

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



TRẦN THỊ THANH TÚ

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG
VIÊM, GIẢM HO, LONG ĐỜM CỦA
VIÊN NANG “LIÊN NGÂN SK” TRÊN
ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



TRẦN THỊ THANH TÚ

**NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG
VIÊM, GIẢM HO, LONG ĐỜM CỦA
VIÊN NANG “LIÊN NGÂN SK” 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: PGS.TS. Đậu Xuân Cảnh

HÀ NỘI, NĂM 2023

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn này, với tất cả lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin được gửi lời cảm ơn tới 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, cùng toàn thể thầy cô giảng viên Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Đậu Xuân Cảnh là 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 cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân cùng toàn thể thầy cô, các anh chị kỹ thuật viên tại bộ môn Dược lý, Học viện Quân Y đã luôn bên tôi, giúp đỡ tôi trong quá trình tôi thực hiện và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn quý thầy cô trong Hội đồng chấm đề cương, Hội đồng chấm luận văn và các nhà khoa học, đồng nghiệp đã đóng góp những ý kiến, kinh nghiệm quý báu để luận văn này hoàn thiện hơn.

Tôi xin chân thành cảm ơn lãnh đạo: BS.CKII. Huỳnh Thanh Ân đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành khóa học.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành nhất tới gia đình, những người thân yêu đã luôn bên cạnh động viên tôi từ những lúc khó khăn nhất, đã dành cho tôi những điều kiện tốt nhất, giúp tôi yên tâm học tập và hoàn thành luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả luận văn

Trần Thị Thanh Tú

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Trần Thị Thanh Tú, học viên cao học khóa 13 tại Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

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

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

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

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

Hà Nội, ngày.... tháng..... năm 2023

Tác giả

Trần Thị Thanh Tú

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan về các rối loạn hô hấp theo Y học hiện đại	3
1.1.1. Tổng quan về viêm	3
1.1.2. Tổng quan về ho	5
1.1.3. Tổng quan về đờm	7
1.2. Tổng quan về chứng Khái thẩu theo Y học cổ truyền	8
1.2.1. Nguyên nhân bệnh sinh	8
1.2.2. Biện chứng luận trị	10
1.2.3. Nguyên tắc điều trị	11
1.2.4. Phân thể điều trị	11
1.3. Một số nghiên cứu sử dụng y học cổ truyền điều trị rối loạn hô hấp	13
1.3.1. Một số nghiên cứu nước ngoài	13
1.3.2. Một số nghiên cứu trong nước	14
1.4. Tổng quan về một số mô hình nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn hô hấp trên động vật thực nghiệm	14
1.4.1. Mô hình nghiên cứu tác dụng giảm ho trên động vật thực nghiệm	14
1.4.2. Mô hình nghiên cứu tác dụng long đờm trên động vật thực nghiệm	16
1.4.3. Một số mô hình nghiên cứu tác dụng chống viêm hô hấp trên động vật thực nghiệm	17
1.5. Tổng quan về bài thuốc “Liên ngân SK”	19
1.5.1. Xuyên tâm liên (<i>Herba Andrographitis</i>)	19
1.5.2. Kim ngân hoa (<i>Flos Lonicerae</i>)	21

1.5.3. Đinh lăng (<i>Radix Polysciacis</i>)	23
1.5.4. Sâm đại hành (<i>Curculigo orchioides Gaertn</i>)	24
1.5.5. Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	25
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	27
2.1. Chất liệu, đối tượng và phương tiện nghiên cứu	27
2.1.1. Chất liệu nghiên cứu	27
2.1.2. Hóa chất nghiên cứu	28
2.1.3. Máy móc nghiên cứu	28
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	28
2.2.1. Địa điểm nghiên cứu	28
2.2.2. Thời gian nghiên cứu	29
2.3. Động vật nghiên cứu	29
2.4. Phương pháp nghiên cứu	29
2.4.1. Đánh giá tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của viên nang Liên ngân SK trên thực nghiệm	29
2.4.2. Đánh giá tác dụng giảm ho, long đờm của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm	33
2.5. Sơ đồ nghiên cứu	34
2.6. Xử lý và phân tích số liệu	34
2.7. Vấn đề đạo đức của nghiên cứu	34
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	36
3.1. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm	36
3.1.1. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm họng trên mô hình gây viêm họng bởi Capsaicin ở chuột cống trắng	36

3.1.2. Kết quả đánh giá tác dụng trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS	37
3.2. Kết quả đánh giá tác dụng giảm ho, long đờm của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm	45
3.2.1. Kết quả đánh giá tác dụng giảm ho trên mô hình gây ho bởi amoniac ở chuột nhắt trắng	45
3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng	46
Chương 4. BÀN LUẬN	47
4.1. Về tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của viên nang Liên ngân SK trên thực nghiệm	48
4.1.1. Về tác dụng chống viêm họng trên mô hình gây viêm họng bởi Capsaicin ở chuột cống trắng	48
4.1.2. Về tác dụng trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS	50
4.2. Về tác dụng giảm ho, long đờm của viên nang Liên ngân SK trên thực nghiệm	53
4.2.1. Tác dụng giảm ho trên mô hình gây ho bởi amoniac ở chuột nhắt trắng	53
4.2.2. Tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng	55
KẾT LUẬN	57
KIẾN NGHỊ	59
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
Phụ lục	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Viết tắt	Tiếng việt	Tiếng Anh
ADN		Acid Deoxyribonucleic
CRP		C reactive protein
ĐVTN	Động vật thực nghiệm	
LPS		Lipopolysaccharide
LDH		Lactate dehydrogenase
LNSK	Liên ngân SK	
WHO	Tổ chức y tế thế giới	World Health Organization
YHCT	Y học cổ truyền	
YHHĐ	Y học hiện đại	

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 2.1. Thành viên viên nang cứng Liên ngân SK	27
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của LNSK lên sự xuất tiết thuốc nhuộm xanh Evans ở tổ chức vùng hầu họng ($\bar{x} \pm SD$)	36
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của LNSK lên nồng độ Protein phản ứng C trong máu chuột ($\bar{x} \pm SD$)	37
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của LNSK lên nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản ($\bar{x} \pm SD$)	38
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của LNSK lên hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản ($\bar{x} \pm SD$)	39
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của LNSK lên NOx trong dịch rửa phế quản ($\bar{x} \pm SD$)	40
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của LNSK lên tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản ($\bar{x} \pm SD$)	41
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của LNSK lên chỉ số ướt /khô phổi chuột ($\bar{x} \pm SD$) ...	42
Bảng 3.8. Điểm đánh giá tổn thương phổi ở các lô chuột nghiên cứu ($\bar{x} \pm SD$)	44
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của LNSK lên số cơn ho trung bình của các lô chuột nhất trắng nghiên cứu ($\bar{x} \pm SD$)	45
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của LNSK lên nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa khí quản ($\bar{x} \pm SD$)	46

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Ảnh 1.1: Xuyên tâm liên (<i>Herba Andrographitis</i>)	19
Ảnh 1.2: Kim ngân hoa (<i>Flos Lonicerae</i>)	22
Ảnh 1.3: Đinh lăng (<i>Radix Polysciacis</i>)	23
Ảnh 1.4: Sâm đại hành (<i>Curculigo orchioides Gaertn</i>)	24
Ảnh 1.5: Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	25
Ảnh 3.1: Hình ảnh mô bệnh học phổi chuột (HE x 400)	43

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm cấp, ho, long đờm là triệu chứng của bệnh lý thuộc hệ hô hấp, phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện khí hậu và môi trường, thường gặp vào mùa lạnh, do virus nên lây lan nhanh, các vi khuẩn chỉ là bội nhiễm thêm. Các virus thường gặp là virus cúm và virus APC (Adeno pharyngo) [1]. Viêm cấp là viêm niêm mạc của các tổ chức [2], ho là cơ chế tự vệ sinh lý quan trọng để tống các dị vật ở phần trên đường hô hấp ra ngoài, đờm là sản phẩm của các chất tiết của hệ thống hô hấp trong quá trình viêm gây ra. Việc điều trị không đúng sẽ làm cho bệnh thành mạn tính ảnh hưởng đến sức khỏe của người bệnh.

Theo Y học hiện đại (YHHĐ) điều trị viêm cấp, giảm ho, long đờm điều trị chủ yếu là nghỉ ngơi, giữ ấm, nâng cao sức đề kháng bằng vitamin C liều cao, điều trị triệu chứng chính: Giảm sốt, đau mỏi, nhức đầu bằng aspirin, ibuprofen, paracetamol [3], giảm ho bằng benzoat, methylmorphin..., long đờm bằng thuốc mucothioliol,... Dùng kháng sinh và giảm viêm khi có dấu hiệu bị bội nhiễm hoặc có biến chứng [4],[5]. Việc điều trị không đúng sẽ làm cho bệnh thành mạn tính ảnh hưởng đến sức khỏe của người bệnh. Ngoài ra, việc sử dụng kháng sinh không tuân thủ theo phác đồ đã làm cho sự kháng kháng sinh của một số chủng vi khuẩn ngày càng tăng, lạm dụng corticoid có nguy cơ gây nhiều tác dụng không mong muốn [1],[6].

Mặt khác, Việt Nam là nước có khí hậu nhiệt đới gió mùa, thời tiết nóng ẩm, thay đổi thất thường, độ ẩm cao là điều kiện thuận lợi cho việc phát sinh và phát triển các bệnh về viêm nhiễm, đặc biệt viêm họng là bệnh gặp khá phổ biến ở mọi giới, mọi lứa tuổi, thường lặp đi lặp lại nhiều lần trong năm. Vậy nên, vấn

đề nghiên cứu tìm ra thuốc có nguồn gốc từ dược liệu với hoạt tính chữa bệnh cao, an toàn, ít tác dụng phụ để điều trị đang là xu hướng tốt.

Y học cổ truyền (YHCT) đã và đang sử dụng một số vị thuốc như: bạc hà, húng chanh, bách bộ, hoa khế, lá hẹ,... để điều trị viêm họng cho kết quả khả quan. Ngoài ra, còn một số chế phẩm Y học cổ truyền như cao Ma hạnh, viên bạc hà, thuốc ho Bảo Thanh...[7]. Tuy nhiên, đa số các thuốc này chỉ dừng ở mức sử dụng theo kinh nghiệm lâm sàng, còn thiếu các minh chứng khoa học.

Việc bảo tồn và phát triển các bài thuốc dân gian, cái bài thuốc nghiệm phương của các thầy thuốc, các lương y và hiện đại hóa các bài thuốc để đưa vào sử dụng rộng rãi trên lâm sàng là điều hết sức cần thiết.

Bài thuốc “Liên Ngân SK” là bài thuốc nghiệm phương của PGS.TS. Đậu Xuân Cảnh đã và đang sử dụng nhiều năm qua trên lâm sàng cho bệnh nhân ho có đờm, được chẩn đoán và lý luận bệnh bằng Y học cổ truyền bào chế dưới dạng thuốc thang, nhưng chưa có nghiên cứu nào về tác dụng dược lý của bài thuốc.

Để bước đầu đánh giá cơ sở khoa học cũng như hiện đại hóa bài thuốc chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “**Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm ho, long đờm của viên nang “Liên Ngân SK” trên động vật thực nghiệm**”, với hai mục tiêu:

1. *Đánh giá tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm.*

2. *Đánh giá tác dụng giảm ho, long đờm của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về các rối loạn hô hấp theo Y học hiện đại

1.1.1. Tổng quan về viêm

Viêm là một phản ứng không đặc hiệu của mô do bị các yếu tố hóa học, vật lý hay sinh học tấn công [8].

Biểu hiện bên ngoài của viêm ở da và niêm mạc đã được Cecus mô tả từ cách đây 2000 năm với 4 dấu hiệu điển hình hòm: sưng, nóng, đỏ, đau [9]. Viêm vừa là một phản ứng bảo vệ cơ thể chống lại các yếu tố gây bệnh, vừa là phản ứng bệnh lý vì quá trình viêm gây ra tổn thương, hoại tử, rối loạn chức năng cơ quan... Phản ứng viêm có thể xuất hiện với nhiều mức độ khác nhau, thậm chí rất nặng nề và nguy hiểm tính mạng [8].

* Nguyên nhân gây viêm

Gồm có nguyên nhân nội sinh và nguyên nhân ngoại sinh:

- Nguyên nhân ngoại sinh

+ Tác nhân cơ học: Từ xây sát nhẹ tới chấn thương nặng đều có thể gây phá hủy tế bào và mô, làm giải phóng ra những chất gây viêm nội sinh.

+ Tác nhân vật lý: Nhiệt độ quá cao hay quá thấp làm thoái hóa protid tế bào gây tổn thương enzym. Tia xạ (UV, tia X) tạo ra các gốc oxy tự do gây phá hủy một số enzym oxy hóa đều dẫn đến phản ứng viêm. Ngoài ra tia xạ còn gây tổn thương AND của tế bào.

+ Tác nhân hóa học: Các acid mạnh, kiềm mạnh và các chất hóa học khác như thuốc trừ sâu, các độc tố... gây hủy hoại tế bào hoặc phong bế các hệ enzym trong cơ thể.

+ Tác nhân sinh học: Là nguyên nhân phổ biến nhất, gồm virus, vi khuẩn, ký sinh trùng đơn bào, đa bào hay nấm...

- Nguyên nhân nội sinh: Thiếu oxy tại chỗ, hoại tử mô, xuất huyết, rối loạn thần kinh dinh dưỡng (tắc mạch) là các nguyên nhân gây viêm thường gặp. Ngoài ra, viêm có thể do phản ứng kết hợp giữa kháng nguyên – kháng thể (như khi viêm cầu thận, viêm trong hiện tượng Arthus) [8].

* Phân loại viêm

Có nhiều cách phân loại viêm như:

- Theo nguyên nhân gồm: Viêm nhiễm khuẩn và viêm vô khuẩn.
 - Theo vị trí viêm gồm: Viêm nông và viêm sâu (bên ngoài và bên trong).
 - Theo dịch rỉ viêm gồm viêm thanh dịch, viêm tơ huyết, viêm mủ... tùy theo dịch viêm.

- Theo diễn biến gồm: Viêm cấp tính và viêm mạn.

- Theo tính chất viêm gồm: Viêm đặc hiệu và không đặc hiệu.

* Sinh lý, cơ chế quá trình viêm

- Giai đoạn viêm cấp tính

Khi thời gian diễn biến ngắn (vài phút – vài giây) và có các đặc điểm như tiết dịch, dịch tiết chứa nhiều protein huyết tương và nhiều bạch cầu đa nhân trung tính. Trong giai đoạn cấp tính của viêm, có bốn biến đổi chủ yếu là rối loạn tuần hoàn, rối loạn chuyển hóa, tổn thương mô và tăng sinh tế bào. Trên thực tế, bốn quá trình này đan xen và liên quan chặt chẽ đến nhau [8].

+ Sự rối loạn tuần hoàn tại ổ viêm: Rối loạn tuần hoàn tại ổ viêm thường xảy ra sớm, ngay khi yếu tố gây viêm tác động lên cơ thể. Theo Conheim, có thể quan sát thấy 4 hiện tượng của rối loạn tuần hoàn gồm: Rối loạn vận mạch, tạo dịch rỉ viêm, bạch cầu xuyên mạch và hiện tượng thực bào [8].

+ Rối loạn chuyển hóa trong ổ viêm: Viêm gây rối loạn chuyển hóa glucid, tạo ra nhiều acid lactic. Acid lactic tích lại trong ổ viêm, làm pH giảm dần từ rìa vào trong trung tâm ổ viêm. Viêm nặng có thể gây nhiễm toan toàn cơ thể. Rối loạn glucid muộn gây tăng chuyển hóa yếm khí rồi lại chuyển hóa lipid và protid [8].

+ Tổn thương mô: Thường có 2 loại tổn thương: tổn thương tiên phát do nguyên nhân gây viêm tạo ra và tổn thương thứ phát do các rối loạn tại ổ viêm tạo nên [8].

+ Tăng sinh tế bào và quá trình làm lành vết thương: Viêm bắt đầu bằng tổn thương và kết thúc bằng quá trình tái tạo. Mô xơ và các mạch máu mới là cơ sở hình thành sẹo thay thế cho mô tổn thương làm lành vết thương [8].

- Giai đoạn viêm mạn tính

Viêm mạn diễn biến từ vài ngày đến hàng tháng thậm chí đến hàng năm. Về mô học có sự xâm nhập của lympho bào và đại thực bào, mức độ tổn thương ngang bằng với mức độ sửa chữa tổn thương.

* Các thuốc kháng viêm

Hiện nay thuốc chống viêm gồm 2 nhóm: Thuốc chống viêm không steroid (các NSAID) và thuốc chống viêm steroid (các glucocorticoid).

1.1.2. Tổng quan về ho

Ho là phản xạ của thần kinh và tương ứng khi thở ra bất ngờ và mạnh. Nắp thanh quản lúc đầu đóng lại rồi tức thì mở ra để đẩy lượng không khí ra ngoài, kèm theo các chất tiết có trong khí phế quản (nếu có) [10].

1.1.2.1. Cung phản xạ của ho

Cơ quan cảm thụ là các dây thần kinh ở họng – thanh quản hoặc thanh quản – phế quản (nơi phân chia thành các phế quản lớn), màng phổi, nhưng cũng có khi là những kích thích từ tai giữa, trung thất và các cơ quan dưới hoành. Tổn thương ở phổi đơn thuần hoặc ở phế quản xa thường gây ho ít.

Hành tủy hoặc các dây thần kinh nối từ vỏ não.

Các dây thần kinh vận động như các dây thần kinh quặt ngược, liên sườn, cơ hoành, cơ bụng. Cơ ở bụng đóng vai trò quan trọng trong việc thở ra [10].

1.1.2.2. Phân loại

* Theo thời gian xuất hiện

- Cấp tính: thường gặp trong viêm cấp tính phế quản hoặc đường hô hấp, dị ứng, hít phải bụi bẩn, các chất kích thích.

- Mạn tính: thường gặp trong bệnh phổi mạn tính, bệnh của thanh quản, viêm tai hoặc viêm xương chũm mạn tính, ung thư họng – thanh quản, bệnh tổ chức kẽ của phổi...

* Theo chất tiết

- Ho có đờm: thương ho lợc xọc, cũng có khi chất tiết không phải là đờm, vì đờm đã bị nuốt, nhất là ở phụ nữ và trẻ con.

- Ho khan: là ho không có chất tiết, thương ho từng cơn, làm người bệnh mệt mỏi, buồn nôn hoặc nôn [10].

1.1.2.3. Các thuốc giảm ho

- Thuốc giảm ho ngoại biên: có tác dụng làm giảm nhạy cảm của các receptor gây phản xạ ho ở đường hô hấp.

- Thuốc giảm ho trung ương: các thuốc này ức chế trực tiếp trung tâm hờ ở hành tủy, đồng thời có tác dụng an thần. Thuốc nhóm này bao gồm: codein, dextromethorphan, noscapin (có hiệu quả trong trường hợp ho khan, mạn tính).

- Ngoài ra, có một số thuốc có tác dụng kháng histamin H1 như: alimemazin, diphenhydramin... cũng có tác dụng chống ho, được dùng trong các chứng ho khan do dị ứng, do kích thích, nhất là về đêm [11].

1.1.3. Tổng quan về đờm

Đờm là chất tiết ra từ dưới nắp thanh quản và đẩy ra ngoài sau khi ho. Đờm gồm dịch tiết của khí phế quản, phế nang, họng, các xoang hàm trán, các hốc mũi [10].

1.1.3.1. Tính chất của đờm dựa vào màu sắc

- Trong, trắng, có bọt, đó là nước bọt.
- Trong và lỏng: chất tiết của thanh mạc.
- Trắng và hơi xám: chất tiết của niêm mạc.
- Trắng hồng, xốp: phổi.
- Vàng: nhầy, mũ.
- Xanh: mũ.
- Đỏ, nâu hoặc gỉ sắt: có máu [10].

1.1.3.2. Thuốc long đờm

Thuốc long đờm còn gọi là thuốc loãng đờm, tiêu chất nhầy. Các thuốc này có tác dụng làm lỏng các dịch tiết tiết ra từ niêm mạc khí phế quản, do làm thay đổi cấu trúc dịch nhầy trong phế quản. Vì vậy, các chất nhầy có thể di chuyển dễ dàng và được tống ra khỏi đường hô hấp bằng hệ thống lông chuyển hoặc bằng sự khạc đờm. Thuốc long đờm được chia thành 2 loại:

- Thuốc làm tăng dịch tiết: là thuốc làm tăng bài tiết dịch ở đường hô hấp, bảo vệ niêm mạc đường hô hấp chống lại các tác nhân kích thích và khi làm tan được những tác nhân đó sẽ cho phép loại trừ chúng dễ dàng.

- Thuốc làm tiêu chất nhầy: các thuốc này làm thay đổi cấu trúc, dẫn đến giảm độ nhớt của chất nhầy, vì vậy các nút nhầy có thể di chuyển dễ dàng khỏi đường hô hấp bằng hệ thống lông chuyển hoặc sự khạc đờm [11].

1.2. Tổng quan về chứng Khái thấu theo Y học cổ truyền

Ho là một triệu chứng chính của các bệnh thuộc hệ hô hấp (phế hệ). Nếu dùng lời để mô tả phân biệt thì ho có tiếng mà không có đàm là: Khái, ho có đàm mà không có tiếng (khạc) gọi là: Thấu. Thông thường trên lâm sàng thường gặp là vừa có ho và vừa có đàm cùng kết hợp, cho nên bệnh học thường gọi là ho khạc đờm (khái thấu).

Trong sách Nội kinh cũng có bàn về chứng này rất tường tận cụ thể. Như trong “Thiên tuyên minh ngũ khí Tố Vấn” có nói: “Ngũ khí mà gây bệnh... ở phế là ho”. “Thiên khái luận - Tố Vấn” thì cho rằng ho là do “Bì phu bị nhiễm tà trước tiên” mà gây bệnh, lại nói “Ngũ tạng lục phủ khi bị bệnh đều gây triệu chứng khái thấu, không chỉ có ở phế” ở đây là sự nhấn mạnh về ngoại tà khi phạm vào phế hoặc ngũ tạng làm ngũ tạng bị rối loạn mất cân bằng nên bệnh sẽ liên quan đến phế và đều gây ra triệu chứng ho. Sau này các y gia nổi tiếng trong giới y học phương đông trong những tác phẩm riêng của mình đều có những giải thích bàn luận về nguyên nhân, cơ chế, phân loại sâu hơn về chứng này [12].

1.3.2. Nguyên nhân bệnh sinh

Chứng do hai nguyên nhân chính là ngoại tà và nội thương. Ho ngoại cảm lục âm hay ngoại tà xâm phạm vào phế. Ho do nội thương là do công năng của tạng phủ bị rối loạn gây nên, nội tà nhân đó phạm mà quấy nhiễu gây bệnh ở phế. Bất luận tà khí từ bên ngoài vào hay tà khí tự sinh ra ở bên trong, thì đều có thể gây ra tình trạng phế mất tuyên giáng, phế khí thượng nghịch lên trên mà thành chứng (ho khạc), nhưng đều thuộc phế nên khi chữa ho phải lấy chữa phế làm chính [13].

Ngoại cảm: Phong tà thuộc lục âm, khi khí hậu thay đổi, lạnh và ẩm thất thường thì phong tà rất dễ xâm nhập vào cơ thể. Phong tà thường kèm theo rối loạn các khí của bốn mùa mà xâm nhập. Mùa xuân là tiết phong khí, dương khí

thăng phát, khí hậu dần dần ấm lên nên phong tà rất dễ theo “nhiệt hóa” để gây bệnh. Mùa đông là tiết hàn khí nhưng do khí hậu thất thường, đáng lẽ trời lạnh nhưng lại vẫn nóng hoặc do đầu đông khí hậu ấm và gió nhiều nên làm cho phong theo nhiệt hóa. Mùa hạ là tiết thử khí, thử là hỏa tà nên phong và thử phối hợp xâm nhập vào phế vệ. Phế thuộc thượng tiêu, phía trên thông với mũi, phía ngoài hợp với bì mao, chủ biểu toàn thân. Phong thuộc dương tà, đặc tính nhẹ và di động, thăng tán, sơ tiết. Mặc dù trên lâm sàng thường gặp chứng phong hàn nhưng phong thuộc lục âm và có thể kết hợp với nhiệt, thấp, táo để gây bệnh. Trong “Thiên luận – Hà Gian lục thư” cũng nói: “Lục khí: hàn, thử, táo, thấp, phong, hỏa đều có thể gây chứng khái thấu” đó cũng chính là ý trên. Do bốn mùa có chủ khí khác nhau, cho nên cơ thể khi ngoại tà gây bệnh cũng có những triệu chứng bệnh khác nhau. Phong là khí đứng đầu trong lục khí, khi gây bệnh các khí khác thường kết hợp với phong mà gây bệnh, cho nên chứng do ngoại tà: hàn, nhiệt, táo, hỏa,...thường dựa vào còn đường gây bệnh của phong để xâm nhập vào cơ thể. Trương Cảnh Nhạc từng đưa ra quan điểm “Lục khí đều gây chứng khái, nhưng do phong hàn là chính”, cho rằng nguyên nhân chính là phong tà kết hợp với hàn khí gây nên bệnh là thường gặp nhất. Ngoại cảm xâm nhập vào cơ thể qua mũi và bì phu gây trệ tắc phế vệ. Phế chủ khí, chủ hô hấp, phía trên thông với hầu họng, khai khiếu ra mũi nên khi ngoại tà xâm nhập vào vệ biểu bất hòa, phế rối loạn công năng tức giáng mà gây nên bệnh. Vì thế, trên lâm sàng thấy các chứng bệnh thuộc biểu như sợ lạnh, sốt, đau đầu, người nặng nề, tắc mũi, đau họng, chảy nước mũi, ho....

Nội thương thường do chức năng của tạng phủ bị rối loạn thất điều, nội tà theo đó mà xâm nhập vào phế hệ mà gây bệnh. Có thể phân thành hai dạng như sau: một là do các tạng phủ khác bị bệnh mà lan truyền vào phế gây bệnh tại phế, hai là bệnh tại tạng phế sinh ra. Ho do tạng khác gây nên, có thể do tình chí bị kích thích làm

tạng Can mất chức năng điều đạt, khí uất mà hóa hỏa, hỏa khí theo đường kinh thượng nghịch lên phạm vào Phế hệ mà thành bệnh, hoặc do ăn uống thất điều, dùng các chất có cồn như rượu, bia, những chất này thiêu đốt (làm tổn thương) phế vị, hoặc do ăn uống nhiều chất ngọt béo, cay nóng quá độ là Tỳ mất chức năng kiện vận, đàm trọc theo đó mà sinh ra ở bên trong (nội sinh), thượng nghịch lên trên vào Phế mà gây thành chứng bệnh khái thấu. Nếu bệnh hình thành tại tạng Phế thì thường do các bệnh thuộc Phế hệ điều trị không khỏi kéo dài mạn tính gây nên, Phế tạng hư nhược khiến phần âm bị tổn thương, khí phạm thì hao tổn. Chức năng chủ khí của phổi bị rối loạn khiến tác dụng túc giáng của Phế không được điều khiển dẫn đến khí nghịch lên trên mà thành chứng ho (khái thấu) [14].

1.3.3. Biện chứng luận trị

Chứng bệnh này chủ yếu là chứng hàn nhiệt kết hợp với thử thấp gây nên. Trong quá trình tiến triển bệnh thì hàn nhiệt có thể chuyển hóa lẫn nhau hoặc hàn nhiệt thác tạp. Chứng là triệu chứng chính của các bệnh thuộc hệ hô hấp (Phế hệ), cũng có thể bệnh tại tạng khác lan truyền đến tạng Phế mà xuất hiện chứng khái thấu, đi vào phân tích sâu đặc điểm của triệu chứng này có thể giúp ta phân biệt được các chứng bệnh khác và đồng thời giúp cho liên hệ với những bệnh khác liên quan đến phế trong chẩn đoán bệnh, đạt được mục đích cùng kết hợp với nhau trong biện chứng và biện bệnh.

- Biện chứng về bệnh nặng hay nhẹ: Bệnh sốt không cao, kèm theo chảy nước mũi, tắc mũi, đau đầu, ho ít, đau họng, họng sung huyết, amidan sưng nhẹ là bệnh còn nông, bệnh nhẹ, ít khi chuyển biến và nhanh khỏi.

- Biện luận về thiên hàn hay thiên nhiệt: căn cứ vào yếu tố của hàn hay nhiệt, nước mũi trong hay nước mũi đục, đờm trắng hay vàng, khát hay không khát, chất lưỡi, mạch để phân biệt hàn hay nhiệt.

1.3.4. Nguyên tắc điều trị

- Tuyên phế giải biểu: nếu nguyên nhân do phong hàn thì dùng pháp tân ôn giải biểu; nếu nguyên nhân do phong nhiệt thì dùng pháp tân lương giải biểu và phải kết hợp với các pháp hóa thấp, khứ ú, thanh phế, nhuận táo, chỉ khái.

- Không nên lạm dụng quá nhiều thuốc giải biểu và cũng không nên dùng thuốc bổ ích quá sớm. Chú ý, nguyên tắc phù chính không để liễm tà. Có thể hư nhược mà kiêm thực chứng thì nên dùng pháp chính tà kiêm thi [14],[15].

1.3.5. Phân thể điều trị

1.3.5.1. Ho do ngoại cảm

- Phong hàn uất biểu

+ Triệu chứng: chứng này do phong hàn xâm nhập từ bên ngoài vào làm phế khí không tuyên, khiếu đạo trệ tắc gây sợ lạnh, sốt nhẹ, không ra mồ hôi, đau đầu, đau nhức chân tay, tắc mũi, tiếng nói đục, đau họng, ho, khạc đờm trong loãng, không khát, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch phù.

+ Pháp điều trị: Tân ôn giải biểu

+ Bài thuốc: Kinh phong bại độc tán [14].

- Phong nhiệt uất biểu

Phong nhiệt phạm phế là phế khí không tuyên giáng, lỗ khiếu không thông.

+ Triệu chứng: sốt, hơi sợ gió, đầu căng và đau; họng và amidan sưng đỏ, đau; tắc mũi; chảy nước mũi, khát nước, chất lưỡi hồng, rêu lưỡi trắng mỏng hơi vàng, mạch phù sắc.

+ Pháp điều trị: Tân lương giải biểu.

+ Bài thuốc: Tang cúc âm [14].

1.3.5.2. Ho do nội thương

- Đàm thấp ủng trệ

+ Triệu chứng: ho thường xuyên tái phát, tiếng ho nặng và đục, nhiều đờm, khạc đờm thì hết ho hay giảm ho, đờm nhớt và dính, hoặc đặc thành hòn cục, sắc đờm trắng hoặc có màu tro bản, ho khạc nhiều đờm thường xuất hiện sau bữa ăn, triệu chứng nặng lên khi ăn các đồ ngọt nhiều dầu mỡ, kèm triệu chứng tức ngực, chướng bụng, buồn nôn, ăn ít, nằm co, đại tiện có lúc nhão nát, rêu lưỡi trắng nhớt, mạch nhu hoạt.

+ Pháp điều trị: Kiện tỳ táo thấp, hóa đàm chỉ khái

+ Bài thuốc: Nhị trần thang, tam tử dưỡng thân thang.

- Đàm nhiệt uất phế

+ Triệu chứng: Ho hơi thở ngắn thô hoặc có tiếng lọc sọc khò khè, đờm nhiều, đờm đặc dính hoặc vàng đặc, khạc nhỏ xong không thấy dễ chịu, hoặc có sốt, mùi đờm tanh, hoặc khạc đờm có lẫn máu, ngực sườn đầy tức, khi ho thì đau, mặt đỏ có sốt, miệng khô thích uống nước, rêu lưỡi mỏng vàng và nhớt, chất lưỡi hồng, mạch hoạt sắc.

+ Pháp điều trị: Thanh nhiệt hóa đàm và tuyên phế.

+ Bài thuốc: Thanh kim hóa đàm thang gia giảm.

- Can hỏa phạm phế

+ Triệu chứng: có cơn khí nghịch lên trên gây ho, khi ho mặt đỏ, họng khô, thường xuyên có cảm giác đờm vướng ở hầu họng rất khó khạc nhỏ, lượng đờm khạc ra rất ít nhưng dính, ngực sườn đầy tức, khi ho thì đau, miệng thì khô và đắng. Triệu chứng bệnh tăng giảm có thể theo tình trí của bệnh nhân, kèm rêu lưỡi mỏng vàng và ít tân dịch, mạch huyền sắc.

+ Điều trị: Thanh phế bình can, thuận khí để giáng hỏa.

+ Bài thuốc: Tả bạch tán và Đái hà tán gia giảm [14].

1.3. Một số nghiên cứu sử dụng y học cổ truyền điều trị rối loạn hô hấp

1.3.1. Một số nghiên cứu nước ngoài

Yasmeen Jahan cùng cs (2015): Triển vọng tương lai của điều trị ho; Thuốc thảo dược kết hợp thuốc hiện đại. Kết quả cho thấy các hoạt động ức chế ho và long đờm đã được khẳng định đối với nhiều cây thuốc, trong tài liệu. Dựa trên kiến thức này, các nhà nghiên cứu khác nhau đã đánh giá nhiều loại thảo mộc có tác dụng chống ho và long đờm đã được tổng hợp và báo cáo trong nghiên cứu này [16].

Shahnaz Sultana cùng cs (2016) Đánh giá: Thuốc thảo dược ức chế ho. Trong số các rối loạn đường hô hấp, cảm lạnh và ho là những triệu chứng phổ biến có nhiều lý do đằng sau chúng. Nó có thể dẫn đến các bệnh nghiêm trọng nếu không được điều trị kịp thời. Chẩn đoán chính xác có thể chữa khỏi vấn đề này bằng các loại thuốc khác nhau thường được tìm thấy xung quanh chúng ta một mình hoặc kết hợp. Nhóm nghiên cứu đã nghiên cứu và đánh giá 60 thảo dược có tác dụng giảm ho [17].

Abdul Walusansa cùng cs (2022) Nghiên cứu thuốc thảo dược dùng để điều trị tiêu chảy và ho ở thành phố Kampala, Uganda. Kết quả cho thấy 84 loài thực vật từ 41 họ đã được ghi nhận. Fabaceae và Myricaceae có số loài cao nhất (9, 10,7% mỗi loài). Citrus limon (L.) Osbeck là loài trị ho phổ biến nhất, với tần suất trích dẫn tương đối và tầm quan trọng y học tương đối của nó không khác biệt đáng kể so với 5 loài hàng đầu khác ngoại trừ *Azadirachta indica* A.Juss [18].

1.3.2. Một số nghiên cứu trong nước

Theo Phạm Thị Lý, cao ma hạnh có tác dụng chữa ho đạt A và B là 89,86%; chảy nước mũi khỏi 65%. Thuốc có tác dụng với thể phong hàn tốt hơn thể phong nhiệt trên 143 bệnh nhân ho kèm viêm họng tại viện YHCT Việt Nam [19].

Bài thuốc của lương y Nguyễn Hữu Ba gồm: Thuốc làm thành phẩm, lá trầu không, nước vôi đặc, đất sét gan gà khi dùng hòa vào rượu trắng, lấy dịch trong

súc họng. Kết quả nghiên cứu trên 60 bệnh nhân viêm họng đỏ cấp tính ở độ tuổi 17 – 72 tuổi cho thấy: Sau 3 ngày triệu chứng lâm sàng được cải thiện, tỷ lệ ngứa họng đạt loại tốt và khá là 88%; đau họng, nuốt đau, tỷ lệ tốt và khá đạt 87%; ho tỷ lệ tốt và khá đạt được là 86%. Thuốc có tác dụng với thể phong hàn (91%) tốt hơn thể phong nhiệt (83%). Kết quả chung cho thấy đạt loại tốt là 1,67%, loại khá đạt 85% [20].

Tác dụng chữa ho cho trẻ em bằng thuốc “Bổ phế chỉ khái lộ” do liên hiệp dược Hà Nam (nay là công ty cổ phần dược phẩm Nam Hà và Hà Nam) sản xuất của Hoàng Bảo Châu và cộng sự [21].

Tác dụng chữa ho của phương thức cổ truyền “Nhị trần thang” của Phạm Xuân Sinh và cộng sự [22].

Đỗ Việt Hương (1997), Nghiên cứu tác dụng thuốc chỉ khái theo phân loại Y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng [23].

Đánh giá tác dụng điều trị viêm họng đỏ cấp tính thông thường bằng kích thích điện trên các huyết kinh phế, kinh đại trường [24].

Theo tạp chí khoa học và kỹ thuật Trung văn: nước ép tươi của hệ có tính chất kháng sinh rất cao đối với nhiều loại vi khuẩn, đường kính vô khuẩn như sau: Staphylococcus (1cm), Salmonella typhi (1cm), S. flexneri và Subtilis (0,8cm), tính chất kháng sinh này khá bền vững [25].

1.4. Tổng quan về một số mô hình nghiên cứu tác dụng điều chỉnh rối loạn hô hấp trên động vật thực nghiệm

1.4.1. Mô hình nghiên cứu tác dụng giảm ho trên động vật thực nghiệm

Các phương pháp nghiên cứu thuốc chống ho nói chung giống nhau. Cho thuốc cho động vật và sau đó động vật chịu tác động của một yếu tố gây ho. Sự kích thích ho thay đổi trong các phương pháp khác nhau, có một số phương pháp chỉ có thể phát hiện những thuốc chống ho khá mạnh [26].

1.4.1.1. Mô hình gây ho bằng các tác nhân kích thích gây ho

* Gây ho bằng amoniac trên chuột nhắt trắng:

Chuột cả đực và cái được gây mê nhẹ với việc tiêm trong màng bụng pentobarbital với liều 45 mg/kg dưới dạng dung dịch 6%. Đặt vào khí quản canun là một ống polyethylen ngắn, nối động mạch cảnh với một áp kế để ghi huyết áp. Thuốc thử được tiêm tĩnh mạch vào tĩnh mạch đùi. Ho được ghi trên máy ghi bằng một đòn bẩy bật lên nhẹ nhàng nối bằng một sợi chỉ với da ngay dưới xương ức. Việc sử dụng amoniac làm chất gây ho cho đáp ứng hằng định nhất và thường được dùng nhiều nhất. Trong thử nghiệm này, hơi amoniac từ một bình chứa dung dịch 7% amoniac được đưa vào hệ hô hấp bằng một cái vòi có 3 nhánh nối bình với canun khí quản. Để chuột hít hơi amoniac trong một lần thở vào. Ho thường bắt đầu ngay sau đó. Áp dụng kích thích ho cứ 3 phút một lần cho tới khi đạt được 3 hoặc 4 đáp ứng ho đối chứng có cùng cường độ và thời gian kéo dài. Sau đó tiêm tĩnh mạch thuốc thử nghiệm, và thực hiện lặp lại các kích thích ho ở những khoảng cách thời gian giống nhau cho tới khi đáp ứng ho trở về bình thường. Có thể dùng mỗi động vật để so sánh hiệu lực của nhiều thuốc [26].

* Gây ho bằng acid citric trên chuột lang:

Dùng chuột lang không được điều trị trước (Charlier và cộng sự, 1961). Đặt chuột lang trong một bình thủy tinh hình trụ, có hai ống ở hai đầu, một ống để đưa khí dung vào, và ống kia để đưa ra. Ống sau này có một nhánh bên nối với một cái trống mà các thay đổi về áp suất có thể được ghi. Một cái kẹp có đinh vít thay đổi được đặt ở ống ra phía ngoài của nhánh bên, cho phép điều hòa độ nhạy của hệ thống, sao cho hô hấp bình thường không được ghi, trong khi sự chuyển dịch của không khí trong sự ngăn lại gây bởi ho được ghi. Chuột lang được phơi nhiễm với khí dung của 7,5% acid citric trong nước trong 10 phút. Mỗi động vật

được thử nghiệm trước hết để đạt đáp ứng đối chứng. Một giờ sau, động vật được cho thuốc thử nghiệm và 30 phút sau đó lại chịu tác động của khí dung. Số lượng các cơn ho được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm của số lượng trong thời kỳ đối chứng, để có tác dụng chống ho [26].

Codein phosphat với liều đưa vào dạ dày 100 mg/kg cho một trị số trung bình 49% ở một nhóm 10 chuột lang. Số lượng các cơn ho trong 15 phút sau khi cho tác động khí dung cũng được ghi. Số lượng các cơn ho trong thời kỳ đối chứng là 53, (trung bình của 10 chuột lang) [26].

1.4.1.2. Mô hình gây ho cơ học

Chuột cả đực và cái được gây mê nhẹ với việc tiêm trong màng bụng pentobarbital với liều 45 mg/kg dưới dạng dung dịch 6%. Đặt vào khí quản canun là một ống polyethylen ngắn, nối động mạch cảnh với một áp kế để ghi huyết áp. Thuốc thử được tiêm tĩnh mạch vào tĩnh mạch đùi. Ho được ghi trên máy ghi bằng một đòn bẩy bật lên nhẹ nhàng nối bằng một sợi chỉ với da ngay dưới xương ức. Dùng 3 phương pháp gây ho, kích thích điện, cơ học và hóa học. Trong phương pháp điện, dây thần kinh thanh quản trên được kích thích bằng một máy kích thích sóng vuông dòng điện không đổi. Phương pháp cơ học là kích thích niêm mạc khí quản bằng một ống polyethylen đưa vào và đưa ra khỏi khí quản 2 hoặc 3 lần [26].

1.4.2. Mô hình nghiên cứu tác dụng long đờm trên động vật thực nghiệm

Để đánh giá tác dụng long đờm của các chế phẩm trên thực nghiệm, tiến hành các mô hình gây long đờm trên động vật. Một trong các phương pháp phổ biến là sử dụng phenol đỏ. Thông qua đo lường tác động của các chất làm tăng nồng độ phenol đỏ trong dịch tiết khí quản của động vật để đánh giá tác dụng của chế phẩm trên mô hình long đờm [9].

Tiến hành tiêm vào màng bụng chuột dung dịch phenol đỏ. Sau đó tiến hành rửa khí quản và tập trung dịch rửa khí quản của mỗi chuột vào ống nghiệm. Ly tâm dịch rửa trong 5 phút lấy dịch trong. Định lượng phenol đỏ được tiết ra dịch tiết đường hô hấp của họng chuột có trong dịch rửa.

Đo độ hấp thu quang của dịch rửa ở bước sóng 546 nm. Độ hấp thu quang của dung dịch tương ứng với lượng phenol đỏ tiết ra trong dịch tiết khí quản chuột càng nhiều (độ hấp thu quang càng lớn) thì khả năng long đờm càng tốt [9].

1.4.3. Một số mô hình nghiên cứu tác dụng chống viêm hô hấp trên động vật thực nghiệm

1.4.3.1. Mô hình gây viêm phổi

Chuột được gây viêm phổi bằng các yếu tố gây viêm như gây tăng áp lực thở; dùng vi sinh vật (vi khuẩn, virus) hoặc nội độc tố (Lipopolysaccharide - LPS); dùng hóa chất (Oleic acid)...

Axit oleic (axit cis-9-octadecenoic) là axit béo tự do phổ biến nhất ở động vật có vú, chiếm 60% tổng lượng axit béo tự do. Axit oleic gây độc trực tiếp cho tế bào nội mô ở nồng độ 5×10^{-4} M trong ống nghiệm. Trong vòng 1 phút sau khi tiêm axit oleic vào tĩnh mạch gây tổn thương nội mô do hoại tử. Cơ chế thực sự mà axit oleic gây ra cái chết của tế bào vẫn chưa được rõ ràng, nhưng tổn thương màng trực tiếp có thể là một sự kiện quan trọng. Axit oleic không hòa tan trong nước và phải được hòa tan trong etanol hoặc tạo nhũ tương trong máu trước khi dùng. Nó có thể được dùng qua tĩnh mạch ngoại vi, tĩnh mạch trung tâm, hoặc trực tiếp vào tâm nhĩ phải hoặc động mạch phổi. Axit oleic đã được sử dụng rộng rãi hơn ở chuột và động vật lớn hơn chuột. Mô hình gây viêm phổi do axit oleic tạo ra các tổn thương phổi viêm loang lổ sớm và nhanh chóng hồi phục với những thay đổi về tính thấm và suy giảm trao đổi khí và cơ học phổi, cho phép nghiên cứu về thông khí, cơ học phổi và sự phân bố V/Q trong quá trình tổn thương phổi ở động vật lớn và nhỏ. Một bất lợi là yêu cầu tiêm tĩnh mạch,

đòi hỏi chuyên môn về động vật nhỏ như chuột. Mô hình này còn nhược điểm nữa là ít sát với thực tiễn viêm phổi trên lâm sàng.

LPS là một glycolipid có trong màng ngoài của vi khuẩn gram âm, được cấu tạo bởi nhóm lipid đầu phân cực (lipid A) và một chuỗi các disaccharid lặp lại. Trong huyết thanh, LPS liên kết với một protein liên kết LPS cụ thể (LBP) (131, 217), tạo thành phức hợp LPS: LBP kích hoạt cấu trúc thụ thể CD14/TLR4 trên bạch cầu đơn nhân, đại thực bào và các tế bào khác, kích hoạt sản xuất chất trung gian gây viêm. Việc sử dụng LPS có một số ưu điểm như một phương pháp để mô hình hóa ảnh hưởng của các vi sinh vật, đặc biệt vi khuẩn gram âm trên động vật và người. LPS rất dễ quản lý và kết quả có xu hướng được lặp lại trong các thí nghiệm. LPS là một chất kích hoạt mạnh các phản ứng miễn dịch bẩm sinh thông qua con đường TLR4 và có rất ít độc tính trực tiếp đối với các tế bào trong ống nghiệm. Do đó, việc sử dụng LPS cung cấp thông tin về tác động của các phản ứng viêm của vật chủ [27].

1.4.3.2. Mô hình gây viêm họng

Viêm đường hô hấp có thể có viêm họng, viêm xoang, viêm mũi, viêm phế quản..., trong đó viêm họng là bệnh lý hay gặp. Thường gây viêm họng bằng các chất kích thích gây viêm ở niêm mạc họng như capsaicin.

Viêm họng thực nghiệm đã được gây ra bằng cách đặt bông tẩm capsaicin lên bề mặt niêm mạc hầu họng 3 lần. Trước khi sử dụng capsaicin, khoang miệng được rửa hai lần bằng 0,5 ml nước muối. Khi đặt bông tẩm dung dịch capsaicin, lưỡi được kéo nhẹ ra một chút với một cái forceps và khu vực hầu họng được mở sâu trong khoang miệng bởi dụng cụ mở rib spreader nhỏ. Một mẫu bông ngâm capsaicin 0,3 mM (0,25 ml) được quét nhẹ vùng hầu họng ba lần, mỗi lần trong khoảng 3 giây. Capsaicin được hòa tan trong hỗn hợp 10%

ethanol-10% Tween 80 và 80% nước cất. Sau 60 phút kể từ khi dung dịch capsaicin được sử dụng, tiến hành đánh giá xuất tiết dịch vùng hầu họng [28].

1.5. Tổng quan về bài thuốc “Liên ngân SK”

Viên nang “Liên ngân SK”

THÀNH PHẦN:

Xuyên tâm liên (*Herba Andrographii*) 180mg

Kim ngân hoa (*Flos Lonicerae*).....180mg

Đinh lăng (*Radix Polysciacis*)..... 50mg

Sâm đại hành (*Curculigo orchioides Gaertn*).....50mg

Nhân sâm (*Panax ginseng*).....40mg

Phụ gia: Vỏ nang – Gelatin, chất độn (tinh bột ngô), chất ổn định (Calci carbonat), chất chống đông vón (Talc, Magnesi stearat) vừa đủ 1 viên.

Khối lượng tịnh (không tính vỏ nang): 500mg/viên

1.5.1. Xuyên tâm liên (*Herba Andrographitis*)



Ảnh 1.1: Xuyên tâm liên (*Herba Andrographitis*)

- Tên khoa học: *Herba Andrographitis*
- Dược liệu dùng là thành phần trên mặt đất phơi hay sấy khô của cây Xuyên tâm liên – *Andrographis paniculata* (Burm.) Nees., họ Ô rô – Acanthaceae.
- Thành phần hóa học: Các dẫn chất diterpenlacton

Thành phần chính trong Xuyên tâm liên là các dẫn chất diterpenlacton có cấu trúc labdan. Chất chính là Andrographolid có trong toàn cây nhưng cao nhất là ở lá. Andrographolid có vị rất đắng kết tinh từ MeOH điểm chảy 230°C. Hàm lượng andrographolid trong lá chiếm khoảng 2,39%. Dẫn chất diterpenlacton thứ hai là neoandrographolid, một glucosid đã được xác định cấu trúc năm 1986. Dẫn chất này có vòng lacton 5 cạnh chưa no ở vị trí α , β nên dương tính với thuốc thử Baliet (thuốc thử phát hiện vòng butenolic trong glycosid tim). Mới đây, người ta đã phân lập được glucosid của andrographolid với phần đường glucose gắn vào carbon carbinol bậc II và gọi là andrographolid [Seth S.K. et al. J. of Mol. Structure (2010) 965,45-49].

- Tác dụng dược lý:

Các nghiên cứu trên chuột nhắt cho thấy Xuyên tâm liên có tác dụng kích thích hệ miễn dịch bằng cả 2 con đường: đáp ứng đặc hiệu với kháng nguyên tạo nên kháng thể tiêu diệt vi khuẩn và đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu tăng cường khả năng thực bào.

+ Xuyên tâm liên có tác dụng ức chế sự nhân bản của nhiều loại tế bào ung thư, kích thích sự biệt hóa tế bào giúp chống lại bệnh ung thư.

+ Xuyên tâm liên có tác dụng hạ sốt. Ở liều 300mg/kg Xuyên tâm liên có tác dụng hạ sốt tương đương với aspirin cùng liều. Xuyên tâm liên có tác dụng ngừa cảm lạnh trên thử nghiệm lâm sàng mù đôi ở người tình nguyện. Sau 3 tháng sử dụng liều 200mg/ngày, tỷ lệ người cảm lạnh chỉ còn 30% so với 62% ở nhóm chứng

+ Dịch chiết Xuyên tâm liên có ảnh hưởng lên khả năng tồn tại của HIV do ức chế các enzym ảnh hưởng lên quá trình vận chuyển phosphat.

+ Xuyên tâm liên có tác dụng bảo vệ gan chống lại các tác nhân gây hại cho gan như CCl₄, galactosamin, paracetamol. Tác dụng chủ yếu do các andrographolid trong đó anhydrographisid có tác dụng mạnh nhất.

+ Các thử nghiệm dược lý cho thấy andrographolid, hoạt chất chính trong cây có nhiều tác dụng trên các mô hình thử nghiệm như: diệt đơn bào, chống độc gan, kháng HIV, kích thích miễn dịch, chống ung thư, hạ đường huyết và chống cao huyết áp.

- Tính vị, quy kinh: Vị rất đắng, tính hàn. Vào kinh phế, can, tỳ.

- Công năng, chủ trị: Thanh nhiệt giải độc, thân nhiệt táo thấp, thanh tràng chỉ lý, thanh phế chỉ khái. Chủ trị các bệnh viêm ruột, lý cấp tính, viêm phổi, viêm họng, amidan. ho, ho gà, viêm gan virus, viêm đường tiết niệu, mụn nhọt, ung thũng đình độc, rắn độc cắn.

- Cách dùng, liều lượng: Dùng dưới dạng thuốc bột 4 – 6g hoặc thuốc sắc 10 – 20g. Dùng ngoài: Ngày dùng 20 g đến 40 g lá tươi, giã nát để đắp, hoặc sắc lấy nước rửa chỗ mụn nhọt, ngứa lở [29],[30],[31].

1.5.2. Kim ngân hoa (*Flos Lonicerae*)



Ảnh 1.2: Kim ngân hoa (*Flos Lonicerae*)

- Tên khoa học: *Flos Lonicerae*

- Dược liệu là nụ hoa có lẫn một số hoa đã nở của cây Kim ngân – *Lonicera japonica* Thunb. hoặc một số loài *Lonicera* khác như *L.dasystyla* Rehd., *L. confusa* DC. họ Kim ngân – Caprifoliaceae.

- Thành phần hóa học:

+ Trong nụ hoa *L. japonica* có các nhóm hợp chất sau: các dẫn chất cafeoyl quinic, flavonoid, iridoid và saponin.

+ Nụ hoa kim ngân có acid chlorogenic và các đồng phân của nó như: acid cryptochlorogenic, acid neochlorogenic và các acid isochlorogenic a,b và c (3,4-,3,5- và 4,5-di-O-cafeoyl quinic). Hàm lượng của acid chlorogenic trong nụ hoa có thể tới 6%.

+ Các flavonoid trong nụ bao gồm: rutin, luteolin-7-O- β -D-galactosid, lonicerin, hyperosid, luteolin-7-O-neohesperidosid, tricetin-7-O- β -D-glucospyranosid, ochra-flavon L, chrisoeirol-7-O- β -D-hesperidosid, tricetin-7-O- β -D-neohesperidosid, chrysoeriol-7-O- β -D-neohesperidosid, avicularin và quercetin. 3 chất đầu có hàm lượng cao nhất (với tỷ lệ khoảng 4,5:2:1).

- Tác dụng dược lý:

+ Kim ngân có tác dụng kháng khuẩn trên một số vi khuẩn thuộc các chi *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Shigella*, *Salmonella* và một số loại virus.

+ Swerosid được chứng minh có tác dụng bảo vệ gan.

+ Các nghiên cứu cũng cho thấy Kim ngân có tác dụng ngăn cản sự tích tụ mỡ ở bụng.

+ Kim ngân được dùng chủ yếu để trị các viêm nhiễm đường hô hấp trên như viêm amidan, viêm họng, viêm thanh quản. Ngoài ra còn được dùng để điều trị viêm da, mụn nhọt, sưng vú, viêm ruột thừa; trị lý trực tràng, viêm màng kết do siêu vi, cúm.

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

- Công năng, chủ trị: Thanh nhiệt, giải độc, tán phong nhiệt. Chủ trị: Ung nhọt, ban sởi, mày đay, lở ngứa, cảm mạo phong nhiệt, ôn bệnh phát nhiệt, nhiệt độ huyết li.

- Cách dùng, liều lượng: 6 – 15g có thể đến 30g [29],[30],[31].

1.5.3. Đinh lăng (*Radix Polysciacis*)



Ảnh 1.3: Đinh lăng (*Radix Polysciacis*)

- Tên khoa học: *Radix Polysciacis*
- Bộ phận dùng là Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đinh lăng [*Polyscias fruticosa* (L.) Harms], họ Nhân sâm (*Araliaceae*).
- Thu hái và chế biến: Thu hái, rửa sạch đất cát, thái lát, phơi hoặc sấy khô. Thu hoạch rễ vào mùa thu đông sau khi cây trồng trên 5 năm. Đào lấy rễ, rửa sạch, bóc lấy vỏ rễ, thái lát, phơi khô. Đinh lăng sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô. Đinh lăng chế rượu gừng và mật: Tắm rượu gừng 5% vào Đinh lăng sống, trộn đều cho thấm rượu gừng, sao qua nhỏ lửa. Tắm thêm Mật ong, trộn đều cho thấm mật rồi sao vàng cho thơm. Dùng 5 L rượu gừng 5% và 5 kg Mật ong cho 100 kg dược liệu.
- Tính vị, quy kinh: Ngọt, bình. Quy vào kinh phế, tỳ, thận.
- Công năng, chủ trị: Bổ khí, lợi sữa, giải độc. Chủ trị: Suy nhược cơ thể và suy nhược thần kinh, tiêu hóa kém, ngủ kém, phụ nữ sau đẻ ít sữa.
- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 2g đến 6g, dạng thuốc sắc hoặc thuốc tán bột. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác [29],[30],[31].

1.5.4. Sâm đại hành (*Curculigo orchoides* Gaertn)



Ảnh 1.4: Sâm đại hành (*Curculigo orchoides* Gaertn)

- Tên khoa học: *Curculigo orchoides* Gaertn
- Bộ phận dùng: Thân hành đã phơi hay sấy khô của cây Sâm đại hành (*Eleutherine subaphylla* Gagnep.), họ Lay ơn (*Iridaceae*).
 - Thu hái và chế biến: Thu hoạch từ cây 1 năm tuổi trở lên. Khi cây tàn lụi, đào lấy thân hành, cắt bỏ phần rễ, lá, rửa sạch thái dọc củ thành lát, phơi hoặc sấy khô (dưới 60°C). Để nguyên miếng hoặc tán bột. Nếu chưa dùng thì sau khi đào củ, rửa sạch đất, để nguyên cả lớp rễ và vỏ ngoài, tách ra từng củ, vùi vào cát ẩm để cho củ lâu khô.
 - Tính vị, quy kinh: Cam ôn. Vào các kinh can, tỳ, phế.
 - Công năng, chủ trị: Tư âm dương huyết, chi huyết, sinh cơ, chỉ khát, tiêu độc. Chủ trị: Thiếu máu, vàng da, hoa mắt, nhức đầu, mệt mỏi, băng huyết, ho ra máu. Thương tích tụ huyết (giã đắp), ho gà viêm họng, tê bại do suy dinh dưỡng, mụn nhọt, lở ngứa.
 - Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 4g đến 12g thuốc sắc, hãm, bột hoặc thuốc viên [29],[30],[31].

1.5.5. Nhân sâm (*Radix Ginseng*)



Ảnh 1.5: Nhân sâm (*Radix Ginseng*)

- Tên khoa học: *Radix Ginseng*
- Tên khác: Bạch điều sâm, bạch sâm, biệt trúc sâm, Triều Tiên sâm.....
- Thành phần hóa học:

Saponin: Thành phần chính trong Nhân sâm là các saponin triterpenoid nhóm dammaran gọi chung là ginsenosid. Hàm lượng saponin trong rễ củ chính vào khoảng 3,3%. Ở rễ con hàm lượng saponin có thể tới 6,4%. Rễ sâm trồng có hàm lượng saponin thấp hơn sâm mọc hoang.

- Tác dụng dược lý:

Ginsenosid hoặc dịch chiết từ Nhân sâm có những tác dụng sau:

Kháng histamin: ngăn ngừa hiện tượng co thắt ruột chó gây ra do tiêm histamin phosphat.

+ Kháng cholin: giảm co thắt ruột của chuột lang cô lập khi gây co thắt bởi acetyl cholin.

+ Giảm lượng cholesterol của huyết thanh thí nghiệm trên chuột.

+ Có tác dụng chống stress ở chuột thí nghiệm.

+ Trên huyết áp có hai giai đoạn nâng và hạ.

+ Tác dụng kích thích tổng hợp ARN trên gan chuột cống nếu tiêm ginsenosid vào màng bụng 4 giờ trước khi tiêm các chất tiền sinh.

+ Tác dụng chuyển glucose thành glycogen, ngăn ngừa hiện tượng giảm glycogen, ATP hoặc creatin phosphat và ngăn ngừa hiện tượng tăng acid lactic và acid pyruvic trong cơ của chuột cống thí nghiệm bằng phương pháp cho chuột bơi, do đó cung cấp nhanh chóng năng lượng cho cơ hoạt động.

+ Tăng tác dụng bảo vệ cơ thể đối với bức xạ tốt hơn ionol.

+ Tác dụng giảm sốt, giảm đau do thấp khớp.

+ Tác dụng kích thích miễn dịch.

- Tính vị, quy kinh: Cam, khô, bình. Vào kinh tỳ, phế, tâm.

- Công năng, chủ trị: Đại bổ nguyên khí, ích huyết, kiện tỳ ích phế, sinh tân, an thần ích trí. Chủ trị: Khí hư muôn thoát, chân tay lạnh, mạch vi, tỳ hư, kém ăn, phế hư ho suyễn; tân dịch thương tổn, miệng khát nước, nội nhiệt tiêu khát, đái tháo, bệnh lâu ngày gây yếu, tâm hồi hộp, suy tim kiệt sức, hay choáng ngất.

- Cách dùng, liều lượng: Ngày dùng từ 4 g đến 10 g. Dạng thuốc hãm hoặc lấy dịch chiết bằng cách: Thái lát mỏng cho vào chén sứ, thêm ít nước, đậy nắp, đun cách thủy đến khi chiết hết mùi vị.

- Kiêng kỵ: Không được dùng phối hợp với Lê lô, Ngũ linh chi [29],[30],[31].

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu và phương tiện nghiên cứu

2.1.1. Chất liệu nghiên cứu

Viên nang cứng Liên ngân SK (LNSK), do công ty cổ phần dược phẩm Santex sản xuất, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Bảng 2.1. Thành viên viên nang cứng Liên ngân SK

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Liều (mg)
1	Xuyên tâm liên	<i>Herba Andrographii</i>	180
2	Kim ngân hoa	<i>Flos Lonicerae</i>	180
3	Đinh lăng	<i>Radix Polysciacis</i>	50
4	Sâm đại hành	<i>Curculigo orchioides Gaertn</i>	50
5	Nhân sâm	<i>Panax ginseng</i>	40
<i>Tổng</i>			500

Phụ liệu: Chất độn (tinh bột ngô), chất ổn định (calci carbonat, aerosil), chất chống đông vón (Talc, Magnesi stearat) vừa đủ 01 viên 500mg.

Liều dùng tính theo mg cao dược liệu trong viên nang cứng. Mỗi viên nang cứng chứa 500 mg cao dược liệu. Dự kiến liều dùng trên người là 6 viên/người/ngày, tương đương 60 mg/kg/ngày. Quy đổi ra liều trên chuột nhắt trắng (hệ số 12) là 720 mg/kg/ngày, liều trên chuột cống trắng (hệ số 7) là 420 mg/kg/ngày [32].

Bột thuốc trong viên nang được cho phân tán đều trong nước cất và cho chuột uống qua kim cong đầu tù để đánh giá tính an toàn và tác dụng của mẫu thử.

- Thuốc tham chiếu Codein phospat, loại viên nén 30mg, được nghiền nhỏ và hòa tan trong nước cất cho uống.

- Thuốc tham chiếu Natri benzoate, được pha thành dung dịch 5% để cho chuột uống.

2.1.2. Hóa chất nghiên cứu

- Hóa chất xét nghiệm sinh hóa của hãng MEDIA, sản xuất tại Italia.

- Hóa chất xét nghiệm huyết học của hãng Human, Đức.

- Kít định lượng IL-2 và TNF- α cho chuột của hãng Invitrogen (Mỹ).

- Cyclophosphamide (CY), β -glucan (Sigma)

- Hematoxylin, Eosin (Sigma) và một số hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học khác.

2.1.3. Máy móc nghiên cứu

- Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl, Italia, model 3000 Evolution, hóa chất của hãng.

- Máy phân tích huyết học Humancout 30TS, hãng Human, Đức, sử dụng phần mềm phân tích huyết học dành cho chuột thí nghiệm, hóa chất của hãng;

- Cân phân tích 10-4, model CP224S (Sartorius - Đức).

- Máy ly tâm lạnh Microtube (MikRo 22R, Hettich - Đức).

- Máy đo pH (pH metter F-51, Horiba-Kyoto-Nhật Bản).

- Ống nghiệm, bơm tiêm và một số thiết bị, dụng cụ phụ trợ khác.

- Máy ELISA của hãng Bio-Rad (Mỹ).

- Bộ dụng cụ mô động vật cỡ nhỏ.

- Kim cong đầu tù chuyên dụng dùng cho chuột uống thuốc (Nhật Bản).

- Một số thiết bị và dụng cụ nghiên cứu khác.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.2.1. Địa điểm nghiên cứu

Bộ môn Dược lý – Học viện Quân Y

2.2.2. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 6/2022 đến tháng 12/2022

2.3. Động vật nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng dòng Swiss trưởng thành, khoẻ mạnh, cân nặng 18 - 20g, số lượng 80 con, cả 2 giống, được sử dụng cho nghiên cứu tác dụng giảm ho và tác dụng long đờm.

- Chuột cống trắng dòng Wistar, khoẻ mạnh, cân nặng 180 - 200g, số lượng 80 con, cả 2 giống, dùng cho: nghiên cứu trên mô hình gây viêm họng bởi Capsaicin (40 con); nghiên cứu trên mô hình gây viêm phổi bằng LPS (40 con).

- Động vật do Ban cung cấp động vật thí nghiệm - Học viện Quân y cung cấp, nuôi dưỡng trong điều kiện phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất 1 tuần trước khi làm thí nghiệm. Chuột được ăn thức ăn theo tiêu chuẩn thức ăn cho động vật nghiên cứu, nước (đun sôi để nguội) uống tự do.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

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

2.4.1. Đánh giá tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của viên nang Liên ngân SK trên thực nghiệm

2.4.1.1. Đánh giá tác dụng chống viêm họng của viên nang Liên ngân SK trên chuột cống gây viêm họng bởi Capsaicin

Tiền hành gây viêm họng bởi Capsaicin theo phương pháp được mô tả bởi Hiroyasu Sakai and Miwa Misawa (2005) [28].

Chuột cống trắng đực chủng Wistar, trọng lượng 180 - 200g, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, được chia ngẫu nhiên thành các lô (mỗi lô 10 con).

- Lô 1 (chứng sinh lý): uống nước cất + không gây viêm họng.
- Lô 2 (chứng bệnh lý): uống nước cất + gây viêm họng.
- Lô 3 (LNSK liều 1): uống LNSK liều 420 mg/kg/ngày + gây viêm họng.

- Lô 4 (LNSK liều 2): uống LNSK liều 840 mg/kg/ngày + gây viêm họng.

Động vật được gây mê bằng urethane (2 g/kg, tiêm phúc mạc), đặt ở tư thế nằm ngửa và được hô hấp tự nhiên thông qua ống thông khí quản sau khi điều trị bằng atropine sulfate (0,2 mg/kg, tiêm phúc mạc). Để nghiên cứu tác dụng của thuốc trên dịch tiết hậu họng gây ra bởi capsaicin, chuột được cho uống thuốc (lô trị 1, trị 2) hoặc nước cất (lô chứng sinh lý, chứng bệnh lý) trong 5 ngày trước và 60 phút trước khi điều trị bằng capsaicin.

Viêm họng thực nghiệm đã được gây ra bằng cách đặt bông tẩm capsaicin lên bề mặt niêm mạc hậu họng 3 lần. Trước khi sử dụng capsaicin, khoang miệng được rửa hai lần bằng 0,5 ml nước muối. Khi đặt bông tẩm dung dịch capsaicin, lưỡi được kéo nhẹ ra một chút với một cái forceps và khu vực hậu họng được mở sâu trong khoang miệng bởi dụng cụ mở rib spreader nhỏ. Một mẫu bông ngâm capsaicin 0,3 mM (0,25 ml) được quét nhẹ vùng hậu họng ba lần, mỗi lần trong khoảng 3 giây. Capsaicin được hòa tan trong hỗn hợp 10% ethanol-10% Tween 80 và 80% nước cất. Sau 60 phút kể từ khi dung dịch capsaicin được sử dụng, tiến hành đánh giá xuất tiết dịch vùng hậu họng.

Đánh giá định lượng sự xuất tiết dịch do capsaicin gây ra ở niêm mạc họng chuột thông qua sự xuất tiết thuốc nhuộm xanh Evans ở tổ chức vùng hậu họng. Thuốc nhuộm xanh Evans (30 mg/kg, tiêm tĩnh mạch) được tiêm vào tĩnh mạch đùi 10 phút trước khi áp dụng capsaicin. Sáu mươi phút sau khi sử dụng capsaicin, máu được tháo ra bằng cách cắt động mạch chủ bụng. Phần đầu của mỗi chuột được bơm rửa với 180 ml dung dịch đệm axit citric (5% paraformaldehyd trong dung dịch natri citrat 0,05 M được điều chỉnh đến pH 3,5 bằng dung dịch axit citric 0,05 M) với tốc độ 15 ml/phút thông qua các động mạch cảnh hai bên để loại bỏ thuốc nhuộm trong lòng mạch; dung dịch đệm rửa được tháo chảy ra ngoài thông qua vết rạch ở tâm nhĩ phải. Sau đó, cơ cấn hai bên của chuột được cắt và

hàm dưới được bỏ đi nhằm lấy toàn bộ vùng hầu họng. Niêm mạc hầu họng được phân lập bằng cách tách khỏi thực quản và khí quản; vòm miệng mềm, lưỡi, thanh quản và các mô mũi được loại bỏ. Vùng hầu họng cô lập được lấy từ phần đuôi của vòm miệng mềm đến biểu mô ngay khi bắt đầu thanh quản. Thuốc nhuộm xanh Evans trong mô được chiết xuất trong formamide ở 60°C trong 24 giờ và được xác định bằng đo quang phổ ở 620nm. Hàm lượng thuốc nhuộm xanh Evans trong mô được biểu thị bằng microgam thuốc nhuộm xanh Evans trên gam trọng lượng ướt của mô.

2.4.1.2. Đánh giá tác dụng trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS

Tiến hành nghiên cứu theo phương pháp được mô tả bởi Alaa N. A. Fahmi và cộng sự (2018) [27].

Chuột cống trắng 40 con chia thành 4 lô, mỗi lô 10 con.

Lô 1 (chứng sinh lý): không gây viêm phổi + uống nước cất.

Lô 2 (chứng bệnh lý): gây viêm phổi + uống nước cất.

Lô 3 (LNSK liều 1): gây viêm phổi + uống LNSK liều 420 mg/kg/ngày.

Lô 4 (LNSK liều 2): gây viêm phổi + uống LNSK liều 840 mg/kg/ngày.

Các chuột được uống thuốc nghiên cứu hoặc nước cất theo phân lô trong vòng 7 ngày liên tục. Ngày thứ 8, chuột ở các lô 2, 3, 4 được gây viêm phổi bằng cách tiêm phúc mạc LPS liều 7,5 mg/kg. Lô chứng không gây viêm phổi, được tiêm phúc mạc nước muối sinh lý.

Các chỉ tiêu nghiên cứu:

*** Định lượng Protein phản ứng C (CRP - C reactive protein) trong máu chuột**

Sau 18 giờ tiêm LPS, lấy máu hốc mắt trong điều kiện gây mê nhẹ bằng ether, ly tâm 1000×g trong 20 phút tách lấy huyết thanh để xét nghiệm định lượng Protein phản ứng C.

*** *Đánh giá các chỉ số trong dịch rửa phế quản***

Chuột được gây mê và đặt nội khí quản. Mở lồng ngực. Phế quản chính bên trái và thùy trên phổi phải được buộc lại. Dịch rửa phế quản được thu thập từ các thùy dưới phổi phải bằng cách bơm vào khí quản 1 ml nước muối vô trùng lạnh 0,9% sau đó nhẹ nhàng hút ra, tiến hành sáu lần. Gộp dịch rửa phế quản thu được, ly tâm ($1000 \times g$, 10 phút, $4^{\circ}C$) bằng máy ly tâm lạnh. Phần dịch nổi thu được dùng cho đánh giá các chỉ số: nồng độ protein, hoạt độ LDH (lactate dehydrogenase (LDH) activity), định lượng NOx, sử dụng các kit xét nghiệm. Phần lắng sau ly tâm được sử dụng để xác định tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản.

*** *Đánh giá mức độ phù nề nhu mô phổi thông qua chỉ số ướt/khô***

Mức độ phù nề phổi được đánh giá bằng cách xác định tỷ lệ ướt/khô các mô phổi. Phổi bên trái được lấy ra, rửa sạch bằng nước muối sinh lý lạnh, thấm khô và cân để có được trọng lượng ướt. Phổi sau đó được sấy khô ở $80^{\circ}C$ trong 24 giờ và cân để có được trọng lượng khô. Tính toán xác định tỷ lệ ướt/khô.

*** *Đánh giá mô bệnh học phổi***

Thùy trên phổi phải được lấy ra, cố định ngay vào 10% neutral buffered formalin. Sau đó tiến hành làm tiêu bản nhuộm HE, đánh giá cho sự thay đổi mô học, bao gồm xung huyết phế nang, xuất huyết, thâm nhiễm bạch cầu trung tính, độ dày của thành phế nang và phù kẽ. Kết quả được tính điểm bán định lượng theo thang điểm từ 0-3 cho mỗi mục, trong đó 0 = tổn thương ở mức tối thiểu, 1 = tổn thương nhẹ, 2 = tổn thương vừa phải và 3 = tổn thương nghiêm trọng. Tổng số điểm được dùng để đánh giá tổn thương phổi, có giá trị từ 0 đến 15.

2.4.2. *Đánh giá tác dụng giảm ho, long đờm của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm*

2.4.2.1. *Đánh giá tác dụng giảm ho trên mô hình gây ho bởi amoniac ở chuột nhắt trắng*

- Theo phương pháp nghiên cứu của Abdul Aziz và cs (2013) [33].

Chuột nhắt trắng đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được gây ho bằng cách cho phơi nhiễm với hơi amoniac đặc trong 45 giây, sau đó lấy chuột ra cho vào ống có gắn thiết bị khuếch đại âm thanh, nghe và đếm số tiếng ho của chuột trong 5 phút. Sau đó, cho chuột uống thuốc hoặc nước cất, thể tích cho uống là 10ml/kg thể trọng.

+ Lô 1 (chứng sinh lý): uống nước cất.

+ Lô 2 (Codein phosphat): uống Codein phosphat liều 20mg/kg.

+ Lô 3 (LNSK liều 1): uống LNSK, liều 720 mg/kg/ngày.

+ Lô 4 (LNSK liều 2): uống LNSK, liều 1440 mg/kg/ngày.

Sau uống thuốc 60 phút, tiến hành gây ho và đo số cơn ho trong 5 phút. So sánh số cơn ho của các chuột trước và sau dùng thuốc và so sánh giữa các lô.

2.4.2.2. Đánh giá tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng

- Theo phương pháp nghiên cứu của Engler and Szelenyi (1984) có sửa đổi [34].

Chuột nhắt trắng, giống đực, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, được chia ngẫu nhiên thành 4 lô, mỗi lô 10 con. Các chuột được cho uống thuốc hoặc nước cất, thể tích cho uống là 10ml/kg thể trọng.

+ Lô 1 (lô chứng): uống nước cất.

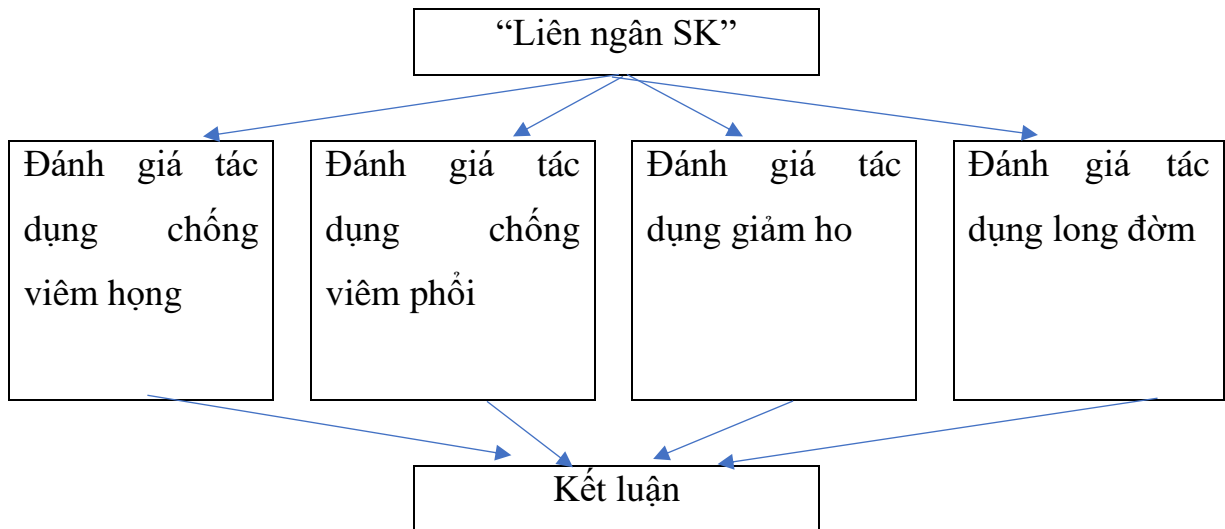
+ Lô 2 (natri benzoate): uống natri benzoate 5%.

+ Lô 3 (LNSK liều 1): uống LNSK, liều 720 mg/kg/ngày.

+ Lô 4 (LNSK liều 2): uống LNSK, liều 1440 mg/kg/ngày.

Sau khi uống, tiêm ngay 0,5ml dung dịch phenol đỏ 0,5% vào phúc mạc ổ bụng cho từng con chuột, 30 phút sau lại tiêm một liều như thế. Sau đó 30 phút, giết chuột bằng carbon dioxide, bóc lộ khí quản dùng dung dịch NaHCO₃ 5% để rửa bên trong khí quản 3 lần mỗi lần 0,5 ml. Gộp dịch rửa từng con vào ống nghiệm, ly tâm lấy dịch nổi đem đo màu để xác định nồng độ phenol đỏ. So sánh giữa các lô nghiên cứu để đánh giá tác dụng của thuốc.

2.5. Sơ đồ nghiên cứu



2.6. Xử lý và phân tích số liệu

Tất cả các số liệu thu được đều được xử lý theo phần mềm Excel 2007 và SPSS 20.0, sử dụng thuật toán t-test student và ONE - WAY ANOVA để so sánh giá trị trung bình. Số liệu được trình bày dưới dạng $MEAN \pm SD$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.7. Vấn đề đạo đức của nghiên cứu

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

qua 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 đánh giá tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm

3.1.1. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm họng trên mô hình gây viêm họng bởi Capsaicin ở chuột cống trắng

Kết quả về tác dụng chống viêm họng trên mô hình gây viêm họng bởi Capsaicin ở chuột cống trắng được trình bày ở bảng 3.1:

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của LNSK lên sự xuất tiết thuốc nhuộm xanh Evans ở tổ chức vùng hầu họng ($\bar{x} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Lượng xanh Evans xuất tiết ($\mu\text{g/g}$)	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Chứng sinh lý (1)	10	26,15 \pm 3,91	-	-	$p_{2-1} < 0,01$;
Chứng bệnh lý (2)	10	58,24 \pm 9,62	122,72	-	$p_{3,4-2} < 0,05$
LNSK liều 1 (3)	10	37,02 \pm 6,14	41,57	36,44	$p_{3,4-1} < 0,05$
LNSK liều 2 (4)	10	31,68 \pm 5,83	21,15	45,60	$p_{4-3} > 0,05$

Nhận xét:

- So với ở lô chứng sinh lý, lượng xanh Evans xuất tiết ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 122,72%.

- So với lô chứng bệnh lý, lượng xanh Evans xuất tiết ở các lô Liên ngân SK liều 1 và liều 2 đều giảm rõ (giảm so với lô chứng bệnh lý là 36,44%; và 45,60%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có lượng xanh Evans xuất tiết giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.1.2. Kết quả đánh giá tác dụng trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS

3.1.2.1. Kết quả định lượng Protein phản ứng C trong máu chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.2:

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của LNSK lên nồng độ Protein phản ứng C trong máu chuột ($\bar{X} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Protein C phản ứng trong máu (mg/L)	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Chứng sinh lý (1)	10	95,86 ± 4,62	-	-	p _{2,3,4-1} < 0,01; p _{3,4-2} < 0,01 p ₄₋₃ > 0,05
Chứng bệnh lý (2)	10	316,72 ± 21,15	230,40	-	
LNSK liều 1 (3)	10	154,81 ± 15,83	61,50	51,12	
LNSK liều 2 (4)	10	139,98 ± 12,74	46,03	55,80	

Nhận xét:

- So với ở lô chứng sinh lý, nồng độ Protein phản ứng C trong máu ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 230,40%.

- So với lô chứng bệnh lý, nồng độ Protein phản ứng C trong máu ở các lô liên ngân SK liều 1 và liều 2 đều giảm rõ (giảm so với lô chứng bệnh lý là 51,12%; và 55,80%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ Protein phản ứng C trong máu giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.1.2.2. Kết quả đánh giá các chỉ số trong dịch rửa phế quản chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.3, 3.4, 3.5 và 3.6:

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của LNSK lên nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản ($\bar{x} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản (mg/L)	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Chứng sinh lý (1)	10	366,94 ± 28,51	-	-	$p_{2,3,4,1} < 0,01$; $p_{3,4,2} < 0,05$ $p_{4,3} > 0,05$
Chứng bệnh lý (2)	10	465,85 ± 32,67	26,96	-	
LNSK liều 1 (3)	10	413,36 ± 29,24	12,65	11,27	
LNSK liều 2 (4)	10	402,63 ± 26,98	9,73	13,57	

Nhận xét:

- So với ở lô chứng sinh lý, nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 26,96%.

- So với lô chứng bệnh lý, nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 và liều 2 đều giảm rõ (giảm so với lô chứng bệnh lý là 11,27%; và 13,57%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của LNSK lên hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản ($\bar{x} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản (U/L)	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Chứng sinh lý (1)	10	109,25 ± 9,32	-	-	$p_{2,3,4-1} < 0,01$; $p_{3,4-2} < 0,01$ $p_{4-3} > 0,05$
Chứng bệnh lý (2)	10	481,61 ± 26,89	340,83	-	
LNSK liều 1 (3)	10	212,83 ± 20,65	94,81	55,81	
LNSK liều 2 (4)	10	205,86 ± 19,74	88,43	57,26	

Nhận xét:

- So với ở lô chứng sinh lý, hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 340,83%.

- So với lô chứng bệnh lý, hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 và liều 2 đều giảm rõ (giảm so với lô chứng bệnh lý là 55,81%; và 57,26%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của LNSK lên NOx trong dịch rửa phế quản ($\bar{X} \pm SD$).

Lô nghiên cứu	n	NOx trong dịch rửa phế quản ($\mu\text{mol/L}$)	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Chứng sinh lý (1)	10	3,24 \pm 0,16	-	-	p _{2,3,4,1} < 0,01; p _{3,4,2} < 0,01 p _{4,3} > 0,05
Chứng bệnh lý (2)	10	8,09 \pm 0,54	149,69	-	
LNSK liều 1 (3)	10	4,83 \pm 0,41	49,07	40,30	
LNSK liều 2 (4)	10	4,59 \pm 0,38	41,67	43,26	

Nhận xét:

- So với ở lô chứng sinh lý, NOx trong dịch rửa phế quản ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 149,69%.

- So với lô chứng bệnh lý, NOx trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 và liều 2 đều giảm rõ (giảm so với lô chứng bệnh lý là 40,30%; và 43,26%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có NOx trong dịch rửa phế quản giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của LNSK lên tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản ($\bar{x} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản (G/L)	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Chứng sinh lý (1)	10	0,436 ± 0,027	-	-	p _{2,3,4-1} < 0,001; p _{3,4-2} < 0,01 p ₄₋₃ > 0,05
Chứng bệnh lý (2)	10	5,309 ± 0,216	1117,66	-	
LNSK liều 1 (3)	10	1,568 ± 0,102	259,63	70,47	
LNSK liều 2 (4)	10	1,381 ± 0,094	216,74	73,99	

Nhận xét:

- So với ở lô chứng sinh lý, tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, với % tăng là 1117,66%.

- So với lô chứng bệnh lý, tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 và liều 2 đều giảm rõ (giảm so với lô chứng bệnh lý là 70,47%; và 73,99%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.1.2.3. Kết quả đánh giá chỉ số ứót /khô phổi chuột

Kết quả được trình bày ở bảng 3.7:

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của LNSK lên chỉ số ứót /khô phổi chuột ($\bar{x} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Chỉ số ứót/khô phổi chuột (lần)	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Chứng sinh lý (1)	10	4,32 ± 0,28	-	-	$p_{2-1} < 0,01$ $p_{3,4-1} < 0,05$ $p_{3,4-2} < 0,01$ $p_{4-3} > 0,05$
Chứng bệnh lý (2)	10	5,81 ± 0,36	34,49	-	
LNSK liều 1 (3)	10	4,89 ± 0,32	13,19	15,83	
LNSK liều 2 (4)	10	4,65 ± 0,29	7,64	19,97	

Nhận xét:

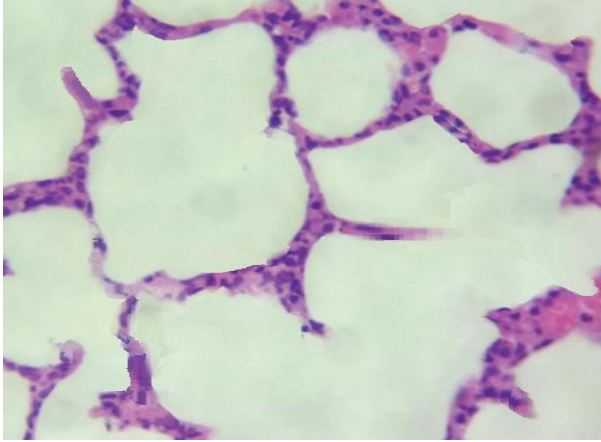
- So với ở lô chứng sinh lý, chỉ số ứót /khô phổi chuột ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 34,49%.

- So với lô chứng bệnh lý, chỉ số ứót /khô phổi chuột ở các lô liên ngân SK liều 1 và liều 2 đều giảm rõ (giảm so với lô chứng bệnh lý là 15,83%; và 19,97%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

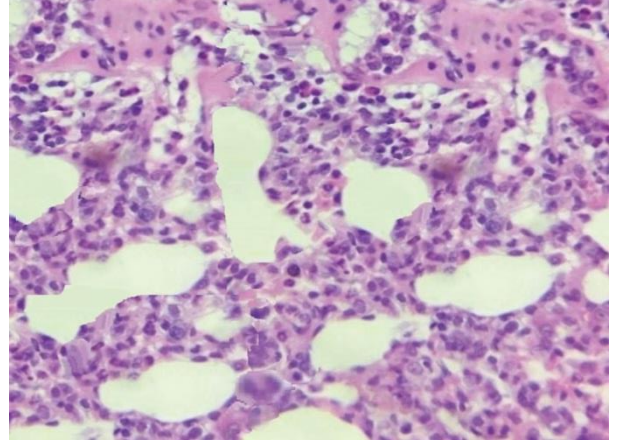
- So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có chỉ số ứót /khô phổi chuột giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.1.2.4. Kết quả đánh giá mô bệnh học phổi

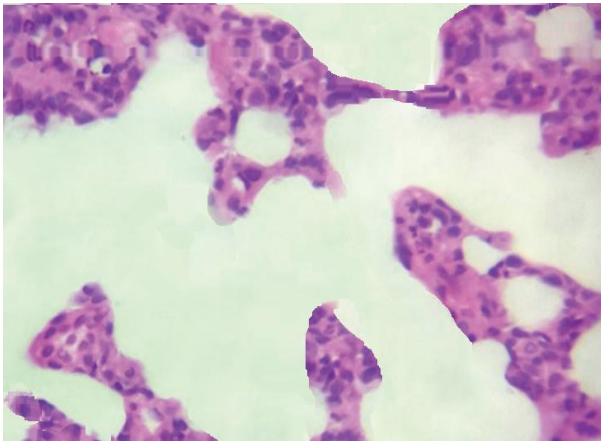
Kết quả được trình bày ở ảnh 3.1 và bảng 3.8:



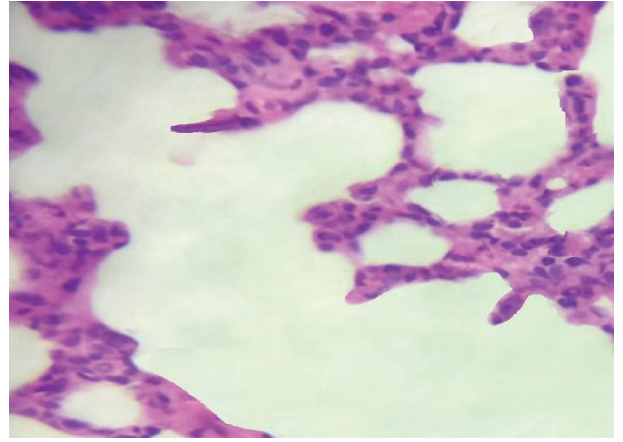
Lô chứng sinh lý



Lô chứng bệnh lý



Lô LNSK liều 1



Lô LNSK liều 2

Ảnh 3.1: Hình ảnh mô bệnh học phổi chuột (HE x 400)

Nhận xét: hình ảnh mô bệnh học phổi chuột ở lô chứng bệnh lý cho thấy hình ảnh phổi phù nề, xâm nhiễm nhiều tế bào viêm. Sự hồi phục nhìn thấy rõ ở các lô dùng Liên ngân SK.

Bảng 3.8. Điểm đánh giá tổn thương phổi ở các lô chuột nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Điểm đánh giá tổn thương phổi	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Chứng sinh lý (1)	10	0,124 ± 0,012	-	-	$p_{2-1} < 0,001$ $p_{3,4-1} < 0,001$ $p_{3,4-2} < 0,01$ $p_{4-3} > 0,05$
Chứng bệnh lý (2)	10	10,152 ± 0,806	8087,10		
LNSK liều 1 (3)	10	3,228 ± 0,169	2503,23	68,20	
LNSK liều 2 (4)	10	3,086 ± 0,125	2388,71	69,60	

Nhận xét:

- So với ở lô chứng sinh lý, điểm đánh giá tổn thương phổi chuột ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, với % tăng là 8087,10%.

- So với lô chứng bệnh lý, điểm đánh giá tổn thương phổi chuột ở các lô liên ngân SK liều 1 và liều 2 đều giảm rõ (giảm so với lô chứng bệnh lý là 68,20%; và 69,60%, tương ứng). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

- So sánh giữa 2 lô dùng Liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có điểm đánh giá tổn thương phổi chuột giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2. Kết quả đánh giá tác dụng giảm ho, long đờm của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm

3.2.1. Kết quả đánh giá tác dụng giảm ho trên mô hình gây ho bởi amoniac ở chuột nhắt trắng

Kết quả về tác dụng giảm ho trên mô hình gây ho bởi amoniac ở chuột nhắt trắng được trình bày ở bảng 3.9:

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của LNSK lên số cơn ho trung bình của các lô chuột nhắt trắng nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Số cơn ho trung bình trước khi dùng thuốc	Sau khi dùng thuốc 60 phút			
			Số cơn ho trung bình	% giảm so với trước dùng thuốc	% giảm so với chứng sinh lý	P _{so} với trước dùng thuốc
Chứng sinh lý (1)	10	55,60 ± 11,25	53,80 ± 10,98	3,24	-	> 0,05
Codein phosphat (2)	10	54,30 ± 10,83	30,60 ± 9,02	43,65	43,12	< 0,01
LNSK liều 1 (3)	10	53,90 ± 12,06	33,20 ± 8,61	38,40	38,29	< 0,01
LNSK liều 2 (4)	10	56,10 ± 12,29	31,40 ± 8,94	44,03	41,64	< 0,01
P _{so} sánh giữa các lô		> 0,05	p _{2,3,4-1} < 0,01; p _{3,4-2} > 0,05; p ₄₋₃ > 0,05			

Nhận xét:

- So sánh giữa các lô tại thời điểm trước khi dùng thuốc, số cơn ho trung bình trong 5 phút đầu tiên sau khi phơi nhiễm với amoniac của chuột nhắt trắng ở các lô không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh trong từng lô ở thời điểm sau dùng thuốc so với trước dùng thuốc, số cơn ho trung bình của chuột ở lô chứng sinh lý thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), trong khi số cơn ho trung bình của chuột ở các lô uống LNSK (liều 1 và liều 2) cũng như ở lô uống Codein phosphat đều giảm rõ rệt so với trước dùng thuốc ($p < 0,01$).

- So sánh giữa các lô tại thời điểm sau dùng thuốc, số cơn ho trung bình của chuột ở các lô uống LNSK (liều 1 và liều 2) cũng như ở lô uống Codein phosphat đều giảm rõ rệt so với ở lô chứng sinh lý ($p < 0,01$).

- So với lô uống Codein phosphat, số cơn ho trung bình của chuột ở các lô uống LNSK (liều 1 và liều 2) khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô uống LNSK (liều 1 và liều 2), ở lô dùng liều cao số cơn ho trung bình của chuột nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp, tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng

Kết quả về tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng được trình bày ở bảng 3.10:

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của LNSK lên nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa khí quản ($\bar{X} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	n	Nồng độ phenol đỏ (mg/ml)	% tăng so với (1)	% giảm so với (2)	p
Lô chứng (1)	10	0,12 ± 0,06	-	-	$p_{2,3,4-1} < 0,01$; $p_{3,4-2} > 0,05$ $p_{4-3} > 0,05$
Natri benzoate (2)	10	0,33 ± 0,09	175,00	-	
LNSK liều 1 (3)	10	0,25 ± 0,07	116,67	21,21	
LNSK liều 2 (4)	10	0,28 ± 0,08	141,67	12,12	

Nhận xét:

- So với ở lô chứng, nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa phế quản của các lô Natri benzoate và LNSK liều 1, liều 2 đều tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng lần lượt là 175,00%; 116,67% và 141,67%.

- So với lô Natri benzoate, nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 và liều 2 giảm 21,21%; và 12,12%, tương ứng. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa phế quản cao hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Về tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của viên nang Liên ngân SK trên thực nghiệm

4.1.1. Về tác dụng chống viêm họng trên mô hình gây viêm họng bởi Capsaicin ở chuột cống trắng

Viêm họng cấp có thể do nhiễm trùng hoặc không nhiễm trùng. Nhưng hầu hết các trường hợp là do nhiễm trùng (virus, vi khuẩn). Trong đó 60-80% các trường hợp là do virus gây ra [35],[36],[37].

Theo Y học cổ truyền: “Họng là nơi ra vào của đồ ăn, thức uống và là lối vào của khí trời”. Họng cũng thuộc về Phế vì vậy cũng dễ bị ngoại tà xâm phạm để gây bệnh [25],[38].

Bệnh viêm họng được xếp vào chứng “Hầu tý”. Khái niệm “Hầu tý” lần đầu tiên được nhắc đến trong Tố Vấn – Âm dương biệt luận. Các tác giả đời sau lần lượt phân loại bệnh này chi tiết hơn thành “phong nhiệt hầu tý”, “phong thấp hầu tý”. Viêm họng cấp với đặc tính khởi phát tương đối cấp tính, triệu chứng chủ yếu đau rát họng và mất tiếng, trong YHCT thuộc phạm vi chứng Hầu phong, Tử hầu phong hoặc Triển hầu phong [39].

Nghiên cứu tác dụng chống viêm họng trên mô hình gây viêm họng bởi Capsaicin ở chuột cống trắng ở bảng 3.1 cho thấy: So với ở lô chứng sinh lý, lượng xanh Evans xuất tiết ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$), với % tăng là 122,72%. So với lô chứng bệnh lý, lượng xanh Evans xuất tiết ở các lô Liên ngân SK liều 1 giảm so với lô chứng bệnh lý là 36,44% và liều 2 giảm so với lô chứng bệnh lý là 45,60%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p <$

0,05). So sánh giữa 2 lô dùng Liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có lượng xanh Evans xuất tiết giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Qua nghiên cứu trên cho thấy Liên ngân SK có tác dụng chống viêm họng tốt ngay từ liều 1. Liên ngân SK có tác dụng chống viêm trên thực nghiệm có thể là do thành phần có vị thuốc Xuyên tâm liên, Kim ngân hoa, Nhân sâm. Thành phần chính trong Xuyên tâm liên là các dẫn chất diterpenlacton có cấu trúc labdan có tác dụng kích thích hệ miễn dịch bằng cả 2 con đường: đáp ứng đặc hiệu với kháng nguyên tạo nên kháng thể tiêu diệt vi khuẩn và đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu tăng cường khả năng thực bào [29],[30],[31]. Kim ngân có tác dụng kháng khuẩn trên một số vi khuẩn thuộc các chi Staphylococcus, Streptococcus, Shigella, Salmonella và một số loại virus; Kim ngân được dùng chủ yếu để trị các viêm nhiễm đường hô hấp trên như viêm amydan, viêm họng, viêm thanh quản. Ngoài ra còn được dùng để điều trị viêm da, mụn nhọt, sưng vú, viêm ruột thừa; trị lý trực trùng, viêm màng kết do siêu vi, cúm [29],[30],[31]. Pallavi Sharma cùng cs (2021) Nghiên cứu Saponin: Chiết xuất, dược tính sinh học và hướng tới các đại diện chống virus. Saponin là một phần của quá trình sinh trưởng và phát triển bình thường trong nhiều loại thực vật và chất chiết xuất từ thực vật như Nhân sâm được khai thác như nguồn thuốc tiềm năng. Các hợp chất thảo dược đã cho thấy tiềm năng to lớn chống lại nhiều loại tác nhân truyền nhiễm, bao gồm cả các loại virus. Saponin cho thấy nhiều đặc tính chữa bệnh khác nhau và được sử dụng để chữa vô số bệnh như nhiễm trùng do vi khuẩn, nấm cũng như virus cùng với các loại ung thư khác nhau như một phần của y học cổ truyền Trung Quốc. Chúng cũng được sử dụng trong các môi trường công nghiệp khác nhau do tính chất hóa học đa dạng của chúng. Các sản

phẩm có nguồn gốc từ thực vật như saponin luôn hấp dẫn về mặt sử dụng thuốc và điều trị do tác dụng phụ tối thiểu hoặc bằng không so với thuốc tổng hợp [40].

4.1.2. Về tác dụng trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS

4.1.2.1. Định lượng Protein phản ứng C trong máu chuột

Protein phản ứng C (C-reactive protein: CRP) đã được đề xuất như một dấu ấn sinh học để chẩn đoán và đáp ứng điều trị đợt cấp phổi (PEX). CRP >75mg/L có liên quan đến tăng nguy cơ thất bại điều trị PEX. Protein phản ứng C là một loại protein có 224 acid amin, đây là chất chỉ điểm sinh học xuất hiện khi cơ thể có tình trạng viêm cấp hay viêm mạn tính. Khi cơ thể xuất hiện tình trạng viêm do nhiễm vi khuẩn, virus, nấm, ký sinh trùng hoặc những tình trạng viêm không nhiễm khuẩn, chấn thương... thì các interleukin và một số loại cytokine được giải phóng sẽ kích hoạt cơ thể tổng hợp CRP tại gan. Sau đó CRP sẽ kích hoạt hệ thống bổ thể làm nhiệm vụ thực bào các vi sinh vật hay các mô chết của cơ thể. Bình thường trong máu không thấy có sự xuất hiện của protein phản ứng C, khi xuất hiện tình trạng phá hủy mô tế bào gây phản ứng viêm thì CRP được sản xuất và tăng nhanh trong máu. Khi quá trình viêm kết thúc các chất này cũng giảm nhanh chóng và mất đi trong máu. Chính vì đặc tính nhạy với quá trình viêm mà CRP được ứng dụng trong chẩn đoán tình trạng viêm trong cơ thể và theo dõi sự đáp ứng điều trị viêm [41].

Nghiên cứu định lượng Protein phản ứng C trong máu chuột ở bảng 3.2 cho thấy: So với ở lô chứng sinh lý, nồng độ Protein phản ứng C trong máu ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 230,40%. So với lô chứng bệnh lý, nồng độ Protein phản ứng C trong máu ở các lô Liên ngân SK liều 1 (420 mg/kg/ngày) giảm so với lô chứng bệnh lý là 51,12% và liều 2 (840 mg/kg/ngày) giảm so với lô chứng bệnh lý là 55,80%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao

có nồng độ Protein phản ứng C trong máu giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy, Liên ngân SK có tác dụng giảm tình trạng viêm phổi thông qua làm giảm protein phản ứng C trong máu chuột.

4.1.2.2. Về các chỉ số trong dịch rửa phế quản chuột

Kết quả bảng 3.3 cho thấy: So với ở lô chứng sinh lý, nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 26,96%; So với lô chứng bệnh lý, nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 (420 mg/kg/ngày) giảm so với lô chứng bệnh lý là 11,27% và liều 2 (840 mg/kg/ngày) giảm so với lô chứng bệnh lý là 13,57%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ Protein trong dịch rửa phế quản giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả bảng 3.4 cho thấy: So với ở lô chứng sinh lý, hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 340,83%; So với lô chứng bệnh lý, hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 giảm so với lô chứng bệnh lý là 55,81% và liều 2 giảm so với lô chứng bệnh lý là 57,26%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả bảng 3.5 cho thấy so với ở lô chứng sinh lý, NOx trong dịch rửa phế quản ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 149,69%; So với lô chứng bệnh lý, NOx trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 giảm so với lô chứng bệnh lý là 40,30% và liều 2 giảm so với lô chứng bệnh lý là 43,26%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có NOx trong dịch rửa phế quản giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p >$

0,05). Kết quả bảng 3.6 cho thấy so với ở lô chứng sinh lý, tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, với % tăng là 1117,66%; So với lô chứng bệnh lý, tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 1 giảm so với lô chứng bệnh lý là 70,47% và liều 2 giảm so với lô chứng bệnh lý là 73,99%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy, Liên ngân SK có tác dụng giảm tình trạng viêm phổi thông qua làm giảm protein, hoạt độ LDH (lactate dehydrogenase), NOx và tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản.

4.1.2.3. Về mức độ phù nề nhu mô phổi thông qua chỉ số ướt/khô

Mức độ phù nề phổi được đánh giá bằng cách xác định tỷ lệ ướt/khô các mô phổi. Kết quả bảng 3.7 cho thấy so với ở lô chứng sinh lý, chỉ số ướt/khô phổi chuột ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$, với % tăng là 34,49%. So với lô chứng bệnh lý, chỉ số ướt/khô phổi chuột ở các lô Liên ngân SK liều 1 (420 mg/kg/ngày) giảm so với lô chứng bệnh lý là 15,83% và liều 2 (840 mg/kg/ngày) giảm so với lô chứng bệnh lý là 19,97%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có chỉ số ướt/khô phổi chuột giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy Liên ngân SK có tác dụng làm giảm phù phổi thông qua tỷ lệ ướt/khô của nhu mô phổi.

4.1.2.4. Về mô bệnh học phổi

Thùy trên phổi phải được lấy ra, cố định ngay vào 10% neutral buffered formalin. Sau đó tiến hành làm tiêu bản nhuộm HE, đánh giá cho sự thay đổi mô học, bao gồm xung huyết phế nang, xuất huyết, thâm nhiễm bạch cầu trung tính,

độ dày của thành phế nang và phù kẽ. Từ ảnh 3.1 cho thấy hình ảnh mô bệnh học phổi chuột ở lô chứng bệnh lý cho thấy hình ảnh phổi phù nề, xâm nhiễm nhiều tế bào viêm. Sự hồi phục nhìn thấy rõ ở các lô dùng Liên ngân SK. Từ bảng 3.8 cho thấy so với ở lô chứng sinh lý, điểm đánh giá tổn thương phổi chuột ở lô chứng bệnh lý tăng cao có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, với % tăng là 8087,10%. So với lô chứng bệnh lý, điểm đánh giá tổn thương phổi chuột ở các lô liên ngân SK liều 1 (420 mg/kg/ngày) giảm so với lô chứng bệnh lý là 68,20% và liều 2 (840 mg/kg/ngày) giảm so với lô chứng bệnh lý là 69,60%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. So sánh giữa 2 lô dùng Liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có điểm đánh giá tổn thương phổi chuột giảm rõ hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Thông qua đánh giá mô bệnh học phổi ta thấy Liên ngân SK có tác dụng giảm tổn thương phổi.

4.2. Về tác dụng giảm ho, long đờm của viên nang Liên ngân SK trên thực nghiệm

4.2.1. Tác dụng giảm ho trên mô hình gây ho bởi amoniac ở chuột nhắt trắng

Ho là một phản xạ xảy ra khi phế quản bị kích thích do vật lạ, do đờm hoặc do viêm... Ho có tác dụng tống ra ngoài các chất tiết, dị vật có ở đường hô hấp (đường hô hấp trên và hô hấp dưới) [42]. Ho có thể kéo dài nhiều ngày, một cơn ho có thể ngắn hoặc có khi kéo dài làm cho bệnh nhân mệt mỏi, khó chịu, mất ngủ và ảnh hưởng đến sinh hoạt hàng ngày.

Theo YHCT, ho thuộc phạm vi chứng Khái thấu. Ho được chia thành hai loại là ho do ngoại cảm và nội thương. Ho do ngoại cảm là do ngoại tà lục dâm (thường là phong, hàn, nhiệt, táo) xâm phạm vào phế; ho do nội thương thường do tạng phủ công năng mất điều hòa, nội tà làm khô phế. Các nguyên nhân này làm phế mất tuyên phát tức giáng, phế khí thượng nghịch lên mà gây ho [43].

Trên lâm sàng, một số vị thuốc thường được sử dụng để điều trị ho do viêm họng, viêm phế quản như Tiền hồ, Hạnh nhân, Cát cánh, Xạ can, Bách bộ...[44].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ảnh hưởng của Liên ngân SK lên số cơn ho trong 5 phút sau khi cho chuột uống thuốc 60 phút, kết quả cho thấy, Liên ngân SK liều 720 mg/kg/ngày và liều 1440 mg/kg/ngày giảm rõ rệt số cơn ho so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$), tác dụng này tương đương với Codein phosphat liều 20mg/kg. Giữa 2 lô uống Liên ngân SK (liều 720 mg/kg/ngày và liều 1440 mg/kg/ngày), ở lô dùng liều cao số cơn ho trung bình của chuột nhỏ hơn so với ở lô dùng liều thấp, tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Nghiên cứu của chúng tôi đánh giá tác dụng lên số cơn ho trong 5 phút, trong khi đó một số tác giả khác đánh giá số cơn ho trong mỗi một phút cho đến phút thứ 10. Theo nghiên cứu của Tạ Thanh Hà (2011) đánh giá tác dụng của thuốc HL lên số cơn ho cho thấy, dung dịch HL liều 9g/kg/ngày và 18g/kg/ngày có tác dụng làm giảm số cơn ho rõ rệt so với lô chứng ($p < 0,05$) tại những thời điểm đầu của quá trình nghiên cứu. Dextromethorphan chỉ có tác dụng giảm cơn ho ở các thời điểm sau khi gây ho từ 3 – 6 phút. Tác dụng giảm ho của HL ở cả 2 liều đều mạnh hơn Dextromethorphan liều 15mg/kg/ngày đặc biệt rõ rệt ở các thời điểm đầu của nghiên cứu [45]. Nghiên cứu của Lê Hữu Mạnh (2016) cho thấy cao lỏng Nhất Nhất với liều 7,2ml/kg làm giảm số cơn ho trên chuột nhắt trắng rõ rệt ở các thời điểm 1, 2, 4, 8, 10 phút ($p < 0,05$); Tác dụng tương đương với Codein phosphat liều 20mg/kg. Cao lỏng Nhất Nhất với liều 21,6ml/kg làm giảm số cơn ho trên chuột nhắt trắng rõ rệt ở các thời điểm 1, 2, 4, 8, 9, 10 phút ($p < 0,05$); Tác dụng tương đương với Codein phosphat liều 20mg/kg [46]. Nghiên cứu của Phan Thị Huyền Trang (2021), Đánh giá tác dụng giảm đau, kháng viêm, giảm ho, long đờm của viên nang mềm TECAN trên thực nghiệm, kết quả cho thấy viên nang mềm TECAN liều 187,2mg/kg/ngày và liều

561,6mg/kg/ngày giảm rõ rệt số cơn ho trong 5 phút so với lô chứng sinh học ($p < 0,001$); Tác dụng tương đương với Codein phosphat liều 30mg/kg [47].

Liên ngân SK có nguồn gốc từ các loại thảo dược, qua nghiên cứu tác dụng giảm ho trên cho thấy thuốc có tác dụng tốt đặc biệt giảm ho tương đương với thuốc tân dược được đối chiếu. Liên ngân SK có tác dụng giảm ho trên thực nghiệm là do thành phần có các vị thuốc như Xuyên tâm liên, Nhân sâm, Kim ngân hoa có các Saponin, Flavonoid. Ginsenosid hoặc dịch chiết từ Nhân sâm có những tác dụng kháng histamin, ngăn ngừa hiện tượng co thắt cơ trơn nên làm giảm cơn ho [29].

4.2.2. Tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng

Sự bài tiết chất nhày là biện pháp bảo vệ đầu tiên chống lại các kích thích ở đường hô hấp. Bình thường, chất nhày được bài tiết ra ở niêm mạc đường hô hấp có độ nhớt và độ đàn hồi thấp, dễ dàng vận chuyển bằng các chuyển động của hệ thống lông mao. Khi đường hô hấp có tình trạng nhiễm trùng, quá trình viêm, tăng tính thấm thành mạch diễn ra ở niêm mạc đường hô hấp dẫn đến tăng xuất tiết nước, chất nhày hình thành đờm. Đờm có độ nhớt và độ đàn hồi cao hơn khó bị đào thải hơn, do đó tích trữ lại đường hô hấp có thể gây ra tình trạng ho và khó thở. Tùy theo từng bệnh và nguyên nhân gây bệnh mà đờm có thành phần đại phân tử và đặc tính sinh lý khác nhau [48],[49].

Theo YHCT, đờm được bài tiết từ đường hô hấp thuộc đàm hữu hình. Nguyên nhân chính dẫn đến sự hình thành đàm chủ yếu do ba tạng Phế, Tỳ, Thận, trong đó Tỳ là tạng quan trọng nhất. Tỳ hư không vận hóa được tân dịch, Phế không tuyên phát, tức giáng tân dịch, Thận không khí hóa được bàng quang, các nguyên nhân này làm tân dịch tích tụ lại mà hình thành nên đàm [50],[51].

Để đánh giá tác dụng long đờm, chuột nhắt được tiêm màng bụng phenol đỏ là một chất được thải trừ một phần qua dịch tiết của khí quản. Các thuốc long

đờm sẽ làm cải thiện sự tiết và hòa loãng đờm ở đường hô hấp, từ đó làm tăng tiết phenol đỏ, làm tăng nồng độ của phenol đỏ trong dịch tiết của khí quản [52].

Liên ngân SK có tác dụng long đờm thông qua tác dụng tăng tiết dịch nghiên cứu trên chuột nhắt trắng ở cả 2 liều 720 mg/kg/ngày và 1440 mg/kg/ngày. Bảng 3.10 cho thấy chuột uống dung dịch Natri benzoate 5% và các lô chuột uống dung dịch Liên ngân SK liều 720 mg/kg/ngày và 1440 mg/kg/ngày đều có tác dụng tăng tiết dịch. So với lô Natri benzoate, nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa phế quản ở các lô liên ngân SK liều 720 mg/kg/ngày giảm 21,21% và liều 1440 mg/kg/ngày giảm 12,12%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). So sánh giữa 2 lô dùng liên ngân SK ở 2 mức liều, lô dùng liều cao có nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa phế quản cao hơn, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Liên ngân SK có tác dụng long đờm tốt trên thực nghiệm là do trong thành phần bài thuốc có các vị thuốc như Xuyên tâm liên, Nhân sâm, Kim ngân hoa có các Saponin, Flavonoid có tác dụng làm tiêu viêm và làm long đờm [29].

KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu về một số tác dụng dược lý của viên nang cứng Liên ngân SK trên động vật thực nghiệm, chúng tôi kết luận:

1. Tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm

1.1. Tác dụng chống viêm họng

Viên nang cứng Liên ngân SK liều 420 mg/kg/ngày và 840 mg/kg/ngày thể hiện tác dụng chống viêm họng trên mô hình gây viêm họng bởi Capsaicin ở chuột cống trắng, được đánh giá thông qua làm giảm sự xuất tiết thuốc nhuộm xanh Evans ở tổ chức vùng hầu họng gây viêm ($p < 0,05$ so với lô gây bệnh không dùng thuốc).

1.2. Tác dụng trên mô hình gây viêm phổi ở chuột cống trắng

Viên nang cứng Liên ngân SK liều 420 mg/kg/ngày và 840 mg/kg/ngày có tác dụng chống viêm phổi gây ra do Lipopolysaccharide ở chuột cống trắng. Cụ thể: làm giảm phù phổi thông qua tỷ lệ ướt/khô của nhu mô phổi; giảm tổn thương phổi thông qua đánh giá mô bệnh học phổi; giảm tình trạng viêm phổi thông qua làm giảm protein phản ứng C trong máu chuột đồng thời làm giảm protein, hoạt độ LDH (lactate dehydrogenase), NOx và tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản.

2. Tác dụng giảm ho, long đờm của viên nang “Liên ngân SK” trên thực nghiệm

2.1. Tác dụng giảm ho

Viên nang cứng Liên ngân SK liều 720 mg/kg/ngày và 1440 mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm số cơn ho trên chuột nhắt trắng gây ho bằng amoniac ($p < 0,01$ so với lô gây bệnh không dùng thuốc cũng như so với trước dùng thuốc). Tác dụng giảm

ho của liên ngân SK ở hai mức liều đã sử dụng là tương đương nhau và tương đương so với Codein phosphat 20mg/kg.

2.2. Tác dụng long đờm

Viên nang cứng Liên ngân SK liều 720 mg/kg/ngày và 1440 mg/kg/ngày thể hiện tác dụng long đờm trên chuột nhắt trắng, được đánh giá thông qua làm tăng nồng độ phenol đỏ trong dịch rửa khí quản ($p < 0,05$ so với lô chứng). Tác dụng long đờm của liên ngân SK ở hai mức liều đã sử dụng là tương đương nhau và tương đương so với natri benzoate 5% 10ml/kg/ngày.

KIẾN NGHỊ

Với kết quả nghiên cứu của Liên ngân SK trên thực nghiệm cho thấy Liên ngân SK có tác dụng chống viêm họng, viêm phổi, giảm ho và long đờm trên thực nghiệm, tôi đề nghị:

- 1. Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn để đánh giá cơ chế tác dụng chống viêm họng, viêm phổi của Liên ngân SK.*
- 2. Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn để đánh giá cơ chế tác giảm ho, long đờm của Liên ngân SK.*
- 3. Nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm, giảm ho và long đờm của Liên ngân SK trên người tình nguyện.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1 Ngô Ngọc Liên (2000), *Sinh lý niêm mạc đường hô hấp trên và ứng dụng*, Nội san Tai mũi họng, số 1, tr.68-74.
- 2 Học viện Quân Y (2007), *Bệnh học Tai mũi họng*, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân Việt Nam, tr.157-159.
- 3 Đại học Y Hà Nội (2005), *Thuốc hạ sốt, giảm đau, chống viêm – Dược lý học lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr.166-180.
- 4 The Japanese Pharmacopoeia (2000), *Fourteenth Edition*, pp. 1316-1323.
- 5 Dele MM, and Ritter JM Rang HP (2012), *Pharmacology*, Churchill Livingstone, New York.
- 6 Bệnh viện Bạch Mai (2011), *Bệnh học Nội khoa*, Nhà xuất bản Y học.
- 7 Trần Văn Ôn, Lê Đình Bích (2007), *Thực vật học*, Nhà xuất bản Y học.
- 8 Văn Đình Hòa (2007). *Sinh Lý Bệnh và Miễn dịch – Phần Sinh Lý Bệnh*. Nhà xuất bản Y học.
- 9 Vogel, H. G., Maas, J., Hock, F. J., & Mayer, D. (Eds.). (2013). *Drug discovery and evaluation: safety and pharmacokinetic assays* (p. 181). Springer Berlin Heidelberg.
- 10 Trường Đại học Y Hà Nội – Các bộ môn Nội (last). *Nội khoa cơ sở tập I*. Nhà xuất bản Y học.
- 11 Bộ môn Dược lý (2007) – Trường Đại học Y Hà Nội. *Dược lý học*. Nhà xuất bản Y học.
- 12 Học viện Quân Y (2012), *Bệnh học Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân Việt Nam, tr. 95-101.
- 13 Bộ Y tế (2005), *Bài giảng Y học cổ truyền (tập 1)*, Nhà xuất bản Y học, tr.207-209.

- 14 Học viện Quân Y (2012), *Bệnh học Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân Việt Nam, tr. 95-101.
- 15 Học viện Quân Y (2010), *Lý luận cơ bản Y học cổ truyền*, Nhà xuất bản Y học, tr.155.
- 16 Jahan, Y., Mahmood, T., Bagga, P., Kumar, A., Singh, K., & Mujahid, M. (2015). Future prospects of cough treatment, herbal medicines v/s modern drugs. *Int J Pharm Sci Res*, 6(9), 1000-1009.
- 17 Sultana, S., Khan, A., Safhi, M. M., & Alhazmi, H. A. (2016). Cough suppressant herbal drugs: A review. *Int. J. Pharm. Sci. Invent*, 5(5), 15-28.
- 18 Walusansa, A., Asiimwe, S., Ssenku, J., Anywar, G., Namara, M., Nakavuma, J. L., & Kakudidi, E. K. (2022). Herbal medicine used for the treatment of diarrhea and cough in Kampala city, Uganda. *Tropical Medicine and Health*, 50(1), 1-21.
- 19 Phạm Thị Lý, Lê Ngọc Diệp (2002), *Đánh giá tác dụng lâm sàng chữa ho trong viêm đường hô hấp cấp ở trẻ em bằng “Cao ma hạnh”* Kỷ yếu nghiên cứu khoa học năm 2001-2002, Bệnh viện y học cổ truyền trung ương, tr.165-167.
- 20 Bộ Y tế - Viện Y học cổ truyền Việt Nam (2002) *“Bước đầu đánh giá tác dụng điều trị viêm họng đỏ cấp tính thông thường bằng bài thuốc gia truyền của lương y Nguyễn Hữu Ba”* Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học 2001-2002, tr. 226-240.
- 21 Hoàng Bảo Châu, Phạm Thị Lý (1995), *Đánh giá tác dụng chữa ho trẻ em của thuốc “Bổ phế chỉ khái lộ” của xí nghiệm liên hiệp Dược Hà Nam sản xuất*, Kỷ yếu các công trình nghiên cứu khoa học Bệnh viện Y học cổ truyền trung ương, tr. 177-178.
- 22 Phạm Xuân Sinh và cs (1995), *Nghiên cứu phương thuốc cổ truyền “Nhị trần thang gia giảm”*, Báo cáo hội nghị khoa học cổ truyền, tr.79-82.

- 23 Đỗ Việt Hương (1997), *Nghiên cứu tác dụng thuốc chỉ khái theo phân loại Y học cổ truyền và ứng dụng lâm sàng*, Luận văn thạc sĩ, trường Đại học Y Hà Nội.
- 24 Trần Thúy và cs (2003), “Đánh giá tác dụng điều trị viêm họng đỏ cấp tính thông thường bằng kích điện trên các huyết kinh phế, kinh đại trường”, Tạp chí Châm cứu Việt Nam, tr. 17-21.
- 25 Tuệ Tĩnh (1996), *Nam dược thần hiệu*, Nhà xuất bản y học.
- 26 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. 125-126.
- 27 Fahmi ANA, Shehatou GSG, Salem HA (2018). Levocetirizine Pretreatment Mitigates Lipopolysaccharide-Induced Lung Inflammation in Rats. *Biomed Res Int*. 2018;2018:7019759. doi:10.1155/2018/7019759.
- 28 Hiroyasu Sakai and Miwa Misawa (2005). Effect of Sodium Azulene Sulfonate on Capsaicin-Induced Pharyngitis in Rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2005, 96, 54–59.
- 29 Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
- 30 Đỗ Tất Lợi (2011), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản thời đại.
- 31 Phạm Thanh Kỳ, *Dược liệu học*, Tập 1, Nhà xuất bản Y học.
- 32 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.
- 33 Engler H, Szelenyi I (1984). Tracheal phenol red secretion, a new method for screening mucosecretolytic compounds. *J Pharmacol Meth* 11:151–157.
- 34 H.Gerhard Vogel (2008). *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. Springer.

- 35 Anjos, L. M. M., Marcondes, M. B., Lima, M. F., Mondelli, A. L., & Okoshi, M. P. (2014). Streptococcal acute pharyngitis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 47, 409-413.
- 36 Xin, R. H., Zheng, J. F., Cheng, L., Peng, W. J., & Luo, Y. J. (2015). *Belamcanda chinensis* (L.) Dc: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(6), 39-70.
- 37 Renner, B., Mueller, C. A., & Shephard, A. (2012). Environmental and non-infectious factors in the aetiology of pharyngitis (sore throat). *Inflammation Research*, 61, 1041-1052.
- 38 Lê Hữu Trác (1998). *Hải thượng Y tông tâm lĩnh*. Nhà xuất bản Y học, tập 1, tập 2, tập 4.
- 39 Trường Đại học Y Hà Nội – Khoa YHCT (2006). *Bệnh ngũ quan Y học cổ truyền*. Nhà xuất bản Y học.
- 40 Sharma, P., Tyagi, A., Bhansali, P., Pareek, S., Singh, V., Ilyas, A., ... & Poddar, N. K. (2021). Saponins: Extraction, bio-medicinal properties and way forward to anti-viral representatives. *Food and Chemical Toxicology*, 150, 112075
- 41 VanDevanter, D. R., Heltshe, S. L., Skalland, M., West, N. E., Sanders, D. B., Goss, C. H., & Flume, P. A. (2022). C-reactive protein (CRP) as a biomarker of pulmonary exacerbation presentation and treatment response. *Journal of Cystic Fibrosis*, 21(4), 588-593.
- 42 Phạm Thị Minh Đức (2011). *Sinh lý học*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- 43 Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội (2016). *Bệnh học nội khoa Y học cổ truyền (sách đào tạo Sau đại học)*. Nhà xuất bản Y học.

- 44 Nguyễn Nhược Kim, Hoàng Minh Chung (2009). *Dược học cổ truyền*. Nhà xuất bản Y học.
- 45 Tạ Thanh Hà (2011). *Nghiên cứu tác dụng giảm ho và long đờm của thuốc HL trong điều trị viêm họng đỏ cấp*, Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
- 46 Lê Hữu Mạnh (2016). *Nghiên cứu độc tính cấp, độc tính bán trường diễn và tác dụng giảm ho của cao lỏng ho Nhất Nhất trên thực nghiệm*, Khóa luận tốt nghiệp Bác sĩ Y khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.
- 47 Phan Thị Huyền Trang (2021). *Đánh giá tác dụng giảm đau, kháng viêm, giảm ho, long đờm của viên nang mềm TECAN trên thực nghiệm*, Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
- 48 Voynow, J. A., & Rubin, B. K. (2009). Mucins, mucus, and airway secretions. *CHEST*, 135, 505-512.
- 49 Fahy, J. V., & Dickey, B. F. (2010). Airway mucus function and dysfunction. *New England journal of medicine*, 363(23), 2233-2247.
- 50 Elsevier Ltd. (2022). *Maciocia. La Práctica de la Medicina China: El Tratamiento de Enfermedades Con Acupuntura Y Fitoterapia China*. Elsevier Health Sciences.
- 51 Nguyễn Nhược Kim. *Lý luận Y học cổ truyền*. Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam.
- 52 Yu, P., Cheng, S., Xiang, J., Yu, B., Zhang, M., Zhang, C., & Xu, X. (2015). Expectorant, antitussive, anti-inflammatory activities and compositional analysis of *Aster tataricus*. *Journal of ethnopharmacology*, 164, 328-333.

Viên nang Liên ngân SK

