tâm lý để loại trừ kích thích đó. Cảm giác đau là một cảm giác phức tạp. “Đau là một trải nghiệm khó chịu về cảm giác cũng như về cảm xúc do tổn thương có thực ở mô hoặc được cho là có tổn thương như thể gây ra”. Theo định nghĩa về đau được nhiều người chấp nhận này thì đau mang tính chủ quan, có liên quan với những kinh nghiệm đã thu được trong cuộc sống và bị chi phối bởi nhiều yếu tố khác (truyền thống, văn hóa, tôn giáo ...). Đau có thể xuất hiện ở mọi nơi trong cơ thể, có rất nhiều tính chất như đau nông, đau sâu, đau âm ỉ, đau chói, đau đột ngột, đau tại chỗ, đau quặn, đau xuyên ra chỗ khác... Đau là một triệu chứng gặp trong rất nhiều bệnh và dựa vào tính chất của đau có thể chẩn đoán bệnh [23].

Đau theo y học cổ truyền thuộc phạm vi chứng thống. Lý luận về chứng đau được bao quát theo nguyên tắc “bất thông tắc thống” và “bất vinh tắc thống” và phân loại các phương pháp điều trị khác nhau cho chứng đau. Đau là một triệu chứng do nhiều nguyên nhân gây ra: do hàn, nhiệt, tình chí nội thương, lao lực, chấn thương... đều có thể dẫn đến khí huyết vận hành chậm lại hoặc trở trệ, từ đó thể hiện tính chất “bất thông” “bất vinh” trong chứng đau. Trước tiên để điều trị chứng thống cần dùng pháp chỉ thống kết hợp với từng bệnh nguyên, bệnh cơ cụ thể để giải quyết vấn đề “thông” và “vinh”; dùng châm cứu, thuốc để sơ thông kinh lạc, hành khí hoạt huyết, ích khí bổ huyết, mục đích nhằm “thông tắc bất thông, vinh tắc bất thông”; kinh mạch được lưu hành không dừng.

1.3.3.2. Mô hình đánh giá tác dụng giảm đau

Tác dụng giảm đau được đánh giá trên mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) bằng acid acetic của Koster và cs (1959) [24].

Nguyên tắc tiến hành:

Acid acetic sau khi tiêm phúc mạc ổ bụng chuột sẽ tạo ra kích thích gây viêm đau. Khi kích thích vượt qua ngưỡng đau của chuột sẽ gây ra đáp ứng với đau của chuột gọi là cơn đau quặn, với các biểu hiện sau: uốn oằn thân, thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Thuốc có tác dụng giảm đau sẽ làm tăng ngưỡng đau, do đó thời gian xuất hiện đau quặn sẽ muộn hơn và số cơn đau quặn sẽ ít hơn.

1.4. TỔNG QUAN VỀ “VIÊN TRĨ HV”

1.4.1. Xuất xứ

“Viên trĩ HV” có nguồn gốc từ bài “Tạo thích hoàn” gia giảm. Bài thuốc “Tạo thích hoàn” là bài thuốc cổ phương trích trong Phương “*Trực chỉ*” quyển 23 thuộc *Trung Y Phương Tễ Đại Từ Điển* [25], được dùng trong điều trị bệnh trĩ lậu, đau, ngứa, trĩ ra mủ, máu. Tại Việt Nam, dựa trên kinh nghiệm điều trị lâu năm, PGS.TS. Đạm Xuân Cảnh đã sử dụng bài thuốc “Tạo thích hoàn” gia vị Đại hoàng, Trắc bá diệp, giảm vị Bạch phàn, Phong phòng, là cơ sở để tạo nên “Viên trĩ HV”. Nhằm mục đích để sử dụng cho người bệnh, chúng tôi tiến hành chế bài thuốc “Tạo thích hoàn gia giảm” thành dạng viên nang cứng “Viên trĩ HV”.

“Viên trĩ HV” có thành phần chính là cao khô chiết xuất từ 10 vị dược liệu, bao gồm: Tạo giác thích, Phòng phong, Hòe hoa, Bạch tật lê, Xa xàng tử, Ngũ bội tử, Khương hoạt, Đại hoàng, Trắc bá diệp, Chỉ xác. Trong bài thuốc Tạo giác thích làm quân có tác dụng tiêu thũng, thác độc, sát trùng, bài nùng giúp tiêu ứ trệ của búi trĩ sưng viêm; Phòng phong, Hòe hoa, Bạch tật lê tác dụng khu phong, thanh nhiệt, tiêu viêm là thần; Trắc bá diệp cùng Hòe hoa làm tăng tác dụng lương huyết, chỉ huyết, chống viêm. Xa sàng tử, Ngũ bội tử

táo thấp thu liễm làm khô vết thương; Khương hoạt cùng Phòng phong phát tán phong thấp, trừ thấp nhiệt; gia vị Đại hoàng nhuận tràng, thanh thấp nhiệt hạ tiêu, chỉ huyết. Bài thuốc có tác dụng thanh nhiệt, tiêu viêm, lương huyết, chỉ huyết.

1.4.2. Thành phần:

Thành phần bài thuốc:

STT	Tên dược liệu	Tên khoa học	Liều lượng
1	Tạo giác thích (đốt tồn tính)	<i>Spina Gleditsiae australis</i>	10g
2	Phòng phong	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	8g
3	Hồe hoa (sao đen)	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	10g
4	Xa sàng tử	<i>Fructus Cnidii</i>	6g
5	Chỉ xác	<i>Fructus citri Aurantii</i>	8g
6	Bạch tật lê (sao đen)	<i>Fructus Tribuli terrestris</i>	8g
7	Khương hoạt	<i>Rhizoma et Radix Noiopterygii</i>	6g
8	Ngũ bội tử	<i>Galla Chinensis</i>	6g
9	Trắc bá diệp (sao đen)	<i>Cacumen Platycladi</i>	10g
10	Đại hoàng	<i>Rhizoma Rhei</i>	5g

1.5. CÁC NGHIÊN CỨU ĐIỀU TRỊ BỆNH TRĨ BẰNG THUỐC Y HỌC CỔ TRUYỀN.

1.5.1. Trên thế giới

Gan T., Liu Y., Wang Y. và cộng sự. (2010). Đã thực hiện 9 thử nghiệm với 1822 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh trĩ chảy máu. Kết luận cho thấy một số công thức thảo dược, bao gồm địa du, hòe hoa, thực địa hoàng, Đương quy, Hoàng cầm ...có thể làm giảm bớt một số triệu chứng của bệnh trĩ như chảy máu, xung huyết, viêm quanh niêm mạc hậu môn [9].

Silva I.S., Nicolau L.A.D., Sousa F.B.M. và cộng sự (2017) thực hiện nghiên cứu đánh giá hoạt động chống viêm của dịch chiết nước (AE) và phân polysacarit (PLS) của trắc bá diệp ở chuột cho thấy dịch chiết nước (AE) và phân polysacarit (PLS) của trắc bá diệp làm giảm phản ứng viêm bằng cách ức chế sản xuất cytokine tiền viêm và giảm stress oxy hóa. Hơn nữa, chúng không gây độc cho dạ dày ở liều cao [26].

Năm 2020, Shi S.-Y., Zhou Q., He Z.-Q. và cộng sự tiến hành một thử nghiệm ngẫu nhiên, có đối chứng, mù đôi và thử nghiệm đa trung tâm để đánh giá hiệu quả và độ an toàn của Nước sắc “Lương huyết địa hoàng” trong đó Hòe hoa, Trắc bá diệp là quân. Theo nghiên cứu bệnh nhân trĩ (độ I, II, III) sẽ được xếp ngẫu nhiên vào nhóm thực nghiệm hoặc nhóm chứng. Bệnh nhân sẽ được điều trị 7 ngày và theo dõi 7 ngày. Thước đo kết quả chính là Điểm xuất huyết Trĩ trong 7 và 14 ngày. Các thước đo kết quả thứ cấp là điểm số sa thải Goligher và điểm chất lượng cuộc sống trong 7 và 14 ngày. Nghiên cứu đang được tiến hành và đây cũng là nghiên cứu lâm sàng đầu tiên điều tra tính hiệu quả và an toàn của Nước sắc “Lương huyết địa hoàng” trong điều trị trĩ [27].

1.6.2. Tại Việt Nam

Y học cổ truyền của nước ta đã có nhiều nghiên cứu tạo ra những sản phẩm thuốc đông y hiệu quả điều trị tốt và thuận tiện cho việc sử dụng của bệnh nhân.

Lê Tất Thành và cộng sự (2020) đã tiến hành nghiên cứu đánh giá độc tính bán trường diễn của “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm” [28]. Kết quả nghiên cứu cho thấy “Viên trĩ HV” không làm thay đổi chức năng gan, thận và tạo máu của chột công trắng thực nghiệm.

Bên cạnh các nghiên cứu thực nghiệm, các nghiên cứu về lâm sàng về các thuốc điều trị trĩ như của các tác giả Trần Thị Hồng Phương, Phạm Anh Thư cũng phần nào cho thấy nhu cầu sử dụng thuốc điều trị trĩ trong thực tế lâm sàng.

Trần Thị Hồng Phương đã sử dụng thuốc chè tan “Bổ trung ích khí gia vị” (BTIKGV) có tác dụng tốt với triệu chứng chảy máu trĩ. Có 96% bệnh nhân đạt kết quả cầm máu sau đợt điều trị trong đó có 70% cầm máu trong 4 ngày đầu dùng thuốc, với triệu chứng rỉ ướt hậu môn, đau, táo bón, thuốc BTIKGV cũng làm hết các và giảm các triệu chứng rất tốt (100% bệnh nhân hết và giảm các triệu chứng). Đối với tác dụng thu nhỏ búi trĩ thuốc BTIKGV có tác dụng thu nhỏ búi trĩ khá tốt, có 8% bệnh nhân mất búi trĩ hoặc giảm tới 2 độ, 58% bệnh nhân giảm độ trĩ [29].

Phạm Anh Thư khi dùng bài thuốc LVT có thành phần là bài “Lục vị địa hoàng hoàn” gia vị khi điều trị trĩ nội độ I, II có chảy máu cho kết quả cầm máu trong 7 ngày đầu dùng thuốc là 96.7%. Ngoài ra thuốc còn có tác dụng rất tốt trong việc thu nhỏ búi trĩ, chống chảy dịch, chống táo bón và giảm đau [30].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Chế phẩm nghiên cứu

- “Viên trị HV” được bào chế dưới dạng viên nang chứa cao khô chiết xuất từ 10 vị dược liệu, hàm lượng 500mg/ viên, mỗi viên thuốc tương đương 7,7g dược liệu khô.

- Liều lượng của mỗi thành phần trong 01 viên nang cứng “Viên trị HV” bao gồm:

STT	Tên dược liệu	Tên khoa học	Liều lượng (7,7g)
1	Tạo giác thích (đốt tồn tính)	<i>Spina Gleditsiae australis</i>	1,0g
2	Phòng phong	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	0,8g
3	Hồe hoa (sao đen)	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	1,0g
4	Xa sàng tử	<i>Fructus Cnidii</i>	0,6g
5	Chi xác	<i>Fructus citri Aurantii</i>	0,8g
6	Bạch tật lê (sao đen)	<i>Fructus Tribuli terrestris</i>	0,8g
7	Khương hoạt	<i>Rhizoma et Radix Noiopterygii</i>	0,6g
8	Ngũ bội tử	<i>Galla Chinensis</i>	0,6g
9	Trắc bá diệp (sao đen)	<i>Cacumen Platycladi</i>	1,0g
10	Đại hoàng	<i>Rhizoma Rhei</i>	0,5g
11	Tá dược		Vừa đủ 1 viên

Thuốc do Công Ty Cổ Phần Dược Phẩm Phú Tín cung cấp, các dược liệu trong bài thuốc được bào chế dưới dạng dược liệu khô và đạt tiêu chuẩn trong Dược điển Việt Nam V [31]. Từ các dược liệu khô của bài thuốc “Viên trĩ HV”, tiến hành nghiên cứu chiết xuất thành cao khô dưới dạng viên nang cứng, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cho viên nang cứng “Viên trĩ HV”. “Viên trĩ HV” đạt tiêu chuẩn cơ sở được sử dụng là chế phẩm nghiên cứu để đánh giá tính an toàn (độc tính cấp) và tác dụng dược lý trên động vật thực nghiệm [32].

Liều dùng được tính theo g bột cao khô /kg/ngày. Liều dự kiến trên lâm sàng sử dụng trên người là 10 viên/ ngày, với hàm lượng 500mg/ viên từ đó ta tính được liều trung bình 5g bột cao khô /ngày. Tính quân bình một người 50kg thì liều dùng dự kiến trên người sẽ là 0,1 g/kg/ngày.

Quy đổi ra liều tương đương trên chuột nhắt với hệ số quy đổi là 12 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhắt là 1,2 g/kg/ngày.

Quy đổi ra liều tương đương trên chuột cống với hệ số quy đổi là 07 thì liều dự kiến có tác dụng trên chuột cống (liều 1) là 0,7 g/kg/ngày (tương đương với liều lâm sàng). Liều cao (Liều 2) gấp 2 lần liều dùng trên chuột cống trắng là $0,7 \times 2 = 1,4$ g/kg thể trọng chuột/ ngày.

“Viên trĩ HV” được pha loãng trong nước cất thành các dung dịch có nồng độ khác nhau tùy theo mức liều sử dụng cho chuột uống, dùng để đánh giá độc tính cấp và tác dụng dược lý trên động vật thực nghiệm. “Viên trĩ HV” dùng trong nghiên cứu có số lô sản xuất 012020, sản xuất 4/5/2020, hạn sử dụng 3 năm kể từ ngày sản xuất.

2.1.2. Động vật nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng trưởng thành dòng Swiss, không phân biệt giống, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, cân nặng trung bình mỗi con $20,0 \pm 0,2$ g.

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

Động vật thí nghiệm do Ban chăn nuôi - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm. Động vật ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

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



Chuột cống trắng,
chủng Wistar, 180 - 200g



Chuột nhắt trắng,
chủng Swiss, 18 – 22g

Ảnh 2.1. Chuột cống trắng và chuột nhắt trắng

2.1.3. Dụng cụ máy móc

- Máy xét nghiệm Elisa bán tự động Awareness Stat Fax 4200;
- Máy đo quang phổ (Biochrom).
- Máy ly tâm lạnh Universal 320 (Hettich - Đức).
- Cân phân tích 10^{-4} , model CP224S (Sartorius - Đức)
- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ
- Đồng hồ bấm giây
- Máy đúc
- Ống Falcon
- Kính hiển vi
- Các dụng cụ thí nghiệm khác.



Ảnh 2.2. Máy đo quang Biochrom

2.1.4. Hóa chất, thuốc thử

- Dầu croton (Sigma Aldrich, St.Louis, USA).
- Pyridin (Sigma Aldrich, St.Louis, USA).
- Adrenoxyl (Carbazochrom dihydrat) viên nén 10mg (công ty CPDP Sanofi-Synthelabo).
- Prednisolon viên nén 5mg (Hanoi Pharma JSC)
- Diclofenac (Voltaren) 50mg (Novartis).
- Acid acetic 99,85% đạt tiêu chuẩn phân tích.
- Dung dịch ly giải (BD Pharm Lyse) (Sigma Aldrich, St.Louis, USA)
- HE (Hematoxylin - Eosin) (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
- Evans – blue (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
- Diethylether (Sigma Aldrich, St. Louis, USA)
- Cồn, Xylen, Paraffin
- Nước muối sinh lý và một số hóa chất khác

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm: Học Viện Quân Y
- Thời gian: T7/2020 – T12/2020

2.3. Phương pháp nghiên cứu

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

2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp của chế phẩm

Nghiên cứu độc tính cấp của “Viên trĩ HV” trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo hướng dẫn của Bộ Y tế Việt Nam [11], tiến hành theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon [32].

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn 16 giờ, nước uống tự do. Sau 16 giờ, chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con. Các lô thử được cho uống “Viên trĩ HV” với thể tích 0,2 ml/10g/lần, 3 lần/24 giờ, mỗi lần cách nhau 8 giờ. Mức liều cho uống ở mỗi lô tăng dần.

Theo dõi tình trạng chung của chuột và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Tìm liều cao nhất không gây chết chuột (0 %), liều thấp nhất gây chết chuột hoàn toàn (100 %) và các liều trung gian. Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính để xác định LD50 của thuốc thử (nếu có). Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột (hoạt động, ăn uống, bài tiết ...) ở mỗi lô cho đến hết 7 ngày sau khi uống thuốc. Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có chuột chết (nếu có) để xác định nguyên nhân gây độc.

2.3.2. Nghiên cứu tác dụng cầm máu của “Viên trĩ HV”

Đánh giá tác dụng cầm máu trên mô hình gây chảy máu do cắt đuôi chuột công trắng.

2.3.2.1. Thiết kế nghiên cứu

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

- Lô 1 (Chứng): Uống nước cất 1ml/100g chuột.
- Lô 2 (Carbazochrom): Uống carbazochrom liều 12mg/kg/ngày (1mL/100g chuột).

- Lô 3 (trị 1): Uống “Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày (1mL/100g chuột).
- Lô 4 (trị 2): Uống “Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày (1mL/100g chuột).

Cho chuột uống nước hoặc thuốc nghiên cứu trong 5 ngày liên tục. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc 1 giờ, tiến hành cắt đuôi chuột (vị trí 2mm tính từ chóp đuôi), đánh giá tác dụng cầm máu dựa trên thời gian chảy máu và lượng máu mất.

2.3.2.2. Thông số đánh giá

* Đo thời gian chảy máu

Tiến hành theo phương pháp của Aiyalu Rajasekaran và cs (2010) [33] .

Ngay sau khi cắt đuôi chuột, nhúng đuôi chuột ngay vào nước muối sinh lý có nhiệt độ $37 (\pm 1)^{\circ}\text{C}$ đựng trong Falcon 50ml (nhiệt độ phòng duy trì ở $23 (\pm 1)^{\circ}\text{C}$). Dùng đồng hồ bấm giây xác định thời gian chảy máu đuôi chuột.

Mức độ rút ngắn thời gian chảy máu của lô thử so với lô chứng được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{T_c - T_t}{T_c} \times 100$$

Trong đó: X (%): mức độ rút ngắn thời gian chảy máu của lô thử so với lô chứng.

T_c : thời gian chảy máu trung bình của lô chứng.

T_t : thời gian chảy máu trung bình của lô thử.

* Đánh giá lượng máu mất

Tiến hành dựa theo phương pháp của Yang Liu và cs (2012) [34] có sửa đổi. Ly tâm các ống Falcon chứa máu chuột chảy ra ở 4000 vòng/phút trong 5 phút ở nhiệt độ phòng để tách hồng cầu. Phần nổi phía trên được loại bỏ, hồng cầu được phân bố trở lại trong 4ml dung dịch ly giải (BD Pharm Lyse). Sau 10 phút ủ với dung dịch ly giải, ống được ly tâm ở 10 000 vòng/phút trong 5 phút. Nồng độ hemoglobin được đo theo phương pháp đo quang ở 550 nm sử dụng máy đo quang phổ (*Biochrom*). Kết quả đo quang sẽ phản ánh chính xác lượng máu mất.

2.3.3. Nghiên cứu tác dụng chống viêm trực tràng của “Viên trĩ HV”.

Tác dụng chống viêm trực tràng của “Viên trĩ HV” được đánh giá trên mô hình chuột cống trắng gây trĩ, theo phương pháp được mô tả bởi S. Faujdar và cộng sự (2019) [21].

Chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (Chứng trắng): Uống nước cất thể tích 1mL/100g chuột.

- Lô 2 (Chứng bệnh): Gây trĩ và uống nước cất thể tích 1mL/100g chuột.

- Lô 3 (Tham chiếu): Gây trĩ và uống Prednisolon liều 5mg/kg/ngày (1mL/100g chuột).

- Lô 4 (trị 1): Gây trĩ và uống “Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày (1mL/100g chuột).

- Lô 5 (trị 2): Gây trĩ và uống “Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày (1mL/100g chuột).

Chuột thí nghiệm được cho uống nước hoặc chế phẩm thử hàng ngày vào 9 giờ sáng, liên tục trong 7 ngày.

Ngày 8, sau khi đã cho chuột được nhịn ăn qua đêm, tiến hành tiêm tĩnh mạch đuôi chuột Evans blue (30 mg/kg) tất cả các chuột ở các lô. Sau 30 phút, gây trĩ cho chuột ở các lô ngoại trừ lô chứng trắng bằng hỗn hợp dầu croton gồm: nước: pyridine: diethylether: dung dịch dầu croton 6% trong diethylether với tỷ lệ 1: 4: 5: 10. Một tấm bông sạch, đường kính 4mm, được làm ướt đẫm (khoảng 100 μ L) bởi hỗn hợp dầu croton trên. Nhét tấm bông đã được tẩm ướt đẫm hỗn hợp dầu croton ở trên vào trực tràng với độ sâu 2 cm tính từ đầu hậu môn, giữ tấm bông trong 60 giây để đảm bảo hỗn hợp dầu croton tiếp xúc đều lên bề mặt niêm mạc trực tràng. Sau khi gây trĩ, chuột được nhịn ăn trong vòng 24 giờ, nhưng được uống nước bình thường.

Một ngày sau khi gây trĩ, chuột các lô được tiếp tục uống nước, thuốc tham chiếu hoặc chế phẩm thử liên tục trong 5 ngày.

Đánh giá mức độ viêm tại chỗ được đánh giá bởi hình ảnh đại thể, chỉ số trực tràng, mức độ thoát mạch vào mô trực tràng xác định bằng lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng, và hình ảnh vi thể của trực tràng.

Chuột được giết bởi gây mê sâu bằng Isoflurane. Mô, bóc tách trực tràng; cắt 1 đoạn 2cm tính từ đầu hậu môn, tiến hành đánh giá đại thể, cân và tính chỉ số trực tràng theo công thức:

$$\text{Chỉ số trực tràng} = \frac{\text{Cân nặng đoạn trực tràng (mg)}}{\text{Cân nặng chuột (g)}}$$

Xác định bằng lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng (để đánh giá mức độ thoát mạch tại trực tràng viêm) được đánh giá bằng cách chiết xuất xanh evans bởi 1 ml formaldehyd, sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 620nm, tính toán nồng độ dựa trên đường chuẩn của xanh evans.

Làm xét nghiệm mô bệnh học trực tràng đánh giá hình thái cấu trúc vi thể trực tràng và đánh giá mức độ tổn thương trực tràng thông qua mức độ sung huyết, số lượng tế bào viêm, mức độ viêm, mức độ dẫn mạch, hoại tử theo thang điểm được trình bày trong bảng 2.1.

Bảng 2.1. Thang điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng.

Mức độ tổn thương	Tiêu chuẩn đánh giá cụ thể	Điểm
Không thấy tổn thương	Biểu mô phủ niêm mạc, các tuyến có hình thái trong giới hạn bình thường, không thấy thoái hoá hay hoại tử. Mô đệm không phù, các huyết quản không sung huyết, không giãn, không tang sinh xơ, không xâm nhập viêm ở khoảng kẽ.	0
Tổn thương mức độ nhẹ	+ Các tế bào biểu mô phủ và tuyến thoái hoá, hoại tử giới hạn ở lớp niêm mạc, không tới lớp cơ, chiếm < 10% diện tích trực tràng. + Các tế bào viêm ở lớp đệm dưới niêm mạc, mật độ < 50 tế bào viêm/10 vi trường độ phóng đại lớn (2mm ²). + Các huyết quản giãn rộng < 10% các huyết quản mô đệm. + Có < 10% các huyết quản xung huyết.	1
Tổn thương mức độ vừa	+ Các tế bào biểu mô phủ và tuyến thoái hoá, hoại tử từ lớp niêm mạc tới lớp cơ, không qua thanh mạc, chiếm 10 - 25 % diện tích trực tràng. + Các tế bào viêm ở lớp đệm dưới niêm mạc, mật độ < 70 tế bào viêm/10 vi trường độ phóng đại lớn (2mm ²).	2

	+ Các huyết quản giãn rộng 10 - 25% các huyết quản mô đệm. + Có từ 10 - 25 % các huyết quản xung huyết.	
Tổn thương mức độ nặng	+ Các tế bào biểu mô phủ và tuyến thoái hoá, hoại tử từ lớp niêm mạc tới lớp cơ, không qua thanh mạc, chiếm 25 - 50 % diện tích trực tràng. + Các tế bào viêm ở lớp đệm dưới niêm mạc, mật độ 70-100 tế bào viêm/10 vi trường độ phóng đại lớn (2mm ²). + Các huyết quản giãn rộng 25 - 50% các huyết quản mô đệm. + Có từ 25 - 50 % các huyết quản xung huyết.	3
Tổn thương mức độ rất nặng	+ Các tế bào biểu mô phủ và tuyến thoái hoá, hoại tử qua lớp niêm mạc tới lớp cơ và thanh mạc, chiếm > 50 % diện tích trực tràng. + Các tế bào viêm ở lớp đệm dưới niêm mạc, lớp cơ với mật độ > 100 tế bào viêm/10 vi trường độ phóng đại lớn (2mm ²). + Các huyết quản giãn rộng > 50% các huyết quản mô đệm. + Có > 50 % các huyết quản xung huyết.	4

2.3.4. Nghiên cứu tác dụng giảm đau của theo mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) sử dụng acid acetic.

Tác dụng giảm đau của “Viên trĩ HV” được đánh giá theo mô hình gây đau quặn bằng acid acetic của Koster và cs (1959) [24].

Chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được cho nhịn đói 12h trước khi uống thuốc.

- Lô 1 (Chứng trắng) : Uống nước cất 0,1 mL/10g chuột.
- Lô 2 (Tham chiếu) : Uống diclofenac liều 20mg/kg (0,1 mL/10g chuột).
- Lô 3 (trị 1) : Uống “Viên trĩ HV” liều 1,2 g/kg/ngày (1mL/100g chuột).
- Lô 4 (trị 2) : Uống “Viên trĩ HV” liều 2,4 g/kg/ngày (1mL/100g chuột).

Chuột được uống thuốc 4 ngày liên tục. Ngày thứ 4, sau khi dùng thuốc 60 phút, tiến hành gây đau quặn bằng cách tiêm phúc mạc bằng dung dịch acid acetic 0,6% liều 0,1 ml/10g thể trọng. Chuột sẽ xuất hiện những cơn đau quặn biểu hiện như thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Đếm số cơn đau quặn của chuột trong từng 5 phút một cho đến phút 25 sau khi tiêm

acid acetic. So sánh kết quả giữa các lô nghiên cứu, tính % ức chế đau quặn theo công thức :

$$A\% = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100$$

Trong đó: A% là tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô thử thuốc; Dc là số cơn đau quặn của lô chứng sinh lý; Dt là số cơn đau quặn của lô thử thuốc.

2.4. Các chỉ tiêu nghiên cứu

- Nghiên cứu độc tính cấp

Theo dõi tình trạng chung của chuột và số lượng chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối.

Xác định LD50

Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột (hoạt động, ăn uống, bài tiết ...) ở mỗi lô cho đến hết 7 ngày sau khi uống thuốc.

- Nghiên cứu tác dụng cầm máu của “Viên trĩ HV”

Đo thời gian chảy máu

Đánh giá lượng máu mất

- Nghiên cứu tác dụng chống viêm trực tràng của “Viên trĩ HV”

Đánh giá đại thể, cân chuột và tính chỉ số trực tràng

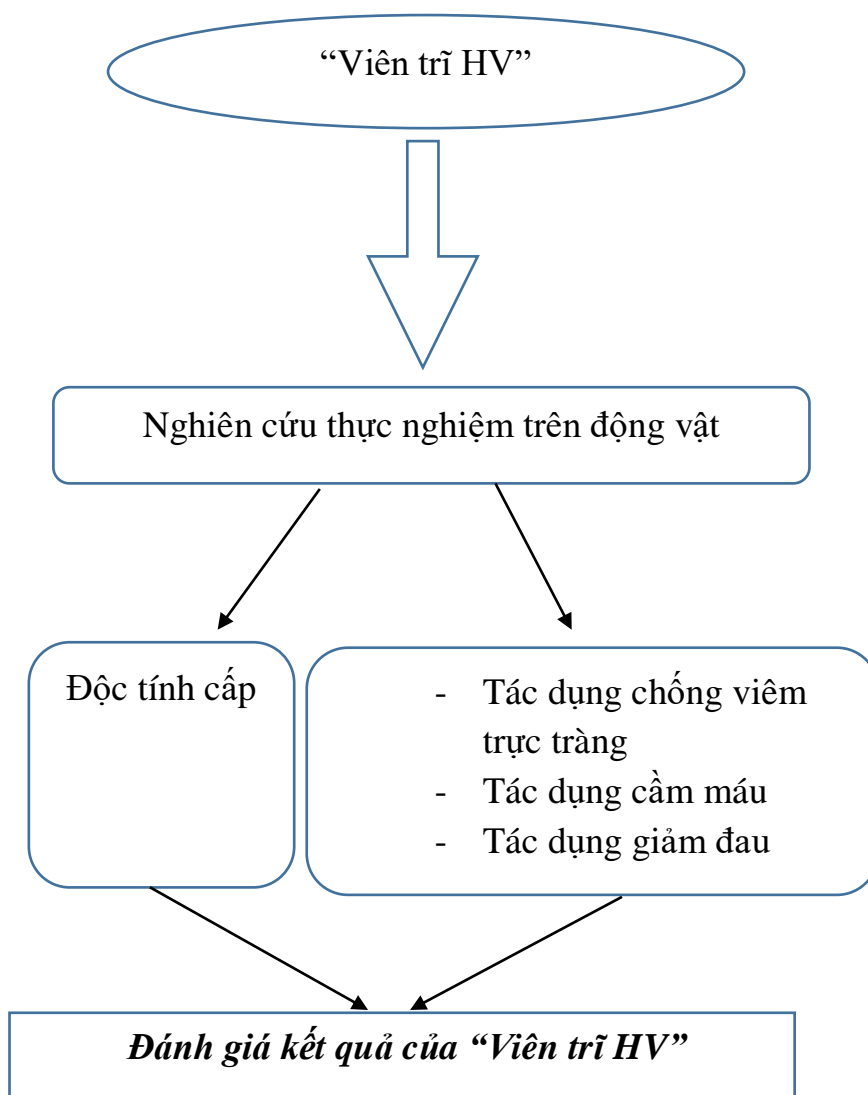
Làm xét nghiệm mô bệnh học trực tràng đánh giá hình thái cấu trúc vi thể trực tràng, đánh giá mức độ tổn thương trực tràng

- Nghiên cứu tác dụng giảm đau của “Viên trĩ HV”

Theo dõi phản ứng của chuột sau khi được tiêm acid acetic trong mỗi 5 phút cho đến khi hết 25 phút và thời gian xuất hiện cơn đau quặn của chuột ở từng lô.

Đếm số cơn đau quặn trong mỗi 5 phút và tổng số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic.

2.5. Sơ đồ nghiên cứu



Sơ đồ 2.1. Mô hình nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng dược lý trên mô hình thực nghiệm của “Viên trĩ HV”

2.5. Xử lý số liệu

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

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của “Viên trị HV”

3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột

Chuột 60 con chia thành 6 lô, mỗi lô 10 con. Tình trạng chung của chuột được đánh giá liên tục trong 72 giờ sau uống thuốc và tiếp tục được theo dõi đánh giá cho đến hết 07 ngày sau uống thuốc. Kết quả được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột

Chỉ tiêu đánh giá	Kết quả đánh giá
Tình trạng hoạt động, vận động của chuột	-Hoạt động, vận động bình thường. -Không có chuột nào tổn thương thần kinh vận động.
Lông	-Lông mượt, không bị xù lông, ứt lông.
Đồng tử mắt	-Bình thường, không có chuột nào có biểu hiện bị bị co, giãn đồng tử.
Biểu hiện hô hấp	-Bình thường, không có biểu hiện của khó thở, không thấy có tím tái. - Không có bất thường trong hô hấp
Tình trạng ăn uống	-Bình thường, không có biểu hiện của việc bỏ ăn cũng như không có biểu hiện của việc ăn uống tăng lên.
Tình trạng chất thải	-Phân của chuột bình thường, không bị nhão nát, không biến đổi màu sắc phân. -Hậu môn khô, không bị dính bết phân.
Bất thường khác	-Không có biểu hiện của dấu hiệu bị đau (như con đau quặn bụng...) -Không có biểu hiện của dấu hiệu dị ứng, kích ứng như chảy nước mũi, bị ngứa đưa chân lên gãi... -Các chuột ở tất cả các lô đều không có biểu hiện bất thường gì khác.

Nhận xét: Kết quả theo dõi tình trạng chung của chuột cả trong 72 giờ sau uống thuốc cũng như trong 7 ngày sau uống thuốc cho thấy chuột từ lô 1 đến lô 6 đều không có dấu hiệu bất thường về tình trạng hoạt động, vận động; tình trạng lông; đồng tử mắt; biểu hiện hô hấp; tình trạng ăn uống; chất thải và không có các dấu hiệu bất thường khác.

3.1.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô

Chuột nhắt trắng được uống thuốc thử với các mức liều khác nhau từ liều thấp nhất là 15g/kg thể trọng đến liều cao nhất là 30g/kg thể trọng, 0,2mL/10g, 3 lần trong 24 giờ. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả đánh giá số chuột chết ở mỗi lô (n=60)

Lô chuột (10 con/lô)	Số chuột thí nghiệm	Liều dùng (g/kg thể trọng)	Thể tích cho uống (Nồng độ dung dịch thuốc)	Số chuột sống/chết sau 72 giờ	Số chuột sống/chết sau 7 ngày
Lô 1	10	15	0,2 mL/10g x 3 lần (0,25 g/1ml)	10/0	10/0
Lô 2	10	18	0,2 mL/10g x 3 lần (0,30 g/1ml)	10/0	10/0
Lô 3	10	21	0,2 mL/10g x 3 lần (0,35 g/1ml)	10/0	10/0
Lô 4	10	24	0,2 mL/10g x 3 lần (0,4 g/1ml)	10/0	10/0
Lô 5	10	27	0,2 mL/10g x 3 lần (0,45 g/1ml)	10/0	10/0
Lô 6	10	30	0,2 mL/10g x 3 lần (0,50 g/1ml)	10/0	10/0

Nhận xét : Kết quả theo dõi cả trong 72 giờ sau uống thuốc cũng như trong 7 ngày sau uống thuốc cho thấy chuột đã uống đến liều 30g/kg thể trọng là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử nhưng không có chuột nào chết ở tất cả các lô.

Do không có chuột nào chết khi cho chuột uống đến mức liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống cho chuột trong 24h (mức liều 30g/kg thể trọng, chia ra thành 3 lần, mỗi lần 0,2 mL) để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử, chúng tôi kết luận chưa tìm thấy LD₅₀ của “Viên trĩ HV” theo đường uống trên chuột nhắt trắng khi chuột đã dùng đến mức liều tối đa có thể của thử nghiệm.

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng điều trị trĩ của “Viên trĩ HV”

3.2.1. Kết quả đánh giá tác dụng cầm máu của “Viên trĩ HV”.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.3 và bảng 3.4.

Bảng 3.3. Thời gian chảy máu của các lô chuột nghiên cứu (n= 40)

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	Thời gian chảy máu (s)	Mức độ rút ngắn thời gian chảy máu so với lô chứng
Lô 1 (chứng) (1)	238,90 ± 31,68	-
Lô 2 (carbazo-chrom) (2)	191,30 ± 23,65	19,92 %
Lô 3 (“Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày) (3)	200,10 ± 26,52	16,24 %
Lô 4 (“Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày) (4)	188,60 ± 21,83	21,05 %
Giá trị p	p ₃₋₁ < 0,01; p ₂₊₁ < 0,001; p _{3,4+2} > 0,05; p ₃₋₄ > 0,05	

Nhận xét : Kết quả bảng 3.3 cho thấy.

- So với lô chứng, thời gian chảy máu ở lô dùng “Viên trĩ HV” liều 0,7g/kg/ngày rút ngắn 16,24% (p < 0,01), ở lô dùng “Viên trĩ HV” liều 1,4g/kg/ngày rút ngắn 21,05% (p < 0,001) và ở lô dùng carbazo-chrom rút ngắn 19,92% (p < 0,001).

Như vậy, “Viên trĩ HV” và thuốc tham chiếu carbazo-chrom đều thể hiện

tác dụng cầm máu, làm thời gian chảy máu ngắn hơn so với lô chứng.

- So với lô dùng carbazochrom, thời gian chảy máu ở các lô dùng “Viên trĩ HV” là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV”, ở lô dùng liều cao (1,4 g/kg/ngày) có thời gian chảy máu ngắn hơn so với ở lô dùng liều thấp (0,7 g/kg/ngày), tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.4. Kết quả đo quang ở các lô chuột nghiên cứu (n= 40)

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	Mật độ quang (OD) đo ở 550 nm	Phần trăm giảm OD so với lô chứng
Lô 1 (chứng) (1)	0,612 ± 0,106	-
Lô 2 (carbazochrom) (2)	0,446 ± 0,081	27,12 %
Lô 3 (“Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày) (3)	0,481 ± 0,093	21,41 %
Lô 4 (“Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày) (4)	0,427 ± 0,089	30,23 %
Giá trị p	$p_{3-1} < 0,05$; $p_{24-1} < 0,01$; $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	

Nhận xét : Kết quả bảng 3.4 cho thấy.

- So với lô chứng, mật độ quang ở lô dùng “Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày giảm 21,41 % ($p < 0,05$), ở lô dùng Viên trĩ HV liều 1,4 g/kg/ngày giảm 30,23 % ($p < 0,01$) và ở lô dùng carbazochrom giảm 27,12 % ($p < 0,01$).

Như vậy, viên nang “Viên trĩ HV” và thuốc tham chiếu carbazochrom đều thể hiện tác dụng làm giảm số lượng máu mất, được đánh giá thông qua làm giảm mật độ quang (OD) so với ở lô chứng.

- So với ở lô dùng carbazochrom, ở các lô dùng “Viên trị HV” có mật độ quang đo được là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), chứng tỏ lượng máu mắt ở các lô này không có sự khác biệt.

- So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trị HV”, ở lô dùng liều cao (1,4 g/kg/ngày) có mật độ quang nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp (0,7 g/kg/ngày), tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm trực tràng của “Viên trị HV”.

3.2.2.1. Kết quả định lượng TNF- α và IL-6 trong máu chuột nghiên cứu

Kết quả được trình bày ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Kết quả định lượng TNF- α và IL-6 trong máu chuột nghiên cứu ($n = 50$)

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
Lô 1 (chứng trắng) (1)	68,92 \pm 21,36	79,25 \pm 16,43
Lô 2 (chứng bệnh) (2)	106,14 \pm 28,52	112,37 \pm 23,52
Lô 3 (prednisolon) (3)	79,45 \pm 19,62	89,63 \pm 18,94
Lô 4 (“Viên trị HV” liều 0,7 g/kg/ngày) (4)	86,59 \pm 18,85	93,46 \pm 19,31
Lô 5 (“Viên trị HV” liều 1,4 g/kg/ngày) (5)	77,95 \pm 14,06	86,84 \pm 15,95
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,01$; $p_{3,4,5-2} < 0,05$; $p_{3,4,5-1} > 0,05$ $p_{4,5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$	

Nhận xét : Kết quả bảng 3.5 cho thấy.

- So với lô chứng trắng, ở lô chứng bệnh có sự tăng cao của cả TNF- α và IL-6 trong máu, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- Các lô dùng “Viên trĩ HV” (cả 2 mức liều) và prednisolon 5mg/kg đều làm giảm cả TNF- α và IL-6 trong máu so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), trở về tương đương với lô chứng trắng ($p > 0,05$).

- So với lô tham chiếu dùng prednisolon, hàm lượng TNF- α và IL-6 ở 2 lô dùng “Viên trĩ HV” không khác biệt ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV”, lô liều cao có hàm lượng của cả TNF- α và IL-6 giảm hơn so với lô liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.2.2. Kết quả đánh giá đại thể và chỉ số trực tràng.

Quan sát đại thể đoạn trực tràng cắt ra (đoạn 2 cm tính từ hậu môn), ở lô chứng trắng trực tràng bình thường, ở các lô gây viêm (từ lô 2 đến lô 5) thấy đoạn trực tràng phù nề, xung huyết, trong đó lô chứng bệnh thể hiện phù nề và xung huyết rõ nhất.

Để đánh giá mang tính định lượng về mức độ viêm, phù nề, xung huyết, chúng tôi sử dụng chỉ số trực tràng, là cân nặng của đoạn trực tràng cắt ra (mg) trên 1g cân nặng chuột.

Chỉ số trực tràng càng lớn chứng tỏ mức độ viêm, phù nề, xung huyết càng nặng. Chế phẩm làm giảm chỉ số trực tràng chứng tỏ có tác dụng làm giảm viêm, phù nề, xung huyết.

Kết quả về chỉ số trực tràng được trình bày ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Chỉ số trực tràng của các lô chuột nghiên cứu (n = 50)

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	Chỉ số trực tràng (mg/g chuột)
Lô 1 (chứng trắng) (1)	0,908 ± 0,162
Lô 2 (chứng bệnh) (2)	1,141 ± 0,116
Lô 3 (prednisolon) (3)	0,937 ± 0,097
Lô 4 (“Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày) (4)	0,968 ± 0,105
Lô 5 (“Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày) (5)	0,945 ± 0,092
Giá trị p	$p_{3,4,5-1} > 0,05$; $p_{3,4,5-2} < 0,05$; $p_{4,5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$

Nhận xét : Kết quả bảng 3.6 cho thấy.

- So với lô chứng trắng, lô chứng bệnh có chỉ số trực tràng tăng cao có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- Các lô dùng “Viên trĩ HV” (ở cả 2 mức liều) và lô dùng prednisolon 5mg/kg đều làm giảm chỉ số trực tràng so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), trở về tương đương so với lô chứng trắng ($p > 0,05$).

- So với lô tham chiếu dùng prednisolon, chỉ số trực tràng ở 2 lô dùng “Viên trĩ HV” không khác biệt ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV”, lô liều cao có chỉ số trực tràng giảm hơn so với lô liều thấp, chứng tỏ thuốc có xu hướng đáp ứng theo mức liều. Tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.2.3. Kết quả xác định hàm lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng để đánh giá mức độ thoát mạch vào mô trực tràng.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.7.

Bảng 3.7. Hàm lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng của các lô chuột nghiên cứu (n = 50)

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	Hàm lượng xanh evans ($\mu\text{g}/\text{mg}$ mô)
Lô 1 (chứng trắng) (1)	0,043 \pm 0,015
Lô 2 (chứng bệnh) (2)	0,081 \pm 0,028
Lô 3 (prednisolon) (3)	0,056 \pm 0,019
Lô 4 (“Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày) (4)	0,060 \pm 0,021
Lô 5 (“Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày) (5)	0,054 \pm 0,017
Giá trị p	$p_{2-1} < 0,01$; $p_{3,4,5-2} < 0,05$; $p_{3,4,5-1} < 0,05$; $p_{4,5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$

Nhận xét : Kết quả bảng 3.7 cho thấy.

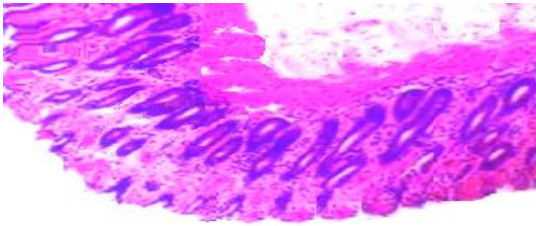
- So với lô chứng trắng, lô chứng bệnh có hàm lượng xanh evans tăng cao có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

- Các lô dùng “Viên trĩ HV” (ở cả 2 mức liều) và lô dùng prednisolon đều làm giảm hàm lượng xanh evans so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), tuy nhiên chưa về mức tương đương so với lô chứng trắng ($p < 0,05$)

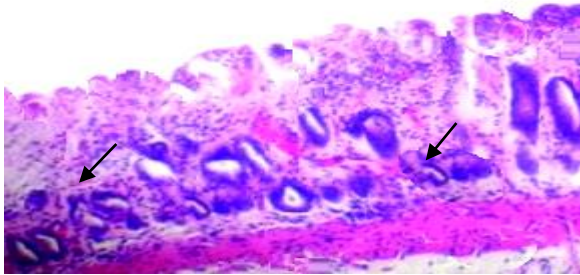
- So với lô tham chiếu dùng prednisolon, hàm lượng xanh evans ở 2 lô dùng “Viên trĩ HV” không khác biệt ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV”, lô liều cao có hàm lượng xanh evans giảm hơn so với lô liều thấp, chứng tỏ thuốc có xu hướng đáp ứng theo mức liều. Tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$)

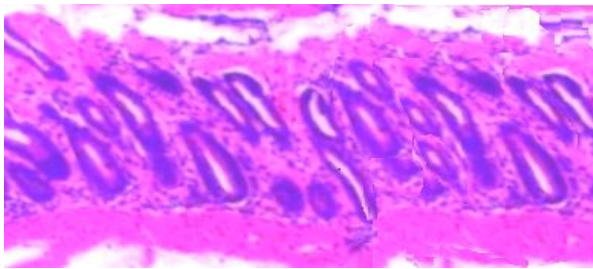
3.2.2.4. Hình ảnh xét nghiệm vi thể trực tràng



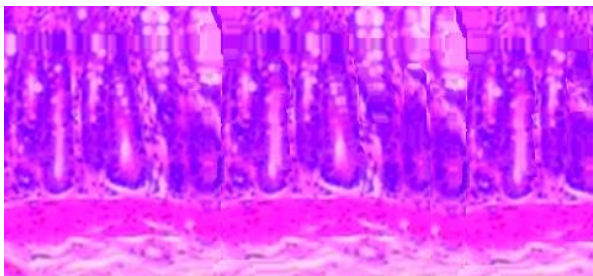
Lô 1. Chứng trắng, hình ảnh mô bệnh học trực tràng bình thường.



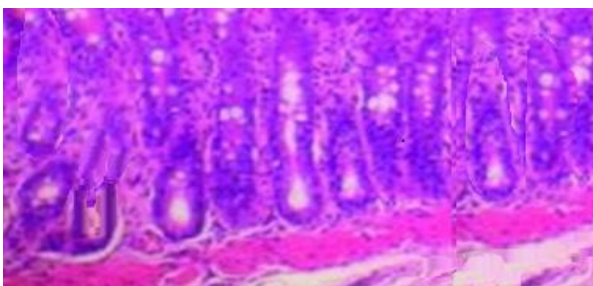
Lô 2. Chứng bệnh, có hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa.



Lô 3. Prednisolon, hình ảnh mô bệnh học trực tràng gần như bình thường. Các hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ.



Lô 4. “Viên trị HV” liều 0,7 g/kg/ngày, hình ảnh mô bệnh học trực tràng gần như bình thường. Các hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ.



Lô 5. “Viên trị HV” liều 1,4 g/kg/ngày, hình ảnh mô bệnh học trực tràng gần như bình thường. Các hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ.

Hình 3.1. Hình ảnh tiêu bản nhuộm HE mô bệnh học trực tràng chuột nghiên cứu

Nhận xét : Hình ảnh tiêu bản nhuộm HE mô bệnh học trực tràng cho thấy: Ở lô chứng trắng, hình ảnh mô bệnh học bình thường. Ở lô chứng bệnh, hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa rõ. Ở các lô dùng prednisolon và “Viên trĩ HV” (cả 2 mức liều), hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ so với lô chứng bệnh.

Kết quả so sánh về tổn thương trực tràng được đánh giá cụ thể hơn bằng phương pháp cho điểm với kết quả trình bày ở mục 3.2.2.5.

3.2.2.5. Kết quả số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng

Kết quả được trình bày ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng của các lô chuột nghiên cứu (n = 50)

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	Số điểm đánh giá
Lô 1 (chứng trắng) (1)	0 ± 0
Lô 2 (chứng bệnh) (2)	1,162 ± 0,328
Lô 3 (prednisolon) (3)	0,645 ± 0,121
Lô 4 (“Viên trĩ HV” liều 0,7 g/kg/ngày) (4)	0,689 ± 0,153
Lô 5 (“Viên trĩ HV” liều 1,4 g/kg/ngày) (5)	0,624 ± 0,137
Giá trị p	$p_{3,4,5-2} < 0,01$; $p_{4,5-3} > 0,05$; $p_{5-4} > 0,05$

Nhận xét : Kết quả bảng 3.8 cho thấy.

- Ở lô chứng trắng, các chuột không có biểu hiện tổn thương trực tràng. Số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng ở lô chứng trắng bằng 0.

- Ở lô chứng bệnh, số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng là $1,162 \pm 0,328$ tức là nằm trong khoảng tổn thương mức độ vừa. Các lô dùng “Viên trĩ HV” (ở cả 2 mức liều) và lô dùng prednisolon đều số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng ở mức độ nhẹ, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p < 0,01$).

- So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV” so với lô dùng prednisolon, số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng ở 2 lô dùng Viên trĩ HV không khác biệt so với ở lô dùng prednisolon ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV” với nhau, lô liều cao có số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng giảm hơn so với lô liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.3. Tác dụng giảm đau của “Viên trĩ HV” trên mô hình gây đau quận

3.2.3.1. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới thời gian xuất hiện đau quận. 9

Kết quả được thể hiện ở bảng 3.9.

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới thời gian xuất hiện đau quận

($n = 40$)

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	Thời gian xuất hiện đau sớm nhất (giây)	Thời gian xuất hiện đau trễ nhất (giây)	Trung bình thời gian xuất hiện đau (giây)	
			$\bar{X} \pm SD$	p
Lô chứng (1)	183	367	283,20 $\pm 68,94$	p2,3,4- 1 < 0,05 p3,4-2 > 0,05 p3-4 > 0,05
Diclofenac (2)	272	485	369,80 \pm 81,52	
“Viên trĩ HV” liều 1,2 g/kg/ngày (3)	256	471	350,60 $\pm 75,19$	
“Viên trĩ HV” liều 2,4 g/kg/ngày (4)	261	492	359,80 $\pm 88,63$	

Nhận xét: Kết quả bảng 3.9 cho thấy:

- Thời gian xuất hiện đau quặn sớm nhất cũng như thời gian xuất hiện đau quặn trễ nhất ở các lô dùng thuốc đều lớn hơn so với ở lô chứng sinh lý.

- So với lô chứng, các lô dùng “Viên trĩ HV” và lô dùng thuốc tham chiếu Diclofenac có trung bình thời gian xuất hiện đau lớn hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Như vậy, viên nang “Viên trĩ HV” và thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng làm thời gian xuất hiện đau quặn muộn hơn so với lô chứng.

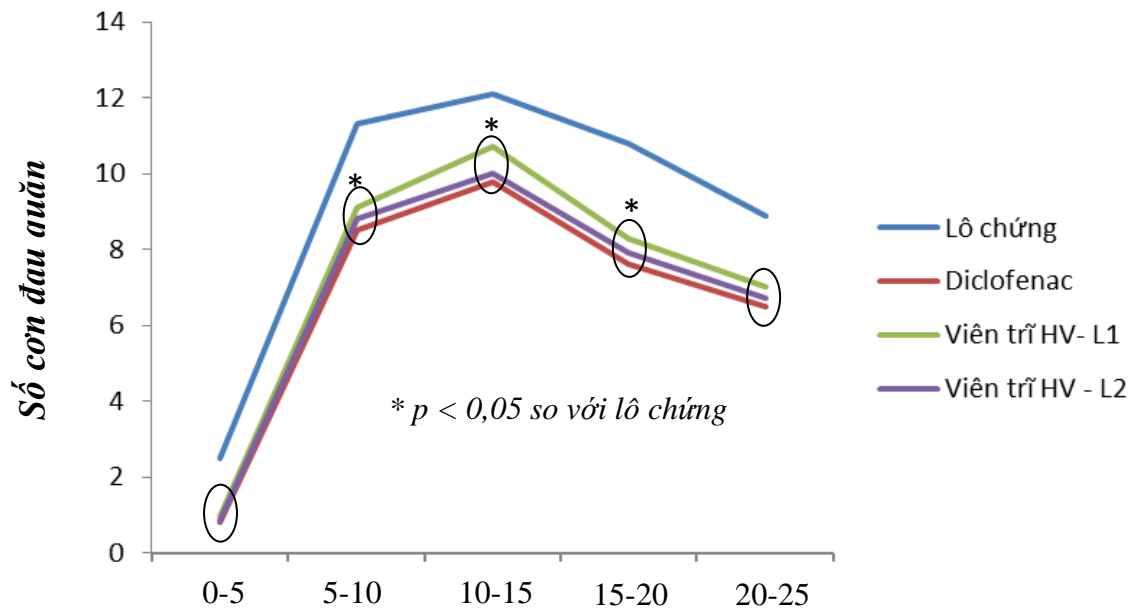
- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac, các lô dùng “Viên trĩ HV” có trung bình thời gian xuất hiện đau sau tiêm acid acetic là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.3.2. Kết quả đánh giá số cơn đau quặn trong từng khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic.

Kết quả được thể hiện ở bảng 3.10 và biểu đồ 1.

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới số cơn đau quặn ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic ($n = 40$).

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	Số cơn đau quặn trong các khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic.				
	0 – 5 phút	5 – 10 phút	10 – 15 phút	15 – 20 phút	20 – 25 phút
Lô chứng (1)	2,48 ± 2,25	11,30 ± 4,42	12,10 ± 2,64	10,80 ± 2,46	8,90 ± 2,14
Diclofenac (2)	0,83 ± 1,29	8,50 ± 2,26	9,80 ± 1,98	7,60 ± 2,39	6,50 ± 2,32
“Viên trĩ HV” 1,2 g/kg (3)	0,96 ± 1,54	9,10 ± 1,65	10,70 ± 2,19	8,30 ± 2,44	7,00 ± 2,67
“Viên trĩ HV” 2,4 g/kg (4)	0,85 ± 1,10	8,80 ± 2,04	10,00 ± 3,05	7,90 ± 0,93	6,70 ± 1,99
p	$p_{2,3,4-1} > 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	$p_{2,3,4-1} > 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$



Các khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid

Biểu đồ 3.1. Số cơn đau quặn của các lô nghiên cứu đo được ở mỗi khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic (n = 40).

Nhận xét: Kết quả bảng 3.10 và biểu đồ 3.1 cho thấy:

Trong cả 5 khoảng thời gian đo, số cơn đau quặn ở các lô dùng “Viên trĩ HV” và lô tham chiếu luôn nhỏ hơn so với lô chứng sinh lý. Tuy nhiên, tại các khoảng thời gian đo 0-5 phút và 20-25 phút, sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tại các khoảng thời gian đo 5-10 phút, 10-15 phút và 15-20 phút, sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2.3.4. Kết quả đánh giá tổng số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.11.

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới tổng số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic (n = 40).

Lô nghiên cứu (10 con/lô)	Số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic	Tỷ lệ (%) giảm số cơn đau quặn so với lô chứng sinh lý
Lô chứng (1)	46,30 ± 9,16	-
Diclofenac (2)	33,20 ± 8,92	28,29 %
“Viên trĩ HV” 1,2 g/kg (3)	34,90 ± 7,42	24,62 %
“Viên trĩ HV” 2,4 g/kg (4)	34,10 ± 8,09	26,35 %
<i>p</i>	$p_{2,3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} > 0,05$; $p_{3-4} > 0,05$	-

Nhận xét: Kết quả ở bảng 3.11 cho thấy:

- So với lô chứng, số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ở cả 2 lô dùng “Viên trĩ HV” liều 1, liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac đều nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tính toán ở trong khoảng thời gian 25 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, và các lô dùng “Viên trĩ HV” cả 2 mức liều 1,2g/kg/ngày và 2,4g/kg/ngày, lần lượt là 28,29 %; 24,62 %; và 26,35 %.

- So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng “Viên trĩ HV” cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{3,4-2} > 0,05$).

- So với ở lô dùng “Viên trĩ HV” liều thấp, ở lô dùng “Viên trĩ HV” liều cao có số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ít hơn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p_{3-4} > 0,05$).

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Bàn luận về độc tính cấp của “Viên trĩ HV”

Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới, ngoại trừ các bài thuốc cổ phương được chiết xuất theo phương pháp truyền thống, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đều phải đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên động vật thực nghiệm trước khi đưa vào thử nghiệm trên người. “Viên trĩ HV” được bào chế theo phương pháp hiện đại từ các dược liệu, do đó là đối tượng cần được đánh giá về độc tính cấp [10], [35].

Theo định nghĩa của Hệ thống hòa hợp toàn cầu (Globally Harmonised System - GHS), độc tính cấp là những tác dụng không mong muốn xảy ra sau khi dùng một chất trong vòng 24 giờ [36]. Thử độc tính cấp nhằm cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của thuốc, dự đoán triệu chứng và dự kiến biện pháp điều trị ngộ độc cấp, đồng thời làm căn cứ để thiết lập mức liều cho các nghiên cứu tiếp theo (nghiên cứu độc tính dài hạn, nghiên cứu tác dụng dược lý). Các chỉ số cần xác định trong phép thử độc tính cấp bao gồm: liều an toàn; liều dung nạp tối đa; liều gây ra độc tính có thể quan sát được; liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có); liều LD50 (liều 103 gây chết 50% số động vật thực nghiệm) gần đúng (nếu có thể xác định được); và những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục (nếu có) [37]. Chuột nghiên cứu được lựa chọn bao gồm cả chuột đực và chuột cái, kết quả nghiên cứu vì thế bao hàm cho cả 2 giống. Đường đưa thuốc sử dụng là đường uống, theo đúng như đường dự kiến sử dụng trên người. Khi sử dụng đường uống, để bảo đảm cho chuột dùng được một lượng thuốc lớn với độ chính xác cao, việc đưa thuốc cưỡng bức vào dạ dày chuột qua kim cong đầu tù chuyên dụng được thực hiện. Thao tác này có thể gây tổn hại đường thực quản dạ dày gây xuất huyết hoặc thủng dạ dày, hoặc có thể đưa nhầm thuốc vào đường hô hấp gây sặc

thuốc, suy hô hấp làm chuột chết. Ngoài ra thao tác bắt chuột nếu thực hiện không tốt sẽ gây tổn thương chuột, thậm chí có thể làm chết chuột. Chính vì vậy thao tác này được tiến hành bởi một kỹ thuật viên có kinh nghiệm, bảo đảm việc đưa thuốc vào dạ dày ruột với một lượng chính xác mà không gây tổn thương cho chuột.

Việc theo dõi đánh giá tình trạng chung của chuột, cũng như số chuột chết ở mỗi lô đòi hỏi các nghiên cứu viên có kinh nghiệm và phải theo dõi thường xuyên liên tục, tránh việc để sót các dấu hiệu bị độc. Khi tiến hành công việc theo dõi này, chúng tôi luôn phân thành ca với mỗi ca ít nhất có 2 nghiên cứu viên có kinh nghiệm, và việc theo dõi được tiến hành liên tục. Việc phẫu tích chuột được chuẩn bị sẵn sàng để nếu có chuột chết cần phải tiến hành phẫu tích ngay nhằm đánh giá nguyên nhân gây chết chuột. Các nguyên nhân gây chết chuột có thể là do độc tính của thuốc như gây kích thích thần kinh làm chuột co giật, suy hô hấp và chết; hoặc gây suy gan, suy thận; nhưng cũng có thể do đi lỏng nhiều gây rối loạn điện giải mà chết; do tắc ruột; do tổn thương gây chảy máu trong... Trong nghiên cứu về độc tính cấp của viên trĩ HV, không có chuột nào bị chết nên không có bất kỳ các nguyên nhân nào kể trên.

Nghiên cứu độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng, chuột được cho uống “Viên trĩ HV” liều tăng dần từ 15g bột trong viên nang/kg thể trọng đến liều cao nhất là 30g bột trong viên nang/kg thể trọng. Mức liều 30g bột trong viên nang/kg thể trọng (chia ra thành 3 lần, mỗi lần 0,2 mL) là liều lớn nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống được trong 24 giờ, nhưng không có chuột nào chết và không thấy biểu hiện bất thường nào ở chuột. Liều dự kiến có hiệu quả khi dùng trên chuột nhắt trắng là 1,2g bột trong viên nang/kg/ngày. Mức liều 30g bột trong viên nang/kg thể trọng gấp 25 lần mức liều 1,2g bột trong viên nang/kg/ngày. Như vậy chuột đã được cho uống mức liều gấp 25 lần mức liều dự kiến có hiệu quả, các chuột vẫn khỏe mạnh, lông mượt, mắt trong, ăn uống và hoạt động bình thường, không có chuột nào chết.

Việc chưa tìm thấy LD50 của “Viên trĩ HV” theo đường uống trên chuột nhắt trắng với mức liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 24h (gấp 25 lần mức liều dự kiến có hiệu quả), cùng với việc không phát hiện thấy các biểu hiện bất thường của tình trạng bị độc khi dùng thuốc liều cao, chứng tỏ “Viên trĩ HV” có tính an toàn trong điều trị.

“Viên trĩ HV” có thành phần gồm 10 vị dược liệu, phần lớn đều không thấy có báo cáo về độc tính trong các y văn cũng như trong các đánh giá nghiên cứu dược lý hiện đại. Dược liệu đáng chú ý về tính an toàn của bài thuốc là vị Tạo thích giác. Theo y học cổ truyền, Tạo giác thích có ít độc và không dùng cho phụ nữ có thai, tuy nhiên cho đến nay chưa có thử nghiệm lâm sàng nào được báo cáo về độc tính này. Năm 2011, Lai P., Du J.-R., Zhang M.-X. và cộng sự đã báo cáo kết quả của nghiên cứu về hiệu quả giảm lipid máu trên thỏ của dịch chiết Tạo thích giác (*Spina Gleditsiae*), một trong những kết quả của nghiên cứu chỉ ra *Spina Gleditsiae* không gây độc tính trên gan và cơ [38]. “Viên trĩ HV” với các thành phần dược liệu ít độc, được phối kết hợp với nhau hợp lý theo lý luận của y học cổ truyền, vì thế kết quả về tính an toàn của chế phẩm trong nghiên cứu của chúng tôi là hoàn toàn phù hợp với các lý luận về thành phần của bài thuốc.

4.2. Bàn luận về tác dụng điều trị trĩ của “Viên trĩ HV”

4.2.1. Bàn luận về tác dụng cầm máu

Tác dụng cầm máu của “Viên trĩ HV” được đánh giá trên mô hình cắt đuôi chuột cống, với chỉ tiêu đánh giá là thời gian cầm máu và lượng máu mất.

Khi mạch máu bị tổn thương, sẽ hoạt hóa quá trình cầm máu do một số cơ chế: co mạch, tạo nút tiểu cầu, đông máu. Thuốc có tác dụng cầm máu được đánh giá dựa trên 2 chỉ tiêu là thời gian chảy máu và lượng máu chảy ra. Thuốc có thể có tác dụng rút ngắn thời gian chảy máu, hoặc làm giảm lượng

máu mất, hoặc cả hai, dựa trên tác dụng vào quá trình cầm máu theo cơ chế nào, mức độ mạnh yếu ra sao. Thông qua mô hình cắt đuôi chuột, xác định thời gian chảy máu bằng đồng hồ bấm giây và lượng máu chảy ra bằng phương pháp đo quang, từ đó đánh giá tác dụng cầm máu của thuốc nghiên cứu. Theo phương pháp đo quang, số lượng hồng cầu mất do chảy máu được ly giải hoàn toàn để giải phóng Hemoglobin, và được phân tán trong một thể tích nhất định. Số lượng máu mất càng nhiều, lượng hemoglobin trong dung dịch (có thể tích cố định) càng lớn, mật độ quang đo được càng lớn.

Kết quả đánh giá về chỉ tiêu là thời gian cầm máu cho thấy “Viên trĩ HV” dùng trên chuột cống trắng liều 0,7g/kg/ngày và 1,4g/kg/ngày có tác dụng cầm máu, làm rút ngắn thời gian chảy máu rõ rệt so với lô chứng ($p < 0,01$ và $p < 0,001$, tương ứng), tác dụng này của chế phẩm tương đương với thuốc tham chiếu carbazochrom 12mg/kg/ngày. Mức độ rút ngắn thời gian chảy máu so với lô chứng ở 2 lô chuột dùng “Viên trĩ HV” liều 0,7g/kg/ngày và 1,4g/kg/ngày lần lượt là 16,24 % và 21,05 %, trong khi ở lô chuột dùng carbazochrom 12mg/kg/ngày mức độ rút ngắn thời gian chảy máu so với lô chứng là 19,92 %. Như vậy, “Viên trĩ HV” và thuốc tham chiếu carbazochrom đều thể hiện tác dụng cầm máu, làm thời gian chảy máu ngắn hơn so với lô chứng.

Để đánh giá về lượng máu mất, nghiên cứu tiến hành theo phương pháp của Yang Liu và cs (2012) [19], là phương pháp được nhiều tác giả sử dụng và công bố trên các tạp chí có uy tín gần đây. Kết quả nghiên cứu cho thấy “Viên trĩ HV” dùng trên chuột cống trắng liều 0,7g/kg/ngày và 1,4g/kg/ngày có tác dụng làm mật độ quang giảm so với lô chứng tương ứng là 21,41 % ($p < 0,01$), và 30,23 % ($p < 0,001$), tương đương so với mức độ giảm mật độ quang ở lô dùng carbazochrom 27,12 % ($p < 0,01$). Mật độ quang càng giảm chứng tỏ lượng máu mất càng ít.

Các kết quả này chứng tỏ “Viên trĩ HV” dùng trên chuột cống trắng liều 0,7g/kg/ngày và 1,4g/kg/ngày có tác dụng cầm máu tốt trên mô hình cắt đuôi chuột.

Theo y học cổ truyền để làm tăng tác dụng chỉ huyết, các vị thuốc thường được sao đen hoặc đốt tồn tính. Trong bài tạo giác thích được đốt tồn tính, hòe hoa, trắc bá diệp và bạch tật lê cũng được sao đen nhằm tăng tác dụng chỉ huyết của toàn bài. Trắc bá diệp (*Cacumen Platycladi*) được sử dụng để giảm đáng kể tình trạng chảy máu và thời gian đông máu. Trắc bá diệp được phân loại là một loại thuốc lương huyết, chỉ huyết và thường được kê đơn với các loại thuốc thanh nhiệt khác để tăng cường hiệu quả chỉ huyết [27]. Hòe hoa (*Sophora japonica*) đã được chứng minh hiệu quả cầm máu thông qua các nghiên cứu dược lý hiện đại. Tác dụng chống xuất huyết của quercetin (chiết xuất từ nước của nụ cây *Sophora japonica*) là do ổn định tính toàn vẹn của mao mạch [39]. Uống chiết xuất từ Hòe hoa (chứa rutin, quercetin và tanin) trong 5 ngày làm giảm tính thấm mao mạch, thời gian chảy máu và thời gian đông máu ở chuột và giảm thời gian prothrombin ở chuột, do đó chứng minh tác dụng cầm máu của Hòe hoa [40]. Hòe hoa có tác dụng lương huyết, cầm máu (sao đen), chất rutin trong Hòe hoa đã được chứng minh làm tăng vững bền thành mạch và được ứng dụng trong điều trị bệnh trĩ chảy máu [31], [47].

4.2.2. Bàn luận về tác dụng chống viêm trực tràng

Tác dụng chống viêm trực tràng được đánh giá trên mô hình chuột cống trắng gây trĩ, theo phương pháp được mô tả bởi S. Faujdar và cộng sự (2019) [21]. Nguyên tắc tiến hành như sau: Dầu croton là một chất gây viêm mạnh, từ lâu đã được sử dụng như tác nhân gây viêm tại chỗ. Việc đặt dầu croton lên ống hậu môn đã được chứng minh là gây viêm và phá hủy mô, đặc biệt đối với các mạch máu gây tăng tính thấm thành mạch, phá hủy cấu trúc tế bào biểu mô, hoại tử lớp chất nhày, thâm nhiễm các tế bào viêm, dẫn mạch, tăng

tiết dịch. Điều này tạo nên các triệu chứng tương tự bệnh sinh của bệnh trĩ. Viêm là một cơ chế bảo vệ phức tạp, trong đó bạch cầu di chuyển từ mạch máu vào các mô bị tổn thương để phá hủy các tác nhân có khả năng gây tổn thương mô. Viêm cấp tính là một phản ứng có lợi hạn chế, đặc biệt là trong thử thách nhiễm trùng, trong khi viêm mãn tính là một hiện tượng dai dẳng có thể dẫn đến tổn thương mô.

Tiến hành gây trĩ thực nghiệm (gây viêm trực tràng) bằng dầu croton, tập trung đánh giá các chỉ tiêu về tình trạng viêm toàn thân thông qua các cytokine như TNF- α và IL-6; đánh giá tình trạng viêm tại chỗ thông qua chỉ số trực tràng, mức độ thoát mạch ở mô trực tràng, và đánh giá mô bệnh học trực tràng, qua đó đánh giá tác dụng của thuốc điều trị trĩ và viêm trực tràng.

TNF- α là yếu tố hoại tử khối u alpha được sản xuất bởi các đại thực bào hoạt hóa đáp ứng với vi khuẩn, đặc biệt là lipopolysaccharide (LPS) của vi khuẩn Gram âm. Đây là một chất trung gian quan trọng của viêm cấp tính. Nó gián tiếp lôi kéo bạch cầu trung tính và đại thực bào đến các vị trí bị nhiễm trùng bằng cách kích thích các tế bào nội mô để sản xuất các phân tử kết dính và sản xuất các chemokin, là các cytokin hóa hướng động bạch cầu.

IL – 6 là Interleukin 6 (IL-6) được sản xuất kịp thời để đáp ứng tạm thời với nhiễm trùng và chấn thương mô, góp phần bảo vệ cơ thể thông qua việc kích thích phản ứng giai đoạn cấp tính, tạo máu và phản ứng miễn dịch. Thông qua sự thay đổi của nồng độ TNF- α , IL – 6 để đánh giá tình trạng viêm toàn thân.

Kết quả định lượng TNF- α và IL-6 trong máu chuột nghiên cứu cho thấy các lô dùng “Viên trĩ HV” liều 0,7g/kg/ngày và 1,4g/kg/ngày và prednisolon 5mg/kg đều làm giảm cả TNF- α và IL-6 trong máu so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), trở về tương đương với lô chứng trắng ($p > 0,05$).

Đánh giá tình trạng viêm tại chỗ thông qua đánh giá đại thể và chỉ số trực tràng: Quan sát đại thể đoạn trực tràng cắt ra (đoạn 2 cm tính từ hậu môn), ở lô chứng trắng trực tràng bình thường, ở các lô gây viêm (từ lô 2 đến lô 5) thấy đoạn trực tràng phù nề, xung huyết, trong đó lô chứng bệnh thể hiện phù nề và xung huyết rõ nhất. Để đánh giá mang tính định lượng về mức độ viêm, phù nề, xung huyết, chúng tôi sử dụng chỉ số trực tràng, là cân nặng của đoạn trực tràng cắt ra (mg) trên 1g cân nặng chuột.

Kết quả chỉ số trực tràng cho thấy các lô dùng “Viên trĩ HV” (ở cả 2 mức liều) và lô dùng prednisolon 5mg/kg đều làm giảm chỉ số trực tràng so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), trở về tương đương so với lô chứng trắng ($p > 0,05$). So với lô tham chiếu dùng prednisolon, chỉ số trực tràng ở 2 lô dùng “Viên trĩ HV” không khác biệt ($p > 0,05$). So sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV”, lô liều cao có chỉ số trực tràng giảm hơn so với lô liều thấp, chứng tỏ thuốc có xu hướng đáp ứng theo mức liều. Tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Chỉ số trực tràng càng lớn chứng tỏ mức độ viêm, phù nề, xung huyết càng nặng. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy chế phẩm làm giảm chỉ số trực tràng chứng tỏ có tác dụng làm giảm viêm, phù nề, xung huyết.

Kết quả xác định hàm lượng xanh evans (evans blue) có trong mô trực tràng để đánh giá mức độ thoát mạch vào mô trực tràng cho thấy các lô dùng “Viên trĩ HV” (ở cả 2 mức liều) và lô dùng prednisolon đều làm giảm hàm lượng xanh evans so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), tuy nhiên chưa về mức tương đương so với lô chứng trắng ($p < 0,05$), và so sánh giữa 2 lô dùng “Viên trĩ HV”, lô liều cao có hàm lượng xanh evans giảm hơn so với lô liều thấp, chứng tỏ thuốc có xu hướng đáp ứng theo mức liều. Tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Đánh giá mô bệnh học trực tràng thông qua hình ảnh tiêu bản nhuộm HE mô bệnh học trực tràng cho thấy ở các lô dùng prednisolon và “Viên trĩ HV”

liều 0,7g/kg/ngày và 1,4g/kg/ngày, hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ so với lô chứng bệnh.

Kết quả so sánh về tổn thương trực tràng được đánh giá cụ thể hơn bằng phương pháp cho điểm với kết quả ở lô chứng bệnh, số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng là $1,162 \pm 0,328$ tức là nằm trong khoảng tổn thương mức độ vừa. Các lô dùng “Viên trĩ HV” (ở cả 2 mức liều) đều có số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng ở mức độ nhẹ, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p < 0,01$) và tương đương so với ở lô dùng prednisolon ($p > 0,05$).

Các kết quả này chứng tỏ “Viên trĩ HV” dùng trên chuột cống trắng liều 0,7g/kg/ngày và 1,4g/kg/ngày có tác dụng chống viêm thông qua giảm nồng độ TNF- α và IL-6 và giảm viêm tại chỗ, phù nề, xung huyết thông qua giảm chỉ số trực tràng, làm giảm hàm lượng xanh evans thoát mạch ở mô trực tràng, và hình ảnh viêm, xung huyết, thoái hóa giảm rõ so với lô chứng bệnh.

“Viên trĩ HV” gồm 10 vị dược liệu, trong đó hầu hết các vị thuốc đều có tác dụng chống viêm đã được chứng minh, ứng dụng rộng rãi trong điều trị, các vị dược liệu được phối ngũ để làm tăng hiệu quả chống viêm cho toàn bài thuốc. Trên thực tế, tác dụng kháng viêm của các dược liệu cũng đã được chứng minh như Tạo thích giác (Hyekyung Ha và cộng sự, 2015), Trắc bá diệp, Hòe hoa, Ngũ bội tử, Khương hoạt, Phòng phong, Xa sàng tử.

Tạo thích giác (*Spina Gleditsiae*) theo truyền thống được sử dụng để điều trị các bệnh viêm nhiễm, các hoạt động chống viêm của nó đã được nghiên cứu để hỗ trợ việc sử dụng lâm sàng này. Năm 2008, Ha et al. báo cáo rằng chiết xuất nước của *Spina Gleditsiae* có thể ức chế sản xuất lipopolysaccharide- (LPS-), oxit nitric cảm ứng (NO) và sự biểu hiện của tổng hợp NO cảm ứng (NOS), prostaglandin E2 trong các đại thực bào RAW 264.7. [41]. Sáu hợp chất bao gồm (+) - catechin, (-) - epicatechin, eriodictyol, quercetin, axit caffeic, và ethyl gallate ít nhất cũng giải thích một phần cho tác

dụng chống viêm của *Spina Gleditsiae* [42]. Ngoài tác dụng chống viêm, Tạo thích giác còn có tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm thông qua nghiên cứu của Gao và cộng sự năm 2016 [43].

Năm 2017, Silva I.S., Nicolau L.A.D., Sousa F.B.M. và cộng sự thực hiện nghiên cứu đánh giá hoạt động chống viêm của dịch chiết nước (AE) và phần polysacarit (PLS) của trắc bá diệp ở chuột cho thấy dịch chiết nước (AE) và phần polysacarit (PLS) của trắc bá diệp làm giảm phản ứng viêm bằng cách ức chế sản xuất cytokine tiền viêm và giảm stress oxy hóa. Hơn nữa, chúng không gây độc cho dạ dày ở liều cao [26].

Hồe hoa có tác dụng làm lương huyết, chỉ huyết, thanh nhiệt và chống viêm, giảm đau [31], [44]. Các nghiên cứu dược lý hiện đại đã chứng minh hiệu quả chống viêm của nó. Theo các nghiên cứu dược lý hiện đại, hiệu quả của houe hoa có liên quan đến các chất flavonoide của nó bao gồm sophoricoside, rutin, genistein và quercetin. Sophoricoside, thành phần hoạt tính sinh học chính của houe hoa, cho thấy tác dụng ức chế các chất trung gian hóa học liên quan đến phản ứng viêm. Nó được xác định là chất ức chế chọn lọc hoạt động của cyclooxygenase (COX) -2 [45]. Trong khi đó, sophoricoside và genistein thể hiện tác dụng ức chế các cytokine tiền viêm, IL-5, IL-3, yếu tố kích thích thuộc địa bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF) và hoạt tính sinh học IL-6 [46], [47].

Các nghiên cứu dược lý đã chỉ ra rằng chiết xuất ethanol của Phòng phong có tác dụng chống viêm [48] bằng cách ức chế sản xuất oxit nitric (NO), prostaglandin E₂ (PGE₂), yếu tố hoại tử khối u- α (TNF- α), và interleukin-6 (IL-6) trong RAW 264, 7 được kích thích bằng LPS [49].

Khương hoạt (*Notopterygium incisum*): Coumarins, tinh dầu và phenol là một trong những thành phần hóa học chính được tìm thấy trong rễ và thân rễ của *N. incisum* [50]. Ví dụ về những chất này bao gồm isoimperatorin, notopterol, imperatorin, bergapten, axit ferulic, p-hydroxyphenethyl anisate

và axit linoleic [23], [51]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng các coumarin như isoimperatorin, notopterol, và bergapten có các hoạt tính chống viêm, giảm đau và chống ung thư [52], [53]. Các coumarin này cũng có tác dụng ức chế 5-lipoxygenase và cyclooxygenase [51], [54] trong khi tác dụng chống viêm của notopterol là do hoạt động ức chế tính thấm thành mạch của nó [55], [56], [57].

Ngũ bội tử (*Galla Chinensis*): Năm 2018, Sun K., Song X., Jia R. và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu “đánh giá tác dụng giảm đau và chống viêm của nước sắc Ngũ bội tử trên chuột” nghiên cứu cho thấy *Galla Chinensis* (1g / kg) có hoạt tính chống viêm đáng kể ($p < 0,05$) trong thử nghiệm tính thấm mao mạch (29,04%). Trong thử nghiệm phù do carrageenan gây ra, tỷ lệ ức chế là 43,71% và 44,07% ($p < 0,01$) ở 1 giờ và 2 giờ sau khi dùng *Galla Chinensis* (1 g / kg), và mức độ cytokine tiền viêm (NO, PGE₂) đã giảm đáng kể. Nghiên cứu chỉ ra *Galla Chinensis* có các hoạt động giảm đau và chống viêm. Cơ chế chống viêm có thể xảy ra là do ức chế giải phóng các cytokine gây viêm và tăng biểu hiện của yếu tố chống viêm [58].

Trong Xa sàng tử - *Fructus Cnidii* (FC), coumarin là thành phần chính [59]. Các coumarin (chẳng hạn như osthole, ostruthin và isomexoticin), FC coumarin được biết đến như là chất chống ngứa, chống dị ứng và chống viêm [60], [61]. Các hợp chất hoạt động của FC chủ yếu là coumarin, nhằm mục tiêu đến các protein liên quan đến thần kinh trung ương (AChE và OPRK1) và các protein liên quan đến viêm (PDE4D, TLR9, và NF- κ B); (3). Tác dụng chống dị ứng (loại I và IV) của chiết xuất ethanol 70% (CM-ext) và một phần là do dẫn xuất coumarin, osthol [62]. Tác dụng chống ngứa của chiết xuất ethanol 70% (CM-ext) của *Cnidii Monnieri Fructus* (quả khô của *Cnidium monnieri* CUSSON, Umberiferae) đã được nghiên cứu. Ở chuột, việc uống CM-ext (200 và 500 mg / kg) đã ức chế hành vi gãi do hợp chất 48/80 gây ra mà không ảnh hưởng đến vận động tự phát. Isopimpinellin (3) và osthol (1),

dẫn xuất coumarin được phân lập từ CM-ext, cho thấy tác dụng ức chế hành vi gãi gây ra hợp chất 48/80 [60]. Tác dụng vừa chống viêm vừa chống ngứa của Xa sàng tử góp phần nâng cao hiệu quả điều trị, giúp giảm các triệu chứng lâm sàng của bệnh trĩ.

Bạch tật lê (*Fructus Tribuli terrestris* - TT): Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng chất chiết xuất từ TT có hoạt tính chống viêm [63]. Các cơ chế chính liên quan được cho là sự điều hòa con đường viêm protein NFκB [64]. Bởi vì protein NFκB cũng là chất trung gian của chu kỳ tế bào và sự tồn tại của tế bào, người ta đã chứng minh rằng chiết xuất TT có thể gây ra quá trình chết rụng ở tế bào ung thư gan ở người bằng cách ức chế con đường tín hiệu NFκB [65]. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng các chất chiết xuất có tác dụng chống viêm ngay cả khi bôi tại chỗ bằng cách ảnh hưởng đến sự điều biến của các kênh canxi Orai-1 và TRPV3, cũng như bằng cách ức chế hoạt hóa tế bào mast (chiết xuất ethanolic) [65]. Hợp chất duy nhất được xác định trong dịch chiết TT là rutin. Lee và cộng sự [66] đã đánh giá tác dụng chống viêm của tribulusamide D được phân lập từ quả TT trong một nghiên cứu in vitro. Họ cho rằng hiệu ứng xảy ra thông qua việc điều chỉnh giảm các enzym chịu trách nhiệm sản xuất cytokine và các chất trung gian gây viêm. Hong và cộng sự [67], chứng minh rằng chiết xuất từ quả TT ức chế hoạt động COX-2. Các nghiên cứu in vitro khác đã chỉ ra rằng chiết xuất TT có tác dụng chống viêm [68].

Ngoài ra thành phần flavonoid và chiết xuất axit béo từ Bạch tật còn có tác dụng chống oxy hóa và kháng khuẩn nhất định [69], chống ngứa và điều trị một số bệnh lý về da thông qua việc điều chỉnh kênh canxi và ức chế đáng kể sự xâm nhập của tế bào mast vào các mô da [70].

Đại hoàng (*Rhizoma Rhei*) có nhiều tác dụng dược lý và hoạt tính sinh học, chẳng hạn như chống viêm, bảo vệ thần kinh, chống trầm cảm, chống vi

khuẩn, và những loại khác [71]. Những phát hiện này cho thấy tác dụng cải thiện của nó đối với các bệnh viêm nhiễm [72] như viêm da dị ứng nặng, tổn thương phổi, bệnh thoái hóa thần kinh, và bệnh tiểu đường. Nghiên cứu hóa thực vật đã gợi ý rằng có nhiều hợp chất anthraquinon tự do khác nhau hiện diện trong *Rheum* [73]. Các hợp chất phong phú nhất là Aloe-emodin, Emodin, Rhein, Physcion và Chrysophanol (Chr). Một phân tích chỉ ra rằng Chr là hợp chất anthraquinon tự do dồi dào nhất. Trong nghiên cứu được ghi nhận trong những thập kỷ gần đây, Chr đã ngăn chặn các quá trình viêm do LPS gây ra trong tế bào Raw264,7 và làm giảm thêm tình trạng viêm do LPS kích thích [74]. Một nghiên cứu khác cung cấp bằng chứng thực nghiệm trên các tế bào Raw264.7 cho thấy Chr làm giảm đáng kể sự biểu hiện của các chất trung gian gây viêm và các triệu chứng lâm sàng thông qua việc ức chế kích hoạt NF- κ B do LPS gây ra, hoạt hóa caspase-1 và phân hủy I degradationB- α bằng cách điều chỉnh TNF- α , IL -6, COX-2, RelA / p65, I κ B- α , PGE 2 và pro-caspase-1 [72].

Chr cũng được báo cáo là làm giảm các triệu chứng lâm sàng của ban đỏ nổi cộm, xuất huyết và xói mòn trên da bằng cách điều chỉnh histamine, IgE, IL-6, TNF- α và caspase-1 ở chuột BALB / c [75].

4.2.3. Bàn luận về tác dụng giảm đau

Tác dụng giảm đau của “Viên trĩ HV” được đánh giá theo mô hình gây đau quặn bằng acid acetic của Koster và cs (1959) [24]. Theo đó chuột nhắt trắng chia ngẫu nhiên làm 4 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được cho nhịn đói 12h trước khi uống thuốc. Chuột được uống nước cất, diclofenac liều 20mg/kg và uống “Viên trĩ HV” liều 1,2 g/kg/ngày và 2,4 g/kg/ngày

Chuột được uống thuốc 4 ngày liên tục. Ngày thứ 4, sau khi dùng thuốc 60 phút, tiến hành gây đau quặn bằng cách tiêm phúc mạc bằng dung dịch acid acetic 0,6% liều 0,1 ml/10g thể trọng. Chuột sẽ xuất hiện những cơn đau quặn biểu hiện như thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Đếm

số cơn đau quặn của chuột trong từng 5 phút một cho đến phút 25 sau khi tiêm acid acetic. Sau đó chúng tôi tiến hành so sánh kết quả giữa các lô nghiên cứu, và tính % ức chế đau quặn.

Về ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” lên thời gian xuất hiện đau quặn, kết quả nghiên cứu cho thấy : So với lô chứng, “Viên trĩ HV” liều 1,2 g/kg/ngày và 2,4 g/kg/ngày và thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng làm thời gian xuất hiện đau quặn muộn hơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Kết quả chỉ ra thời gian xuất hiện đau trung bình sau khi uống “Viên trĩ HV” liều 1,2 g/kg/ngày và 2,4 g/kg/ngày lần lượt là $350,60 \pm 75,19$ giây và $359,80 \pm 88,63$ giây, tương ứng với thời gian xuất hiện đau trung bình sau khi uống Diclofenac là $369,80 \pm 81,52$ giây ($p > 0,05$). Trong khi thời gian xuất hiện đau trung bình của chuột ở lô chứng là $283,20 \pm 68,94$ giây. Thời gian xuất hiện đau trung bình càng lớn thì thời gian xuất hiện đau quặn càng muộn.

Thông qua đánh giá số cơn đau quặn trong từng khoảng thời gian 5 phút sau tiêm acid acetic cho đến 25 phút ta thấy: Trong cả 5 khoảng thời gian đo, số cơn đau quặn ở các lô dùng “Viên trĩ HV” và lô tham chiếu luôn nhỏ hơn so với lô chứng sinh lý. Tuy nhiên, tại các khoảng thời gian đo 0-5 phút và 20-25 phút, sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tại các khoảng thời gian đo 5-10 phút, 10-15 phút và 15-20 phút, sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. So với lô chứng, số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ở cả 2 lô dùng “Viên trĩ HV” liều 1, liều 2 và lô dùng thuốc tham chiếu diclofenac đều nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Ảnh hưởng của “Viên trĩ HV” tới tổng số cơn đau quặn trong 25 phút sau tiêm acid acetic: So với lô tham chiếu dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, số cơn đau quặn trong cả 25 phút sau tiêm acid acetic ở các lô dùng “Viên trĩ HV” cả 2 mức liều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p_{3,4-2} > 0,05$). Tính toán ở trong khoảng thời gian 25 phút này, tỷ lệ phần trăm làm giảm số cơn đau quặn ở lô dùng diclofenac liều 20 mg/kg/ngày, và các lô dùng “Viên trĩ HV” cả 2

mức liều 1,2g/kg/ngày và 2,4g/kg/ngày, lần lượt là 28,29 %; 24,62 %; và 26,35 %.

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng “Viên trĩ HV” dùng trên chuột nhắt trắng liều 1,2g/kg/ ngày và 2,4g/kg/ngày làm giảm đau rõ rệt trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic, làm trễ thời gian xuất hiện đau và làm giảm số cơn đau quặn so với lô chứng ($p < 0,05$), tương đương so với khi dùng diclofenac 20mg/kg

Theo y học hiện đại tác dụng dược lý của bài thuốc có thể được lý giải do bản thân các dược liệu thành phần có hiệu quả tốt, khi phối hợp hợp lý với nhau tạo nên được tác dụng hiệp đồng. “Viên trĩ HV” có chứa các vị dược liệu đã được chứng minh có tác dụng giảm đau dựa trên các phương pháp nghiên cứu khác nhau như Phòng phong, Khương hoạt, Ngũ bội tử. Phòng phong: Các nghiên cứu dược lý đã chỉ ra rằng chiết xuất ethanol của Phòng phong có tác dụng chống viêm [48], giảm đau [59]. Thông qua sử dụng phương pháp đau quặn ở chuột, các thành phần giảm đau của Phòng phong được xác định là chromones, coumarin, polyacetylenes, 1-acylglycerols, divaricatol và (3'S) -hydroxydeltoin. Tác dụng giảm đau mạnh nhất được quan sát thấy ở các chất cromone như divaricatol, ledebouriellol và hamaudol, có tác dụng ức chế cơn đau quặn ở liều uống 1 mg/kg ở chuột. Acylglycerols cũng cho thấy sự ức chế đáng kể ở liều 5 mg / kg. Trong một số thử nghiệm dược lý sử dụng sec-O-glucosylhamaudol, hợp chất này cho thấy tác dụng giảm đau bằng áp suất đuôi và mô hình gây đau tại tổ chức viêm (Randall - Selitto Test), và mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) của nó không bị naloxone đảo ngược [59]. Khương hoạt (*Notopterygium incisum*): Notopterol trong được xác định là thành phần giảm đau của *Notopterygium incisum* thông qua sử dụng phương pháp đau quặn do axit acetic gây ra [55]. Ngũ bội tử (*Galla Chinensis*): Năm 2018, Sun K., Song X., Jia R. và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu “đánh giá tác dụng giảm đau và chống viêm của nước sắc Ngũ bội tử trên chuột” Trong thử nghiệm có sử dụng mô hình “phiên nóng”

(Hot plate test) (Giảm đau trung ương), cho thấy nước sắc Ngũ bội tử có thể mở rộng đáng kể ngưỡng đau khi so sánh với nhóm chứng. Tỷ lệ ức chế các cơn đau quận dao động từ 36,62% đến 68,57% ở những con chuột được điều trị bằng *Galla Chinensis* [58].

Theo y học cổ truyền “Viên trĩ HV” có thành phần chính là cao khô chiết xuất từ 10 vị dược liệu, bao gồm: Tạo giác thích, Phòng phong, Hòe hoa, Bạch tật lê, Xa sàng tử, Ngũ bội tử, Khương hoạt, Đại hoàng, Trắc bá diệp, Chỉ xác. Trong bài thuốc Tạo giác thích làm quân có tác dụng tiêu thũng, thác độc, sát trùng, bài nùng giúp tiêu ứ trệ của búi trĩ sưng viêm; Phòng phong, Hòe hoa, Bạch tật lê tác dụng khu phong, thanh nhiệt, tiêu viêm; Trắc bá diệp cùng Hòe hoa làm tăng tác dụng lương huyết, chỉ huyết, tiêu viêm. Xa sàng tử, Ngũ bội tử táo thấp thu liễm làm khô vết thương; Khương hoạt cùng Phòng phong phát tán phong thấp, trừ thấp nhiệt mà chỉ thông, tiêu viêm; Đại hoàng nhuận tràng, thanh thấp nhiệt hạ tiêu, chỉ huyết. Bài thuốc có tác dụng thanh nhiệt, tiêu viêm, lương huyết, chỉ huyết. Từ các kết quả trên cho thấy có sự tương đương giữa tác dụng thanh nhiệt, lương huyết, tiêu viêm, chỉ thông, chỉ huyết của “Viên trĩ HV” với tác dụng chống viêm trực tràng, giảm đau, cầm máu theo Y học hiện đại; thông qua nghiên cứu chứng minh được tác dụng dược lý của “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm.

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu thực nghiệm, chúng tôi kết luận:

1. Độc tính cấp tính cấp theo đường uống của “Viên trĩ HV ” trên chuột nhắt trắng.

Chưa tìm thấy LD50 của “Viên trĩ HV” theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Mức liều cao nhất của “Viên trĩ HV” có thể cho chuột uống là 30,0g /kg TLCT không gây chết chuột nhắt trắng thực nghiệm.

2. Tác dụng cầm máu , chống viêm trực tràng , giảm đau của “ Viên trĩ HV”

2.1. Tác dụng cầm máu

Viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng trên chuột cống trắng liều 0,7g/kg /ngày và 1,4g/ kg/ngày có tác dụng cầm máu, làm rút ngắn thời gian chảy máu ($p < 0,01$ và $p < 0,001$), giảm lượng máu mất ($p < 0,05$ và $p < 0,01$) so với lô chứng khi thử trên mô hình cắt đuôi chuột.

2.2. Tác dụng chống viêm trực tràng

Viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng liều 0,7g/kg/ngày và 1,4g /kg/ngày có tác dụng chống viêm trên mô hình gây trĩ, viêm trực tràng ở chuột cống trắng bằng dung dịch croton oil, cụ thể :

- Làm giảm các cytokine viêm TNF - α và IL - 6 trong mẫu so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), trở về tương đương với lô chứng trắng ($p > 0,05$).
- Làm giảm viêm nề, xung huyết trực tràng, giảm chỉ số trực tràng so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), trở về tương đương với lô chứng trắng ($p > 0,05$).
- Làm giảm tình trạng thoát mạch vào mô trực tràng thông qua làm giảm lượng xanh evans trong mô trực tràng so với lô chứng bệnh ($p < 0,01$).
- Làm giảm hình ảnh tổn thương viêm, xung huyết, thoái hóa trên tiêu bản nhuộm HE mô trực tràng, giảm số điểm đánh giá mức độ tổn thương trực tràng so với lô chứng bệnh ($p < 0,001$).

2.3. Tác dụng giảm đau

Viên nang cứng “Viên trĩ HV” dùng trên chuột nhắt trắng liều 1,2g/kg/ ngày và 2,4g/kg/ngày làm giảm đau rõ rệt trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic, làm trễ thời gian xuất hiện đau và làm giảm số cơn đau quặn so với lô chứng ($p < 0,05$).

KHUYẾN NGHỊ

Từ những kết quả của nghiên cứu thu được đưa ra các khuyến nghị sau:
Tiến hành các nghiên cứu lâm sàng giai đoạn 1 và giai đoạn 2 về tính an toàn, tác dụng và tác dụng không mong muốn của “Viên trĩ HV”, thông qua các kết quả nghiên cứu có thể áp dụng chế phẩm rộng rãi trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chen, Herbert (2010), *Illustrative Handbook of General Surgery*, Berlin: Springer. tr. 217.
2. (2004). American Gastroenterological Association medical position statement: Diagnosis and treatment of hemorrhoids 1. *Gastroenterology*, 126(5), 1461–1462.
3. Sun Z. and Migaly J. (2016). Review of Hemorrhoid Disease: Presentation and Management. *Clin Colon Rectal Surg*, 29(01), 022–029.
4. Lee J.-H., Kim H.-E., Kang J.-H. et.al. (2014). Factors associated with hemorrhoids in korean adults: korean national health and nutrition examination survey. *Korean J Fam Med*, 35(5), 227–236.
5. ElBatea H., Enaba M., ElKassas G. et.al. (2017). Indications and Outcome of Colonoscopy in the Middle of Nile Delta of Egypt. *Dig Dis Sci*, 56(7), 2120–2123.
6. Nguyễn Mạnh Nhâm và cộng sự (2004). Nghiên cứu bệnh trĩ ở các tỉnh miền Bắc Việt Nam, các biện pháp phòng bệnh, điều trị. *Tạp chí Hậu môn trực tràng*, 6.
7. Lê Thị Tranh (2019), *Đánh giá tác dụng của bổ trung ích khí thang kết hợp hòe hoa tán trên bệnh nhân trĩ nội đii I, II có chảy máu*, Luận văn CK II, Trường Đại học Y Hà Nội.
8. Nguyễn Thị Thanh Loan, Phạm Thị Vân Anh và cộng sự (2018). Nghiên cứu tác dụng điều trị trĩ của viên trĩ thiên dược trên mô hình gây trĩ thực nghiệm. *Tạp chí y học Việt Nam*, 472(1), 144–147.
9. Gan T., Liu Y., Wang Y. et.al. (2010). Traditional Chinese Medicine herbs for stopping bleeding from haemorrhoids. *Cochrane Database Syst Rev*, (10).
10. WHO (1993), Research Guidelines For Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines, *ROWP, Manila, Philippines*.

11. Bộ Y tế (2018), *Quy định về thử thuốc trên lâm sàng*.
12. Nguyễn Đình Hối, Dương Phước Hưng (2004). Quan niệm mới về điều trị trĩ. *Tạp Chí Học TP Hồ Chí Minh*, 2, 63–68.
13. Nguyễn Thế Thịnh (2016), *Bài giảng bệnh học ngoại khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Chính trị quốc gia - Sự thật, tr 11 - 29.
14. Nguyễn Đình Hối (2002), *Hậu môn trực tràng*, NXB Y học, tr.1-106.
15. Phác đồ điều trị bệnh trĩ - nguyên nhân - chẩn đoán - bệnh trĩ, trĩ nội, trĩ ngoại - Bộ y tế 636. <<https://www.capnhatkienthuc.com/y-hoc/chua-benh.php>>, accessed: 20/06/2020.
16. Nguyễn Thế Thịnh (2016), *Bài giảng bệnh học ngoại khoa y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Chính trị quốc gia - Sự thật, tr 29 - 31.
17. Đỗ Trung Đàm (2014), *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*, Nhà xuất bản y học.
18. Greene T.K., Schiviz A., Hoellriegl W. et.al. (2010). Towards a standardization of the murine tail bleeding model. *J Thromb Haemost*, 8(12), 2820–2822.
19. Yang Liu, Nicole L Jennings, Anthony M Dart, Xiao-Jun Du (2012). Standardizing a simpler, more sensitive and accurate tail bleeding assay in mice. *World J Exp Med* 22 30-36.
20. Bộ môn Miễn dịch - Sinh lý bệnh (2012), *Sinh lý bệnh học*, Trường đại học Y Hà Nội, NXB Y học, 209 – 229.
21. Faujdar S., Sati B., Sharma S. et.al. (2019). Phytochemical evaluation and anti-hemorrhoidal activity of bark of *Acacia ferruginea* DC. *J Tradit Complement Med*, 9(2), 85–89.
22. Wurtele U. Geissner U. (1990). Themen und Trends einer Psychologie des Schmerzes. *Man Med*, 28, 42–47.
23. Phạm Thị Minh Đức (2011), *Sinh lý học*, NXB Y học, tr 123 - 135, 401-403.

24. Koster, R., Anderson, M. and De Beer, E.J. (1959), Acetic Acid for Analgesic Screening. *Federation Proceedings*, 18, 412-417.
25. 主编彭怀仁, 王旭东 (1995), 中医方剂大词典, 第二版, 人民卫生出版社, 554 页.
26. Silva I.S., Nicolau L.A.D., Sousa F.B.M. et.al. (2017). Evaluation of anti-inflammatory potential of aqueous extract and polysaccharide fraction of *Thuja occidentalis* Linn. in mice. *Int J Biol Macromol*, 105(Pt 1), 1105–1116.
27. Shi S.-Y., Zhou Q., He Z.-Q. et.al. (2020). Traditional Chinese medicine (Liang-Xue-Di-Huang Decoction) for hemorrhoid hemorrhage. *Medicine (Baltimore)*, 99(16).
28. Lê Tất Thành (2020), *Nghiên cứu độc tính bán trường diễn và tác dụng chống viêm của viên nang cứng “Viên trĩ HV” trên động vật thực nghiệm.*, Luận văn thạc sỹ, Học viện y dược học cổ truyền Việt Nam.
29. Trần Thị Hồng Phương (2009), *Nghiên cứu tác dụng của chè tan Bồ trung ích khí gia vị trong điều trị đợt cấp trĩ nội*, Luận án Tiến sỹ y học, trường Đại học Y Hà Nội, tr 82.
30. Phạm Anh Thư (2015), *Đánh giá tác dụng bài thuốc LVT trong điều trị bệnh trĩ nội độ I, II xuất huyết*, Luận văn Thạc sỹ y học, Học viện y dược học cổ truyền Việt Nam, tr53.
31. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam 5*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
32. Đỗ Trung Đàm (2014), *Phương pháp xác định độc tính cấp của thuốc*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
33. Aiyalu Rajasekaran, Muthusamy Kalaivani, Ganesan Ariharasivakumar (2010). Haemostatic effect of fresh juice and methanolic extract of *Eupatorium ayapana* leaves in rat model. *Int J Biol Med Res* 13 85-87.

34. Liu Y., Jennings N.L., Dart A.M. et.al. (2012). Standardizing a simpler, more sensitive and accurate tail bleeding assay in mice. *World J Exp Med*, 2(2), 30–36.
35. WHO (2010), General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine, *EDM/TRM, Geneva, Switzerland*.
36. UNECE (United Nations Economic Commission for Europe) (2015). Globally Harmonized System for the Classification and Labeling of Chemicals (GHS). Part 3. *Health Hazards. Geneva: United Nations*.
37. Bộ Y tế - Cục khoa học công nghệ và đào tạo (2015), *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc cổ truyền, thuốc từ dược liệu*, Hà Nội.
38. Lai P., Du J.-R., Zhang M.-X. et.al. (2011). Aqueous extract of *Gleditsia sinensis* Lam. fruits improves serum and liver lipid profiles and attenuates atherosclerosis in rabbits fed a high-fat diet. *J Ethnopharmacol*, 137(3), 1061–1066.
39. Ishida H., Umino T., Tsuji K. et.al. (1987). Studies on Antihemorrhagic Substances in Herbs Classified as Hemostatics in Chinese Medicine. VI. On the Antihemorrhagic Principle in *Sophora japonica* L. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 35(2), 857–860.
40. Li H., Yuan G., Jin Y. et.al. (2004). [Experimental study on hemostatic effect of flos sophorae and its extracts]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi Chin J Integr Tradit West Med*, 24(11), 1007–1009.
41. Ha H.H., Park S.Y., Ko W.S. et.al. (2008). *Gleditsia sinensis* thorns inhibit the production of NO through NF- κ B suppression in LPS-stimulated macrophages. *J Ethnopharmacol*, 118(3), 429–434.

42. Seo C.-S., Lim H.-S., Ha H. et.al. (2015). Quantitative analysis and anti-inflammatory effects of *Gleditsia sinensis* thorns in RAW 264.7 macrophages and HaCaT keratinocytes. *Mol Med Rep*, 12(3), 4773–4781.
43. Gao J., Yang X., and Yin W. (2016). From Traditional Usage to Pharmacological Evidence: A Systematic Mini-Review of *Spina Gleditsiae*. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*, 2016, 3898957.
44. He X., Bai Y., Zhao Z. et.al. (2016). Local and traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Sophora japonica* L.: A review. *J Ethnopharmacol*, 187, 160–182.
45. Kim B.H., Chung E.Y., Ryu J.-C. et.al. (2003). Anti-inflammatory mode of isoflavone glycoside sophoricoside by inhibition of interleukin-6 and cyclooxygenase-2 in inflammatory response. *Arch Pharm Res*, 26(4), 306–311.
46. Kim B.H., Chung E.Y., Min B.-K. et.al. (2003). Anti-Inflammatory Action of Legume Isoflavonoid Sophoricoside through Inhibition on Cyclooxygenase-2 Activity. *Planta Med*, 69(5), 474–476.
47. Wang S., Zhang J., Liu J. et.al. (2016). Quality evaluation of Huaijiao pill by chromatographic fingerprint and simultaneous determination of its major bioactive components. *J Pharm Anal*, 6(4), 249–255.
48. Chun J.M., Kim H.S., Lee A.Y. et.al. (2016). Anti-Inflammatory and Antioosteoarthritis Effects of *Saposhnikovia divaricata* ethanol Extract: In Vitro and In Vivo Studies. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*, 2016, 1984238.
49. Chun J.M., Kim H.S., Lee A.Y. et.al. (2016). Anti-Inflammatory and Antioosteoarthritis Effects of *Saposhnikovia divaricata* ethanol Extract: In Vitro and In Vivo Studies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, e1984238,

<<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2016/1984238/>>, accessed: 21/11/2020.

50. Wu S.B., Yu Y.H., Hu Y.H. et.al. (2008). A new dimeric furanocoumarin from *Notopterygium incisum*. *Chin Chem Lett*, 19(8), 940–942.
51. Jiang F., Tao Y., and Shao Y. (2007). Fingerprinting quality control of Qianghuo by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection. *J Ethnopharmacol*, 111(2), 265–270.
52. Wu S., Pang F., Wen Y. et.al. (2009). Antiproliferative and Apoptotic Activities of Linear Furocoumarins from *Notopterygium incisum* on Cancer Cell Lines. *Planta Med*, 76, 82–5.
53. Tang S.Y., Wang H., Zhang W. et.al. (2008). *Notopterygium forbesii* Boiss Extract and Its Active Constituents Increase Reactive Species and Heme Oxygenase-1 in Human Fetal Hepatocytes: Mechanisms of Action. *Chem Res Toxicol*, 21(12), 2414–2423.
54. Chang Y., Zhang Q.-H., Li J. et.al. (2013). Simultaneous determination of scopoletin, psoralen, bergapten, xanthotoxin, columbianetin acetate, imperatorin, osthole and isoimperatorin in rat plasma by LC–MS/MS for pharmacokinetic studies following oral administration of *Radix Angelicae Pubescentis* extract. *J Pharm Biomed Anal*, 77, 71–75.
55. Okuyama E., Nishimura S., Ohmori S. et.al. (1993). Analgesic component of *Notopterygium incisum* Ting. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 41(5), 926–929.
56. Teye Azietaku J., Yu X.-A., Li J. et.al. (2016). Simultaneous Determination of Bergapten, Imperatorin, Notopterol, and Isoimperatorin in Rat Plasma by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection and Its Application to Pharmacokinetic and Excretion Study after Oral Administration of *Notopterygium incisum* Extract. *Int J Anal Chem*, 2016, 9507246.

57. Blunder M., Liu X., Kunert O. et.al. (2014). Polyacetylenes from Radix et Rhizoma Notopterygii Incisi with an Inhibitory Effect on Nitric Oxide Production In Vitro. *Planta Med*, 80.
58. Sun K., Song X., Jia R. et.al. (2018). Evaluation of Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Water Extract of Galla Chinensis In Vivo Models. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*, 2018, 6784032.
59. Okuyama E., Hasegawa T., Matsushita T. et.al. (2001). Analgesic Components of Saposhnikovia Root (*Saposhnikovia divaricata*). *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 49(2), 154–160.
60. Matsuda H., Ido Y., Hirata A. et.al. (2002). Antipruritic effect of Cnidii Monnieri Fructus (fruits of *Cnidium monnieri* CUSSON). *Biol Pharm Bull*, 25(2), 260–263.
61. Matsuda H., Tomohiro N., Ido Y. et.al. (2002). Anti-allergic effects of cnidii monnieri fructus (dried fruits of *Cnidium monnieri*) and its major component, osthol. *Biol Pharm Bull*, 25(6), 809–812.
62. Tomohiro N., Ido Y., and Kubo M. (2002). *Biol Pharm Bull*, 25(6), 809–812.
63. Mohammed M.S., Alajmi M.F., Alam P. et.al. (2014). Chromatographic finger print analysis of anti-inflammatory active extract fractions of aerial parts of *Tribulus terrestris* by HPTLC technique. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(3), 203–208.
64. Ranjithkumar R., Alhadidi Q., Shah Z.A. et.al. (2019). Tribulusterine Containing *Tribulus terrestris* Extract Exhibited Neuroprotection Through Attenuating Stress Kinases Mediated Inflammatory Mechanism: In Vitro and In Vivo Studies. *Neurochem Res*, 44(5), 1228–1242.
65. Kang S.Y., Jung H.W., Nam J.H. et.al. (2017). Effects of the Fruit Extract of *Tribulus terrestris* on Skin Inflammation in Mice with Oxazolone-Induced Atopic Dermatitis through Regulation of Calcium Channels, Orai-

- 1 and TRPV3, and Mast Cell Activation. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*, 2017.
66. Lee H.H., Ahn E.-K., Hong S.-S. et.al. (2017). Anti-inflammatory effect of tribulusamide D isolated from *Tribulus terrestris* in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Mol Med Rep*, 16(4), 4421–4428.
67. Hong C.H., Hur S.K., Oh O.-J. et.al. (2002). Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. *J Ethnopharmacol*, 83(1–2), 153–159.
68. Ghareeb D.A., ElAhwany A.M.D., El-Mallawany S.M. et.al. (2014). In vitro screening for anti-acetylcholinesterase, anti-oxidant, anti-glucosidase, anti-inflammatory and anti-bacterial effect of three traditional medicinal plants. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 28(6), 1155–1164.
69. Tian C., Zhang Z., Wang H. et.al. (2019). Extraction technology, component analysis, and in vitro antioxidant and antibacterial activities of total flavonoids and fatty acids from *Tribulus terrestris* L. fruits. *Biomed Chromatogr BMC*, 33(4), e4474.
70. Hemalatha S. and Hari R. (2016). Acute and Subacute Toxicity Studies of the Saponin Rich Butanol Extracts of *Tribulus terrestris* Fruits in Wistar Rats. (52), 7.
71. Rokaya M.B., Münzbergová Z., Timsina B. et.al. (2012). *Rheum australe* D. Don: A review of its botany, ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol*, 141(3), 761–774.
72. Kim S.-J., Kim M.-C., Lee B.-J. et.al. (2010). Anti-Inflammatory Activity of Chrysophanol through the Suppression of NF- κ B/Caspase-1 Activation in Vitro and in Vivo. *Molecules*, 15(9), 6436–6451.
73. China (2015), Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part 1), *China medicine science and technology press*.

74. Wen Q., Mei L., Ye S. et.al. (2018). Chrysophanol demonstrates anti-inflammatory properties in LPS-primed RAW 264.7 macrophages through activating PPAR- γ . *Int Immunopharmacol*, 56, 90–97.
75. Han N.-R., Moon P.-D., Yoo M.-S. et.al. (2018). Regulatory effects of chrysophanol, a bioactive compound of AST2017-01 in a mouse model of 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis. *Int Immunopharmacol*, 62, 220–226.
76. Gao J., Yang X., and Yin W. (2016). From Traditional Usage to Pharmacological Evidence: A Systematic Mini-Review of Spina Gleditsiae. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, e3898957, <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2016/3898957/>>, accessed: 21/11/2020.
77. Yang M., Wang C., Wang W. et.al. (2020). Saposchnikovia divaricata—An Ethnopharmacological, Phytochemical and Pharmacological Review. *Chin J Integr Med*.
78. Trương Chu Sinh, Vương Chí Lan (1992), *Trung dược lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
79. Tai J. and Cheung S. (2007). Anti-proliferative and antioxidant activities of Saposchnikovia divaricata. *Oncol Rep*, 18(1), 227–234.
80. Zhao B., Yang X.-B., Yang X.-W. et.al. (2012). Biotransformation of prim-O-glucosylcimifugin by human intestinal flora and its inhibition on NO production and DPPH free radical. *J Asian Nat Prod Res*, 14(9), 886–896.
81. Đỗ Tất Lợi (2015), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản thời đại, Tr 82 - 668.
82. Zhi X.-R., Zhang Z.-Y., Jia P.-P. et.al (2015). Qualitative and quantitative determination of 15 main active constituents in Fructus Sophorae pill by

- liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Pharmacogn Mag*, 11(41), 196–207.
83. Viện dược liệu (2015), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật Hà Nội, tập 2, Tr 99 - 101, 416 - 423, 522 - 524, 1092 -1095.
84. Chen H.-F., Zhang W.-G., Yuan J.-B. et.al. (2012). Simultaneous quantification of polymethoxylated flavones and coumarins in Fructus aurantii and Fructus aurantii immaturus using HPLC–ESI-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal*, 59, 90–95.
85. Viện dược liệu (2015), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản khoa học kỹ thuật Hà Nội, tập 1, Tr 245 - 247, 842- 843, 971 - 976.
86. Wu X.-W., Zhang Y.-B., Zhang L. et.al. (2018). Simultaneous quantification of 33 active components in Notopterygii Rhizoma et Radix using ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B*, 1092, 244–251.

PHỤ LỤC I
TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

CÔNG TY CỔ PHẦN DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN Mã số doanh nghiệp: 0500564741 Địa chỉ: Thôn Vân La, Xã Hồng Vân, Huyện Thường Tín, Thành phố Hà Nội, Việt Nam	VIÊN NANG VIÊN TRĨ HV	VTHV - 2020
		Có hiệu lực kể từ ngày ký

PHẠM VI ÁP DỤNG:

Tiêu chuẩn chất lượng này áp dụng cho viên nang cứng Viên trĩ HV do Công Ty Cổ Phần Dược Phẩm Phú Tín nghiên cứu và sản xuất.

1. YÊU CẦU KỸ THUẬT

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

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

1.2. Chất lượng nguyên liệu:

STT	THÀNH PHẦN	TIÊU CHUẨN
1	Cao khô hỗn hợp dược liệu	Nhà sản xuất
2	Silic dioxyd dạng keo khan	Nhà sản xuất
3	Magnesi stearat	BP 2018
4	Talc	USP 41

1.3. Chất lượng thành phẩm

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

2. PHƯƠNG PHÁP THỬ:

2.1. Cảm quan:

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

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

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

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

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

2.3. Mật khối lượng đo làm khô: Theo DĐVN V, phụ lục 9.6

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

2.4. Độ rã: Theo DĐVN V, phụ lục 11.6

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

2.5. Định tính

2.5.1. Định tính phòng phong

Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform – methanol (4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 20 viên nang bất kỳ, mở nắp nang lấy phần bột đóng trong nang, trộn đều thành hỗn hợp bột đồng nhất (HH1). Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml aceton (TT), siêu âm 20 min, lọc, cô dịch lọc trong cách thủy đến cạn, hòa lẫn trong 1 ml ethanol 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Phòng phong (mẫu đối chiếu), tiến hành chiết như dung dịch thử .

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.2. Định tính hòe hoa

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silicagel G.

Dung môi khai triển: n-Butanol – acid acetic – nước (4: 1 : 5).

Dung dịch thử: Lấy 20 viên nang bất kỳ, mở nắp nang lấy phần bột đóng trong nang, trộn đều thành hỗn hợp bột đồng nhất (HH1). Lấy 0,5 g bột HH1, thêm 10 ml ethanol(TT). Đun sôi trong 3 min, để nguội, lọc lấy dịch lọc.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan rutin chuẩn trong ethanol 90 % (TT) để được dung dịch có chứa 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 pl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng phát quang màu nâu và cùng giá trị Rf với vết rutin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.3. Định tính chỉ xác

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluene – methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 20 viên nang bất kỳ, mở nắp nang lấy phần bột đóng trong nang, trộn đều thành hỗn hợp bột đồng nhất (HH1). Lấy 1 g bột HH1, thêm 25 ml methanol (TT), đun hồi lưu cách thủy trong 10 min, lọc lấy dịch chiết làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: lấy 1 g Chi xác (mẫu đối chiếu) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun lên bản mỏng dung dịch nhôm clorid 1 % (TT). Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm.

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và Rf với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.4. Định tính khương hoạt

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform – methanol (8 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 20 viên nang bất kỳ, mở nắp nang lấy phần bột đóng trong nang, trộn đều thành hỗn hợp bột đồng nhất (HH1). Lấy 1 g bột HH1, thêm 5 ml methanol (TT), siêu âm 20 min, để lắng và dùng lớp dung dịch ở phía trên làm dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Khương hoạt (mẫu đối chiếu), chiết như mô tả ở phần dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm, Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và Rf với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.5.5. Định tính ngũ bội tử

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄

Dung môi khai triển: Cloroform – ethyl acetat – acid formic (5:5:1).

Dung dịch thử: Lấy 20 viên nang bất kỳ, mở nắp nang lấy phần bột đóng trong nang, trộn đều thành hỗn hợp bột đồng nhất (HH1). Lấy 0,5 g bột HH1, thêm 2 ml methanol (TT), siêu âm 15 min. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g Ngũ bội tử (mẫu đối chiếu), chiết như dung dịch thử. *Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch thử trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Kết quả: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và cùng Rf với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.6. Giới hạn nhiễm khuẩn:

Thử theo ĐĐVN V, phụ lục 13.6 - Thử giới hạn nhiễm khuẩn.

3. ĐÓNG GÓI, GHI NHÃN, BẢO QUẢN

- Đóng gói: Sản phẩm được đóng gói trong bao bì kín, tránh ánh sáng.
- Ghi nhãn: Nhãn trình bày rõ ràng, đúng quy chế.
- Bảo quản: Nơi khô ráo thoáng mát, tránh ánh sáng trực tiếp.

PHỤ LỤC II

QUY TRÌNH SẢN XUẤT VIÊN NANG CỨNG “VIÊN TRĨ HV”

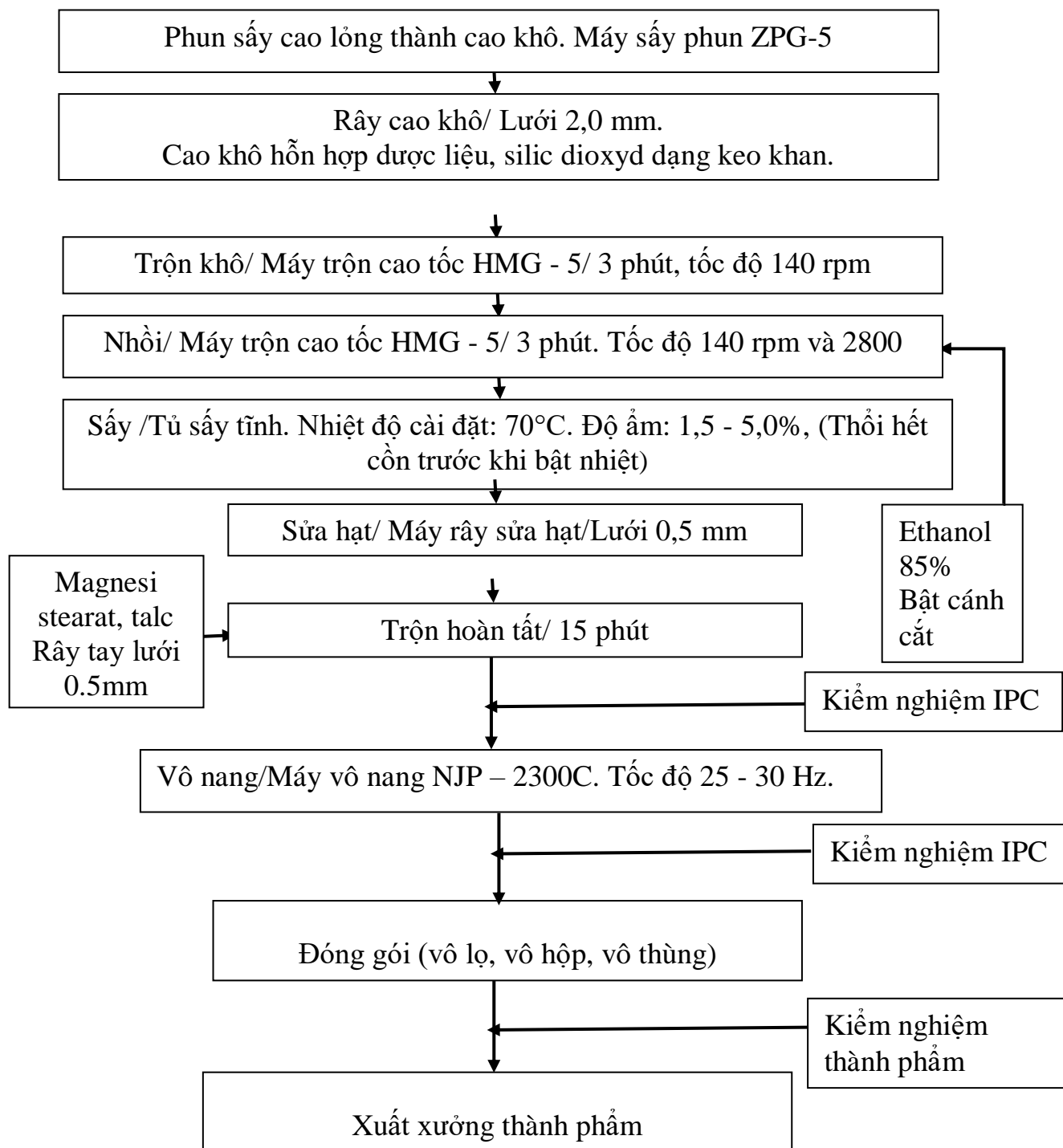
I. Đặc điểm thành phần

Công thức điều chế cho 1 viên nang “Viên trĩ HV”, mỗi viên có hàm lượng 500mg cao khô hỗn hợp dược liệu tương đương với 7,7g dược liệu khô.

STT	Tên dược liệu	Tên khoa học	Liều lượng (7,7g dược liệu khô)
1	Tạo giác thích (đốt tồn tính)	<i>Spina Gleditsiae australis</i>	1,0g
2	Phòng phong	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	0,8g
3	Hòe hoa (sao đen)	<i>Flos Styphnolobii japonici imaturi</i>	1,0g
4	Xa sàng tử	<i>Fructus Cnidii</i>	0,6g
5	Chi xác	<i>Fructus citri Aurantii</i>	0,8g
6	Bạch tật lê (sao đen)	<i>Fructus Tribuli terrestris</i>	0,8g
7	Khương hoạt	<i>Rhizoma et Radix Noiopterygii</i>	0,6g
8	Ngũ bội tử	<i>Galla Chinensis</i>	0,6g
9	Trắc bá diệp (sao đen)	<i>Cacumen Platycladi</i>	1,0g
10	Đại hoàng	<i>Rhizoma Rhei</i>	0,5g
Tá dược (Silic dioxide dạng keo khan, magnesi stearat, talc.)			Vừa đủ 1 viên

II. SƠ ĐỒ CÁC GIAI ĐOẠN SẢN XUẤT

Quy trình bào chế viên nang cứng Viên trĩ HV



III. NỘI DUNG QUY TRÌNH:

3.1. Giai đoạn chuẩn bị:

- Kiểm tra vệ sinh và khả năng vận hành các máy móc và thiết bị liên quan,

- Kiểm tra và cân đong nguyên phụ liệu,

- Chuẩn bị bao bì

- Kiểm tra hồ sơ lô sản xuất kèm theo.

3.2. Giai đoạn pha chế:

* Rây nguyên phụ liệu:

a. Rây cao khô hỗn hợp dược liệu, silic dioxyd dạng keo khan qua lưới 2,0 mm.

b. Rây tay magnesi stearat, talc qua lưới 0,5 mm.

*Trộn - nhồi:

- Cho vào nồi trộn cao tốc HMG - 5 các thành phần đã rây ở giai đoạn 1.2 a. trộn khô 3 phút, vận tốc cánh trộn 140 rpm,

- Sau đó mở cánh cắt với tốc độ 2800 rpm, cho từ từ ethanol 85% vào nhồi khoảng 3 phút, ngưng máy vét thật kỹ thành nồi và càng máy, kiểm tra côm, thu được côm ẩm vừa, chắc.

* Sấy côm:

Côm ướt được cho vào Tủ sấy tĩnh. Thổi hết cùn trước khi bật nhiệt để sấy. Nhiệt độ gió vào cài đặt 70⁰C. Sấy cho đến khi độ ẩm 1,5 - 5,0% (phương pháp sấy đèn hồng ngoại 105⁰C/ 15 phút).

* Sửa hạt:

Côm khô sau sấy được sửa hạt qua máy sửa hạt lưới 0,5 mm, tốc độ 150 rpm. Sau khi sửa hạt xong côm khô được cân kiểm tra khối lượng và chuyển sang giai đoạn trộn hoàn tất

* Trộn hoàn tất:

- Cho toàn bộ tá dược Talc, Magnesi stearat đã rây và cốm khô đã sửa hạt vào máy trộn lập phương.

- Đậy nắp lại, cho máy chạy 15 phút.

- Tốc độ trộn: 25 rpm.

- Tắt máy, trút cốm vào 2 lớp bao PE sạch, có dán nhãn, phiếu kiểm soát đầy đủ chi tiết (kiểm tra khối lượng và độ ẩm cốm (Phương pháp sấy đèn hồng ngoại/ 105°C/ 15 phút).

*** Giai đoạn vô nang:**

- Thực hiện sau khi nhận kết quả đạt của cốm trộn hoàn tất từ phòng kiểm nghiệm.

- Thiết bị: Máy vô nang NJP-2300C

- Tốc độ vô nang 25 - 30 Hz,

Tiêu chuẩn kiểm soát viên

+ Viên nang số 0.

+ Khối lượng trung bình thuốc trong viên: 520 mg + 2,37%.

+ Độ đồng đều khối lượng thuốc trong viên: KLTB: 6,0 %.

+ Thời gian tan rã: Không quá 15 phút.

+ Chiều dài: < 22.4mm.

- Sau khi thực hiện đầy đủ các yêu cầu qui định trong qui trình vận hành máy vô nang. trút cốm vào phễu phân phối, đầy khoảng 4/5 phễu cho máy chạy và điều chỉnh các bộ phận đong sao cho viên đạt các yêu cầu về khối lượng, chiều dài viên.

- Sau khi điều chỉnh, thay thau hứng viên bằng thau sạch khác để hứng lấy những viên đạt tiêu chuẩn. Các viên vô nang thử ban đầu được đem xử lý.

- Số viên vô nang xong, viên được lau nang qua Máy lau nang. Sau đó được đựng trong hai lớp bao PE sạch và khô, bảo quản trong phòng nhiệt độ

không quá 27°C, độ ẩm tương đối không quá 65%, kèm theo hồ sơ lô ghi đầy đủ chi tiết.

* Lưu ý: Luôn luôn giữ số lượng cốm lúc nào cũng còn ít nhất 1/2 phễu (để đảm bảo khối lượng trung bình của viên).

* Kiểm tra trên dây chuyền.

- Kiểm tra khối lượng viên:

• Mỗi 15 phút cân 1 lần 10 viên bằng cân Sartorius, ghi kết quả vào hồ sơ lô. Điều chỉnh máy nếu khối lượng trung bình thuốc trong viên ra ngoài giới hạn cho phép: 520.0 mg +2.37%

Vào đầu lô, mỗi 2 giờ và cuối lô cân khối lượng thuốc trong từng viên của 20 viên bằng cân Sartorius, ghi kết quả vào phiếu kiểm soát cân trên dây chuyền. Điều chỉnh máy nếu khối lượng thuốc trong viên ra ngoài giới hạn cho phép: KLTB+ 6,0%.

IV. DƯ PHẪM CHẾ PHẪM

Dược liệu, bột cao khô bán thành phẩm không đạt, rơi vãi, bản phải hủy.

V. CÁC HỒ SƠ LÀM VIỆC CẦN THIẾT

1. Sổ pha chế
2. Quy trình vận hành thiết bị
3. Các hồ sơ và nội quy khác có liên quan

PHỤ LỤC III
ĐẶC ĐIỂM CÁC VỊ THUỐC TRONG THÀNH PHẦN
“VIÊN TRĨ HV”

1. Tạo giác thích

- Tên khoa học: *Spina Gleditsiae australis* Họ: Thuộc họ Đậu *Fabaceae*
- Bộ phận dùng: Gai ở thân hay cành đã phơi sấy khô của cây bồ kết
- Tính vị: vị cay, tính ôn, có ít độc - Quy kinh: can, vị
- Thành phần hóa học: Chủ yếu có chứa Saponin triterpenoid bao gồm: gledenin, gledigenin, gleditschia saponin ceryl alcohol, nonacosane, stigmasterol, sitosterol, phenols, flavonoids, amino acids [76].
- Tác dụng dược lý: Chứa các hoạt chất kháng khuẩn và nấm, nước sắc gai bồ kết có tác dụng ức chế tụ cầu vàng.
- Công năng: Tiêu thũng, trừ độc, trừ mủ, sát trùng. Chủ trị: Nhọt độc sơ khởi hoặc làm mủ không vỡ. Dùng ngoài điều trị ngứa, lở, hủi.
- Liều dùng: Ngày dùng 3 - 9g, dạng thuốc sắc. Thường dùng phối hợp với một số vị thuốc khác. Dùng ngoài lượng thích hợp, có thể chưng giấm, lấy dịch chiết để bôi, đắp nơi đau
- Kiêng kỵ: Phụ nữ có thai không nên dùng

2. Phòng phong

- Tên khoa học: *Radix Saposhnikoviae divaricatae*
- Họ: Hoa tán *Apiaceae*
- Bộ phận dùng: Rễ phơi sấy khô
- Tính vị: Vị cay, ngọt, tính ôn.
- Quy kinh: Vào kinh Bàng quang, Can, Phế, Vị.
- Thành phần hóa học: Manit, phenola với độ cháy 92%, glycozid đắng và các chất đường, chứa 0.05% tinh dầu [31]. Thành phần chính là cromon, coumarin, este axit và polyacetylen [77].
- Công năng: Giải biểu, trừ phong hàn, trừ phong thấp, trừ co thắt.

- Tác dụng dược lý: Điều hòa nhiệt độ, giảm đau, chống viêm, kháng khuẩn, kháng virus, chống oxi hóa, hạ sốt [78], [49], [59], [79], [80]
- Chủ trị: Cảm mạo biểu chứng ra mồ hôi, dùng chữa nhức đầu, choáng váng, mất mồi, trừ phong, đau các khớp xương [81].
- Liều dùng: Ngày dùng 5 – 12g, thường dùng phối hợp trong các bài thuốc.

3. Hòe hoa

- Tên khoa học: *Flos Styphnolobii japonici imaturi*. Họ *Fabaceae*.
- Bộ phận dùng: Nụ hoa đã phơi hay sấy nhẹ đến khô của cây Hòe
- Thành phần hóa học: 6- 30% rutin. Rutin là một glucozit, thủy phân sẽ cho quexitin, glucoza, ramnoza; Betulin, Soporradiol, Glucuronic acid sophoricoside, genistin, genistein, kaempferol, baicalein, baicalin, naringinin, narperininininin [78], [81], [82].
- Tính vị: Vị đắng, hơi hàn - Qui kinh: Vào kinh Can, Đại trường.
- Công dụng: Lương huyết, chỉ huyết, thanh can tả hỏa [31].
- Tác dụng dược lý: Cầm máu, giảm bớt tính thấm của mao mạch và làm tăng độ bền của thành mao mạch, hạ huyết áp, hạ mỡ máu, chống viêm, chống nhiễm trùng, chống co thắt và chống loét, chống tiêu chảy [78], [44].
- Chủ trị: Các chứng chảy máu, chảy máu cam, ho ra máu, băng huyết, đại tiểu tiện ra máu, đau đầu, chóng mặt, mắt đỏ.
- Liều dùng: Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hãm uống như chè. Cần sao đen khi dùng cầm máu.
- Kiêng kỵ: Không có thực hỏa không dùng. Kỵ sắt [31], [78].

4. Xà sàng tử [81]

- Tên khoa học: *Fructus Cnidii* - Họ: Hoa tán *Apiaceae*
- Bộ phận dùng: Quả phơi hay sấy khô của cây xà sàng.
- Tính vị: Vị cay đắng, tính bình, hơi có độc - Qui kinh: tam tiêu, Thận.
- Thành phần hóa học: Tinh dầu: Với tỷ lệ 1,3% có mùi hắc đặc biệt. Thành phần chủ yếu của tinh dầu là chất L. pinen, camphen và bocnylisovalerianat.

Chất ostola tinh thể không màu có công thức $C_{15}H_{16}O_3$, độ chảy $82^{\circ}5-83^{\circ}5$. Chất dầu màu đen xanh có thành phần chủ yếu là 92,66% axit béo không no, 4,56% axit béo no và 0,38% chất không xà phòng hoá được, 3,27% glyxerin. Coumarin (osthole, ostruthin và isomexoticin).

- Công dụng: Cường dương, ích thận khứ phong táo thấp.

- Tác dụng dược lý [83]:

+ Tác dụng kháng khuẩn: Có tác dụng ức chế đối với tụ cầu khuẩn vàng (*staphylococcus aureus*) nhờn thuốc, trực khuẩn mũ xanh (*bacillus pyocyaneus*), một số loại nấm gây lở ngứa ngoài da (*microsporum*, *epidermophyton*, *trichophyton*), trùng roi;

+ Giảm đau, gây tê cục bộ, cải thiện chức năng não, tăng trí nhớ.

+ Có tác dụng chống rối loạn nhịp tim và hạ huyết áp.

+ Có tác dụng cắt cơn hen (bình suyễn), trừ đờm, giãn phế quản

+ Có tác dụng tăng cường chức năng miễn dịch, chống dị ứng.

+ Xà sàng tử có tác dụng như testosterone.

- Chủ trị: Chữa liệt dương, bộ phận sinh dục ảm ngứa, phụ nữ lạnh tử cung, không có con, khí hư, xích bạch đới.

- Liều dùng hàng ngày: 4-12g dưới dạng thuốc sắc uống riêng hoặc phối hợp với các vị thuốc khác.

5. *Chỉ xác* [31].

- Tên khoa học: *Fructus citri Aurantii* - Họ: *Cam Rutaceae*.

- Bộ phận dùng: Quả chưa chín đã bỏ đôi, phơi hay sấy khô của quả cam

- Thành phần chủ yếu: Tinh dầu (α -Pinene, Limonene, Camphene, Terpinene, p-Cymene, Caryophyllene, flavonoid (Hesperidin, Neohesperidin, Naringin), pectin, saponin, alcaloid, acid hữu cơ, coumarin [84].

- Tính vị: Đắng, tân, lương - Quy kinh: Tỳ, vị

- Công dụng và chủ trị: Phá khí hóa đờm tiêu tích, tiêu thực (sao giòn), cầm máu (sao tồn tính).

- Tác dụng dược lý:

+ Tác dụng cường tim, tăng huyết áp do thành phần chủ yếu là Neohesperidin nhưng không làm tăng nhịp tim. Thuốc có tác dụng co mạch, tăng lực cản của tuần hoàn ngoại vi, tăng co bóp của cơ tim, tăng lượng cGMP của cơ tim và huyết tương nơi chuột nhắt [81].

+ Nước sắc chỉ xác đều có tác dụng ức chế cơ trơn ruột cô lập của chuột nhắt, chuột lang và thỏ, là cơ sở dược lý của thuốc dùng để trị chứng dạ dày sa xuống, dạ dày giãn, lòi dom, sa trực tràng... Tác dụng hưng phấn rõ rệt đối với tử cung thỏ có thai hoặc chưa có thai, cô lập hoặc không

- Chủ trị: Ngực sườn trướng đau do khí trệ, khó tiêu do đờm trệ.

- Liều dùng: Ngày dùng 3- 9g, dạng thuốc sắc. Phối hợp trong các bài thuốc.

- Kiên kỵ: Tỳ vị hư hàn không có tích trệ, phụ nữ có thai không nên dùng

6. Bạch tật lê [31]

- Tên khoa học: *Fructus Tribuli terrestris*

- Thuộc họ tật lê *Zygophyllaceae*.

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

- Tính vị: Vị cay, đắng, tính ôn (sao tính âm), để sống tính bình, hơi độc -

Quy kinh: Can, Phế

- Thành phần hoá học: Trong quả có chứa ancaloit 0,001%, chất béo 3,5%, tinh dầu, rất nhiều natri, phylloerythrin, tannin, flavonozit, nhiều saponin mà trong đó có diosgenin là hoạt chất có tác dụng tăng cường sinh lý.

- Công năng: Bình can giải uất, hoạt huyết, khu phong, sáng mắt, ngừng ngứa.

- Tác dụng dược lý: Tác dụng giảm đau, bảo vệ tim, hạ lipid máu [85].

- Chủ trị: Nhức đầu, chóng mặt; ngực sườn đau trướng, tắc sữa, viêm (nhọt) vú; đau mắt đỏ kéo màng mắt; phong chấn, ngứa. Ngoài ra còn có tác dụng bổ thận, trị đau lưng, tinh dịch không bền (chống xuất tinh), gây yếu, chảy máu cam, ly, dùng xúc miệng chữa loét miệng [31], [85].

- Liều dùng: Ngày uống 6 – 9 g, dạng thuốc sắc.

7. *Khương hoạt*

- Tên khoa học: *Rhizoma et Radix Noiopterygii*
- Họ: Hoa tán *Apiaceae*
- Bộ phận dùng: Thân rễ và rễ
- Tính vị: Vị tân, đắng, tính ấm. Quy kinh: Vào kinh bàng quang, can, thận
- Thành phần hoá học chính là coumarin, phenol và tinh dầu [31].
- Công năng: Tán phong hàn, trừ phong thấp, chỉ thống.
- Tác dụng dược lý: Hạ sốt, giảm đau, chống viêm, chống dị ứng, kháng khuẩn, chống loạn nhịp tim [83], [86].
- Chủ trị: Cảm mạo phong hàn (mình đau không có mồ hôi), phong chạy khắp người, mình, chân, tay, các khớp đau nhức nặng nề, thiên về đau ở nửa người trên.
- Liều lượng: Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.
- Kiêng kỵ: Chứng thực nhiệt, hư nhiệt không nên dùng.

8. *Ngũ bội tử* [31]

- Tên khoa học: *Galla Chinensis*
- Họ: Đào lộn hột - *Anacardiaceae*
- Bộ phận dùng: Tổ đã phơi hay sấy khô của ấu trùng sâu Ngũ bội tử kí sinh trên cây Muối hay cây Diêm phu mộc.
- Thành phần hoá học chính: Độ ẩm 13.47%, chất tan vào nước gồm có tamin 43.2%, không tamin 13.20%, chất không tan 30.13%.
- Tính vị: Toan, sáp, hàn, bình. Quy kinh phế, đại tràng, thận.
- Công năng: Sáp trường chỉ tả, chỉ huyết, liễm sang, giải độc, liễm phế.
- Chủ trị: Tiêu chảy lâu ngày, lỵ lâu ngày, mồ hôi trộm, tiện huyết, nôn ra máu, trĩ chảy máu, ngoại thương xuất huyết, nhọt độc, sang độc, ngoài da loét do thấp, phế hư ho lâu ngày, phế nhiệt ho có đờm.
- Tác dụng dược lý:

+ Thuốc có nhiều chất tanin gây kết tủa albumin nên có tác dụng thu liễm làm lành các vết loét ngoài da, niêm mạc.

+ Tác dụng kháng khuẩn: nước sắc Ngũ bội tử có tác dụng ức chế hoặc giết chết in vitro nhiều loại vi khuẩn như tụ cầu vàng, liên cầu khuẩn, phế cầu khuẩn, trực khuẩn thương hàn, phó thương hàn, kiết lị, bạch hầu, trực khuẩn mủ xanh, virus cúm.

+ Độc tính của thuốc: cho súc vật thí nghiệm uống nước sắc 100% Ngũ bội tử với liều 20g/kg không thấy có tác dụng gì biểu hiện

- Liều lượng: Ngày dùng từ 4g đến 12g, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài lượng thích hợp.

9. Trắc bách diệp

- Tên khoa học: *Cacumen Platycladi*.

- Thuộc họ Hoàng đàn (*Cupressaceae*).

- Tên gọi khác: Trắc bách diệp

- Bộ phận dùng: Cành non và lá của cây trắc bách diệp.

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

- Tính vị: Đắng, chát, hơi hàn - Quy kinh: phế, can, tỳ.

- Công năng: Lương huyết, chỉ huyết, thanh thấp nhiệt huyết phạm, nhuận tràng thông tiện [31], [81].

- Tác dụng dược lý:

+ Tác dụng cầm máu: Trên thực nghiệm trên chó và thỏ nước sắc trắc bách diệp có tác dụng giống như vitamin K tức là làm tăng thời gian prothrombin trong máu sau khi đã dùng thuốc chống đông, tác dụng co mạch.

+ Dịch chiết xuất còn có tác dụng giảm ho, long đờm.

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

+ Chống viêm, chống oxi hóa [26].

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

- Liều lượng: Ngày uống từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

10.Đại hoàng [31], [81]

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

- Bộ phận dùng: Thân rễ phơi sấy khô

- Thành phần hóa học: Anth raquinone, Rhein, Rheinoside A, B, C, D; Aloe-Emodin, Emodin, Physcion, Chrysophanol, Physcion-8-O-Glucoside, Aloe-Emodin-8-O-Glucoside, Chrysophanol-8-O-Glucoside, Emodin-10Glucoside, Emodin-8-O-Glucoside, Chrysophanol-1-O-Glucoside, Rhein-8-O-Glucoside

- Tính vị: Vị đắng, tính hàn. Quy kinh: Tỳ, vị, đại tràng, can, tâm bào

- Công năng: Thanh trường thông tiện, tả hỏa giải độc, trực ứ thông kinh.

- Tác dụng dược lý:

+ Chất gây tiêu chảy của Đại hoàng là Anth raquinone. Tác dụng của thuốc chủ yếu là ở đại trường, thuốc làm cho trương lực của đoạn giữa và cuối đại trường tăng, nhu động ruột tăng, nhưng không trở ngại cho việc hấp thu chất dinh dưỡng của tiểu trường.

+ Tác dụng kháng khuẩn rộng.

+ Nước sắc Đại hoàng có tác dụng lợi tiểu, bảo vệ gan và giảm Cholesterol máu đối với thỏ bị gây cao Cholesterol và cho uống thuốc.

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

- Liều lượng: Nhuận tràng, tẩy, xổ: Ngày dùng từ 3 g đến 12 g

Chú ý: Vị này không nên sắc lâu, khi sắc thuốc được rồi mới bỏ vào uống.

- Kiên kị: Không có uất nhiệt tích đọng thì không nên dùng. Phụ nữ có thai không được dùng.