

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



ĐÀO XUÂN TỈNH

**ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP,  
BÁN TRƯỜNG DIỄN VÀ  
TÁC DỤNG CHỐNG ĐÔNG MÁU CỦA  
“TRÂN CHÂU NGƯU HOÀNG HOÀN”  
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**HÀ NỘI, NĂM 2022**

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



ĐÀO XUÂN TỈNH

**ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP,  
BÁN TRƯỜNG ĐIỂN VÀ  
TÁC DỤNG CHỐNG ĐÔNG MÁU CỦA  
“TRÂN CHÂU NGƯỜU HOÀNG HOÀN”  
TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**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 đến Đảng ủy, Ban Giám đốc Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, Phòng đào tạo Sau đại học, các Bộ môn, Khoa phòng của Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, là nơi trực tiếp đào tạo và tận tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu.*

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

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

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

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

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

*Xin trân trọng cảm ơn!*

*Tác giả*

**Đào Xuân Tĩnh**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Đào Xuân Tinh, học viên cao học khóa 12 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 Tiến sĩ Trần Thái Hà.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam
3. Các số liệu, thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

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

*Hà Nội, ngày 09 tháng 05 năm 2022*

Tác giả

Đào Xuân Tinh

## MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	3
1.1. NHỒI MÁU NÃO.....	3
1.1.1. Định nghĩa.....	3
1.1.2. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh nhồi máu não.....	3
1.1.3. Đặc điểm lâm sàng nhồi máu não.....	5
1.1.4. Chẩn đoán nhồi máu não.....	7
1.1.5. Điều trị nhồi máu não.....	8
1.2. NHỒI MÁU NÃO THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN.....	9
1.2.1. Đặc điểm lâm sàng Trúng phong.....	9
1.2.2. Điều trị trúng phong.....	13
1.3. CÁC NGHIÊN CỨU ĐIỀU TRỊ TRÚNG PHONG BẰNG Y HỌC CỔ TRUYỀN.....	15
1.3.1. Trên thế giới.....	15
1.3.2. Tại Việt Nam.....	16
1.4. TỔNG QUAN VỀ BÀI THUỐC NGHIÊN CỨU.....	17
1.4.1. Nguồn gốc, xuất xứ bài thuốc.....	17
1.4.2. Công năng - chủ trị.....	17
1.4.3. Cách dùng.....	18
1.4.4. Phân tích bài thuốc.....	18
1.5. TỔNG QUAN VỀ CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH VÀ Ý NGHĨA VỀ VIỆC NGHIÊN CỨU TÍNH AN TOÀN CỦA THUỐC YHCT.....	18
1.5.1. Thuốc y học cổ truyền và nguyên nhân tiến hành thử độc tính.....	18
1.5.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp.....	19
1.5.3. Các phương pháp thử nghiệm độc tính bán trường diễn.....	22

1.5.4. Các mô hình chống đông đã được sử dụng trên thế giới. ....	24
CHƯƠNG 2: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	26
2.1. CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU .....	26
2.2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU. ....	28
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	29
2.3.1. Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn của Trân châu ngư hoàng hoàn. ....	29
2.3.2. Nghiên cứu tác dụng chống đông máu của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên mô hình gây đông bằng Lipopolysaccharid trên chuột cống trắng. ....	31
2.4. Địa điểm và thời gian nghiên cứu. ....	32
2.5. Sơ đồ nghiên cứu.....	32
2.6. Xử lý số liệu .....	33
2.7. Sai số và cách không chế sai số .....	33
2.8. Đạo đức nghiên cứu. ....	33
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU .....	35
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn” .....	35
3.1.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của “Trân châu ngư hoàng hoàn” .	35
3.1.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên động vật thực nghiệm. ....	36
3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống đông máu của Trân châu ngư hoàng hoàn trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm .....	50
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	56
4.1. Về độc tính cấp, bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn” .....	56
4.1.1. Độc tính cấp của “Trân châu ngư hoàng hoàn” .....	56
4.1.2. Độc tính bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn” .....	57

4.2. Về tác dụng chống đông máu của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên mô hình gây đông bằng lipopolysacchrid trên động vật thực nghiệm.....	60
KẾT LUẬN .....	66
KIẾN NGHỊ .....	68
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

## DANH MỤC BẢNG BIỂU, SƠ ĐỒ

Hình 2.1: Sản phẩm Trân châu ngư hoàng hoàn.....	26
Sơ đồ 2.1. Mô hình nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng chống đông máu trên mô hình thực nghiệm của “Trân châu ngư hoàng hoàn” .....	32
Bảng 3.1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của “Trân châu ngư hoàng hoàn” .....	35
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến thể trọng chuột .	36
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến số lượng hồng cầu trong máu chuột cống trắng.....	37
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột .....	38
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến hematocrit trong máu chuột .....	39
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột .....	40
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến số lượng bạch cầu trong máu chuột.....	41
Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến công thức bạch cầu trong máu chuột.....	42
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến số lượng tiểu cầu trong máu chuột.....	43
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến hoạt độ AST (GOT) trong máu chuột.....	44
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến hoạt độ ALT (GPT) trong máu chuột.....	45
Bảng 3.12.Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột.....	46



Bảng 3.13.Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ albumin trong máu chuột.....	47
Bảng 3.14. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột.....	48
Bảng 3.15.Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ creatinin trong máu chuột.....	49
Bảng 3.16. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến số lượng tiểu cầu. ....	50
Bảng 3.17. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ fibrinogen .....	51
Bảng 3.18. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến thời gian prothrombin (PTs), tỷ lệ prothrombin (PT %) và prothrombin-INR (PT-INR) .....	53
Bảng 3.19. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTTs) và aPTT <sub>bệnh-chứng</sub> .....	55

## **DANH MỤC HÌNH ẢNH**

Hình 2.1: Sản phẩm Trân châu ngư hoàng hoàn.....	26
--	----

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

AST	Aspartate transaminase
ALT	Aka alanine aminotransferase
aPTT	Activated partial thromboplastin time
BN	Bệnh nhân
FDA	Food and Drug Administration
HDL	High-density lipoprotein
HbA1C	hemoglobin A1c
INR	International Normalized Ratio
LDL	Low-density lipoprotein
NC	Nghiên cứu
PT	Prothrombin time
PHCN	Phục hồi chức năng
TNHH	Trách nhiệm hữu hạn
TBMN	Tai biến mạch não
YHCT	Y học cổ truyền
YHHĐ	Y học hiện đại
XNK	Xuất nhập khẩu

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhồi máu não là bệnh lý thần kinh phổ biến trên thế giới và Việt Nam, chiếm 80 – 85% trong tai biến mạch não nói chung [1] [2]. Nguyên nhân của nhồi máu não là hậu quả của thiếu máu não thoáng qua và xơ vữa của các động mạch. Nhồi máu não làm giải phóng các chất kích thích và các neuropeptid có thể làm ion calci vào trong tế bào thần kinh gây chết tế bào và tăng thiếu hụt thần kinh. Các thiếu sót thần kinh phụ thuộc vào tổn thương ở mạch não và tưới máu bù.

Nhồi máu não có tỷ lệ tử vong cao đứng hàng thứ 3 sau bệnh Tim mạch và ung thư ở các nước phát triển [3], [4]. Có tỷ lệ tàn phế hàng đầu trong các bệnh nội khoa, là gánh nặng cho gia đình, bệnh nhân và toàn xã hội. Chi phí cho công tác điều trị, phòng bệnh, hàng năm ở các nước trên thế giới là rất lớn. Tại Hoa Kỳ năm 2010 là 73,7 tỷ đô la Mỹ; ở Pháp chiếm 2,5 - 3% tổng kinh phí chi cho y tế [5].

Những năm gần đây việc ứng dụng khoa học công nghệ tiên tiến trong công tác chẩn đoán, cấp cứu đã giảm đáng kể tỷ lệ tử vong cho bệnh nhân nhồi máu não, đồng nghĩa với tỷ lệ bệnh nhân được cứu sống cần được chăm sóc y tế, phục hồi chức năng tăng lên [6].

Xu hướng hiện nay trên thế giới và ở Việt Nam sử dụng chế phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên ngày càng được quan tâm. Thủ tướng Chính phủ đã có Quyết định 1893/QĐ-TTg (25/12/2019) để ban hành Chương trình phát triển y dược cổ truyền, kết hợp y dược cổ truyền với y dược hiện đại đến năm 2030 với mục tiêu phát triển toàn diện y dược cổ truyền, tăng cường kết hợp y dược cổ truyền với y dược hiện đại nhằm bảo vệ, chăm sóc, nâng cao sức khỏe nhân dân trong tình hình mới.

Cùng với Y học hiện đại, Y học cổ truyền đóng góp không nhỏ vào điều trị, phòng bệnh và phục hồi chức năng hiệu quả từ các bài thuốc cổ phương [7]. “Trân châu ngư hoàng hoàn” là chế phẩm y học cổ truyền có nguồn gốc từ

phương “Viên Bỏ Trân Châu Hoàn” thuộc Công thức bào chế kinh điển của Y học Tây Tạng ở thế kỷ thứ 8 sau Công nguyên, được xuất bản lần đầu tiên trong kiệt tác y học cổ điển của Tây Tạng "Tứ Bộ Y Điển". Bài thuốc có tác dụng chính giúp lưu thông khí huyết, khai khiếu, tinh thần bao gồm 12 vị thuốc khác nhau, trong đó có những vị thuốc quý hiếm như Trâm Hương, Ngưu Hoàng, Đông Trùng Hạ Thảo, Đan Sâm. Hiện nay “Trân châu ngưu hoàng hoàn” đang được sử dụng rộng rãi trên lâm sàng dưới dạng thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Hiện tại ở Việt Nam chưa có nghiên cứu về độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng chống đông máu của “Trân châu ngưu hoàng hoàn” do vậy để cung cấp bằng chứng khoa học về tính an toàn và hiệu quả của “Trân châu ngưu hoàng hoàn” chúng tôi tiến hành đề tài ***“Đánh giá độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng chống đông máu của Trân Châu Ngưu Hoàng Hoàn trên động vật thực nghiệm”*** với hai mục tiêu:

1. *Xác định độc tính cấp, bán trường diễn của “Trân châu ngưu hoàng hoàn” trên động vật thực nghiệm.*

2. *Đánh giá tác dụng chống đông máu của “Trân châu ngưu hoàng hoàn” trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm.*

## **CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

### **1.1. NHỒI MÁU NÃO.**

#### **1.1.1. Định nghĩa.**

Nhồi máu não: Là hậu quả của giảm đột ngột lưu lượng tuần hoàn não do tắc một phần hoặc toàn bộ động mạch não hoặc động mạch cảnh hoặc ít gặp hơn là do tắc một tĩnh mạch não. Về mặt lâm sàng nhồi máu não biểu hiện đột ngột các triệu chứng thần kinh khu trú, hay gặp nhất là liệt nửa người [3] [8].

#### **1.1.2. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh nhồi máu não.**

Nhồi máu não bao gồm các thể: huyết khối, tắc mạch, nhồi máu não ổ khuyết và nhồi máu não chảy máu.

##### **1.2.2.1. Huyết khối động mạch não.**

Nguyên nhân: Tăng huyết áp, vữa xơ động mạch, dị sản xơ cơ, viêm động mạch và các nguyên nhân khác [9].

Cơ chế bệnh sinh: Quá trình bệnh lý xảy ra từ từ, liên tục trong thời gian dài hai mươi đến ba mươi năm với hai giai đoạn:

Giai đoạn đầu gây rối loạn tại mạch máu và huyết động: khởi đầu bằng các thay đổi bệnh lý của thành mạch làm hẹp dần lòng mạch, hậu quả gây giảm dòng máu đến não. Tiếp sau là quá trình rối loạn đông máu dẫn đến huyết khối, tắc mạch làm gián đoạn cấp máu cho tế bào não [9], [10].

Giai đoạn tiếp theo gây biến đổi hóa học tế bào não do thiếu máu làm hoại tử, chết các tế bào thần kinh, tế bào thần kinh đệm và các mô khác của não [9].

##### **1.1.2.2. Tắc mạch não.**

Nguyên nhân: Do cục máu đông di chuyển từ tim hoặc từ vị trí mạch lớn khác lên não gây bít tắc toàn bộ hoặc một phần làm tổn thương vùng não nuôi dưỡng bởi động mạch bị tắc [9].

Cơ chế bệnh sinh: Lớp áo trong của thành mạch bị tổn thương vừa xơ tạo điều kiện kết dính tiểu cầu.

- Giai đoạn đầu: Cục máu đông cấu tạo chủ yếu là tiểu cầu kết dính, không bền vững, có thể bị tan đi khi dùng thuốc chống đông [9], [11].

- Giai đoạn sau: Khi hồng cầu cùng sợi tơ huyết bám vào, cấu trúc cục tắc trở nên bền vững, khi bong ra khỏi lòng mạch bị đẩy lên não làm tắc các động mạch não có khẩu kính nhỏ [9], [11].

### **1.1.2.3. Nhồi máu não ổ khuyết.**

Nguyên nhân: Do tắc động mạch nhánh xiên nhỏ của động mạch não lớn như tắc nhánh nuôi của các hạch nền, đồi thị, bao trong hay vị trí khác. Ổ khuyết do vừa xơ động mạch ngoài sọ hoặc do vừa xơ các mạch máu trong sọ hoặc do các huyết khối từ tim lên gây tắc [9], [12], [13].

Cơ chế bệnh sinh: Tương tự như tắc mạch, nhồi máu ổ khuyết bởi cục máu đông có đường kính nhỏ gây tắc các mạch có đường kính từ 200 đến 400 $\mu$ m và tổn thương vùng não có đường kính dưới 5mm [12], [13].

### **1.1.2.4. Nhồi máu não chảy máu.**

Nguyên nhân: Trên cơ sở ổ nhồi máu não có một vùng chảy máu tồn tại trong tổ chức não đã bị hoại tử. Nhồi máu não chảy máu do tắc mạch não cần được chẩn đoán sớm và phân biệt với xuất huyết não nguyên phát để có thái độ xử trí phù hợp [12].

Cơ chế bệnh sinh: Đến nay cơ chế bệnh sinh của nhồi máu não chảy máu chưa biết rõ ràng, một số giả thiết được đề cập như:

- Tái lập tuần hoàn: Cơ chế ly giải cục huyết khối hoặc tăng tính thấm thành mạch, tăng tuần hoàn máu hoặc sự tái lập tuần hoàn bàng hệ.

- Vỡ mạch: Liên quan đến động mạch não trong ổ nhồi máu bị tổn thương bởi các yếu tố thành mạch, lớp cơ trơn thành mạch.

Giả thuyết của A. Zivin và cộng sự cho rằng có sự tăng sinh bạch cầu và hiện tượng sản sinh ra gốc tự do trong ổ nhồi máu não đóng góp vào cơ chế chảy máu não sau tắc mạch [13].

### **1.1.3. Đặc điểm lâm sàng nhồi máu não.**

#### **1.1.3.1. Huyết khối động mạch não.**

\* Đặc điểm lâm sàng chung.

Dấu hiệu tiền triệu: Tùy theo vị trí mạch bị nguy cơ huyết khối mà có dấu hiệu tiền triệu khác nhau.

Huyết khối động mạch cảnh, động mạch não giữa: Mù một mắt, rối loạn cảm giác, rối loạn ngôn ngữ, mất trí nhớ.

Huyết khối động mạch sống - nền: song thị, nhìn mờ, mất thăng bằng, rối loạn nuốt [9].

Thường xảy ra vào ban đêm hoặc sáng sớm.

Tiến triển nặng dần hoặc tăng nặng từng nấc.

Các triệu chứng chung như: đau đầu, nôn, co giật, ý thức thường tỉnh.

Các triệu chứng thần kinh khu trú tùy theo động mạch bị tổn thương mà biểu hiện lâm sàng tương ứng.

\* **Đặc điểm lâm sàng theo vị trí động mạch tổn thương:**

Hội chứng động mạch cảnh trong (hội chứng mắt - tháp): Mất thị lực cùng bên, liệt nửa người bên đối diện, giảm áp lực võng mạc trung tâm [9], [14].

Hội chứng động mạch não giữa: Liệt nửa người bên đối diện ưu thế chân, mất sử dụng động tác nửa người do tổn thương thê chai, rối loạn cơ tròn [9], [14].

Tổn thương gốc: Liệt và mất cảm giác nửa người bên đối diện, bán manh cùng bên, rối loạn ngôn ngữ, rối loạn ý thức, đau và mất quay về bên tổn thương.

Tổn thương nhánh nông: Liệt không đồng đều và rối loạn cảm giác nửa người bên đối diện, ru thể mặt và tay.

Tổn thương nhánh sâu: Liệt đồng đều và không rối loạn cảm giác nửa người bên đối diện.

Tổn thương bên bán cầu trội: Rối loạn ngôn ngữ, mất khả năng tính toán, viết và mất nhận thức cơ thể.

Hội chứng động mạch màng mạch trước: Liệt đồng đều nửa người, mất cảm giác nửa người kiểu đồi thị, tăng trương lực cơ, rối loạn thần kinh thực vật nửa người bên đối diện [9], [14].

Hội chứng động mạch đốt sống - thân nền:

\* Động mạch não sau: Bán manh bên đối diện, mất ngôn ngữ giác quan, liệt nhẹ nửa người, hội chứng ngoại tháp bên đối diện.

\* Động mạch hố bên hành não: Mất cảm giác quanh mắt cùng bên, rối loạn phát âm, nuốt nghẹn, sặc, liệt dây thanh một bên, chóng mặt, nôn, rung giật nhãn cầu.

\* Tác hoàn toàn động mạch sống - nền: Biểu hiện rối loạn tri giác, hôn mê, rối loạn trương lực cơ, liệt nửa người hoặc tứ chi, liệt dây VII, IX, X, XI, rối loạn tim mạch, thân nhiệt, hô hấp thậm chí tử vong.

### **1.1.3.2. Nhồi máu não ổ khuyết.**

\* Đặc điểm tổn thương:

Kích thước ổ khuyết nhỏ, đường kính dưới 5mm, có nhiều ổ, hay gặp vùng chất trắng [12], [15].

\* Biểu hiện lâm sàng:

Tương tự như cơn thiếu máu não thoáng qua như hoa mắt, yếu chân tay, nói chậm, có khi khó nói.

Triệu chứng thần kinh khu trú có khi xuất hiện đột ngột hoặc từ từ, rất ít khi thấy nhưc đầu, buồn nôn và co giật.

\* Các thể lâm sàng nhồi máu não ổ khuyết:



Liệt vận động đơn thuần: Do tổn thương đường tháp ở vùng vành tia, cánh sau bao trong, cầu não.

Liệt điều phối nửa người, rối loạn ngôn ngữ, bàn tay vụng về: Biểu hiện liệt điều phối nửa người, liệt nửa người, rối loạn điều phối cùng bên.

Rối loạn cảm giác đơn thuần: Do tổn thương nhân bụng sau của đồi thị hay 1/3 sau cánh sau bao trong. Biểu hiện tê bì, dị cảm, kiến bò hoặc mất cảm giác nửa người hay ở mặt hoặc ở tay.

Liệt vận động kèm rối loạn cảm giác: Do tổn thương vùng bao trong, đồi thị cầu não bên đối diện, gây liệt vận động nửa người kèm tê bì, kiến bò.

### **1.2.3.3. Tắc mạch não:**

Xuất hiện triệu chứng lâm sàng đột ngột, thường xảy ra sau một gắng sức hoặc căng thẳng tâm lý [9], [16].

Biểu hiện: Rối loạn ý thức nhẹ hoặc hôn mê, co giật, liệt vận động nửa người, rối loạn cảm giác, rối loạn cơ tròn, nói ngọng, nói khó.

Tùy theo vị trí tắc ở các động mạch khác nhau mà xuất hiện triệu chứng thần kinh khu trú của vùng não tổn thương [9], [16].

### **1.1.4. Chẩn đoán nhồi máu não.**

#### **1.1.4.1. Giai đoạn cấp:**

##### **\* Triệu chứng lâm sàng:**

Các triệu chứng xảy ra đột ngột vào nửa đêm về sáng, nhức đầu kèm theo nôn, buồn nôn, liệt nửa người, rối loạn ý thức khi tổn thương não rộng [14],[15],[16].

Biểu hiện triệu chứng thần kinh khu trú tùy theo vị trí động mạch bị tổn thương [14], [15], [16].

Cơ động kinh ít gặp, rối loạn ý thức nhẹ hoặc thoáng qua.

Tiền sử tăng huyết áp, bệnh lý tim mạch [15, [17].

##### **\* Cận lâm sàng:**

Hình ảnh ổ nhồi máu trên phim chụp cắt lớp vi tính sọ não.

Trong 3 giờ - 6 giờ đầu các thay đổi trên phim rất kín đáo, chủ yếu là dấu hiệu phù não ở vùng tổn thương [7], [18].

Giai đoạn sau: Hình ảnh của ổ giảm tỷ trọng mang đặc điểm tủy - vỏ theo sơ đồ cấp máu của động mạch não [7], [18].

Hình ảnh trên phim chụp cộng hưởng từ sọ não: Giảm nhẹ tín hiệu trên phim T<sub>1</sub>W. Tiêm thuốc đối quang từ thấy ổ tổn thương không ngấm thuốc.

Hình ảnh chụp động mạch não: Xác định vị trí động mạch, nhánh động mạch bị tắc.

Siêu âm Doppler mạch [19], [20]. ,

Điện tâm đồ. Xét nghiệm máu.

#### **1.1.4.2. Chẩn đoán nhồi máu não sau giai đoạn cấp.**

Bệnh nhân đã được chẩn đoán nhồi máu não sau giai đoạn cấp.

Biểu hiện lâm sàng: Tỉnh thần tỉnh (Glasgow trên 10 điểm), liệt nửa người, liệt mặt trung ương, nói khó, nuốt nghẹn, rối loạn cảm giác, rối loạn cơ tròn [7], [16].

Cận lâm sàng: Dựa vào hình ảnh chụp cắt lớp vi tính sọ não [18], [21], hình ảnh chụp cộng hưởng từ sọ não [18], [21].

Điện tâm đồ.

Xét nghiệm máu.

#### **1.1.5. Điều trị nhồi máu não.**

##### **1.1.5.1. Điều trị nhồi máu não giai đoạn cấp.**

\* Nguyên tắc điều trị cấp cứu:

Thông thoáng đường thở, bảo đảm khả năng thở, bảo đảm tuần hoàn.

Chống phù não, tránh biến chứng nặng thậm chí tử vong.

Chống tiêu huyết khối bằng chất sinh flamin mô tái tổ hợp [7], [22].

Kiểm soát huyết áp từ 160/90 mmHg đến dưới 185/100 mmHg (khuyến cáo của Hội Đột quy não Hoa Kỳ) [22], [23].

Kiểm soát đường máu trên bệnh nhân đái tháo đường, đảm bảo đường máu dưới 7,8 mmol/l đối với người Châu Á và dưới 10 mmol/l đối với người Châu Âu [22], [23], [24].

Điều trị rối loạn lipid máu, bệnh van tim, suy tim, rung nhĩ.

Đảm bảo nhu cầu dinh dưỡng và chăm sóc hộ lý tốt.

#### **1.1.5.2. Điều trị nhồi máu não sau giai đoạn cấp.**

Thuốc chống kết tập tiểu cầu [3], [25], [26].

Thuốc tăng cường tuần hoàn máu não[2].

Thuốc bảo vệ thần kinh [26].

Thuốc điều trị một số căn nguyên:

Điều trị tăng huyết áp [27].

Điều trị rối loạn chuyển hóa lipid [28], [29].

Điều trị bệnh lý tim mạch [26], [27], [28].

Điều trị đái tháo đường [30].

Điều trị dự phòng nhồi máu não [21].

### **1.2. NHỒI MÁU NÃO THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN.**

#### **1.2.1. Đặc điểm lâm sàng Trúng phong.**

##### **1.2.1.1. Bệnh danh "Trúng phong".**

Trong y học cổ truyền thuật ngữ "Trúng phong" được Trương Trọng Cảnh ghi trong sách "Kim quỹ yếu lược" và được dùng liên tục cho đến ngày nay. Ngoài ra sách còn ghi chép nhiều thuật ngữ khác như: Bộc kích, Thiên khô, Thiên phong, Thiên thân bất dạng [31], [32], [33]. Vương Thanh Nhiệm đời nhà Thanh có ghi "Bán thân bất toại".

Ngày nay sách y học cổ truyền cũng như các thầy thuốc thực hành lâm sàng lấy tên "trúng phong hoặc bán thân bất toại" và mô tả, biện chứng trong hai thể "trúng phong kinh lạc và trúng phong tạng phủ" [31], [33].

### 1.2.1.2. Phân loại "Trúng phong".

Việc phân loại trúng phong có từ rất lâu nhằm nâng cao hiệu quả điều trị và phòng bệnh, tùy thuộc vào mức độ bệnh, chứng trạng, độ nông hay sâu mà đề ra phương pháp điều trị phù hợp. "Y kinh tố hồi tập" của Vương Lữ chia làm hai loại: chân trúng phong và loại trúng phong. Sách Kim quỹ yếu lược của Trương Trọng Cảnh có ghi "trúng phong" và "phi phong". Dương Trang Tử chia hai loại của trúng phong "chứng bế" và "chứng thoát" [34], [35].

Ngày nay trong các sách y học cổ truyền và y văn hiện đại, chứng trúng phong được chia làm hai loại: Trúng phong kinh lạc và trúng phong tạng phủ.

Trúng phong kinh lạc: Mức độ biểu hiện triệu chứng nhẹ, không có hôn mê, tà khí trúng vào phần kinh mạch, lạc mạch gây miệng méo, tê bại nửa người, râu lưỡi trắng [36], [37].

Trúng phong tạng phủ: Biểu hiện triệu chứng nặng do tà khí trực trúng vào tạng phủ biểu hiện hai mức độ:

+ Chứng bế: Hôn mê nông, liệt nửa người, ú ớ, thở khò khè, miệng méo, mắt lệch, chân tay còn ấm, mạch hoạt [36], [37].

+ Chứng thoát: Hôn mê sâu, thở khò khè, ra nhiều mồ hôi, chân tay lạnh, đại tiện không tự chủ, lưỡi rụt, mạch huyền tế vô lực [36], [37].

### 1.2.1.3. Nguyên nhân, cơ chế bệnh sinh Trúng phong.

#### \* Nguyên nhân:

Theo y học cổ truyền, nguyên nhân gây bệnh được chia làm ba loại: Ngoại nhân (lục dâm), Nội nhân (thất tình) và bất nội ngoại nhân. Việc phân định nguyên nhân chính yếu hay thứ yếu không thể rạch ròi mà thường có sự đan xen, kết hợp nhau gây bệnh. Mặc dù vậy nguyên nhân tập trung vào ba nhóm gây bệnh chính là phong, hỏa và đàm.

Nguyên nhân do Phong: Phong chủ khí về mùa xuân, thuộc dương khí, di chuyển đi lên và ra ngoài. Bên ngoài gây bệnh ở biểu, cơ khớp, cảm mạo,

viêm dây thần kinh ngoại vi; bên trong thường gây tăng huyết áp, bán thân bất toại, bại liệt, mê man bất tỉnh, miệng lưỡi méo cứng [36], [37], [38].

Ngoại phong: Gây bệnh trên cơ sở nội tại hư yếu, lạc mạch hư rỗng, khởi đầu từ biểu dẫn vào lý. Sách Nội kinh đã ghi "Thiên khô" thuộc về chứng "chính khí hư, tà khí lưu lại". Sách Kim quỹ yếu lược cũng đề cập đến ngoại phong "mạch thốn khẩu phù khản, khản là hàn, phù là hư", nội hư không bảo vệ được cơ thể, ngoại tà thừa cơ xâm nhập, lưu lại gây méo miệng, tê bại nửa người [35], [39], [40].

Nội phong: Diệp Thiên Sĩ cho rằng trúng phong là do nội phong liên quan trực tiếp đến Can mộc. Can huyết hư không chế ước được phần dương, Can dương thượng nhiều gây nên bệnh [50]. Trúng phong do nội phong liên quan đến Can Thận âm hư, lý giải dựa trên mối quan hệ ngũ tạng: Thận tàng tinh, tinh sinh huyết, huyết sinh tinh. Trên cơ sở đó Can âm được thủy hóa nuôi dưỡng mà chế được Can dương. Trường hợp thận thủy suy mà không dưỡng được Can mộc gây chứng Can âm suy, Can dương vượng (Can hỏa vượng) gây ảnh hưởng đến phần âm của Thận mà gây ra Thận âm hư [40].

Nguyên nhân do Hỏa: Hỏa và nhiệt thuộc dương tà, hướng đi lên, bên ngoài kết hợp với phong, thấp, thử mà biểu hiện các chứng phong nhiệt, thấp nhiệt, thử nhiệt, bên trong gây chứng Tâm hỏa, Can hỏa, nhẹ thì gây hao tổn tân dịch, nặng thì gây động huyết, bức huyết vong hành, sốt cao mê sảng [41], [42]. Trường hợp Can khí uất kết lâu ngày hóa hỏa, Can hỏa thịnh gây chứng huyễn vựng, không được điều trị dẫn đến Can phong nội động mà bị trúng phong [40], [41], [42].

Nguyên nhân do Đàm: Nguồn gốc sinh ra đàm là do chức năng của Tỳ, Phế, Thận suy giảm, không vận hóa, túc giáng, khí hóa được thủy dịch làm đình trệ mà sinh ra đàm [40], [41], [42]. Đàm kết hợp với Phong, Nhiệt, Hàn, và Thấp mà gây chứng Phong đàm, Nhiệt đàm, Hàn đàm, Thấp đàm. Đàm ở Phế ảnh hưởng đến chức năng tuyên phát, túc giáng gây hen suyễn, lâu ngày gây

tổn thương Phế âm. Đàm ở Tâm gây bút rút, phiền muộn, mất ngủ, lâu ngày gây tắc trở thần minh, che lấp tâm khiếu mà sinh ra điên cuồng, lưỡi rứt, thất ngôn. Đàm uất ở Can, ngưng ở Thận, lưu ở kinh lạc mà gây bệnh chứng của Can, Thận và Kinh lạc [38], [42].

**\* Cơ chế bệnh sinh của trúng phong.**

Trúng phong không nằm ngoài hai cơ chế: Trúng ngoại tà và nội thương. Tuy nhiên mỗi thời kỳ có những quan điểm và thiên hướng khác nhau. Để nâng cao năng lực chẩn đoán và trị bệnh, ngày nay các tác giả tập trung biện chứng cơ chế bệnh sinh trúng phong theo từng thể của y học cổ truyền [40], [41], [43].

Nội phong gây "trúng phong" thể Can dương thượng cang: Do mất cân bằng giữa Can dương và Can âm (Can huyết), Can huyết hư không dưỡng được Can dương, làm cho phần dương của Can vượng mạnh gây phong động, kết hợp với nhiệt thúc phong đi lên mà thành bệnh [40].

Nội phong gây "trúng phong" thể Tâm hỏa thịnh: Lưu Hà Gian lý giải: Thận thủy hư suy, Thận âm không chế ước được Hỏa, Tâm hỏa thượng nghịch mà thành bệnh [40].

Nội phong gây "trúng phong" thể khí hư: Lý Đông Viên cho rằng bệnh liên quan đến tuổi và thể chất, "người ngoài bốn mươi tuổi là lúc khí hư suy hoặc lo nghĩ, giận dữ mà tổn thương phân khí" [40].

Nội phong gây "trúng phong" thể Can Thận âm hư: Người tuổi cao, chức năng tạng phủ hư suy, hoặc do lao lực quá độ mà Can Thận âm hư, Can dương vượng, âm dương mất điều hòa, âm hư ở dưới, dương phù ở trên, còn gọi thượng thực hạ hư [43].

Nội phong gây "trúng phong" thể đàm nhiệt tắc trở: Do ăn uống quá độ, lo nghĩ căng thẳng mà ảnh hưởng đến chức năng kiện vận của Tỳ thổ sinh ra đàm, lâu ngày đàm trọc hóa nhiệt, nhiệt cực sinh phong [43].

## **1.2.2. Điều trị trúng phong.**

### **1.2.2.1. Nguyên tắc điều trị.**

- Nguyên tắc chung: Cấp trị tiêu, hoãn trị bản.
- Nguyên tắc trị bệnh theo học thuyết vệ - khí - dinh - huyết [44], [45].
  - Thông dinh vệ, điều hòa hàn nhiệt, ích khí bổ huyết, áp dụng khi vệ khí hư, phong tà xâm nhập gây bệnh.
  - Khu phong thanh nhiệt, bổ hư hạ đàm, áp dụng khi dương khí kém, phong tà tấn công vào "kinh" hóa nhiệt.
  - Dưỡng huyết khu phong: Áp dụng trường hợp phong gây tổn thương vào phần huyết làm huyết hư, phong động.
  - Ích khí hoạt huyết: Áp dụng điều trị huyết hư và huyết ứ.
  - Phủ tiết trọc: Áp dụng điều trị khí huyết nghịch, rối loạn nhị tiện.
  - Tĩnh thần khai khiếu: Áp dụng điều trị âm dương không điều hòa, nội phong thượng nghịch kết hợp đàm hỏa.
  - Bình can tiềm dương: Điều trị âm hư dương xung, điều hòa âm dương, khí huyết.
  - Thanh nhiệt hóa đàm: Áp dụng điều trị nhiệt đàm che lấp thanh khiếu gây mê man, bất tỉnh.

### **1.2.2.2. Điều trị dùng thuốc.**

\*Trúng phong kinh lạc: Biểu hiện triệu chứng liệt nửa người không có hôn mê, bao gồm các thể sau [40], [46].

#### **- Thể Can phong nội động:**

- Triệu chứng: Liệt nửa người, hoa mắt, váng đầu, chân tay co quắp, mặt, mắt đỏ, hay cáu giận, mạch huyền sác.
- Pháp điều trị: Bình can tức phong.
- Phương dược: Sử dụng bài Thiên Ma Câu Đằng Âm [47].

#### **- Thể phong đàm tắc trở:**

- Triệu chứng: Liệt nửa người, miệng méo, nói khó, chân tay tê bì, lưỡi

tím, mạch huyền hoạt [40], [47].

- Pháp điều trị: Khu phong thông lạc hóa đàm.
- Phương dược: Bài: Hóa Đàm Thông Lạc:

- **Thể đàm nhiệt phủ thực:**

- Triệu chứng: Liệt nửa người, bút rút, miệng méo, nói khó, bụng đầy chướng, tăng tiết đờm rãi, mặt đỏ, bí đại tiểu tiện, mạch huyền đại [40], [47].
- Pháp điều trị: Thông tiện, tiết nhiệt hóa đàm.
- Phương dược: Dùng bài: Tinh Lâu Thừa Khí Thang.

- **Thể khí hư huyết ú:**

- Triệu chứng: Liệt nửa người, chân tay mềm yếu, nói khó, miệng lưỡi méo lệch, mệt mỏi, ngại vận động, hồi hộp trống ngực, tự hãn, lưỡi đỏ, có điểm ú huyết, mạch hư tế [40], [47].
- Pháp điều trị: Ích khí hoạt huyết thông lạc.
- Phương dược: Dùng bài: Bổ Dương Hoàn Ngũ Thang.

- **Thể âm hư dương xung:**

- Triệu chứng: Liệt nửa người, miệng méo, nói ngọng, mắt ngủ, chóng mặt, lòng bàn tay chân nóng, lưỡi hồng, mạch huyền sắc [40], [47].
- Pháp điều trị: Tư âm tiềm dương, trấn can tức phong.
- Phương dược: Dùng bài: Trấn Can Tức Phong Thang.

\* **Trúng phong tạng phủ:** Biểu hiện triệu chứng nặng, liệt nửa người có hôn mê, gồm các chứng:

- **Dương bế:**

- Triệu chứng: Đột nhiên ngã, bất tỉnh, hôn mê, miệng méo, liệt nửa người, mặt mắt đỏ, cứng gáy, chân tay co quắp, mạch huyền sắc [40], [47].
- Pháp điều trị: Thanh nhiệt tức phong, tỉnh thần khai khiếu. Trường hợp đàm hỏa thịnh: Thanh nhiệt tiêu đàm, khai khiếu tỉnh thần.



- Phương dược: Dùng bài “Thiên Ma Câu Đằng Âm” kết hợp với bài “Chí Bảo Đơn” đối với phong hỏa thịnh và bài “Linh Dương Giác” kết hợp với bài “Tô Hợp Hương” đối với đàm hỏa thịnh.

- **Âm bế:**

- Triệu chứng: Hôn mê, liệt nửa người, chân tay lạnh, mềm nhũn, thờ khò khè, nhiều đờm rãi, nói khó, nói ngọng, sắc mặt trắng, môi tím, lưỡi tím, mạch trầm hoạt [40], [47].
- Pháp điều trị: Táo thấp hóa đàm, khai khiếu tỉnh thần.
- Phương dược: Bài: Địch Đàm Thang.

- **Thoát chứng:**

- Triệu chứng: Hôn mê, ra nhiều mồ hôi, mắt mở, miệng há, chân tay liệt mềm, thờ yếu, sắc mặt trắng, đại tiểu tiện không tự chủ, chất lưỡi tím, mạch vi muốn tuyệt [40], [47].
- Pháp điều trị: Ích khí ôn dương, phù chính cố thoát.
- Phương dược: Bài: Sâm Phụ Thang.

- Điều trị hỗ trợ trúng phong bằng An cung ngư hoàng hoàn.

- Tác dụng: thanh nhiệt, khai khiếu, trừ đàm giải độc [47].

### **1.3. CÁC NGHIÊN CỨU ĐIỀU TRỊ TRÚNG PHONG BẰNG Y HỌC CỔ TRUYỀN**

#### **1.3.1. Trên thế giới.**

Nghiên cứu của Hồng Đông Mai, sử dụng dịch truyền "Đan sâm" trên bệnh nhân nhồi máu não, kết quả đạt loại tốt (90%) [48].

Nghiên cứu của Dương Lập Vân, điều trị 75 bệnh nhân nhồi máu não bằng thuốc y học cổ truyền kết hợp với y học hiện đại. Kết quả nhóm bệnh nhân sử dụng thuốc y học cổ truyền kết hợp đạt loại tốt (89%) so với nhóm bệnh nhân chỉ sử dụng đơn thuần y học hiện đại (67%) [49].

Nghiên cứu của Vương Tiến Học trên 160 bệnh nhân TBMN sau giai đoạn cấp bằng bài thuốc Hóa ứ thang kết hợp thuốc nền y học hiện đại (nhóm

I) và châm cứu kết hợp thuốc nền (nhóm II), kết quả nhóm I loại tốt (95%) so với nhóm II (76,2%) [50].

Nghiên cứu của Lý Hân Ngọc trên 80 bệnh nhân nhồi máu não chia làm hai nhóm sử dụng "Thông tâm lạc" và dịch tiêm "Huyết tắc thông" kết hợp thuốc nền y học hiện đại (nhóm I) và dùng thuốc nền đơn độc (nhóm II). Kết quả nhóm I đạt (90%) so với nhóm II (77,5%) [51].

Nghiên cứu của Lâm Anh Kiệt, Hồ Kim Minh trên 200 bệnh nhân di chứng thất ngôn, trong đó 100 bệnh nhân (nhóm I) điều trị bằng châm cứu và bài Bỏ dương hoàn ngũ kết hợp thuốc nền y học hiện đại, 100 bệnh nhân (nhóm II) chỉ sử dụng y học hiện đại đơn thuần. Kết quả nhóm I đạt hiệu quả (92%) cao hơn nhóm II (77,0%) [52].

Trần Ngọc Minh so sánh 47 bệnh nhân di chứng nhồi máu não uống bài thuốc "Trần can tức phong thang gia vị" kết hợp với thuốc nền (Aspirin, Atorvastatin) với nhóm 47 bệnh nhân di chứng nhồi máu não chỉ uống thuốc nền. Kết quả nhóm uống kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại đạt hiệu quả (93,6%) cao hơn nhóm điều trị nền đơn thuần (83%) [53].

### **1.3.2. Tại Việt Nam.**

Nghiên cứu của Phạm Thị Vân Anh, Nguyễn Thị Loan, Mai Phương Thanh được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng trên quá trình đông máu và tiêu fibrin của chế phẩm TD.HK01 trên mô hình gây đông máu thực nghiệm. Tiêm tĩnh mạch đuôi chuột công trắng lipopolysaccharid và tiêm tĩnh mạch tai thỏ thrombin để gây đông máu thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy TD.HK01 liều 0,8 g/kg/ngày và liều 2,4 g/kg/ngày trên thỏ có tác dụng tiêu fibrin trên mô hình gây đông máu bằng thrombin. TD.HK01 không có tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên chuột công trắng [54].

Nghiên cứu của Trần Quốc Bình, Phạm Vân Anh và cộng sự được thực hiện nhằm đánh giá độc tính cấp và tác dụng chống đông máu của viên nang

Hoạt huyết an não trên thực nghiệm, Kết quả nghiên cứu Viên nang Hoạt huyết an não không gây độc tính cấp ở liều 64,66gam/kg (gấp 44,66 lần liều sử dụng trên lâm sàng). Chưa xác định được LD<sub>50</sub>. Viên nang Hoạt huyết an não không gây độc tính bán trường diễn liều 0,36gam/kg/ngày (liều tương đương sử dụng trên lâm sàng) và liều 1,08gam /kg/ngày (liều gấp 3 lần sử dụng trên lâm sàng) trong 8 tuần liên tục [55].

#### **1.4. TỔNG QUAN VỀ BÀI THUỐC NGHIÊN CỨU.**

##### **1.4.1. Nguồn gốc, xuất xứ bài thuốc.**

Trân châu ngư hoàng hoàn là chế phẩm y học cổ truyền có nguồn gốc từ phương “Viên Bỏ Trân Châu Hoàn” thuộc Công thức bảo chế kinh điển của Y học Tây Tạng ở thế kỷ thứ 8 sau Công nguyên, được xuất bản lần đầu tiên trong kiệt tác y học cổ điển của Tây Tạng "Tứ Bộ Y Điển". Phần lớn các vị thuốc được kiểm định đạt tiêu chuẩn dược điển Việt nam V [56] và đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Bài thuốc gồm 12 vị thuốc:

Thiên Trúc Hoàng	Ngưu Hoàng
Đông Trùng Hạ Thảo	Đan Sâm
Giáng hương	Trân châu
Hồng hoa	Thạch học
Ngưu tất	Cam thảo
Thủy ngư giác	Trâm hương.

Mật ong vừa đủ một viên.

##### **1.4.2. Công năng - chủ trị:**

**Công năng:** Bài thuốc có tác dụng chính giúp lưu thông khí huyết, khai khiếu, tỉnh thần.

**Chủ trị:** Điều trị dự phòng tai biến mạch máu não thể nhồi máu não. Hỗ trợ hoạt huyết, tăng cường lưu thông máu. Hỗ trợ giảm nguy cơ tai biến mạch máu do ngẽn mạch.

### 1.4.3. Cách dùng:

Người lớn sau tai biến, hội chứng tiền đình: Mỗi ngày uống 1 viên, uống liên tục trong 6 ngày.

Uống duy trì: Mỗi tháng uống 1 viên.

Lưu ý: Người dưới 18 tuổi, người có hội chứng máu chậm đông, đang chảy máu, chuẩn bị phẫu thuật, cơn tăng huyết áp cấp, người xuất huyết não, phụ nữ trong kỳ kinh nguyệt, có thai, đang cho con bú, người có mẫn cảm với bất kỳ thành phần nào của thuốc không sử dụng.

### 1.4.4. Phân tích bài thuốc.

Trong bài Ngư hoàng, Thiên trúc hoàng, Thủy ngư giác có tác dụng trừ đàm, thanh nhiệt, khai khiếu, trừ nội phong, Trân châu có tác dụng an thần, giúp điều trị chứng mất ngủ, hội hợp là quân.

Đan sâm, Hồng hoa, có tác dụng hoạt huyết thông kinh, tán ứ giảm đau là thần.

Trâm hương điều khí, giảm đau hỗ trợ đan sâm, hồng hoa. Đông trùng hạ thảo ích tinh tủy, cầm máu chỉ định trong các trường hợp suy nhược thần kinh. Ngư tât hoạt huyết thông kinh, mạnh gân cốt, bổ can thận. Thạch học có tác dụng tư âm thanh nhiệt, ích vị sinh tân là tá.

Cam thảo, mật ong điều hòa vị thuốc dẫn thuốc vào các kinh lạc là sứ.

Bài thuốc có tác dụng thông kinh hoạt lạc, khai khiếu tỉnh thần, tán ứ huyết, bổ can thận.

## 1.5. TỔNG QUAN VỀ CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH VÀ Ý NGHĨA VỀ VIỆC NGHIÊN CỨU TÍNH AN TOÀN CỦA THUỐC YHCT

### 1.5.1. Thuốc y học cổ truyền và nguyên nhân tiến hành thử độc tính.

Thuốc y học cổ truyền có nguồn gốc phát triển lâu đời, gắn liền với lịch sử phát triển của dân tộc Việt Nam. Các danh y nổi tiếng như Tuệ Tĩnh, Hải Thượng Lãn Ông đã đặt nền móng vững chắc cho nền y học cổ truyền nước

nhà. Để nâng cao chất lượng thuốc y học cổ truyền, việc nghiên cứu tác dụng dược lý và ứng dụng lâm sàng là điều vô cùng quan trọng. Đáp ứng thị hiếu người tiêu dùng, các nhà sản xuất thuốc cổ truyền của Việt Nam đã cho ra đời hàng loạt các chế phẩm không qua thử nghiệm hoặc thử nghiệm không đầy đủ theo chuẩn từ nhiều dược liệu khác nhau, đa dạng phong phú về tên gọi, chủng loại, thành phần, tác dụng cũng như cách bào chế, giá cả tạo nên một thị trường thuốc từ dược liệu, thuốc đông y khó kiểm soát [57]. Vì vậy, việc nghiên cứu độc tính của các thuốc y học cổ truyền nhằm:

Đánh giá tính xác thực của thuốc (authenticity) với các tiêu chuẩn cảm quan, thực vật, hóa lý và nếu có thể cả tiêu chuẩn sinh học.

Đánh giá chất lượng thuốc thông qua việc xác định hàm lượng tạp chất, hàm lượng hoạt chất hoặc nhóm hoạt chất của dược liệu.

Đánh giá hiệu quả của quy trình bào chế thuốc y học cổ truyền.

Đánh giá độc tính, tác dụng điều trị, hỗ trợ điều trị của thuốc.

Các đánh giá khác tùy theo mục tiêu nghiên cứu.

## **1.5.2. Các phương pháp thử nghiệm độc tính cấp**

### **1.5.2.1. Mục tiêu:**

Thử độc tính cấp nhằm cung cấp thông tin cho việc xếp loại mức độ độc của thuốc; điều trị ngộ độc cấp; thiết lập mức liều cho những thử nghiệm độc tính tiếp theo [57]. Do vậy, các phép thử độc tính cấp cần xác định.

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 gần đúng (nếu có thể xác định được);

Những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục (nếu có).

### 1.5.2.2. Mô hình thử.

#### a) Nguyên tắc lựa chọn:

Tùy theo mục đích của mỗi nghiên cứu và loại mẫu thử và những thông tin sẵn có để lựa chọn mô hình thử thích hợp. Loài động vật gặm nhấm thường được sử dụng là chuột nhắt, chuột cống; loài không gặm nhấm có thể dùng là chó hoặc khỉ. Số nhóm và số lượng cho mỗi nhóm tùy theo mô hình áp dụng. [57]

Thử sơ bộ: Thường được thực hiện trong hầu hết các mô hình thử. Dựa vào kết quả trong thử nghiệm sơ bộ để lựa chọn, bố trí thử nghiệm chính thức. Với những trường hợp thông tin cho thấy mẫu thử hoặc các chất liên quan có thể không độc hoặc ít độc, có thể thử trên một loài động vật (gặm nhấm). Đối với các chế phẩm có độc cao hoặc có yêu cầu đặc biệt về khoa học, cần thiết thử trên hai loài động vật thực nghiệm (gặm nhấm và không gặm nhấm). [57]

Khuyến cáo: Để bảo vệ động vật, các mô hình sử dụng số ít động vật thí nghiệm được ưu tiên lựa chọn.

#### b) Mô hình liều cố định:

Nguyên tắc: Mô hình thử liều cố định được các nước thuộc Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế (OECD), áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 420). Thử nghiệm được thực hiện với các mức liều xác định 5, 50, 300, 2000, 5000mg/kg hay 1,0/kg động vật thực nghiệm. [57]

Lựa chọn liều thử đầu tiên liều thử trên một nhóm 5 động vật thực nghiệm. Thử nghiệm tiếp tục cho đến khi xác định mức độ độc dựa trên đáp ứng động vật thực nghiệm chết hoặc không và các triệu chứng ngộ độc, khả năng hồi phục quan sát được. [57]

Xác định giá trị LD50 gần đúng (nếu có). Phép thử phù hợp với tất cả trường hợp cần xác định độc tính cấp.

**c) Mô hình Tăng- Giảm:**

Nguyên tắc: Mô hình thử Tăng- Giảm được các nước thuộc Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế áp dụng và ban hành chính thức năm 2001 (OECD 425). Thử nghiệm được tiến hành trên các mức liều được tính theo hệ số bước nhảy liều, thực hiện lần lượt trên từng động vật thực nghiệm theo tiến trình tăng hoặc giảm liều và tiếp tục cho đến khi đạt điều kiện dừng lại. [57]

Đánh giá kết quả bằng quan sát các biểu hiện và triệu chứng ngộ độc theo qui định chung và tính giá trị LD50 gần đúng (nếu có) theo qui định riêng của phương pháp. Phương pháp này áp dụng phù hợp cho các chất có thể gây chết nhanh trong 1-2 ngày không phù hợp cho các chất gây chết từ từ trong 5 ngày hoặc hơn. Ngoài ra, có thể áp dụng phương pháp này trong trường hợp cần thử trên loài động vật không gặm nhấm. [57]

**d) Mô hình thử theo Behrens:**

Nguyên tắc: Mô hình được Behrens đề xuất từ năm 1929 với lập luận “Những con vật đã sống ở một mức liều thử nào đó thì sẽ sống với tất cả những mức liều thấp hơn và những con vật đã chết ở một mức liều sẽ chết ở tất cả các mức liều cao hơn”. [57]

**e) Mô hình theo Litchfield – wilcoxon:**

Nguyên tắc: Mô hình được Litchfield- Wilcoxon đề xuất năm 1949 sau khi xem xét, cải tiến và cố gắng khắc phục những hạn chế của một số phương pháp trước đó. Kết quả được ghi đồ thị trên giấy log- probit và được tính theo phương pháp toán đồ có hiệu chỉnh, do vậy cho kết quả chính xác hơn. Trước đây, phương pháp thường được áp dụng trong tính giá trị LD50 cho những chất có độc tính cao. [57]

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp Litchfield – Wilcoxon do có tính chính xác cao nhất. [57]

### **1.5.3. Các phương pháp thử nghiệm độc tính bán trường diễn**

#### **1.5.3.1. Mục tiêu:**

Thử độc tính dài ngày chỉ được tiến hành sau khi đã có thông tin về độc tính cấp trên động vật và mẫu thử được dự định sử dụng hoặc tiếp xúc dài ngày trên người [57].

Thử độc tính dài ngày nhằm xác định khả năng dung nạp của động vật thí nghiệm khi dùng mẫu thử nhiều lần. Thông tin cần xác định có những biểu hiện độc tính sau khi dùng dài ngày, bao gồm:

Mức liều không hoặc có gây thay đổi đáng kể tới chức năng, cơ quan hoặc một số biểu hiện sống có thể quan sát được trên động vật thí nghiệm;

Những độc tính có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục nếu có.

#### **1.5.3.2. Lựa chọn mô hình thử:**

Căn cứ vào các thông tin của mẫu thử và kết quả thử độc tính cấp để thiết kế mô hình, mức liều thử. [57]

Trường hợp mẫu thử không thể hiện độc tính cấp hoặc rất ít độc, có thể thử trên 1 loài động vật (gặm nhấm).

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

#### **1.5.3.3 Thời gian thử:**

Thời gian thử trên động vật được tính dựa theo thời gian dự kiến dùng trên người hoặc có thể thử với các khoảng thời gian xác định. Ngoài ra, thời gian thử còn phụ thuộc vào đích của thử nghiệm là cung cấp thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn nào. Khi cần thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn 1 hoặc 2, thời gian có thể ngắn hơn (14-28 ngày); khi cần cung cấp thông tin cho thử lâm sàng giai đoạn 3, thời gian thử cần dài hơn (28-90 ngày). Hiện nay, tài liệu hướng dẫn của các nước tham gia Hội nghị quốc tế về hài hòa các thủ tục đăng ký



được phẩm sử dụng cho con người (ICH), giới thiệu tính thời gian thử độc tính theo 2 cách:

Thời gian thử thuốc bằng 3-4 lần thời gian dự kiến dùng trên người.

Thời gian thử theo từng khoảng xác định: 14 ngày, 28 hoặc 90 ngày. Lựa chọn từng khoảng thời gian thử tùy theo yêu cầu từng mẫu và điều kiện thử nghiệm.

Đánh giá mức độ độc sẽ được xem xét trên báo cáo kết quả tương ứng với từng khoảng thời gian đã thử. [57]

#### **1.5.3.4. Liều dùng:**

Thuốc được dùng chủ yếu qua đường uống bằng dụng cụ chuyên biệt.

Mức liều thử phải được lựa chọn sao cho có ý nghĩa trong việc đánh giá về khả năng an toàn hay mức độ gây độc của mẫu thử khi dùng nhiều ngày trên động vật. Liều thử thường được tính từ các thông tin thu được từ thử độc tính cấp, và được quy đổi tương đương theo liều giữa các loài nếu thử trên loài khác nhau [58]. Với những nghiên cứu đầy đủ, thử nghiệm được thiết kế với 3 mức liều (tương đương 3 nhóm thử):

Liều thấp: mức liều đủ để mẫu thử có tác dụng dược lý hoặc điều trị (tức là tương đương mức liều dự kiến dùng để điều trị cho người);

Liều trung bình: mức liều có thể không gây những độc tính quan sát được hoặc gây ảnh hưởng không đáng kể;

Liều cao: mức liều dự kiến sẽ quan sát được biểu hiện ngộ độc trên cơ quan của động vật thực nghiệm hoặc đến mức thể tích giới hạn cao nhất mà động vật thực nghiệm có thể dùng được.

Thử nghiệm nên được tiến hành song song với 1 nhóm chứng trong cùng điều kiện với cùng số lượng động vật đã dùng trong nhóm thử.

Cho động vật dùng thuốc hàng ngày, 7 ngày/ tuần, trừ khi có chế độ liều đặc biệt.

Số động vật trên mỗi nhóm tùy theo loài 8-10 con (gặm nhấm); hoặc 2-4 con (không gặm nhấm). Việc dùng các động vật không gặm nhấm thường rất tốn kém, đặc biệt là các loài linh trưởng. Khi cần thử nghiệm trên động vật không gặm nhấm, đề cương cần được xem xét bởi Hội đồng khoa học hoặc khi có yêu cầu của cơ quan quản lý hoặc nhà sản xuất. [57]

#### **1.5.4. Các mô hình chống đông đã được sử dụng trên thế giới.**

##### **1.5.4.1 Mô hình gây đông máu bệnh lý bằng lipopolysaccharid trên chuột cống.**

Trước khi gây mô hình, chuột được uống nước cất và thuốc tương ứng. Tiêm Lipopolysaccharid tĩnh mạch đuôi, liều 3 mg/kg thể trọng với thể tích 0,5 mL/100g trọng lượng chuột để gây đông máu. Chuột được lấy máu tại các thời điểm trước tiêm Lipopolysaccharid 4h, 8h sau tiêm Lipopolysaccharid. Tất cả các mẫu được hòa loãng (tỷ lệ 1:9) với 4% natricitrat. [58], [59], [60].

##### **1.5.4.2. Mô hình gây đông máu bệnh lý trên thỏ bằng thrombin của Margaretten – MC Kay (1964):**

Tiêm tĩnh mạch rìa tai thỏ 1 lần dung dịch Thrombin, liều 15UI (tiêm chậm trong vòng 3 phút) sau đó cho thỏ uống thuốc chống đông.

Thể tích cho uống ở tất cả các lô là 5ml/kg/24h, chia đều 2 lần vào 8h sáng và 14h chiều. Cho thỏ uống liên tục trong 1 tuần. Tại các thời điểm trước khi tiêm thrombin (T0), sau tiêm 24h (T1), 72h (T2), 5 ngày (T3), 7 ngày (T4). Thỏ được lấy máu tĩnh mạch để xét nghiệm các chỉ tiêu đông máu. [61].

##### **1.5.4.3. Mô hình gây huyết khối đuôi chuột bằng k-Carrageenan.**

Mô hình này dựa trên cơ sở tăng đông máu, tổn thương nội mô và sự thay đổi lưu lượng máu bình thường. Việc thắt nút đơn giản để thay đổi lưu lượng máu ở chuột đã cải thiện đáng kể tần suất và dấu hiệu huyết khối sau khi tiêm K-carrageenan vào tĩnh mạch. Đặc biệt, tiêm 1 mg / kg K- carrageenan kết hợp với 10 phút thắt ở đuôi làm tăng tần suất huyết khối lên gần như 100% ở chuột cống [62]

#### **1.5.4.4. Mô hình huyết khối tĩnh mạch sâu ở khỉ đầu chó.**

Nghiên cứu này thiết lập một mô hình mới về huyết khối tĩnh mạch bằng cách ức chế hệ thống protein C kết hợp với ứ đọng tĩnh mạch và tổn thương tĩnh mạch tinh vi. Các con vật được quan sát trong khoảng thời gian 6 giờ vào ngày đầu tiên và sau đó trong khoảng thời gian từ 11 đến 15 ngày [63]

#### **1.5.4.5. Mô hình gây huyết khối động mạch cảnh bằng Ferric Chloride FeCl<sub>3</sub>.**

Trên thực tế có rất nhiều mô hình huyết khối khác nhau đã được phát triển trên chuột. Trong số đó, tổn thương mạch do clorua sắt (FeCl<sub>3</sub>) là một mô hình huyết khối tắc, được sử dụng rộng rãi báo cáo sự hoạt hóa và kết tập tiểu cầu trong bối cảnh hệ thống mạch kín vô trùng.

Mô hình này dựa trên tổn thương tế bào nội mô do oxy hóa khử, đơn giản và nhạy cảm với cả thuốc chống đông máu và thuốc chống tiểu cầu [64].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng mô hình gây đông máu bằng tiêm Lipopolysaccharid đuôi chuột của Wang B và cộng sự [58], là mô hình được sử dụng rộng rãi trên thế giới.

## CHƯƠNG 2

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

#### 2.1. CHẤT LIỆU NGHIÊN CỨU

Viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn do Công ty TNHH sản xuất và XNK Thực phẩm chức năng Asean sản xuất, Công ty Đông dược Việt Y Đường phân phối.



**Hình 2.1: Sản phẩm Trân châu ngư hoàng hoàn**

Lô sản xuất: 01062019. Ngày sản xuất: 28/06/2019. Hạn sử dụng 27/06/2022

Mỗi viên 1g chứa: Cao hỗn hợp 55mg tương đương:

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng	Tiêu chuẩn dược liệu
1	Thiên trúc hoàng	<i>Concretio Silicae Banthusa</i>	75mg	DĐVN V
2	Trầm hương	<i>Aquilaria agallocha</i>	75mg	DĐVN V
3	Hồng hoa	<i>Flos Carthami tinctorii</i>	75mg	DĐVN V
4	Ngưu hoàng	<i>Calculus Bovis artificialis</i>	71.06mg	DĐVN V
5	Đan sâm	<i>Radix et Rhizoma Salviae mitiorrhzae</i>	47.09mg	DĐVN V
6	Giáng hương	<i>Pterocarpus indicus</i>	47.09mg	DĐVN V
7	Trân châu	<i>Avicula martensii</i>	37.67mg	DĐVN V
8	Thủy ngưu giác	<i>Cornu bubali</i>	32.53mg	DĐVN V
9	Cam thảo	<i>Radix et Rhioma Glycyrrhica</i>	25mg	DĐVN V
10	Thạch斛	<i>Herba Dendrobii</i>	20mg	DĐVN V
11	Đông trùng hạ thảo	<i>Cordyceps sinensis</i>	15.41mg	DĐVN V
12	Ngưu tất	<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>	9,42mg	DĐVN V
	Mật ong	Vừa đủ 1 viên		

**Bảng 2.1: Thành phần sản phẩm**

Các vị thuốc được kiểm định đạt tiêu chuẩn dược liệu theo dược điển Việt nam V [58] và đạt tiêu chuẩn cơ sở. Liều dự kiến sử dụng trên người là 01 viên/ngày.

“Trân châu ngưu hoàng hoàn” 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, độc tính bán trường diễn và tác dụng chống đông trên động vật thực nghiệm.

**\*Hoá chất và máy móc sử dụng trong nghiên cứu:**

Rivaroxaban 20 mg, biệt dược Xarelto® của Công ty Bayer Health Care Pharmaceuticals.

Lipopolysaccharides from Escherichia coli 055 :B5 L2880-25MG của Sigma-Aldrich.

Thromborel® S (bao gồm thromboplastin và calci) của hãng Siemens, Đức được nhập khẩu bởi Công ty TNHH Sysmex Việt Nam;

Dade® Actin® FSL Activated PTT Reagent (bao gồm phospholipid) của hãng Siemens, Đức được nhập khẩu bởi Công ty TNHH Sysmex Việt Nam;

Dung dịch calci clorid nồng độ 0,025 mol/L của hãng Siemens, Đức được nhập khẩu bởi Công ty TNHH Sysmex Việt Nam.

Máy xét nghiệm đông máu bán tự động Sysmex CA-50 sản xuất tại Nhật Bản;

Dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LMG của hãng ABX - Diagnostics, định lượng trên máy Vet abc™ Animal Blood Counter.

Máy xét nghiệm sinh hóa bán tự động Erba Chem 5 V3 của Đức

Máy xét nghiệm huyết học ABX Micros ES 60 của Pháp.

Kít định lượng các enzym và chất chuyển hóa trong máu: ALT (alanin aminotransferase), AST (aspartat aminotransferase), bilirubin toàn phần, albumin, cholesterol toàn phần, creatinin của hãng Erba (Đức).

Các hóa chất xét nghiệm và làm tiêu bản mô bệnh học.

Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam.

Kim đầu tù cho chuột uống. Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml.

**2.2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.**

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

Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, khoẻ mạnh, cân nặng 180 - 220g do Cơ sở động vật thí nghiệm Đan Phượng – Hà Nội cung cấp.

Chuột được nuôi trong phòng thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Đại Học Y Hà Nội 5-10 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu bằng thức ăn chuẩn dành riêng cho chuột (do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương và Công ty liên doanh Guyomarc'h-VCN cung cấp), uống nước tự do.

### **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, bán trường diễn của Trân châu ngư hoàng hoàn.**

##### **2.3.1.1. Nghiên cứu độc tính cấp của Trân châu ngư hoàng hoàn**

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn trên chuột nhắt trắng theo đường uống [65], [66].

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm. Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể. Từ đó xây dựng đồ thị để xác định LD<sub>50</sub> của thuốc thử [67]. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn.

##### **2.3.1.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn đường uống trên chuột cống trắng hoàn.**

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn đường uống trên chuột cống trắng được tiến hành theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới về thuốc có nguồn gốc dược liệu [66].

Chuột cống trắng được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con ngẫu nhiên.

- Lô 1 (chứng sinh học) (n = 10): Uống dung môi pha thuốc 10mL/kg/ngày.
- Lô trị 1 (n = 10): Uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến trên người, tính theo hệ số 6) [68].
- Lô trị 2 (n = 10): Uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên /kg /ngày (gấp 3 lần lô trị 1).
- Chuột được uống nước hoặc thuốc thử trong 12 tuần liên tục, mỗi ngày một lần vào buổi sáng.

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

- Tình trạng chung, thể trọng của chuột cống trắng.
- Đánh giá chức phận tạo máu thông qua số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu.
- Đánh giá chức năng gan thông qua định lượng một số chất chuyển hoá trong máu: bilirubin toàn phần, albumin và cholesterol toàn phần.
- Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thông qua định lượng hoạt độ enzy trong máu: AST, ALT.
- Đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ creatinin huyết thanh.
- Các thông số theo dõi được kiểm tra vào trước lúc uống thuốc, sau 4 tuần, 8 tuần và sau 12 tuần uống thuốc.
- Mô bệnh học: Sau 12 tuần uống thuốc, chuột cống trắng được mổ để quan sát đại thể toàn bộ các cơ quan. Kiểm tra ngẫu nhiên cấu trúc vi thể gan, thận của 30% số chuột cống trắng ở mỗi lô. Các xét nghiệm vi thể được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu và phát hiện sớm ung thư (do PGS.TS. Lê Đình Roanh đọc kết quả vi thể).



### **2.3.2. Nghiên cứu tác dụng chống đông máu của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên mô hình gây đông bằng Lipopolysaccharid trên chuột cống trắng.**

Nghiên cứu sử dụng mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên chuột cống trắng của Wang B và cộng sự [58], tình trạng đông máu của chuột được gây ra bằng cách tiêm tĩnh mạch đuôi chuột dung dịch lipopolysaccharid với liều 3 mg/kg, tiêm chậm trong 3 phút.

Chuột thí nghiệm được chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con ngẫu nhiên.

- Lô 1 (chứng sinh học): uống nước cất + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột nước muối sinh lý.

- Lô 2 (mô hình): uống nước cất + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid.

- Lô 3: uống Rivaroxaban liều 3 mg/kg/lần/ ngày trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid.

- Lô 4: uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến dùng trên người, tính theo hệ số 6) trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid.

- Lô 5: uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến dùng trên người, tính theo hệ số 6) trong 7 ngày + tiêm tĩnh mạch đuôi chuột lipopolysaccharid.

- Chuột cống trắng được uống Trân châu ngư hoàng hoàn liên tục trong 7 ngày trước khi tiêm lipopolysaccharid để gây tình trạng đông máu.

\* Tại ngày thứ 7 của nghiên cứu:

- Lô 1: hai giờ sau khi uống nước cất lần cuối, chuột cống được tiêm tĩnh mạch đuôi nước muối sinh lý.

- Lô 2, 3, 4, 5: hai giờ sau khi uống nước cất/thuốc thử lần cuối, chuột cống được tiêm tĩnh mạch đuôi dung dịch lipopolysaccharid với liều 3 mg/kg, tiêm chậm trong 3 phút để gây đông máu.

\* Chuột cống ở tất cả các lô nghiên cứu được lấy máu vào thời điểm 4 giờ sau khi tiêm lipopolysaccharid để đánh giá các chỉ số nghiên cứu gồm:

- Số lượng tiểu cầu;
- Thời gian prothrombin (PTs), tỷ lệ prothrombin (PT%), PT-INR;
- Thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTTs), aPTTbệnh-chứng;
- Nồng độ fibrinogen.

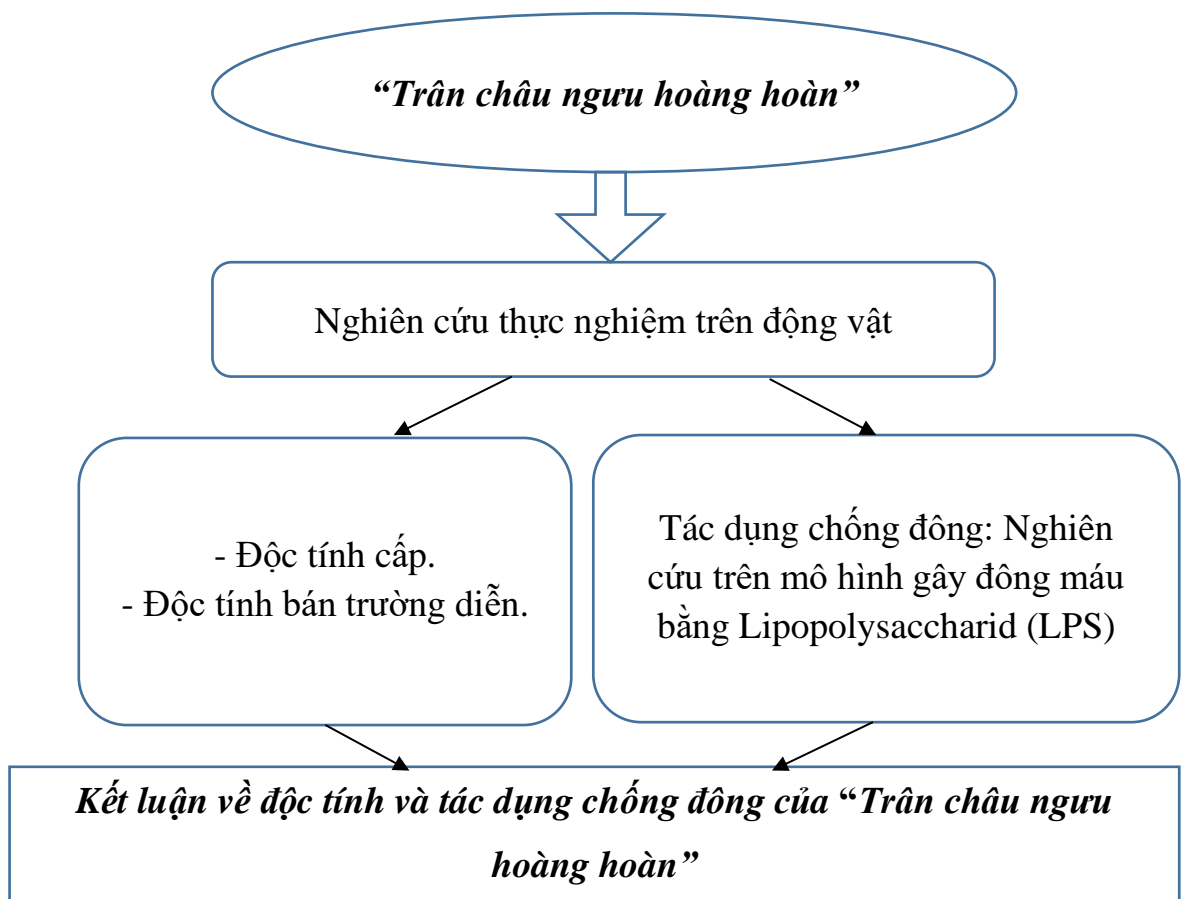
Các chỉ số nghiên cứu được so sánh giữa các lô.

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

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý - Đại học Y Hà Nội.

- Thời gian: Từ tháng 5/2021 đến tháng 9/2021

#### **2.5. Sơ đồ nghiên cứu.**



Sơ đồ 2.1. Mô hình nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng chống đông máu trên mô hình thực nghiệm của "Trân châu ngư hoàng hoàn".

## 2.6. Xử lý số liệu

### \* Độc tính cấp:

Các số liệu được xử lý thống kê theo thuật toán thống kê T-test Student bằng phần mềm Microsoft Excel.

### \* Độc tính bán trường diễn

Các số liệu nghiên cứu được thu thập và xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học theo t-test (Student) và test trước sau (Avant-après). Biểu diễn dưới dạng  $\bar{X} \pm SD$ . Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$

### \* Tác dụng chống đông:

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test Student và test trước - sau (Avant-après). Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

Quy ước:

Khác biệt so với lô chứng sinh học:  $\Delta p < 0,05$ ;  $\Delta\Delta p < 0,01$ ;  $\Delta\Delta\Delta p < 0,001$

Khác biệt so với lô mô hình: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

## 2.7. Sai số và cách không chế sai số

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

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

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

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

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

## 2.8. Đạo đức nghiên cứu.

Nghiên cứu này chỉ nhằm bảo vệ và nâng cao sức khỏe cho người bệnh ngoài ra không nhằm một mục đích nào khác.

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng đề cương của Học viện Y Dược

học cổ truyền Việt Nam.

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột nhắt trắng và chuột cống trắng, số lượng động vật sử dụng trong các mô hình thí nghiệm được hạn chế ở mức tối thiểu, đủ để thu được kết quả đảm bảo độ tin cậy và đủ xử lý thống kê.

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

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

### CHƯƠNG 3

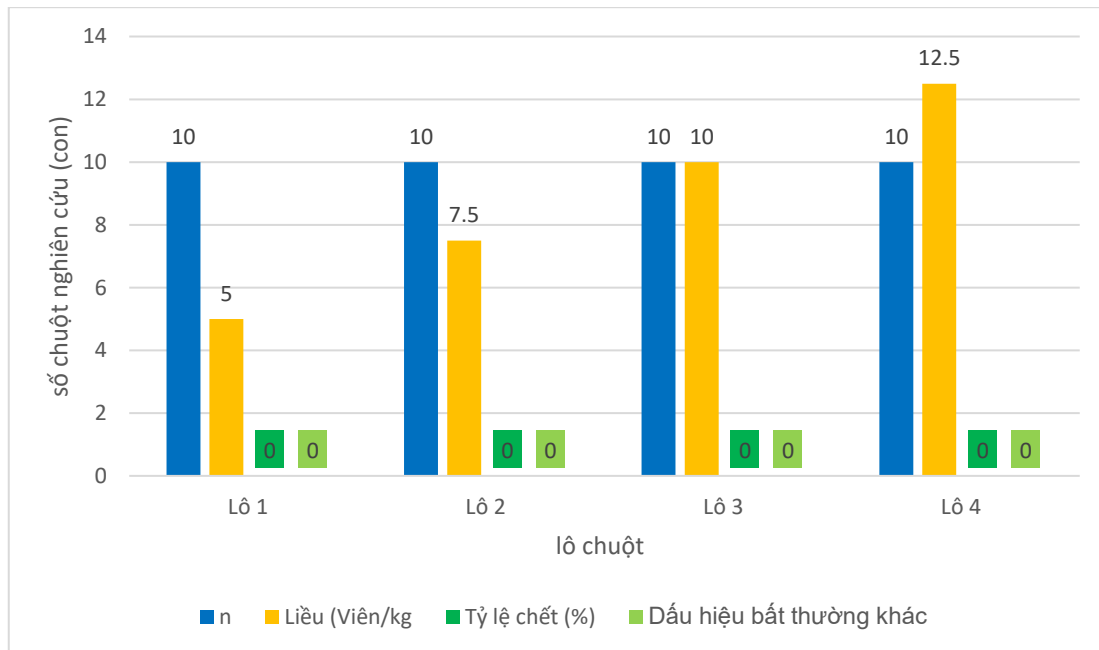
#### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn”

##### 3.1.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của “Trân châu ngư hoàng hoàn”

Chuột nhắt trắng được uống viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10 g, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc, theo dõi thấy các liều viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn không có biểu hiện gì, không xuất hiện triệu chứng bất thường nào trong 72 giờ sau uống thuốc thử và suốt 1 tuần sau uống thuốc thử. Kết quả được trình bày ở bảng 3.1.

**Biểu đồ 3.1: Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của “Trân châu ngư hoàng hoàn”**



**\*Nhận xét:**

Kết quả biểu đồ 3.1 cho thấy: các lô chuột uống viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn liều từ 5,0 viên/kg đến liều tối đa 12,5 viên/kg không có biểu hiện độc tính cấp, không có dấu hiệu bất thường. Từ đó tính được liều dung nạp

tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn là: 12,5 viên/kg.

### 3.1.2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên động vật thực nghiệm.

#### a. Tình trạng chung.

Trong thời gian thí nghiệm, chuột ở các lô hoạt động bình thường, ăn uống tốt, nhanh nhẹn, lông mượt, mắt sáng, phân khô.

#### b. Đánh giá sự thay đổi thể trọng chuột

**Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến thể trọng chuột**

Thời gian	Lô chứng		Lô trị 1		Lô trị 2		P (t-test)
	Trọng lượng (g) ( $\bar{X} \pm SD$ )	% tăng trọng lượng	Trọng lượng(g) ( $\bar{X} \pm SD$ )	% tăng trọng lượng	Trọng lượng(g) ( $\bar{X} \pm SD$ )	% tăng trọng lượng	
Trước uống thuốc	184,00 ± 24,59		189,00 ± 30,71		175,00 ± 25,93		
Sau 4 tuần uống thuốc	225,00 ± 47,67	↑22,3	208,00 ± 39,94	↑ 10,1	214,00 ± 38,64	↑ 22,2	> 0,05
p trước – sau	< 0,05		< 0,01		< 0,001		
Sau 8 tuần uống thuốc	245,00 ± 52,76	↑33,2	219,00 ± 36,65	↑15,9	212,00 ± 36,15	↑21,1	> 0,05
p trước – sau	< 0,001		< 0,001		< 0,01		
Sau 12 tuần uống thuốc	278,00 ± 38,24	↑51,1	244,00 ± 44,77	↑29,1	244,00 ± 34,71	↑ 39,4	> 0,05
p trước – sau	< 0,001		< 0,001		< 0,001		

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy: sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống thuốc thử, trọng lượng chuột ở cả 3 lô (lô chứng và 2 lô trị) đều tăng có ý nghĩa thống kê so với trước khi nghiên cứu. Mức tăng trọng lượng của chuột cống trắng ở các lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn ít hơn so với lô chứng sinh học, tuy nhiên không có sự khác biệt về với lô chứng sinh học ( $p > 0,05$ ).

**c. Đánh giá chức năng tạo máu**

**Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến số lượng hồng cầu trong máu chuột cống trắng**

Thời gian	Số lượng hồng cầu (T/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t-test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	9,75 ± 0,71	9,21 ± 0,72	9,20 ± 1,08	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	9,84 ± 0,83	8,97 ± 1,08	9,03 ± 1,03	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	9,87 ± 0,95	9,20 ± 0,37	9,91 ± 1,16	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	9,60 ± 0,87	8,97 ± 1,22	9,49 ± 0,85	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy: Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống thuốc thử, xét nghiệm đánh giá chức năng tạo máu về số lượng hồng cầu ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều tương đương liều dự kiến dùng lâm sàng

0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều gấp 3 lần lâm sàng 0,36 viên/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến hàm lượng huyết sắc tố trong máu chuột**

Thời gian	Hàm lượng huyết sắc tố (g/dl) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t-test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	13,50 $\pm$ 0,85	13,85 $\pm$ 0,62	13,73 $\pm$ 0,73	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	13,31 $\pm$ 1,37	12,70 $\pm$ 1,45	12,96 $\pm$ 1,14	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	12,74 $\pm$ 1,06	12,56 $\pm$ 1,61	13,43 $\pm$ 1,45	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	12,69 $\pm$ 1,45	12,49 $\pm$ 1,68	12,92 $\pm$ 0,94	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.4 cho thấy: Tại thời điểm sau 8 tuần và 12 tuần uống mẫu thử, ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) hàm lượng huyết sắc tố không có sự khác biệt so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).



**Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến hematocrit trong máu chuột**

Thời gian	Hematocrit (%) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t-test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	51,86 ± 2,26	49,02 ± 3,67	49,86 ± 7,24	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	49,50 ± 3,19	46,17 ± 3,98	46,10 ± 4,79	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	49,76 ± 4,17	46,93 ± 3,76	50,70 ± 6,07	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	48,77 ± 4,33	45,13 ± 3,92	48,71 ± 4,59	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.5 cho thấy: Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống thuốc thử, các xét nghiệm đánh giá hematocrit ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ )

**Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến thể tích trung bình hồng cầu trong máu chuột**

Thời gian	Thể tích trung bình hồng cầu ( fl ) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t- test )
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	53,60 ± 1,17	52,43 ± 1,87	52,88 ± 2,36	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	52,40 ± 2,76	51,20 ± 2,10	51,70 ± 1,83	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	51,40 ± 3,57	50,90 ± 2,77	51,70 ± 2,06	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	51,60 ± 4,36	51,60 ± 1,65	51,30 ± 1,64	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.6 cho thấy: sau 12 tuần uống mẫu thử, các xét nghiệm đánh giá thể tích trung bình hồng cầu ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa

**Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến số lượng bạch cầu trong máu chuột**

Thời gian	Số lượng bạch cầu (G/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t- test )
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	9,43 $\pm$ 2,37	8,69 $\pm$ 2,06	9,26 $\pm$ 2,48	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	9,85 $\pm$ 2,22	10,04 $\pm$ 2,47	9,04 $\pm$ 1,27	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	9,24 $\pm$ 2,30	8,52 $\pm$ 2,57	7,93 $\pm$ 1,80	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	9,81 $\pm$ 1,10	9,79 $\pm$ 3,13	9,20 $\pm$ 2,47	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.7 cho thấy: Sau 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, xét nghiệm đánh giá số lượng bạch cầu ở lô trị 1 (uống thuốc thử liều tương đương lâm sàng 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến công thức bạch cầu trong máu chuột**

Thời gian	Công thức bạch cầu ( $\bar{X} \pm SD$ )						P (t- test)
	Lô chứng		Lô trị 1		Lô trị 2		
	Lympho (%)	Trung tính (%)	Lympho (%)	Trung tính (%)	Lympho (%)	Trung tính (%)	
Trước uống thuốc	76,89 ± 6,63	8,11 ± 1,85	75,96 ± 4,89	9,13 ± 1,84	74,15 ± 1,28	7,15 ± 1,99	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	76,34 ± 8,84	8,56 ± 2,90	73,35 ± 6,36	10,74 ± 2,18	74,95 ± 4,93	8,76 ± 2,78	> 0,05
<b>p</b> (trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	73,44 ± 5,39	9,30 ± 3,00	70,25 ± 4,83	11,79 ± 3,13	74,04 ± 4,73	8,58 ± 1,73	> 0,05
<b>p</b> (trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	74,09 ± 6,68	9,59 ± 3,09	72,90 ± 3,40	9,60 ± 3,18	77,94 ± 7,69	7,57 ± 2,36	> 0,05
<b>p</b> (trước-sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét.**

Kết quả ở bảng 3.8 cho thấy: Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, công thức bạch cầu ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến số lượng tiểu cầu trong máu chuột**

Thời gian	Số lượng tiểu cầu (G/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t- test )
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	567,20 ± 109,16	682,70 ± 75,87	562,50 ± 88,78	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	584,90 ± 96,38	654,00 ± 70,17	595,70 ± 98,87	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	654,90 ± 102,76	662,10 ± 92,28	586,10 ± 119,31	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	628,10 ± 110,43	685,50 ± 88,18	615,50 ± 94,53	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.9 cho thấy: Sau 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, số lượng tiểu cầu ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa các thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

**d. Đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan**

**Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến hoạt độ AST (GOT) trong máu chuột**

Thời gian	Hoạt độ AST (UI/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t-test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	105,80 ± 29,17	103,30 ± 11,75	96,20 ± 14,82	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	87,40 ± 22,16	96,30 ± 22,75	82,50 ± 14,08	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	90,20 ± 19,15	82,90 ± 25,04	82,50 ± 13,73	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	81,50 ± 23,02	88,70 ± 14,89	95,10 ± 26,11	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.10 cho thấy: Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, xét nghiệm đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan thông qua hoạt độ AST trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến hoạt độ ALT (GPT) trong máu chuột**

Thời gian	Hoạt độ ALT (UI/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t-test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	49,30 $\pm$ 12,37	43,30 $\pm$ 4,30	38,30 $\pm$ 7,20	> 0,05
Sau 4 tuần uống thuốc	49,60 $\pm$ 18,73	45,50 $\pm$ 12,54	39,30 $\pm$ 5,81	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	49,70 $\pm$ 14,90	40,00 $\pm$ 5,72	42,40 $\pm$ 5,64	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	39,40 $\pm$ 12,19	40,10 $\pm$ 9,37	45,70 $\pm$ 9,68	> 0,05
p (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.11 cho thấy: Sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, xét nghiệm đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan (hoạt độ ALT trong máu chuột) ở lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

e. Đánh giá chức năng gan.

**Bảng 3.12. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột**

Thời gian	Bilirubin toàn phần(mmol/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t- test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	13,34 $\pm$ 0,54	13,59 $\pm$ 0,31	13,52 $\pm$ 0,39	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	13,42 $\pm$ 0,40	13,53 $\pm$ 0,34	13,44 $\pm$ 0,39	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	13,40 $\pm$ 0,41	13,31 $\pm$ 0,38	13,22 $\pm$ 0,84	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	13,40 $\pm$ 0,54	13,39 $\pm$ 0,31	13,54 $\pm$ 0,48	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.12 cho thấy: Sau 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, xét nghiệm đánh giá chức năng gan nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).



**Bảng 3.13. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ albumin trong máu chuột**

Thời gian	Albumin (g/dl) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t-test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	3,59 ± 0,24	3,57 ± 0,26	3,45 ± 0,26	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	3,43 ± 0,32	3,27 ± 0,41	3,40 ± 0,20	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	3,39 ± 0,30	3,24 ± 0,45	3,18 ± 0,28	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	3,33 ± 0,29	3,28 ± 0,28	3,34 ± 0,36	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.13 cho thấy: Xét nghiệm đánh giá chức năng gan nồng độ albumin trong máu chuột ở lô trị 1 và lô trị 2 không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử 12 tuần ( $p > 0,05$ )

**Bảng 3.14. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột**

Thời gian	Cholesterol toàn phần (mmol/l) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t- test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	1,81 ± 0,22	1,87 ± 0,21	1,97 ± 0,19	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	1,65 ± 0,23	1,69 ± 0,24	1,82 ± 0,25	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	1,64 ± 0,38	1,63 ± 0,35	1,76 ± 0,30	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	1,86 ± 0,39	1,63 ± 0,30	2,02 ± 0,28	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.14 cho thấy: Tại thời điểm sau 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, xét nghiệm đánh giá chức năng gan nồng độ cholesterol toàn phần trong máu chuột cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử 12 tuần ( $p > 0,05$ ).

## f. Đánh giá chức năng thận.

**Bảng 3.15.Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ creatinin trong máu chuột**

Thời gian	Creatinin (mg/dl) ( $\bar{X} \pm SD$ )			p (t- test)
	Lô chứng	Lô trị 1	Lô trị 2	
Trước uống thuốc	0,81 ± 0,22	0,81 ± 0,14	0,80 ± 0,15	> <b>0,05</b>
Sau 4 tuần uống thuốc	0,88 ± 0,18	0,80 ± 0,14	0,88 ± 0,15	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 8 tuần uống thuốc	0,72 ± 0,11	0,81 ± 0,15	0,85 ± 0,19	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Sau 12 tuần uống thuốc	0,74 ± 0,13	0,84 ± 0,11	0,86 ± 0,17	> <b>0,05</b>
<b>p</b> (trước - sau)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.15 cho thấy: Sau 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 244,8 mg/kg/ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày), nồng độ creatinin trong máu chuột không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử ( $p > 0,05$ ).

### g. Hình ảnh đại thể và vi thể cơ quan sau 12 tuần nghiên cứu

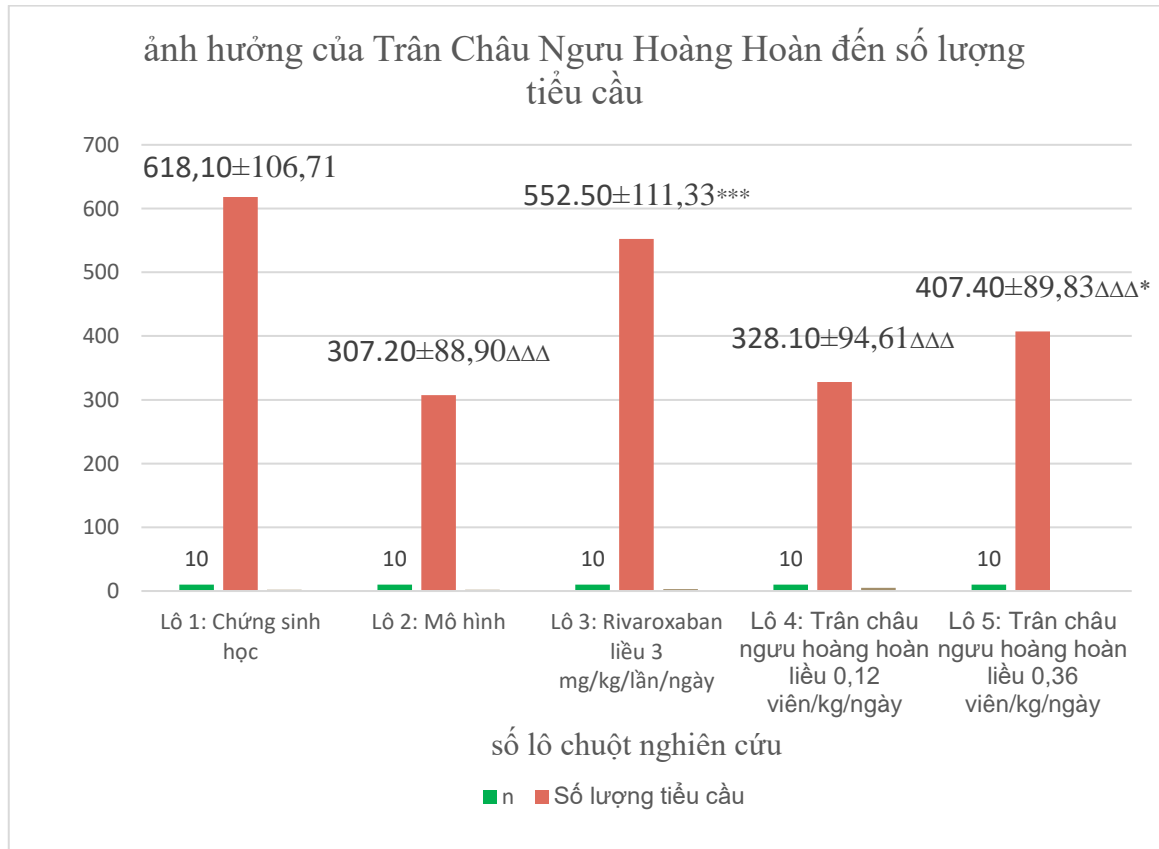
- Hình ảnh đại thể: Trên tất cả các chuột nghiên cứu (lô chứng và 2 lô trị), không quan sát thấy có thay đổi bệnh lý nào về mặt đại thể của các cơ quan: tim, phổi, gan, lách, tụy, thận và hệ thống tiêu hóa của chuột

- Hình ảnh vi thể gan chuột: Tất cả các mẫu bệnh phẩm, tế bào gan có cấu trúc bình thường.

- Hình ảnh vi thể thận chuột: Thận có cấu trúc bình thường. Các cầu thận không có biến đổi của màng đáy và gian mạch cầu thận. Các tế bào ống thận không có tổn thương (Ảnh chụp minh họa được trình bày ở phụ lục 3)

### 3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống đông máu của Trân châu ngư hoàng hoàn trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm

**Biểu đồ 3.16. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến số lượng tiểu cầu.**



Khác biệt so với lô chứng sinh học:  $\Delta p < 0,05$ ;  $\Delta\Delta p < 0,01$ ;  $\Delta\Delta\Delta p < 0,001$

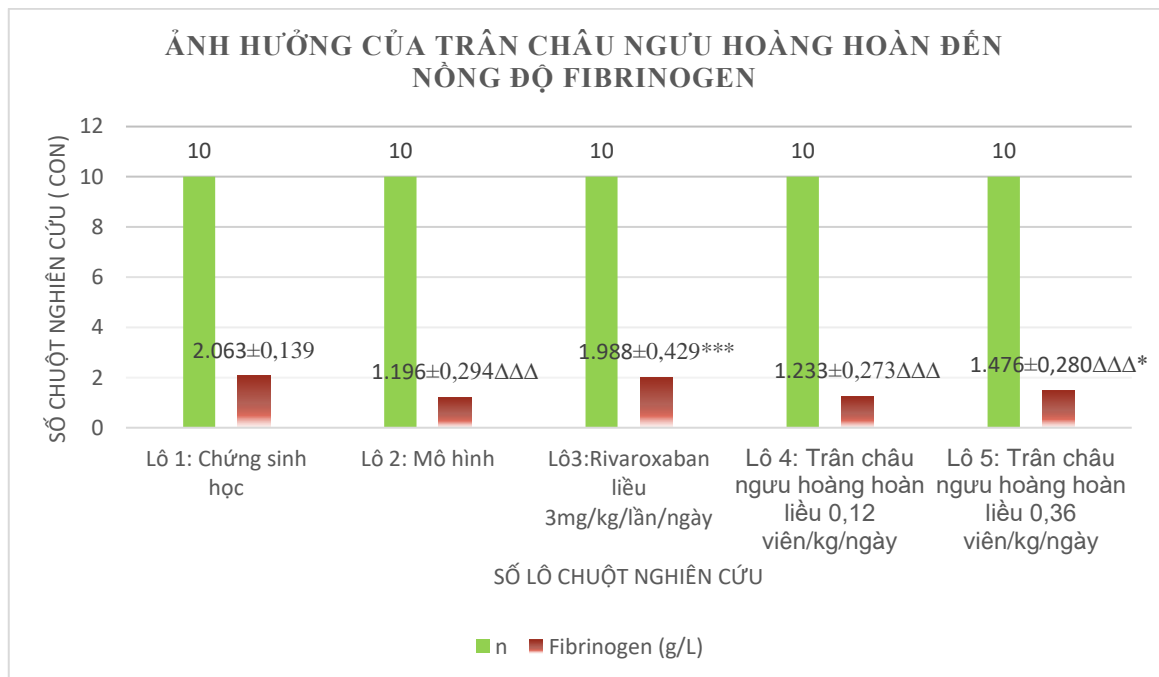
Khác biệt so với lô mô hình: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở biểu đồ 3.16 cho thấy:

- Số lượng tiểu cầu của chuột ở lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .
- Số lượng tiểu cầu của chuột ở lô uống Rivaroxaban liều 3mg/kg/lần/ngày tăng rõ rệt so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . Số lượng tiểu cầu của chuột lô uống Rivaroxaban không khác biệt so với lô chứng sinh học ( $p > 0,05$ ).
- Số lượng tiểu cầu của chuột ở lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Số lượng tiểu cầu của chuột ở lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**Biểu đồ 3.17. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến nồng độ fibrinogen**



*Khác biệt so với lô chứng sinh học:  $\Delta p < 0,05$ ;  $\Delta\Delta p < 0,01$ ;  $\Delta\Delta\Delta p < 0,001$*

*Khác biệt so với lô mô hình: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$*

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở biểu đồ 3.17 cho thấy:

- Nồng độ fibrinogen của chuột ở lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .
- Nồng độ fibrinogen của chuột ở lô uống Rivaroxaban liều 3mg /kg/lần /ngày tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . Nồng độ fibrinogen của chuột lô uống Rivaroxaban không khác biệt so với lô chứng sinh học ( $p > 0,05$ )
- Nồng độ fibrinogen của chuột ở lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Nồng độ fibrinogen của chuột ở lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

**Bảng 3.18. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến thời gian prothrombin (PTs), tỷ lệ prothrombin (PT %) và prothrombin-INR (PT-INR)**

<b>Lô nghiên cứu</b>	<b>n</b>	<b>PTs (<math>\bar{X} \pm SD</math>)</b>	<b>PT% (<math>\bar{X} \pm SD</math>)</b>	<b>PT-INR (<math>\bar{X} \pm SD</math>)</b>
Lô 1: Chứng sinh học	10	8,38 ± 0,45	206,19 ± 24,20	0,72 ± 0,04
Lô 2: Mô hình	10	9,61 ± 1,17	158,03 ± 38,50	0,83 ± 0,10
<i>p<sub>2-1</sub></i>		< 0,01	< 0,01	< 0,01
Lô 3: Rivaroxaban liều 3 mg/kg/lần/ngày	10	12,17 ± 1,81	96,76 ± 32,00	1,05 ± 0,16
<i>p<sub>3-2</sub></i>		< 0,01	< 0,01	< 0,01
Lô 4: Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày	10	9,96 ± 1,11	145,83 ± 38,33	0,86 ± 0,10
<i>p<sub>4-2</sub></i>		> 0,05	> 0,05	> 0,05
Lô 5: Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày	10	11,30 ± 1,59	113,75 ± 36,94	0,97 ± 0,14
<i>p<sub>5-2</sub></i>		< 0,05	< 0,05	< 0,05

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.18 cho thấy:

- Lô mô hình: PTs kéo dài, PT-INR tăng và PT% giảm so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ).
- Lô uống Rivaroxaban liều 3 mg/kg/lần/ngày: PTs kéo dài, PT-INR tăng và PT% giảm so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ).
- Lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày: PTs kéo dài, PT-INR tăng và PT% giảm so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).
- Lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày: PTs kéo dài, PT-INR tăng và PT% giảm so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).



**Bảng 3.19. Ảnh hưởng của Trân châu ngư hoàng hoàn đến thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTTs) và aPTT<sub>bệnh-chứng</sub>**

Lô nghiên cứu	n	aPTTs ( $\bar{x} \pm SD$ )	Aptt <sub>bệnh-chứng</sub> ( $\bar{X} \pm SD$ )
Lô 1: Chứng sinh học	10	20,27 ± 1,47	0,75 ± 0,06
Lô 2: Mô hình	10	25,11 ± 5,26	0,93 ± 0,20
<i>p so với lô 1</i>		< 0,05	< 0,05
Lô 3: Rivaroxaban liều 3 mg/kg/lần/ngày	10	34,15 ± 8,38	1,27 ± 0,31
<i>p so với lô 2</i>		< 0,01	< 0,01
Lô 4: Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày	10	28,84 ± 4,74	1,08 ± 0,17
<i>p so với lô 2</i>		> 0,05	> 0,05
Lô 5: Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày	10	30,36 ± 4,78	1,13 ± 0,18
<i>p so với lô 2</i>		< 0,05	< 0,05

**\*Nhận xét:**

Kết quả ở bảng 3.19 cho thấy:

- Lô mô hình: aPTTs kéo dài và aPTT<sub>bệnh-chứng</sub> tăng so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).
- Lô uống Rivaroxaban liều 3 mg/kg/lần/ngày: aPTTs kéo dài và aPTT<sub>bệnh chứng</sub> tăng so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ).
- Lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày: aPTTs kéo dài và aPTT<sub>bệnh-chứng</sub> tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).
- Lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày: aPTTs kéo dài và aPTT<sub>bệnh-chứng</sub> tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ).

## **CHƯƠNG 4**

### **BÀN LUẬN**

#### **4.1. Về độc tính cấp, bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn”**

Trân châu ngư hoàng hoàn là chế phẩm y học cổ truyền có nguồn gốc từ phương “Viên bổ trân châu hoàn” thuộc Công thức bào chế kinh điển của Y học Tây Tạng ở thế kỷ thứ 8 sau Công nguyên, được xuất bản lần đầu tiên trong kiệt tác y học cổ điển của Tây Tạng "Tứ Bộ Y Điển". Tuy nhiên hiện tại ở Việt Nam chưa có nghiên cứu về độc tính cấp, bán trường diễn “Trân châu ngư hoàng hoàn”. Do vậy “Trân châu ngư hoàng hoàn” cần được xác định độc tính để đảm bảo an toàn cho việc nghiên cứu tiếp theo.

##### **4.1.1. Độc tính cấp của “Trân châu ngư hoàng hoàn”**

Độc tính cấp là độc tính xảy ra sau khi dùng thuốc một lần hoặc vài ba lần trong ngày [65].

Nghiên cứu độc tính cấp của viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn được tiến hành bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon.

Kết quả nghiên cứu cho thấy: các lô chuột uống viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn liều từ 30 ml/kg tương đương 5,0 viên/kg đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 12,5 viên/kg không có biểu hiện độc tính cấp. Từ đó tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn là: 12,5 viên/kg.

Với dược liệu có liều chết LD50 gấp trên 10 lần điều trị được xem là có khoảng an toàn điều trị tốt [65]. Tuy nhiên trong nghiên cứu này chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng của Trân châu ngư hoàng hoàn theo đường uống do không có chuột chết trong quá trình nghiên cứu.

Như vậy, Trân châu ngư hoàng hoàn có tính an toàn cao, khoảng an toàn điều trị rộng với liều dùng trên lâm sàng theo hướng dẫn của WHO [66].

#### **4.1.2. Độc tính bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn”**

##### **a. Ảnh hưởng lên tình trạng chung, thể trọng của chuột.**

Qua theo dõi chuột được uống Trân châu ngư hoàng hoàn và dung môi liên tục trong 12 tuần, chuột ở cả lô chứng và 2 lô trị đều hoạt động bình thường, nhanh nhẹn, mắt sáng, lông mượt, ăn uống tốt, phân khô. Kết quả bảng 3.2 cho thấy:

- Trọng lượng chuột ở cả 3 lô (lô chứng và 2 lô trị) đều tăng có ý nghĩa thống kê so với trước khi nghiên cứu. Điều này phù hợp với sinh lý phát triển của chuột trong điều kiện nuôi nhốt và được nuôi ăn bằng công cụ và khẩu phần chuyên dụng.

- Mức tăng trọng lượng của chuột cống trắng ở các lô uống Trân châu ngư hoàng hoàn ít hơn so với lô chứng sinh học, tuy nhiên không có sự khác biệt về với lô chứng sinh học.

Nếu cân nặng chuột giảm đi hoặc thể trạng chung thay đổi trong quá trình nghiên cứu thì có thể là hậu quả của sự tác động của thuốc thử. Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy Trân châu ngư hoàng hoàn trên liều tương đương liều lâm sàng trên người (liều 0,12 viên/kg/ngày, tính theo hệ số 6) và liều gấp 3 (liều 0,36 viên/kg/ngày) đều không có ảnh hưởng đến tình trạng chung và trọng lượng của chuột.

##### **b. Đánh giá chức phận tạo máu của chuột nghiên cứu.**

Máu là một tổ chức rất quan trọng vì máu liên quan mật thiết với mọi bộ phận, cơ quan trong cơ thể. Về mặt bệnh lý, máu chịu ảnh hưởng của tất cả các tổ chức đó nhưng đồng thời cũng bị ảnh hưởng và phản ánh tình trạng riêng của cơ quan tạo máu [69]. Nếu thuốc có ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu thì trước hết các thành phần của máu sẽ bị thay đổi, đặc biệt thường làm giảm số lượng các tế bào máu.

Huyết sắc tố trong hồng cầu có nhiệm vụ tiếp nhận oxy khi qua phổi và nhường lại lượng oxy đó cho các tế bào khi qua các mao mạch. Định lượng

huyết sắc tố cho biết rõ chức năng của hồng cầu. Thể tích trung bình hồng cầu phản ánh đặc điểm của tình trạng thiếu máu [70]. Hematocrit là tỷ lệ % giữa khối hồng cầu và máu toàn phần. Nếu thuốc làm thay đổi làm số lượng hồng cầu hoặc làm mất nước hay ứ nước trong tế bào máu thì chỉ số này sẽ thay đổi.

Vì vậy, các xét nghiệm về số lượng hồng cầu, thể tích trung bình hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu của chuột thí nghiệm được xác định. Kết quả từ các bảng từ 3.3 đến 3.9 đều cho thấy các chỉ số trên của chuột ở cả hai lô trị đều không có thay đổi có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) so với trước khi sử dụng Trân châu ngư hoàng hoàn và so với lô chứng ở cùng thời điểm. Như vậy, Trân châu ngư hoàng hoàn không gây ảnh hưởng đến chức phận tạo máu của chuột nghiên cứu.

### **c. Đánh giá mức độ tổn thương gan của chuột nghiên cứu.**

Trong cơ thể gan là cơ quan đảm nhận nhiều chức năng rất quan trọng. Khi đưa thuốc vào cơ thể có thể gây độc với gan, làm ảnh hưởng đến chức năng gan. Vì vậy, khi đánh giá độc tính của thuốc thì nghiên cứu ảnh hưởng của thuốc đối với chức năng gan là rất cần thiết [71]. Để đánh giá mức độ tổn thương tế bào gan, người ta thường định lượng hoạt độ các enzym có nguồn gốc tại gan có trong huyết thanh. Sự tăng nồng độ các enzym này thường gắn liền với độc tính của thuốc do sự hủy hoại tế bào gan.

ALT là enzym có nhiều nhất ở gan, chúng khu trú trong bào tương của tế bào nhu mô gan. Khi tổn thương hủy hoại tế bào gan, thậm chí chỉ cần thay đổi tính thấm của màng tế bào gan, nồng độ ALT đã tăng cao. Khác với ALT, đa số AST khu trú trong ty thể, chỉ 1/3 AST khu trú ở bào tương của tế bào. Khi tổn thương tế bào gan ở mức độ dưới tế bào, AST trong ty thể được giải phóng ra ngoài. Vì vậy, trong viêm gan nói chung nồng độ ALT luôn tăng cao hơn AST [71]

Kết quả ở bảng 3.10 và 3.11 cho thấy: nồng độ 2 enzym này không tăng trong huyết thanh của các chuột trong 2 lô trị tại các thời điểm sau 4 tuần, 8 tuần, 12 tuần uống thuốc liên tục so với lô chứng và so với trước uống thuốc, chứng tỏ Trân châu ngư hoàng hoàn không gây tổn thương tế bào gan của chuột.

#### **d. Đánh giá chức năng gan của chuột nghiên cứu.**

Một chức năng quan trọng của gan phải kể đến là chức năng tiết mật. Gan tạo ra mật, bài tiết mật vào tá tràng, tham gia vào quá trình tiêu hoá. Xét nghiệm bilirubin trong máu để thăm dò chức năng bài tiết và chuyển hoá mật của gan thường chính xác nhất và dễ thực hiện [71], [72].

Kết quả bảng 3.12 cho thấy: sau 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, xét nghiệm đánh giá chức năng gan nồng độ bilirubin toàn phần trong máu chuột ở cả lô trị 1 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg / ngày) và lô trị 2 (uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày) đều không có sự khác biệt có ý nghĩa so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử. Điều này cho thấy Trân châu ngư hoàng hoàn không ảnh hưởng đến chức năng bài tiết và chuyển hoá mật của gan khi sử dụng với liều tương đương liều lâm sàng trên người (liều 0,12 viên/kg/ngày, tính theo hệ số 6) và liều gấp 3 (liều 0,36 viên/kg/ngày).

Chuyển hoá các chất nội sinh và ngoại sinh là một trong những chức năng quan trọng của gan. Gan có một hệ thống các enzym chuyển hoá rất phong phú cho quá trình tổng hợp và thoái hoá protein, lipid... [71], [72]. Tại gan, các acid amin đã được tổng hợp thành albumin, một số globulin, một số yếu tố đông máu. Định lượng albumin trong máu sẽ đánh giá được một phần chức năng chuyển hoá protein của gan. Ngoài chuyển hoá protein gan còn có chức năng chuyển hoá lipid. Cholesterol là một thành phần của mật, được gan tổng hợp, ester hoá và thải ra ngoài. Vì vậy, có thể dùng xét nghiệm định lượng cholesterol để đánh giá chức năng chuyển hoá lipid của gan.

Kết quả ở bảng 3.13 và 3.14 cho thấy hàm lượng albumin và cholesterol trong máu của chuột ở hai lô trị không có sự khác biệt có ý nghĩa sau 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn so với trước khi uống và so với lô chứng. Chứng tỏ khả năng chuyển hoá protein và lipid của gan không bị ảnh hưởng khi uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều tương đương liều lâm sàng trên người) và 0,36 viên/kg/ngày (liều gấp 3).

#### **e. Đánh giá chức năng thận của chuột nghiên cứu.**

Thận là cơ quan bài tiết của cơ thể. Nhu mô thận rất dễ bị tổn thương bởi các chất nội sinh và ngoại sinh [71], [72]. Vì vậy, khi đưa thuốc vào cơ thể thuốc có thể gây độc, làm tổn thương thận, từ đó ảnh hưởng đến chức năng thận.

Đánh giá chức năng thận sau khi dùng thuốc, thường dùng xét nghiệm định lượng creatinin máu. Creatinin là thành phần đạm trong máu ổn định nhất, hầu như không phụ thuộc vào chế độ ăn hoặc những thay đổi sinh lý mà chỉ phụ thuộc vào khả năng đào thải của thận [73]. Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin máu tăng sớm hơn ure. Creatinin máu là chỉ tiêu tin cậy và quan trọng hơn ure máu, nên hiện nay dùng để đánh giá và theo dõi chức năng thận. Kết quả ở bảng 3.15 cho thấy sau 12 tuần uống Trân châu ngư hoàng hoàn, ở cả lô trị 1 (liều 0,12 viên/kg/ngày) và lô trị 2 (liều 0,36 viên/kg/ngày), nồng độ creatinine trong máu chuột không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng và so sánh giữa hai thời điểm trước và sau khi uống thuốc thử.

Như vậy, chức năng lọc của cầu thận của chuột không bị ảnh hưởng khi uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều tương đương liều lâm sàng trên người) và 0,36 viên/kg/ngày (liều gấp 3).

#### **4.2. Về tác dụng chống đông máu của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên mô hình gây đông bằng lipopolysacchrid trên động vật thực nghiệm.**

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp tiêm lipopolysaccharid tĩnh mạch đuôi chuột để gây mô hình đông máu, là phương

pháp có độ tin cậy cao, thường được dùng để gây ra đông máu rải tác trong lòng mạch. Lipopolysaccharide (LPS) là một nội độc tố nằm trong lớp màng ngoài của vách vi khuẩn Gram âm, thường được xem là yếu tố chính chịu trách nhiệm trong quá trình gây nên sốc nhiễm trùng huyết. Lipopolysaccharid gây đông máu thông qua con đường đông máu ngoại sinh và nội sinh, tiêu thụ nguyên liệu của cả hai con đường, dẫn đến ảnh hưởng đến cả PTs cũng như aPTT(s). [58], [74]

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn Rivaroxaban là thuốc chống đông, do Rivaroxaban ức chế trực tiếp và chọn lọc cao yếu tố đông máu Xa, qua đó làm gián đoạn các con đường nội sinh và ngoại sinh của quá trình đông máu, từ đó ức chế hình thành thrombin và sự phát triển của huyết khối. Đồng thời, Rivaroxaban cũng có tác dụng chống đông ổn định hơn Warfarin khi dùng đường uống [75].

Quá trình đông máu do Lipopolysaccharid gây ra chủ yếu được hình thành bởi Lipid A, thành phần gây độc của phân tử LPS, gây nên sự giải phóng hàng loạt các cytokine gây viêm và hoạt hóa hệ thống bổ thể và con đường đông máu.

Khởi động cho cơ chế đông máu là sự hình thành phức hợp prothrombinase theo hai cơ chế ngoại sinh và nội sinh. Cơ chế ngoại sinh xuất hiện nếu có chấn thương thành mạch hoặc các mô kế cận. Cơ chế nội sinh xuất hiện nếu có chấn thương máu hoặc máu lấy ra ngoài cơ thể từ lòng mạch. Trong cả hai cơ chế nội sinh và ngoại sinh có một loạt protein huyết tương (đặc biệt là  $\alpha_2$ -globulin) đóng vai trò rất quan trọng. Đó là các yếu tố gây đông máu của huyết tương. Hầu hết các yếu tố này là các enzym ở dạng không hoạt động. Khi chuyển thành hoạt động, chúng gây ra các phản ứng hoá sinh liên tiếp nhau của quá trình đông máu.

Tiếp đó, Khi phức hợp prothrombinase hình thành nó sẽ chuyển prothrombin thành thrombin. Thrombin sau khi được hình thành sẽ chuyển

fibrinogen thành fibrin đơn phân. Các fibrin đơn phân tự trùng hợp thành fibrin ở dạng sợi. Một mạng lưới fibrin đã hình thành và được ổn định nhờ yếu tố XIII. Giai đoạn này cũng có sự tham gia của các ion  $Ca^{++}$ . Các tế bào máu được giữ lại trên lưới fibrin và tạo nên cục máu đông. Chính mạng lưới này dính vào vị trí tổn thương của thành mạch để ngăn cản sự chảy máu.

Cuối cùng, tiểu cầu có tác dụng gắn các sợi fibrin lại với nhau và ổn định vững chắc fibrin. Tiểu cầu bám trên lưới fibrin, khi co rút nó làm cho lưới fibrin co theo, đồng thời với sự giải phóng yếu tố 8 của tiểu cầu làm cho cục máu đông co càng mạnh hơn.

Vì vậy, có thể dùng xét nghiệm định lượng tiểu cầu, nồng độ fibrinogen, thời gian prothrombin (PTs), tỷ lệ prothrombin (PT%) và prothrombin-INR (PT-INR), thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (aPTTs) là các xét nghiệm kinh điển để đánh giá hiệu quả chống đông máu của Trâm châu ngư hoàng hoàn trên chuột.

\* Kết quả ở các bảng từ 3.16 đến 3.19 cho thấy:

- Số lượng tiểu cầu của chuột ở lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .
- Nồng độ fibrinogen của chuột ở lô mô hình giảm rõ rệt so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$
- PTs kéo dài, PT-INR tăng và PT% giảm so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê
- aPTTs kéo dài và aPTT<sub>bệnh-chứng</sub> tăng so với lô chứng sinh học, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Điều này có nghĩa là lipopolysaccharid đã gây các cục máu đông rải rác trong nội mạch, gây nên các hiện tượng:
  - + Gây kết tập tiểu cầu và giảm lượng tiểu cầu tự do trong máu chuột.
  - + Tỷ lệ % Prothrombin giảm do được prothrombinase chuyển thành thrombin.
  - + Nồng độ Fibrinogen giảm do được thrombin chuyển thành fibrin đơn



phân.

- PTs kéo dài, PT-INR tăng, aPTTs kéo dài do rối loạn đông máu làm tiêu thụ các yếu tố đông máu hoạt động theo đường ngoại sinh. So sánh với kết quả nghiên cứu Hideaki Matsuda và Wang B thực hiện trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid đều cho kết quả tương tự. [58], [76]

\* Kết quả nghiên cứu cho thấy:

Ở các lô chứng dương uống Rivaroxaban: số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen tăng cao rõ rệt so với lô mô hình với  $p < 0,001$ , tuy nhiên:

PTs vẫn tiếp tục kéo dài, PT-INR vẫn tăng, PT% giảm với  $p < 0,01$ .

aPTTs vẫn kéo dài và aPTT<sub>bệnh-chứng</sub> vẫn tăng so với lô mô hình,  $p < 0,01$ .

Như vậy, Rivaroxaban trong nghiên cứu này chỉ có tác dụng dự phòng chống kết tập tiểu cầu và ức chế hình thành fibrin.

Ở các lô trị 1 uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều tương đương liều lâm sàng trên người): số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen của chuột có xu hướng tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ )

PTs kéo dài, PT-INR tăng và PT% giảm so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

aPTTs kéo dài và aPTT<sub>bệnh-chứng</sub> tăng so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Như vậy, Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều tương đương liều lâm sàng trên người) có xu hướng chống kết tập tiểu cầu và ức chế hình thành fibrin, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê

Ở các lô trị 2 uống Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày (gấp 3 liều lâm sàng trên người): số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen của chuột tăng rõ so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

PTs kéo dài, PT-INR tăng và PT% giảm so với lô mô hình, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

aPTTs kéo dài và aPTT<sub>bệnh-chúng</sub> tăng có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình ( $p < 0,05$ ).

Như vậy, Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày (gấp 3 liều lâm sàng trên người) có tác dụng chống kết tập tiểu cầu và ức chế hình thành fibrin, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

\* Một tác giả khác là PGS. TS. Phạm Thị Vân Anh đã nghiên cứu tác dụng trên quá trình đông máu và tiêu fibrin của viên nang TD.HK01 trên thực nghiệm, với mô hình gây đông máu tương tự bằng lipopolysaccharid trên chuột cống trắng:

Kết quả nghiên cứu cho thấy số lượng tiểu cầu và nồng độ fibrinogen ở lô uống rivaroxaban tăng cao rõ rệt so với lô mô hình. Kết quả nghiên cứu còn cho thấy lô uống rivaroxaban có PT(s) và aPTT(s) giảm so với lô mô hình.

TD.HK01 không ảnh hưởng đến quá trình đông máu trong điều kiện bình thường. TD.HK01 liều 0,8 g/kg/ngày và liều 2,4 g/kg/ ngày có tác dụng tiêu fibrin trên mô hình gây đông máu bằng thrombin trên thỏ, thể hiện ở tác dụng kéo dài thời gian prothrombin, thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa và làm giảm D-dimer so với với lô mô hình.

TD.HK01 không có tác dụng chống đông trên mô hình gây đông máu bằng lipopolysaccharid trên chuột cống trắng [54].

\* Theo YHCT, trong bài có một số vị thuốc như Đan sâm, Hồng hoa, có tác dụng hoạt huyết thông kinh, tán ứ giảm đau, Trâm hương điều khí, Ngư tấu hoạt huyết thông kinh... khi kết hợp lại sẽ có tác dụng thông kinh lạc, tán ứ huyết, tương ứng với tác dụng chống đông của YHHĐ

Như vậy, kết quả của nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều tương đương liều lâm sàng trên người) có xu hướng chống kết tập tiểu cầu và ức chế hình thành fibrin, tuy nhiên sự khác biệt

chưa có ý nghĩa thống kê. Trâm châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày (gấp 3 liều lâm sàng trên người) có tác dụng chống kết tập tiểu cầu và ức chế hình thành fibrin, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Như vậy tác dụng chống đông máu của Trâm châu ngư hoàng hoàn có tác dụng trên động vật thực nghiệm.

## KẾT LUẬN

### **1. Kết luận về độc tính cấp, bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn”.**

#### **a. Kết luận về độc tính cấp của “Trân châu ngư hoàng hoàn”.**

Chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng của viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn trên đường uống.

Viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 12,5 viên/kg.

Viên hoàn Trân châu ngư hoàng hoàn ở liều gấp 52,08 lần liều dùng dự kiến trên người nhưng không có độc tính cấp trên chuột nhắt, theo đường uống.

#### **b. Kết luận về độc tính bán trường diễn của “Trân châu ngư hoàng hoàn”.**

Cả 2 mức liều của Trân châu ngư hoàng hoàn là liều tương đương liều dự kiến lâm sàng (0,12 viên/kg/ngày) và liều cao gấp 3 lần lâm sàng (0,36 viên/kg/ngày) đều không gây biểu hiện độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng sau 12 tuần sử dụng bằng đường uống.

Tất cả các chỉ số theo dõi về tình trạng chung, cân nặng, chức năng tạo máu, mức độ tổn thương gan, chức năng gan, chức năng thận và mô bệnh học đại thể - vi thể đều nằm trong giới hạn bình thường, không có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng.

### **2. Kết luận về tác dụng chống đông máu của “Trân châu ngư hoàng hoàn” trên mô hình gây đông bằng lipopolysaccharid trên động vật thực nghiệm.**

Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,12 viên/kg/ngày (liều tương đương liều lâm sàng trên người) có xu hướng chống kết tập tiểu cầu và ức chế hình thành fibrin, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê.

Trân châu ngư hoàng hoàn liều 0,36 viên/kg/ngày (gấp 3 liều lâm sàng trên người) có tác dụng chống kết tập tiểu cầu và ức chế hình thành fibrin, sự

khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Như vậy tác dụng chống đông của “Trân châu ngư hoàng hoàn” có tác dụng chống đông máu trên động vật thực nghiệm.

## **KIẾN NGHỊ**

“Trân châu ngư hoàng hoàn” là chế phẩm y học cổ truyền có nguồn gốc từ phương “Viên Bỏ Trân Châu Hoàn” thuộc Công thức bào chế kinh điển của Y học Tây Tạng ở thế kỷ thứ 8 sau Công nguyên, có tác dụng chính giúp lưu thông khí huyết, khai khiếu, tỉnh thần. Sản phẩm có tính an toàn cao, có tác dụng chống đông máu, nên chúng tôi xin đề xuất những kiến nghị sau:

Tiếp tục nghiên cứu thực nghiệm về cơ chế chống đông máu của sản phẩm

Tiếp tục thực hiện các nghiên cứu độc tính và tác dụng chống đông máu, hỗ trợ điều trị nhồi máu não và nhồi máu ở các cơ quan khác.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bệnh viện Bạch Mai** (2015). *Tiếp cận xử trí trong thần kinh học*, Nhà xuất bản Thế giới, 134.
2. **Lê Văn Thịnh, Lê Trà My, Đoàn Thị Bích** (2012). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, yếu tố nguy cơ và nguyên nhân nhồi máu não ở bệnh nhân dưới 50 tuổi. Hội nghị đột quy toàn quốc lần thứ III, *Tạp chí Y học thực hành*, 811, 812, 106-114.
3. **Nguyễn Văn Đăng** (2000). *Tai biến mạch máu não*. Nhà xuất bản Y học, 12-17.
4. **Lê Đức Hình** (2000). Chuẩn đoán sớm đột quy não, *Nội san Hội thần kinh Việt Nam*, 1, 3-7.
5. **Hoàng Khánh** (2012). Đột quy. Hội nghị đột quy toàn quốc lần thứ III. *Tạp chí Y học thực hành*, 811, 812, 5-7.
6. **Trần Văn Chương** (2011). *Tổng quan về tai biến mạch não*. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 39-40.
7. **Nguyễn Văn Thông** (2008). Đột quy não, *Cấp cứu, điều trị, dự phòng*, Nhà xuất bản Y học, 7-10.
8. **Nguyễn Minh Hiện, Nguyễn Minh Tuấn** (2013). Đột quy nhồi máu não, *Đột quy não*, Nhà xuất bản Y học, 167-195.
9. **Nguyễn Đạt Anh, Mai Duy Tôn** (2015). Đột quy thiếu máu não, cục bộ hay nhồi máu não, *Đột quy não*. Nhà xuất bản Thế giới, 14-32.
10. **Nguyễn Xuân Thân** (2003). *Tai biến mạch não*, Nhà xuất bản Quân đội Nhân dân, 34-38.
11. **Lê Văn Thịnh** (2009), Nhồi máu não, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chuẩn đoán và xử trí*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 217-224.
12. **Lâm Văn Chế** (2009). Nhồi máu não ổ khuyết, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chuẩn đoán và xử trí*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội 237-239.

13. **Nhữ Đình Sơn** (2013). Triệu chứng học đột quy não, *Đột quy não*, Nhà xuất bản Y học, 51-61.
14. **Bộ môn Nội trường Đại học Y Hà Nội** (2004). *Bài giảng Bệnh học nội khoa*. Nhà xuất bản Y học Hà nội, 192-196.
15. **Hauser St, Josephson SA** (2010), Harrison's Neurology in Clinical Medicine, Second Edition. *McGraw Hill Professional*, 17, 323- 325.
16. **Ngọc Văn Lơ, Trần Văn Tuấn** (2015). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng giá trị của thang điểm CSS trong chuẩn đoán đột quy não và một số yếu tố liên quan. “Hội nghị khoa học đột quy toàn quốc lần thứ V”, *Tạp chí Y Dược lâm sàng 108*, 10, 104-109.
17. **Hoàng Đức Kiệt** (2009). Chuẩn đoán hình ảnh tai biến mạch máu não, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chẩn đoán và xử trí*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 140-146.
18. **Phạm Thắng** (2009). Kỹ thuật siêu âm doppler trong thăm dò động mạch cảnh và đốt sống ngoài sọ, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chẩn đoán và xử trí*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 113-123.
19. **Lê Văn Thịnh** (2009). Kỹ thuật doppler xuyên sọ trong chẩn đoán bệnh lý mạch máu, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chẩn đoán và xử trí*, Nhà xuất bản Y học, 125-137.
20. **Nguyễn Thị Thu Hoa, Nguyễn Văn Chương** (2015). Nghiên cứu một số đặc điểm hình ảnh học của não và một số yếu tố nguy cơ của nhồi máu não thềm lặng. “Hội nghị khoa học đột quy toàn quốc lần thứ V”, *Tạp chí Y Dược lâm sàng 108*, 10, 154-160.
21. **Adrial. J, Goldszmidt, Louis. R, Caplan** (2014), Stroke essentials, (*Cẩm nang xử trí tai biến mạch máu não*), biên dịch Nguyễn Đạt Anh, hiệu đính Lê Đức Hình, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 66-76.
22. **Nguyễn Văn Chương** (2013). Thực hành lâm sàng thần kinh. *Bệnh học thần kinh – Tập III*, Nhà xuất bản Y học, 7-32.



23. **Lê Đức Hình** (2006). Điều trị dự phòng tai biến mạch máu não. *Y học lâm sàng Bệnh viện Bạch Mai*, 2, 9-11.
24. **Kernan, W. N., Ovbiagele, et al & American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, Council on Clinical Cardiology, and Council on Peripheral Vascular Disease** (2014). Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 45(7), 2160–2236.
25. **Bùi Xuân Tuyết** (2007). *Nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Tuần hoàn não trong điều trị nhồi máu não sau giai đoạn cấp tính*. Học viện Quân Y.
26. **Đào Văn Phan** (2009). Một số thuốc đang và sẽ được dùng trong tai biến mạch máu não, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chẩn đoán và xử trí*, Nhà xuất bản Y học, 442-463.
27. **Uchino, K, Pary, J, Grotta, J** (2014). Acute stroke care (*Kiểm soát lipid máu*, biên dịch Nguyễn Đạt Anh), Nhà xuất bản Y học, 220-236.
28. **Phan Việt Nga** (2013). Yếu tố nguy cơ và dự phòng đột quỵ não, *Đột quỵ não*, Nhà xuất bản Y học, 64-72.
29. **Hoàng Khánh** (2009). Các yếu tố nguy cơ gây tai biến mạch máu não, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chuẩn đoán và xử trí*. Nhà xuất bản Y học, 84-107.
30. **Hà Hoàng Kiệt** (2013). Phục hồi chức năng cho bệnh nhân đột quỵ não, *Đột quỵ não*, Nhà xuất bản Y học, 369-383.
31. **Nguyễn Trung Hòa** (2012). Kinh văn 37, 38. *Đông y toàn tập*, Nhà xuất bản Thuận Hóa – Thừa Thiên Huế, 9-39; 336-338.
32. **Tuệ Tĩnh** (1996). *Nam dược thần hiệu*. Hiệu đính và khảo cứu: Lê Trần Đức (tái bản lần thứ tư), Nhà xuất bản Y học, 50-53.

33. **Nguyễn Văn Toại** (2011). Nguyên nhân gây bệnh, *Lý luận Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 88-96.
34. **Hoàng Bảo Châu** (2006). *Nội khoa Y học cổ truyền*. Nhà xuất bản Y học, 18-35.
35. **Trần Thúy, Vũ Nam, Nguyễn Văn Toại** (2002). *Lý luận Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 70-76.
36. **Đào Trọng Cường, Nguyễn Thiên Quyển** (2003). *Chuẩn đoán phân biệt chứng trạng Đông y*. Nhà xuất bản Cà Mau, 130-170.
37. **Trieu Ky, Truong Kien Vinh** (2008). 康复期麻风病发病机制及治  
分 析[J].山西省中医院学报 (5), 59-60
38. **Vương Lâm Bằng** (2006). *Chuyên đề ứng dụng Hoa đà tái tạo hoàn điều trị tai biến mạch não*, 1-35.
39. **Đặng Tính** (2007). 麻风理论、病因及病机研究与分析，中华医学杂  
志 (05), 124-126
40. **Trần Quốc Bảo** (2013). Kết hợp Y học cổ truyền trong điều trị đột quy não, *Đột quy não*, Nhà xuất bản Y học, 429-440.
41. **Nguyễn Nhược Kim** (2011). Hội chứng bệnh Vệ khí dinh huyết, *Lý luận Y học cổ truyền*. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 150-157.
42. **Trương Văn Cao, Sử Đại Trác** 等人 (2008)。传统医学治疗麻风病的特点。中国人民军医出版社, 44-51.
43. **Hình Phong Lệ, Lý Thanh** 等人 (2005)。安全提供完整的牛黄 治疗麻  
风病 34 例临床疗效观察。河北中医药, 13-14
44. **Vương Kim Hoa, Diệp Tô Quang** (2003). *So sánh hiệu quả của an cung  
ngưu hoàng hoàn và giản phương*. Tạp chí thuốc Trung Quốc (28), 636.

45. **Hồ Hữu Lương** (2009). Châm cứu điều trị Tai biến mạch máu não, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chẩn đoán và xử trí*. Nhà xuất bản Y học, 617-624.
46. **Nguyễn Tài Thu** (2009). Điều trị chứng liệt nửa người do tai biến mạch não bằng tân châm, *Tai biến mạch máu não, hướng dẫn chẩn đoán và xử trí*. Nhà xuất bản Y học, 607-616.
47. **100 Kim Đông** (2009). *Thảo luận nghiên cứu chứng Trúng phong (nội kinh)*. Tạp chí Thế giới Đông Tây Y kết hợp (10), 18-20.
48. **Hồng Đông Mai** (2015). *Quan sát hiệu quả điều trị nhồi máu não bằng dịch truyền Đan sâm kết hợp huyết tắc thông*. Tạp chí Y học Cát Lâm, Giang Tô, Trung Quốc, 2016 (2), 393.
49. **Dương Lập Vân** (2015). *Nghiên cứu hiệu quả điều trị 75 bệnh nhân nhồi máu não trên lâm sàng bằng Y học hiện đại và Y học cổ truyền*. Tạp chí thuốc Đông y và Con người, tỉnh Liêu Ninh, Trung Quốc, 2015 (1), 248-249.
50. **Vương Tiến Học** (2013). *Đánh giá hiệu quả điều trị 80 bệnh nhân di chứng tai biến mạch máu não trên lâm sàng bằng Y học cổ truyền kết hợp Y học hiện đại*. Tạp chí luận đàm về cơ sở y học, Sơn Tây, Trung Quốc (17), 2270-2271.
51. **Lý Ngọc Hân** (2014). 中医药结合现代医学治疗脑梗死临床疗效评价 [J].应用中医药杂志, 中国兰州, 2014(2), 130
52. **Lâm Anh kiệt, Hồ Kim Minh** (2016) 。中医药联合现代医学治疗脑血管意外失语后遗症的疗效评价, 应用东方医学, 广东, 2016(2), 139-140
53. **Trần Ngọc Minh** (2015)。分析现代医学与传统医学相结合治疗脑梗死患者的疗效。中国山东省北方医学杂志, 2015 (9) , 154-155.92

54. **Phạm Thị Vân Anh & cs** (2018). *Tác dụng trên quá trình đông máu và tiêu Fibrin của viên nang TD.HK01 trên thực nghiệm*. Tạp chí nghiên cứu Y học, 115(6), 80-89
55. **Trần Quốc Bình, Phạm Vân Anh & cs** (2014). *Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống đông của viên nang Hoạt huyết an não trên thực nghiệm*. Tạp chí Nghiên cứu Y Dược học cổ truyền Việt Nam, 43, 43-51.
56. **Bộ Y tế** (2017). Dược điển Việt Nam V, Nhà xuất bản Y học Hà Nội
57. **Cục Khoa Học Công Nghệ và Đào Tạo, Bộ Y Tế** (2015). *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu (ban hành kèm theo Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015)*.
58. **WANG Biao, WU Shu-ming, et al** (2012). *Pre-treatment with bone marrow-derived mesenchymal stem cells inhibits systemic intravascular coagulation and attenuates organ dysfunction in lipopolysaccharide-induced disseminated intravascular coagulation rat model*. Chinese Medical Journal;125(10):1753-1759.
59. **Liang-cai WU, Xi LIN, Hao SUN** (2012). *Tanshinone IIA protects rabbits against LPS-induced disseminated intravascular coagulation (DIC)*. *Acta Pharmacologica Sinica*;33: 1254–1259.
60. **Yu PX, Zhou QJ, Zhu WW, et al** (2013). *Effects of quercetin on LPS-induced disseminated intravascular coagulation (DIC) in rabbits*. *Thromb Res*; 131(6): e270-273.
61. **MARGARETTEN, W., ZUNKER, H. O., & McKAY, D. G.** (1964). *Production of the generalized Shwartzman reaction in pregnant rats by intravenous infusion of thrombin*. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 19(6), 952-954.
62. **Hagimori, M, Kamiya, S, Yamaguchi, Y, Arakawa, M.** (2009) *Improving frequency of thrombosis by altering blood flow in the carrageenan-induced rat tail thrombosis model*. *Pharmacol Res*; 60 (4):320–323.

63. **Wakefield, T. W., Wroblewski, S. K., Sarpa, M. S., Taylor, F. B., Jr, Esmon, C. T., Cheng, A., & Greenfield, L. J.** (1991). Deep venous thrombosis in the baboon: an experimental model. *Journal of vascular surgery*, 14(5), 588–598
64. **Li, W., Nieman, M., & Sen Gupta, A.** (2016). Ferric Chloride-induced Murine Thrombosis Models. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (115), 54479
65. **Gerhard Vogel H.** (2016), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
66. **World Health Organization** (2013), Working group on the safety and efficacy of herbal medicine, *Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization*.
67. **Đỗ Trung Đàm** (2014), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, Nhà xuất bản y học.
68. **Đỗ Trung Đàm** (2006), Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm. *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật. Tạp chí dược học, số 479, tr. 38-41
69. **Viện nghiên cứu và phổ biến kiến thức bách khoa** (2007), *Từ điển bách khoa thư dược học*, Nhà xuất bản từ điển bách khoa, tr. 96, 227, 310, 314, 343, 434, 436, 714
70. **Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương** (2001), *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 36 – 41, 118 - 139
71. **Bộ môn Hoá sinh, Trường Đại học Y Hà Nội**, (2001), *Hoá sinh*, Nhà xuất bản Y học, tr. 646-685
72. **Nguyễn Thế Khánh, Phạm Tử Dương** (2001), *Xét nghiệm sử dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, tr. 36 – 41, 118 – 139

73. **Viện Dược liệu** (2006), *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, tr. 311-320, 357
74. **Nicola Semeraro, Concetta T. Ammollo, Fabrizio Semeraro** (2010). SepsisAssociated Dissemin Thromboembolic Disease. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 2(3), e2010024 - 42.
75. **Kubitza D, Becka M, Wensing G, et al** (2005). Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of BAY 59-7939-an oral, direct Factor Xa inhibitor-after multiple dosing in healthy male subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* ;61(12):873–880.
76. **Hideaki Matsuda, Kensuke Namba, Seiya Fukuda et al** (1986). Pharmacological study of Panax ginseng C. A. Meyer. IV. Effect of Red Ginseng on experimental disseminated intravascular coagulation. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 34(5), 2100.

# PHỤ LỤC 1

## Quy trình sản xuất

Xưởng sản xuất thực phẩm chức năng và mỹ phẩm - Công ty TNHH sản xuất và XNK thực phẩm chức năng Asean Số : ASA-TCNHH.TCSP/2015/01/D



### BẢN TIÊU CHUẨN SẢN PHẨM

**1. Sản phẩm:** Thực phẩm bảo vệ sức khỏe **TRÂN CHÂU NGƯU HOÀNG HOÀN**

**2. Tên, địa chỉ cơ sở sản xuất:**

Xưởng sản xuất thực phẩm chức năng và mỹ phẩm - Công ty TNHH sản xuất và XNK thực phẩm chức năng Asean

Địa chỉ: Số nhà 33, ngõ 30, đường nhánh 422 - Xã Tân Lập - Huyện Đan Phượng - Hà Nội

**3. Trạng thái sản phẩm:**

- Dạng bào chế: Viên hoàn
- Màu sắc: màu đen
- Khối lượng trung bình: 1g
- Mùi vị: Mùi thơm không ôi mốc.

**4. Thành phần cấu tạo:**

Mỗi viên 1g chứa:

- Cao hỗn hợp 55mg tương đương:  
Thiên Trúc Hoàng(*Concretin silicea Bambusa*) 75mg  
Trầm Hương(*Aquilaria agallocha*) 75mg  
Hong Hoa(*Carthamus tinctorius*) 75mg  
Ngưu Hoàng(*Calculus Bovis artificialis*) 71,06mg  
Đan Sâm(*Salvia Multiorrhiza*) 47,09mg  
Giáng Hương(*Pterocarpus indicus*) 47,09mg  
Trân Châu(*Avicula martensii*) 37,67mg  
Thủy Ngưu Giác(*Cornu Bubali*) 32,53mg  
Cam Thảo(*Glycyrrhiza uralensis*) 25mg  
Thạch Học(*Dendrobium*) 20,00mg  
Đông Trùng Hạ Thảo(*Cordyceps militaris*) 15,41mg  
Ngưu Tất(*Achyranthes bidentata*) 9,42mg

Phụ liệu: Mật ong vừa đủ.

**5. Chỉ tiêu chất lượng chủ yếu:**

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức chất lượng
1	Ngưu Hoàng	Định tính	Dương tính
2	Trầm Hương	Định tính	Dương tính
3	Giáng Hương	Định tính	Dương tính
4	Trân Châu	Định tính	Dương tính
5	Thủy Ngưu Giác	Định tính	Dương tính
6	Hồng Hoa	Định tính	Dương tính



7	Thiên Trúc Hoàng	Định tính	Dương tính
8	Cam Thảo	Định tính	Dương tính

## 6. Chỉ tiêu an toàn

### 6.1. Giới hạn về vi sinh vật

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức tối đa
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/g	10000
2	E.coli	CFU/g	3
3	Tổng số bào tử nấm men nấm mốc	CFU/g	100
4	Cl.perfringens	CFU/g	10
5	Coliforms	CFU/g	10
6	Salmonella	Trong 25g	KPH

### 6.2 Giới hạn về kim loại nặng

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức tối đa
1	Pb	ppm	3
2	Cd	ppm	1
3	Hg	ppm	0,1

## 7. Hướng dẫn sử dụng:

### - Công dụng:

Hoạt huyết, tăng cường lưu thông máu.

Hỗ trợ giảm nguy cơ tai biến mạch máu não do nghẽn mạch.

### - Đối tượng sử dụng:

Người có nguy cơ tai biến mạch máu não, người sau tai biến mạch máu não do nghẽn mạch.

Người có tuần hoàn máu kém, nghẽn mạch máu.

### - Cách dùng:

Người lớn sau tai biến, hội chứng tiền đình: Mỗi ngày uống 1 viên, uống liên tục trong 6 ngày.

Uống duy trì: Mỗi tháng uống 1 viên.

### Lưu ý:

- Người dưới 18 tuổi, người có hội chứng máu chậm đông, đang chảy máu, chuẩn bị phẫu thuật, cơn huyết áp cấp, người xuất huyết não, phụ nữ trong thời kỳ kinh nguyệt, phụ nữ có thai, đang cho con bú, người có mẫn cảm với bất kỳ thành phần nào của sản phẩm không sử dụng.

- Thực phẩm này không phải là thuốc, không có tác dụng thay thế thuốc chữa bệnh.

## 8. Chất liệu bao bì, quy cách đóng gói

- Chất liệu bao bì: Sản phẩm được đóng gói trong lọ nhựa/thủy tinh, ống nhựa đảm bảo an toàn thực phẩm theo quy định của Bộ Y tế.



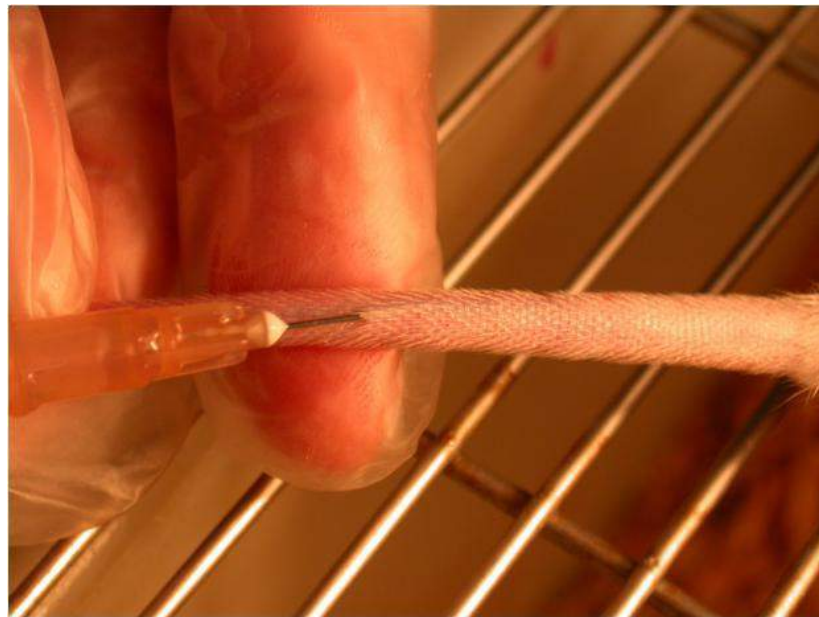
**PHỤ LỤC 2**  
**HÌNH ẢNH NGHIÊN CỨU**



Chuột nhắt trắng sử dụng trong nghiên cứu

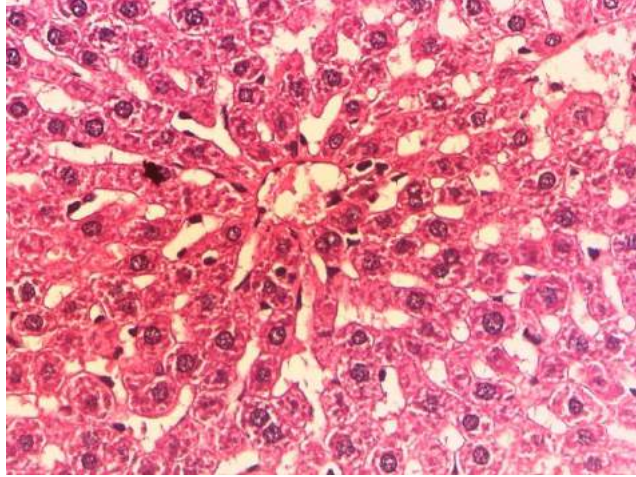


Chuột cống trắng sử dụng trong nghiên cứu

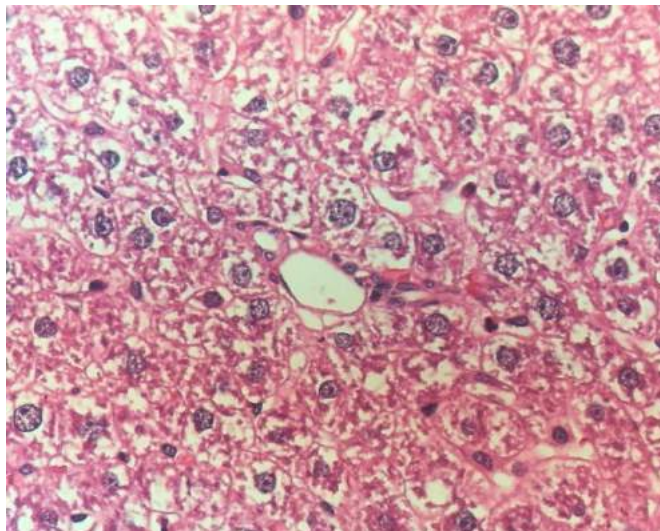


Tiêm tĩnh mạch đuôi chuột

**PHỤ LỤC 3**  
**HÌNH ẢNH TIÊU BẢN VI THỂ MÔ BỆNH HỌC CHUỘT**

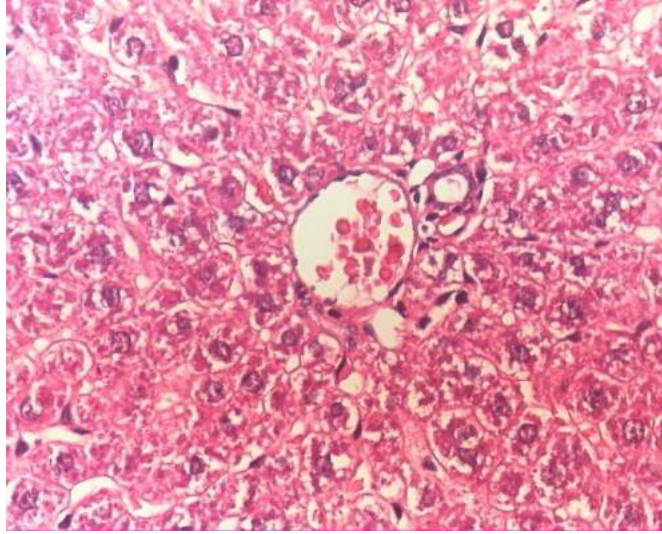


**Ảnh 1:** Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột #10) (HE x 400)  
(HE x 400: Nhuộm Hematoxylin - Eosin, độ phóng đại 400 lần)

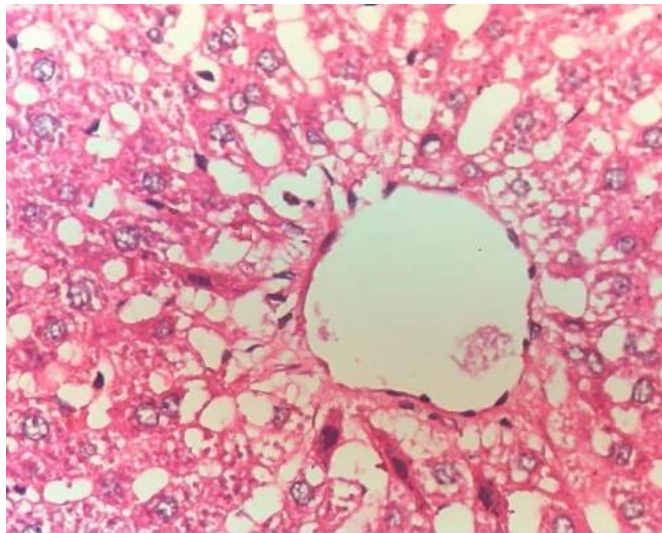


**Ảnh 2:** Hình thái vi thể gan chuột lô chứng (chuột #13) (HE x 400)

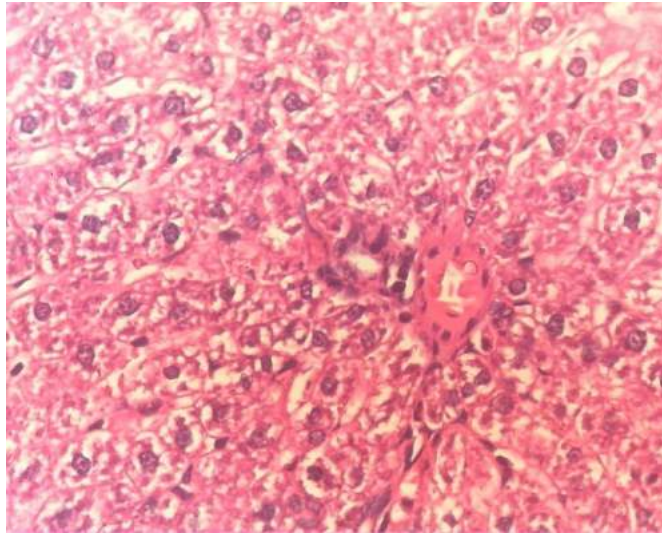




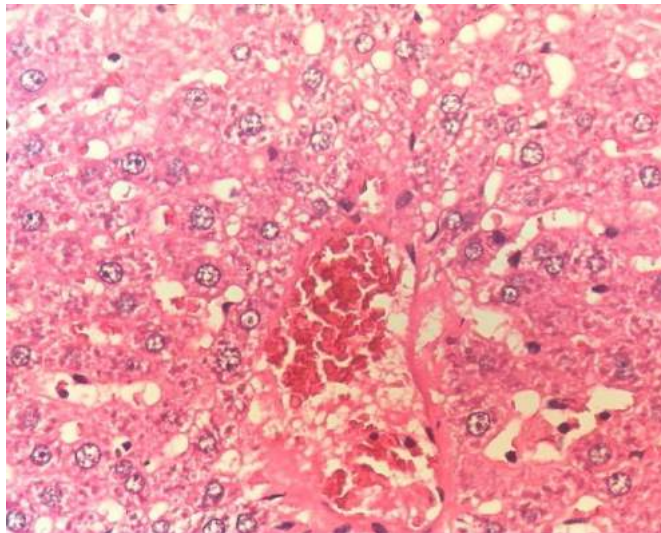
**Ảnh 3:** Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột #93) (HE x 400)



**Ảnh 4:** Hình thái vi thể gan chuột lô trị 1 (chuột #94) (HE x 400)

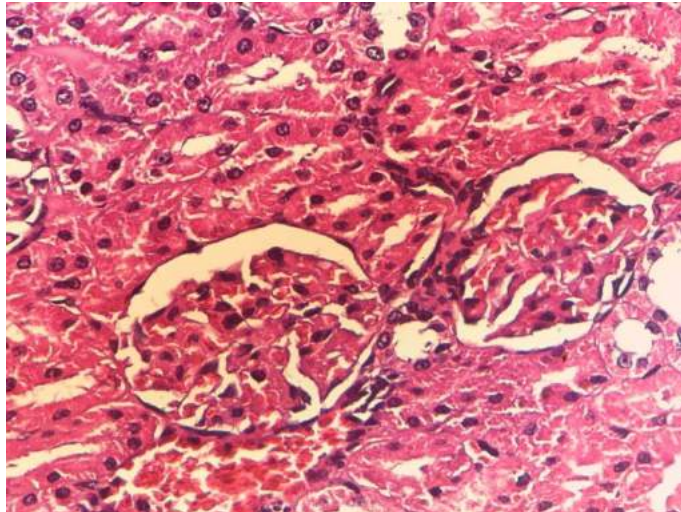


**Ảnh 5: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột #76) (HE x 400)**

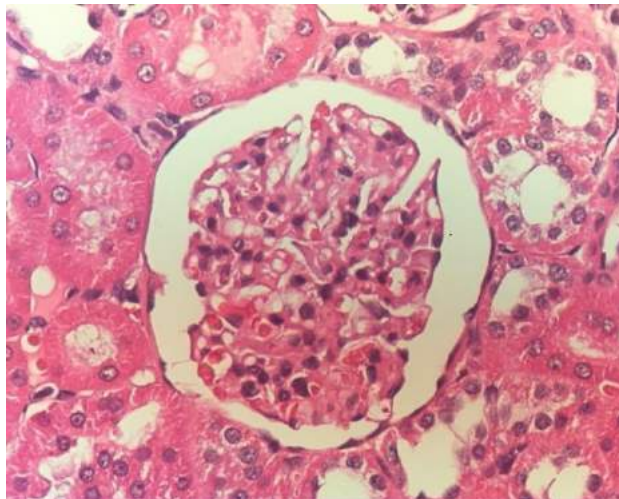


**Ảnh 6: Hình thái vi thể gan chuột lô trị 2 (chuột #85) (HE x 400)**

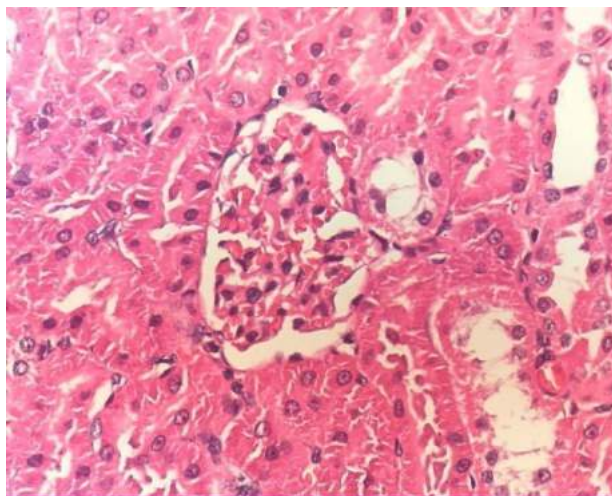




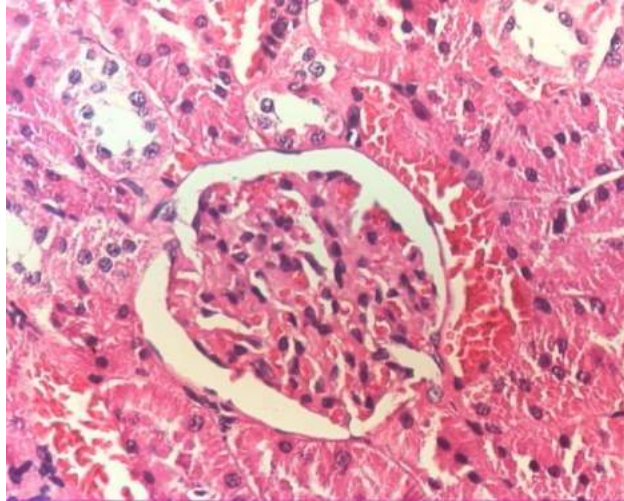
**Ảnh 7:** Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột #10) (HE x 400)



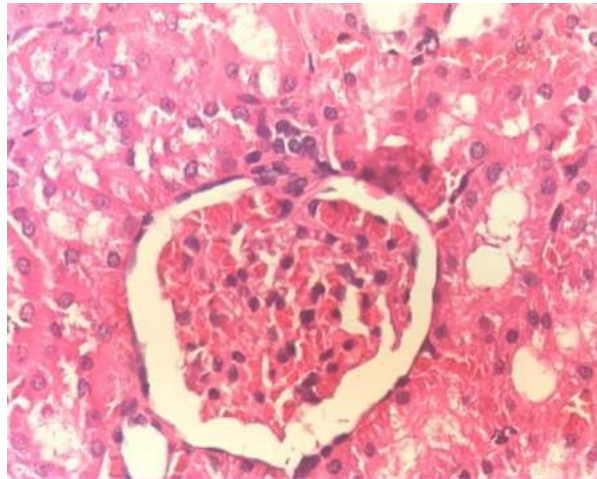
**Ảnh 8:** Hình thái vi thể thận chuột lô chứng (chuột #13) (HE x 400)



**Ảnh 9:** Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột # 93) (HE x 400)



**Ảnh 10:** Hình thái vi thể thận chuột lô trị 1 (chuột #94) (HE x 400)



**Ảnh 11:** Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột #76) (HE x 400)



**Ảnh 12:** Hình thái vi thể thận chuột lô trị 2 (chuột #85) (HE x 400)

## PHỤ LỤC 4

### Thành phần các vị thuốc trong viên hoàn “Trân châu ngư hoàng hoàn”

#### Thiên trúc hoàng [59].

-Tên khoa học: *Concretio Silicae Banthusa*. Họ Lúa (Poaceae)

-Bộ phận dùng: cặn khô từ chất tiết trong thân cây Hóp sào hoặc cây Nứa (*Bambusa textilis* McClure hoặc *Schicustachyum chinense* Rendle)

-Tính vị, quy kinh: Cam, hàn. Vào kinh tâm.

-Công năng, chủ trị: Trừ đàm nhiệt, thanh tâm, trấn kinh. Chủ trị: Tinh thần hôn ám, trúng phong đàm mê tâm khiếu. Trẻ em kinh giật và dạ đề do đàm nhiệt.



-Liều dùng: Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp với các vị thuốc khác.

#### Trân châu [59].

-Tên khoa học: *Avicula martensii*. Họ Trân châu (*Aviculidae* hay *Pteridae*)

-Bộ phận dùng: Hạt ngọc trong nhiều loài trai

-Tính vị, quy kinh: vị ngọt mặn tính hàn. Vào kinh Tâm Can.

-Thành phần hóa học: Trong trân châu có cacicacbonat, chất hữu cơ. Calcium carbonate (chừng 90%), magnesium carbonate, calcium phosphate ferric oxide, silica và nhiều nguyên tố Natri, kẽm, chì, đồng, manganèse. Ngọc trai có nhiều calcium carbonate và ít magnesium carbonate hơn loài sống ở biển.



-Công năng, chủ trị: thuốc trừ nhiệt ở 2 kinh tâm và can cho nên có tác dụng an thần và làm sáng mắt (trân tâm minh mục)

-Liều dùng: Ngày dùng 0.30-0.60g



### **Ngưu hoàng [60].**

-Tên khoa học: *Calculus Bovis artificialis*.

-Bộ phận dùng: Sạn mật bò

-Tính vị, quy kinh: Vị đắng, tính mát. Vào kinh can và tâm



-Thành phần hóa học: Cholic acid, desoxycholic acid, cholesterol, bilirubine, taurocholic acid, glycine, alanine, methionine, asparagine, arginine, sodium, magnesium, calcium, phosphate, sắt, carotene, amino acid, vitamin D.

-Công năng, chủ trị: Thanh nhiệt và giải độc, trừ phong nội sinh và chống co giật, trừ đàm.

-Tác dụng dược lý:

-Thuốc có tác dụng an thần, chống co giật và hạ sốt.

-Tác dụng ức chế tính thấm thấu của mạch máu và có tác dụng kháng viêm.

-Liều dùng: Liều dùng: 0,2-0,5g.

-Kiêng kị: Không dùng ngưu hoàng cho thai phụ.

### **Thủy ngưu giác [60].**

-Tên khoa học: *Cornu bubali*

-Bộ phận dùng: Sừng trâu

-Tính vị, quy kinh: Vị đắng tính hàn vào Tâm, Can.

-Công năng, chủ trị: Thanh nhiệt, giải độc, lương

huyết, định kinh. Chủ trị sốt cao hôn mê, nói nhảm kinh phong, điên cuồng, các chứng xuất huyết như khái huyết, thổ huyết, nổi ban xuất huyết do huyết nhiệt...



-Kiêng kị: Thủy ngưu giác vị đắng tính hàn do vậy người tạng hàn hay bị lạnh bụng tiêu chảy, sợ lạnh sợ gió không nên dùng

-Liều dùng: 20g.

### **Đông trùng hạ thảo [59].**

-Tên khoa học: *Cordyceps sinensis*. Họ *Nhục toà khuẩn Hypocreaceae*

-Bộ phận dùng: Nấm và sâu

- Thành phần hóa học: 7% acid cocdixepic 3-4-5 tetraoxyhexahydrobenoic, 25

-32% protid, 8,4% chất béo có acid béo no 13%, không no 82,2%,

acid cordycepic được chứng minh là D – mannitol, phân đoạn peptid

Ophiocordyceps chống oxi hóa và kháng khuẩn (COP)

-Tính vị quy kinh: Vị ngọt, tính ôn. Quy kinh phế, thận

-Công năng, chủ trị: Ích phế, thận, bổ tinh tủy, cầm máu, hóa đờm, dùng chữa hư lao sinh ho, ho ra máu, liệt dương, lưng gối đau mỏi, di tinh. Chữa thần kinh

suy nhược

Theo YHHD: Đông trùng hạ thảo có tác dụng điều hòa miễn dịch, chống viêm, chống oxi hóa, ức chế mầm bệnh vi khuẩn E.Coli và Salmonella typhi [86].

Liều dùng, cách dùng: Ngày uống 6 – 12g .

### **Ngưu tất [60].**

- Tên khoa học: *Radix Achyranthis bidentatae*.

Họ *Rau giền Amaranthaceae*.

- Bộ phận dùng: Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Ngưu tất.

- Tính vị, quy kinh: Khô, toan, bình. Vào các kinh can, thận

- Công năng, chủ trị: Hoạt huyết thông kinh, mạnh gân cốt, bổ can thận.

Chủ trị: Dùng trị đau lưng gối, mỏi gân xương; bế kinh, kinh nguyệt không đều, tăng huyết áp.



- Liều dùng: Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc.
- Kiêng kỵ: Phụ nữ có thai, băng huyết không dùng.

### **Thạch斛** [60].

- Tên khoa học: *Herba Dendrobii*. Họ Lan (*Orchidaceae*)

- Bộ phận dùng: Thân tươi hay khô của cây Thạch斛.

- Tính vị, quy kinh: Cam, vị hàn. Vào các kinh vị, thận, phế.



- Công năng, chủ trị: Tư âm thanh nhiệt, ích vị sinh tân. Chủ trị: âm hư nội nhiệt, tân dịch hao tổn (nóng sốt nhẹ, bứt rứt, háo khát). Vị âm hư, vị nhiệt (ăn kém, nôn khan, môi miệng khô, lở loét miệng). Tiêu khát.

- Liều dùng: Ngày dùng từ 6 g đến 12 g dược liệu khô, từ 15 g đến 30 g dược liệu tươi, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

### **Trầm hương** [60].

- Tên khoa học: *Aquilaria crassna*. Thuộc họ Trâm Thymelaeaceae

- Bộ phận dùng: Gỗ thân

- Tính vị, quy kinh: Vị cay, hơi ngọt, tính ấm.

Vào kinh Tỳ, vị và thận. có tác dụng giáng khí, ôn trung noãn thân, tráng nguyên dương giảm đau, gây trấn tĩnh



- Thành phần hóa học: Có tinh dầu mà thành phần chủ yếu là benzylacetone 26% methoxybenzalacetone 53% và terpen alcohol 11%, còn có acid cinnamic và các dẫn xuất của nó. Ở loài Bạch mộc hương của Trung Quốc- *Aquilaria sinensis* (Lour.) trong tinh dầu có agarospirol, baimuxianic acid, baimuxianal.

- Công năng, chủ trị: Điều khí và giảm đau, hạ khí kéo dài và chống nôn. Bổ thận và chữa hen suyễn, bí tiểu tiện, nam giới tinh lạnh.

- Tác dụng dược lý:
- + Sản phẩm chưng cất và dạng chiết trầm hương có tác dụng ức chế sự co bóp tự chủ của hồi tràng chuột lang và chống co thắt cơ trơn do histamin và acetylcholin gây ra.
- + Trên mèo gây mê, nó có tác dụng làm giảm biên độ co bóp của ruột do tiêm acetylcholin, đồng thời làm giảm nhu động tự nhiên của ruột
- + Theo nghiên cứu của các nhà khoa học tại Nhật bản, Trầm hương có tác dụng rất đáng quý với hệ thần kinh. Chất sesquiterpene có trong trầm hương giúp hỗ trợ sự sống còn của tế bào thần kinh hiện có, khuyến khích sự phát triển và biệt hóa của các tế bào thần kinh mới và các khớp thần kinh
- Liều dùng: Ngày dùng 1-1,5g. Dưới dạng bột, ngâm rượu hoặc mài với nước.

#### **Đan sâm [60].**

- Tên khoa học: *Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae*. Họ Bạc hà *Lamiaceae*.
- Bộ phận dùng: Rễ và thân rễ phơi hoặc sấy khô của cây Đan sâm
- Tính vị, quy kinh: Khô, vị hàn. Vào các kinh tâm, can
- Công năng, chủ trị: Hoạt huyết, thông kinh, giảm đau, thanh tâm lương huyết, Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, kinh nguyệt bế tắc, hành kinh đau bụng, huyết tích hòn cục, đau thất ngực; mất ngủ, tâm phiền.
- Liều dùng: Ngày dùng: Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.
- Kiêng kỵ: Không dùng chung với Lê lô



#### **Hồng hoa [60].**

- Tên khoa học: *Carthamus tinctorius*.

- Bộ phận dùng: Hoa
- Tính vị, quy kinh: Vị cay, tính ấm, quy vào 2 kinh: tâm, can.



- Công năng, chủ trị: Hoạt huyết thông kinh, tán ứ huyết, giảm đau. Chủ trị: Phụ nữ vô kinh, bế kinh, đau bụng khi hành kinh, hành kinh ra huyết cục, chấn thương gây tụ huyết, sưng đau, mụn nhọt.
- Liều dùng: Ngày dùng 4 – 12g, dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác. \* Kiêng kỵ: Phụ nữ có thai không nên dùng.

### **Giáng hương [60].**

- Tên khoa học: *Pterocarpus indicus*. Thuộc họ Đậu - Fabaceae
- Bộ phận dùng: Nhựa và rễ cây
- Tính vị, quy kinh:

- Thành phần hóa học: Nhựa kino chứa một tanin riêng biệt là acid kino-tannic và một chất màu đỏ. Nếu trung cất khô, nó cho chất pyrocatechin và acid protocatechinic.



- Công năng, chủ trị: Chữa trúng độc, đau dạ dày, ruột, mụn nhọt (Vỏ). Nhựa chữa ỉa chảy mạn tính, xuất huyết, lậu, thấp khớp và sốt rét.

### **Cam thảo [60].**

- Tên khoa học: *Radix et Rhizoma Glycyrrhiza*. Họ Đậu Fabaceae

- Bộ phận dùng: Rễ và thân rễ

- Thành phần hóa học: 6-14% Glycyrrhizin (23%), 3-8% glucoza, 2,4 – 6,5% sacaroza, 25-30% tinh bột, 11-30 mg % vitamin C, 2-4% aspragin, gôm, nhựa



- Tính vị, quy kinh: Cam, bình. Quy kinh: Tâm, phế, tỳ, vị, thông 12 kinh



- Công năng, chủ trị: Kiện tỳ, ích khí, nhuận phế, chỉ ho, giải độc, chỉ thống, điều hòa tác dụng các thuốc.

\*Chích cam thảo: Bổ tỳ, ích khí, phục mạch. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, mệt mỏi yếu sức, hóa đờm chỉ ho, đánh trống ngực, mạch kết đại, loạn nhịp tim

\*Sinh cam thảo: Giải độc, tả hỏa.

- Chủ trị: Đau họng, mụn nhọt, thai độc

- Liều dùng, cách dùng: 4- 12g/ ngày dạng sắc, bột.

- Kiên kỵ: Không dùng chung với Đại kích, Nguyên hoa, Hải Tảo, Cam toại.