

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



NGUYỄN VĂN ÁNH

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ  
TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM ĐƯỜNG HÔ HẤP CỦA  
CHẾ PHẨM MILNALUNG TRÊN THỰC NGHIỆM

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2024

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM**



**NGUYỄN VĂN ÁNH**

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ  
TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM ĐƯỜNG HÔ HẤP CỦA  
CHẾ PHẨM MILNALUNG TRÊN THỰC NGHIỆM**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC**

**Chuyên ngành:**

**Y học cổ truyền**

**Mã số:**

**8720115**

**Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân**

**TS. Trần Quang Minh**

**HÀ NỘI, NĂM 2024**

## LỜI CẢM ƠN

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

Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, em xin gửi lời cảm ơn chân thành tới **PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân** và **TS. Trần Quang Minh** hai người Thầy hướng dẫn trực tiếp đã luôn theo sát, thường xuyên giúp đỡ, cho em nhiều ý kiến quý báu, sát thực trong quá trình học tập, nghiên cứu để hoàn thành luận văn này. Sự tận tâm và kiến thức của hai thầy là tấm gương sáng cho em noi theo trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Em xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới tập thể các Giáo sư, Phó giáo sư, Tiến sĩ trong Hội đồng thông qua đề cương, Hội đồng chấm luận văn Thạc sĩ là những người Thầy, những Nhà Khoa học đã đóng góp cho em nhiều ý kiến quý báu để em hoàn thiện và bảo vệ thành công luận văn này.

Mặc dù đã cố gắng rất nhiều, nhưng luận văn không tránh khỏi những thiếu sót; em rất mong nhận được sự thông cảm, chỉ dẫn, giúp đỡ và đóng góp ý kiến của các nhà khoa học, của quý thầy cô, các cán bộ quản lý và các bạn đồng nghiệp.

Cuối cùng, em xin cảm ơn những tình cảm chân thành, sự giúp đỡ nhiệt tình, tạo điều kiện tốt nhất của những người thân trong gia đình và bạn bè đã luôn bên cạnh, giúp đỡ, động viên em trong suốt thời gian qua.

*Xin chân thành cảm ơn!*

*Hà Nội, ngày.....tháng.....năm 2024*

Học viên

Nguyễn Văn Ánh

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Nguyễn Văn Ánh, học viên Cao học khóa 13 Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền, xin cam đoan:

1. Luận văn này do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của Thầy PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân và Thầy TS. Trần Quang Minh.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, 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 2024*

**Người viết cam đoan**

**Nguyễn Văn Ánh**

# MỤC LỤC

**LỜI CẢM ƠN**

**LỜI CAM ĐOAN**

**DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT**

**DANH MỤC BẢNG**

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ</b> .....	1
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	3
<b>1.1. Tổng Quan về viêm đường hô hấp theo Y học hiện đại</b> .....	3
1.1.1. Định nghĩa.....	3
1.1.2. Nguyên nhân gây bệnh .....	4
1.1.3. Các triệu chứng thường gặp.....	5
1.1.4. Điều trị viêm đường hô hấp .....	6
<b>1.2. Tổng quan viêm đường hô hấp theo Y học cổ truyền</b> .....	8
1.2.1. Bệnh nguyên và cơ chế bệnh sinh .....	8
1.2.2. Điều trị viêm đường hô hấp theo Y học cổ truyền .....	9
1.2.3. Tình hình nghiên cứu điều trị viêm đường hô hấp bằng y học cổ truyền ...	10
<b>1.3. Tổng quan về bài thuốc bào chế Chế phẩm Milnalung</b> .....	14
<b>1.4. Tổng quan về các vị thuốc bào chế Chế phẩm Milnalung</b> .....	16
1.4.1. Khương Hoạt .....	16
1.4.2. Phòng Phong .....	16
1.4.3. Xuyên Khung.....	16
1.4.4. Bạch Chỉ .....	16
1.4.5. Bách Bộ.....	17
1.4.6. Cát Cánh .....	17
1.4.7. Tế Tân .....	17
1.4.8. Thương Truật .....	17
1.4.9. Kim Ngân Hoa .....	18
1.4.10. Hoàng Cầm .....	18
1.4.11. Sinh Địa .....	18

1.4.12. Cam Thảo.....	18
<b>1.5. Tổng quan về các mô hình nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm trên thực nghiệm .....</b>	<b>19</b>
1.5.1. Tổng quan về các mô hình nghiên cứu độc tính cấp trên thực nghiệm.....	19
1.5.2. Tổng quan về các mô hình nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm trên thực nghiệm. ....	21
<b>CHƯƠNG II: CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>24</b>
<b>2.1. Chất liệu nghiên cứu .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2. Động vật nghiên cứu .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3. Các trang thiết bị, hoá chất phục vụ cho nghiên cứu .....</b>	<b>25</b>
2.3.1. Các máy móc thiết bị.....	25
2.3.2. Hóa chất nghiên cứu. ....	26
2.3.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	26
<b>2.4. Phương pháp nghiên cứu.....</b>	<b>26</b>
2.4.1. Đánh giá độc tính cấp .....	27
2.4.2. Đánh giá tác dụng chống viêm đường hô hấp trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS.....	30
<b>2.5. Một số kỹ thuật thực hiện trên thực nghiệm .....</b>	<b>33</b>
<b>2.6. Sai số và biện pháp khắc phục sai số.....</b>	<b>35</b>
<b>2.7. Xử lý số liệu.....</b>	<b>35</b>
<b>2.8. Đạo đức trong nghiên cứu .....</b>	<b>35</b>
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>37</b>
<b>3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp .....</b>	<b>37</b>
3.1.1. Kết quả đánh giá biểu hiện độc tính sớm .....	37
3.1.2. Kết quả đánh giá biểu hiện độc tính muộn .....	39
<b>3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm đường hô hấp trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS.....</b>	<b>40</b>
3.2.1. Kết quả đánh giá mức độ phù nề nhu mô phổi thông qua tỷ lệ ướt/khô mô phổi. ....	40

3.2.2. Kết quả đánh giá tổn thương phổi ở các lô chuột nghiên cứu .....	41
3.2.3. Kết quả định lượng CRP trong máu chuột. ....	44
3.2.4. Kết quả đánh giá các chỉ số trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS.....	45
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN</b> .....	<b>49</b>
<b>4.1. Bàn luận về độc tính cấp của Chế phẩm Milnalung trên chuột nhắt trắng ....</b>	<b>49</b>
<b>4.2. Bàn luận về tác dụng chống viêm đường hô hấp của Chế phẩm Milnalung trên chuột cống trắng.....</b>	<b>51</b>
4.2.1. Định lượng CRP trong máu chuột .....	51
4.2.2. Định lượng NOx và LDH .....	55
4.2.3. Định lượng Tổng số tế bào trong dịch rửa phế nang, phế quản .....	60
<b>KẾT LUẬN</b> .....	<b>62</b>
<b>KIẾN NGHỊ</b> .....	<b>63</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

<b>Viết tắt</b>	<b>Tiếng Việt</b>	<b>Tiếng Anh</b>
URTI	Viêm đường hô hấp trên	Upper Respiratory Tract Infections
LRTI	Viêm đường hô hấp dưới	Lower Respiratory Tract Infections
ARDS	Hội Chứng Suy Hô Hấp Cấp	Acute Respiratory Distress Syndrome
RSV	Virus hợp bào hô hấp	Respiratory Syncytial Virus
LPS	Nội độc tố	Lipopolysaccharid
TB	Trung bình	Medium
TQ	Tổng quan	Overview
NC	Nghiên cứu	Research
YHCT	Y học cổ truyền	Traditional Medicine
YHHD	Y học hiện đại	Modern Medicine
PGS.TS	Phó Giáo Sư-Tiến Sĩ	Associate Professor, PhD
TN	Thực nghiệm	Experiment
TCM	Thuốc Y Học Cổ Truyền Trung Quốc	Traditional Chinese medicines
IVP	Viêm phổi do virus cúm	Influenza virus-induced pneumonia



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Thành phần bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang gia giảm” .....	24
Bảng 3.1. Kết quả đánh giá độc tính sớm (72 giờ sau uống thuốc) của mẫu thử ở các lô nghiên cứu .....	37
Bảng 3.2. Kết quả đánh giá độc tính muộn (từ ngày 4 đến ngày 7 sau uống thuốc) của mẫu thử ở các lô nghiên cứu.....	39
Bảng 3.3. Kết quả tỷ lệ ướt/khô mô phổi .....	40
Bảng 3.4. Điểm đánh giá tổn thương phổi ở các lô chuột nghiên cứu.....	42
Bảng 3.5. Kết quả định lượng CRP trong máu chuột .....	44
Bảng 3.6. Kết quả đánh giá nồng độ protein trong dịch rửa phế nang, phế quản.....	45
Bảng 3.7. Kết quả đánh giá Tổng số tế bào (G/L) trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột .....	46
Bảng 3.8. Kết quả đánh giá hoạt độ NOx trong dịch rửa phế nang, phế quản .....	47
Bảng 3.9. Kết quả đánh giá hoạt độ LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản.....	48

## DANH MỤC HÌNH, SƠ ĐỒ

Hình 1.1. Hình ảnh minh họa đường hô hấp.....	4
Hình 1.2. Viêm phế quản cấp.....	7
Hình 1.3. X Quang ngực thẳng viêm phổi .....	8
Hình 2.1. Máy xét nghiệm ELISA .....	26
Hình 2.2. Máy xét nghiệm sinh hoá.....	27
Hình 2.3. Cân điện tử .....	26
Hình 2.4. Kim cong đầu tù.....	27
Hình 2.5. Chuột uống thuốc bằng kim cong đầu tù .....	27
Sơ đồ 2.1. Quy trình nghiên cứu độc tính cấp.....	29
Sơ đồ 2.2. Quy trình nghiên cứu tác dụng chống viêm phổi .....	32

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong các diễn biến bệnh lý hô hấp gần đây, đặc biệt trong một số vụ dịch lớn như dịch SAR, Dịch cúm gia cầm, Dịch Covid-19, Bạch hầu, Cúm mùa...thì các biểu hiện của viêm đường hô hấp có xu hướng nặng, có thể tiến triển nhanh dẫn đến viêm phổi cấp gây ra suy hô hấp và tử vong. Y học cổ truyền từ lâu đã có nhiều bài thuốc có hiệu quả tốt được sử dụng trong phòng chống các bệnh viêm đường hô hấp. Việc điều trị kịp thời giúp bệnh nhân nhanh chóng hồi phục, phòng ngừa các biến chứng.[1], [2]

Bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang” là bài thuốc cổ có xuất sứ từ “Thử sự nan trị” [3] được dùng cho các chứng cảm mạo 4 mùa, có tác dụng khu phong tán hàn, trừ thấp, thanh phế nhiệt, tiêu viêm giảm đau nhức thân mình. Với diễn biến phức tạp trên đường hô hấp việc gia giảm các vị thuốc trong bài cổ phương để làm tăng tác dụng chống viêm của bài thuốc là cần thiết. Trên cơ sở lý thuyết đó, kết hợp thực tiễn kê đơn điều trị cho bệnh nhân nhóm nghiên cứu đã xây dựng Chế phẩm Milnalung dạng Cao lỏng được chế xuất từ bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang” gia 3 vị Kim ngân, Bách bộ, Cát cánh. Các vị thuốc trong Chế phẩm Milnalung gồm: Khương hoạt 6g, Phòng phong 6g, Xuyên khung 4g, Sinh địa 4g, Thương truật 6g, Bạch chỉ 4g, Tế tân 2g, Hoàng cầm 4g, Cam thảo 4g, Kim Ngân hoa 8g, Cát cánh 6g, Bách bộ 6g. Bài “Cửu vị khương hoạt thang” nguyên bản có tác dụng khu phong, tán hàn, trừ thấp, hành khí hoạt huyết, thông kinh hoạt lạc lại vừa thanh lý nhiệt sinh tân dịch dùng phù hợp với trường hợp có phong hàn thấp bên ngoài đồng thời có lý nhiệt bên trong. Tuy nhiên trong trường hợp chỉ có phong hàn thấp bên ngoài mà không có lý nhiệt bên trong cũng có thể dùng được. Trên thực tế lâm sàng, bệnh nhân đa phần bên trong hay có nhiệt. Chính vì vậy bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang” có độ an toàn cao, dùng được 4 mùa.

Để có bằng chứng khoa học về tính an toàn và tác dụng của chế phẩm làm cơ sở cho việc sử dụng rộng rãi trên lâm sàng cũng như nghiên cứu phát triển sản phẩm chăm sóc sức khỏe, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “Nghiên cứu độc tính cấp

và tác dụng chống viêm đường hô hấp của Chế phẩm Milnalung trên thực nghiệm”, với hai mục tiêu:

1. Đánh giá độc tính cấp của Chế phẩm Milnalung trên chuột nhắt trắng.
2. Đánh giá tác dụng chống viêm đường hô hấp của Chế phẩm Milnalung trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng lipopolysaccharid (LPS).

## **CHƯƠNG 1:**

### **TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

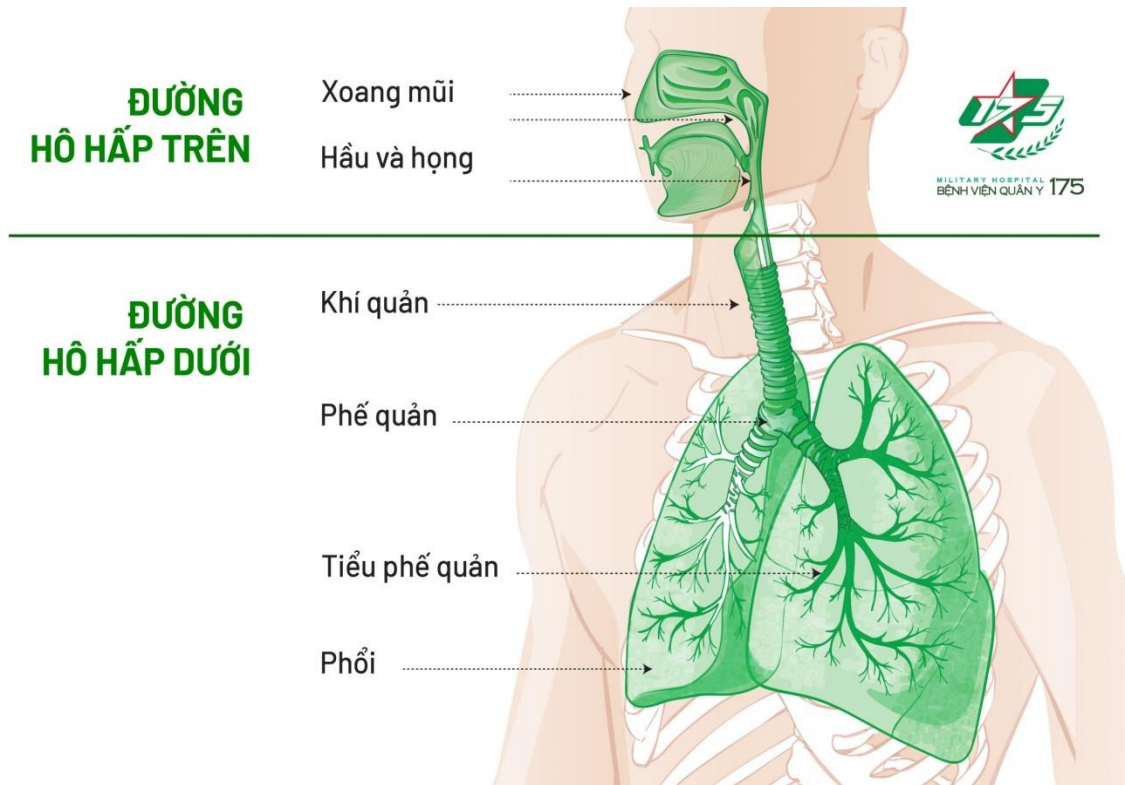
#### **1.1. Tổng Quan về viêm đường hô hấp theo Y học hiện đại (YHHĐ)**

##### ***1.1.1. Định nghĩa***

Đường hô hấp chia làm 2 phần: đường hô hấp trên và đường hô hấp dưới.

Đường hô hấp trên bao gồm các bộ phận như xoang, đường mũi, hầu họng, thanh quản. Các tổ chức này dẫn không khí từ bên ngoài môi trường vào phế quản và đến phổi để diễn ra quá trình hô hấp. Viêm đường hô hấp trên(Upper Respiratory Tract Infections – URTI) là quá trình nhiễm trùng của một hoặc nhiều các bộ phận trên. Khi các bộ phận khác nhau bị viêm, sẽ có những tên gọi khác nhau như viêm xoang, viêm hầu họng, viêm phế quản, viêm thanh quản...Viêm đường hô hấp trên có thể xảy ra bất cứ lúc nào trong năm, đặc biệt vào mùa thu và mùa đông. Bệnh có thể tái phát nhiều lần trong năm: khoảng 2-4 lần/năm đối với người trưởng thành, khoảng 10 lần/năm đối với trẻ em. Bệnh thường không gây nguy hiểm nhưng làm bệnh nhân mệt mỏi, khó chịu, gây khó khăn trong quá trình giao tiếp và làm việc.

Đường hô hấp dưới bao gồm: khí quản, phế quản, tiểu phế quản, phổi. Viêm đường hô hấp dưới (Lower Respiratory Tract Infections- LRTI) là hội chứng bao gồm tất cả các bệnh lý liên quan đến đường hô hấp dưới (khí quản, phế quản, tiểu phế quản và phổi) không phải lao, trong đó viêm phổi và viêm phế quản là hai bệnh lý viêm đường hô hấp dưới thường gặp nhất. Bệnh có thể nguy hiểm đến tính mạng nếu không được chẩn đoán và điều trị đúng cách. [4], [5] , [6]



**Hình 1.1. Hình ảnh minh họa đường hô hấp**

### ***1.1.2. Nguyên nhân gây bệnh***

Viêm đường hô hấp trên xảy ra do các tác nhân gây bệnh xâm lấn trực tiếp vào các niêm mạc của các cơ quan trong đường hô hấp trên. Một số tác nhân gây bệnh thường gặp gồm: tụ cầu khuẩn, liên cầu khuẩn, virus hợp bào hô hấp, virus sởi cúm, vi khuẩn E.coli, trực khuẩn mủ xanh, tụ cầu vàng, nấm candida...

Viêm đường hô hấp dưới lây truyền qua những giọt bắn chứa vi khuẩn, virus khi người bệnh ho, hắt hơi hoặc bám trên các bề mặt tiếp xúc. Tác nhân đường hô hấp dưới bị nhiễm trùng thường do virus, vi khuẩn, đặc biệt là vào thời điểm giao mùa. Một số virus, vi khuẩn, gây bệnh thường gặp gồm: các virus gây bệnh cúm, virus hợp bào hô hấp (Respiratory Syncytial Virus – RSV); Streptococcus pneumoniae (phế cầu khuẩn), Staphylococcus aureus.... Một số trường hợp nhiễm trùng đường hô hấp dưới xuất phát từ các chất trong môi trường gây kích ứng hoặc gây viêm đường thở như: khói thuốc lá, khói bụi do ô nhiễm môi trường, hóa chất, các chất gây dị ứng. [4] ,[7]

### ***1.1.3. Các triệu chứng thường gặp***

#### ***1.1.3.1. Các triệu chứng viêm đường hô hấp trên***

- Viêm đường hô hấp trên cấp tính:

+ Viêm đường hô hấp trên cấp tính thường diễn ra đột ngột, khi thời tiết chuyển lạnh hoặc khi gặp điều kiện thuận lợi như ăn kem, uống nước đá vào ban đêm...

+ Những triệu chứng thường gặp khi phát bệnh gồm: sốt (có thể là sốt nhẹ hoặc sốt cao kèm cảm giác rét run), chảy nước mũi (phổ biến ở trẻ nhỏ), hắt hơi, đau họng khi ăn, uống nước, ho (có thể ho húng hắng hoặc ho liên tục tùy thời điểm).

+ Viêm đường hô hấp trên nếu không được chữa trị đúng cách, bệnh kéo dài và có thể chuyển từ giai đoạn cấp tính sang mạn tính.

- Các triệu chứng viêm đường hô hấp trên mạn tính gồm:

+ rất họng, ho, cảm giác vướng trong họng khi nuốt, chảy nước mũi ở 1 hoặc cả 2 bên mũi...

+ nếu bệnh nhân bị VA mạn tính do trực khuẩn mủ xanh, dịch nhầy ở mũi sẽ có màu xanh. Thở bằng miệng, ngủ ngáy (thường gặp ở trẻ nhỏ), Viêm xoang, đau nhức đầu (thường gặp ở người trưởng thành). [4], [7]

#### ***1.1.3.2. Các triệu chứng viêm đường hô hấp dưới***

- Triệu chứng viêm phế quản cấp tính:

+ Giai đoạn ủ bệnh: sau khi tiếp xúc với virus, người bệnh sẽ có thời gian từ một đến ba ngày ủ bệnh và không có triệu chứng gì trong thời gian này.

+ Giai đoạn viêm long đường hô hấp trên: hắt hơi, sổ mũi, đau họng, sốt nhẹ, mệt mỏi, đau nhức cơ, khớp.

+ Giai đoạn viêm phế quản cấp: ban đầu là ho khan, sau đó ho kèm theo đờm (đờm có thể có màu trắng, vàng, đục hoặc đôi khi kèm theo máu), đau rát xương ức khi ho.

- Triệu chứng viêm phế quản mạn tính:

+ Giai đoạn mới bắt đầu triệu chứng xuất hiện là ho và khạc ra đờm. Ho xảy ra từng đợt, nhiều lần trong năm, đặc biệt khi trời lạnh hoặc thời tiết thay đổi, có thể

ho khan hoặc ho kèm đờm có màu trắng và bọt. Khi tình trạng ho kéo dài nhiều ngày, đờm sẽ đặc hơn, có màu vàng và mũ.

+ Giai đoạn muộn hơn bệnh nhân sẽ cảm thấy khó thở, nặng nề như bị đè nén trong lồng ngực.

+ Ngoài ra còn một số triệu chứng không thường xuyên khác có thể kể đến như sút cân, da dẻ xanh xao, tim đập nhanh.

-Triệu chứng viêm phổi:

+ Viêm phổi do tác nhân vi khuẩn điển hình: rét run, sốt cao trên 39°C, kèm theo ho khạc đờm và đau tức màng phổi; khó thở; nhịp thở nhanh trên 30 lần/phút.

+ Viêm phổi do tác nhân vi khuẩn không điển hình hoặc virus đa phần xảy ra ở trẻ em và người lớn tuổi, với những triệu chứng âm thầm hơn: sốt nhẹ, nhức đầu, ho khan, mệt mỏi.[4] ,[7]

#### **1.1.4. Điều trị viêm đường hô hấp**

##### *1.1.4.1. Điều trị viêm đường hô hấp trên*

- Viêm đường hô hấp trên thường xảy ra ở mức độ nhẹ và dễ điều trị. Tuy nhiên, trong một số trường hợp chủ quan, bệnh chuyển biến nghiêm trọng có thể gây ra nhiều biến chứng nguy hiểm như: nhiễm trùng ổ mắt, giảm thị lực, tắc mạch xoang hoang, viêm não, viêm thanh quản, áp xe họng, nhiễm trùng huyết...

- Việc điều trị viêm đường hô hấp trên thường hướng đến điều trị các triệu chứng của bệnh.

- Các loại thuốc thường được dùng trong điều trị viêm đường hô hấp trên gồm:

+ Thuốc giảm đau, hạ sốt: paracetamol, ibuprofen

+ Thuốc giảm nghẹt mũi: thuốc kháng histamin

+ Thuốc trị ho: dextromethorphan, guaifenesin, codein

+ Thuốc kháng viêm, giảm phù nề: steroids như dexamethasone, prednisolone....

\* Lưu ý, thuốc kháng sinh chỉ được sử dụng khi bệnh do vi khuẩn gây ra hoặc xuất hiện nhiễm trùng có liên quan đến vi khuẩn. Các loại thuốc này có thể gây ra một số tác dụng phụ và có thể gây nhiễm khuẩn thứ phát, kháng kháng sinh. .[4] ,[7]



#### 1.1.4.2. Điều trị viêm đường hô hấp dưới

-Điều trị viêm phế quản cấp tính:

+ chống viêm nonsteroid, steroid: mobic, celecoxib, medrol, mekocetin.....

+ giảm ho: Terpincodein, dextrophan, dextromethorphan.....

+ giãn phế quản khi có dấu hiệu co thắt phế quản: salbutamol, theophylin, bricanyl....

+ kháng sinh( penicilin, erythromycin.....): khi ho kéo dài và khạc đờm mủ trên 7 ngày, cơ địa viêm phế quản mạn tính, viêm mũi mủ, viêm amidan....



**Hình 1.2. Viêm phế quản cấp**

- Điều trị viêm phế quản mạn tính:

+ Thuốc long đờm

+ Có thể dùng thuốc giãn phế quản chống co thắt như Salbutamol, có tác dụng làm thông đường thở của bệnh nhân giúp việc trao đổi khí dễ dàng hơn.

+ Corticoid đường uống trong các đợt cấp nhằm giảm viêm niêm mạc phế quản.

+ Kháng sinh: dùng phối hợp khi có một đợt viêm phổi cấp trên nền tảng một bệnh lý viêm phế quản mạn tính.

+Do tổn thương cơ bản trong viêm phế quản mãn tính làm tắc nghẽn đường thở nên cơ thể không được cung cấp đủ lượng oxy cần thiết. Thở oxy là biện pháp điều trị được sử dụng khi viêm phế quản mạn tính nặng và ít đáp ứng với thuốc điều trị.

- Điều trị viêm phổi:

+ Dùng kháng sinh dựa theo kháng sinh đồ

+ Khi có dấu hiệu như khó thở, tím tái của biến chứng suy hô hấp cấp (ARDS) cần phải điều trị thở oxy. Cân bằng nước và điện giải, đặc biệt khi bệnh nhân có sốt cao, hoặc khi bệnh nhân nặng, đe dọa tình trạng sốc nhiễm khuẩn. .[4] ,[7]

+ Sử dụng các thuốc điều trị triệu chứng khi cần thiết để giảm ho, hạ sốt, giảm đau.



**Hình 1.3. X Quang ngực thẳng viêm phổi**

## **1.2. Tổng quan viêm đường hô hấp theo Y học cổ truyền (YHCT)**

### **1.2.1. Bệnh nguyên và cơ chế bệnh sinh**

Theo y học cổ truyền, không có bệnh danh của viêm đường hô hấp. Tuy nhiên, dựa vào triệu chứng bệnh mà quy vào chứng Khái thấu và Đàm ảm. Theo Hải Thượng Lãn Ông, chứng Khái (ho có tiếng không có đờm) là phế khí bị thương,

chúng Thấu (ho có đàm mà không có tiếng) là tỳ khí bị tổn thương, Khái Thấu (ho có cả đàm lẫn tiếng) thì tỳ phế đều bị bệnh. Nguyên nhân là do ngoại cảm cộng với chính khí suy yếu hoặc do bệnh nội thương, tình chí thất điều gây rối loạn công năng các tạng, phế, tỳ, thận mà sinh ra bệnh.

Ngoại cảm bao gồm phong hàn, phong nhiệt, khí táo. Khi chức năng phòng vệ của cơ thể suy giảm, thời tiết khí hậu thay đổi đột ngột, nóng lạnh thất thường, tà khí phong hàn và phong nhiệt xâm phạm cơ thể từ miệng, mũi hoặc từ da, chân lông làm phế khí mất khả năng tuyên giáng gây khái thấu: ho, đờm nhiều. Phế không khai khiếu ra mũi gây chứng Ty uyên (ngạt mũi). Tà khí lưu lại tại Phế sẽ gây phát nhiệt (sốt cao), đàm vàng đặc. Nhiệt thiêu đốt tân dịch gây ho khan hoặc đàm khó khạc, bứt rứt. Diễn tiến nặng hơn sẽ có nhiệt cực sinh phong gây mê sảng, co giật. Khí táo về mùa thu làm tân dịch của phế bị giảm sút gây ho khan ngứa họng.

Nội thương là do công năng 3 tạng phế, tỳ, thận bị giảm sút, trong đó ăn uống bất điều làm tỳ mất kiện vận, hàn thấp thương tỳ sinh đàm ẩm. Tạng phế hư nhược hoặc bệnh tích ở phế, khí táo làm tân dịch của phế bị giảm sút, nhiệt thương phế làm phế thận âm hư gây ho, đờm nhiều. Thận hư không nạp được khí gây suyễn.

Bệnh thời kì đầu phong hàn, phong nhiệt phạm phế, tân dịch ngưng tạo thành đàm đa phần thuộc thực chứng, bệnh cũ lâu ngày thuộc hư trung hiệp thực. Nếu phế khí hư suy hoặc âm hư phế táo đa phần là hư chứng. [8],[9]

### **1.2.2. Điều trị viêm đường hô hấp theo Y học cổ truyền (YHCT)**

#### **1.2.2.1. Điều trị viêm đường hô hấp cấp tính theo Y học cổ truyền**

Viêm đường hô hấp cấp tính thường do phong hàn, phong nhiệt, khí táo:

- Thể phong hàn gặp ở giai đoạn đầu của viêm cấp, có các triệu chứng như: ho ra đờm trắng loãng, dễ khạc, sốt, sợ lạnh, nhức đầu, chảy nước mũi, ngứa cổ, khản tiếng, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch phù. Phác điều trị: khu phong tán hàn, tuyên phế. Bài thuốc: Hạnh tô tán, Chi khái tán, Đới pháp lập phương.... [2].

- Thể phong nhiệt: gặp ở viêm đường hô hấp cấp và đợt cấp của viêm mạn. Triệu chứng: ho, khạc nhiều đờm vàng, trắng dính, họng khô, họng đau, sốt, đau đầu, sợ gió, rêu lưỡi vàng, mạch phù sắc. Phác điều trị: Sơ phong thanh nhiệt, tuyên phế. Bài thuốc: Tang hạnh thang gia giảm, Ma hạnh thạch cam thang, Đới pháp lập phương.....

- Thể khí táo: gặp trong viêm đường hô hấp cấp tính thuộc mùa thu trời lạnh. Triệu chứng: ho khan nhiều, ngứa họng, miệng khô, họng khô, nhức đầu, mạch phù sắc. Pháp điều trị: thanh phế nhuận táo, chỉ khái. Bài thuốc: Thanh táo cứu phế thang, Tang cúc ẩm gia giảm, Đối pháp lập phương..... [2].

\*Lưu ý: Không nên lạm dụng quá nhiều thuốc giải biểu và cũng không nên dùng thuốc bổ ích quá sớm. nguyên tắc phù chính không để liễm tà. Có thể hư nhược mà kiêm thực chứng thì nên dùng pháp chính tà kiêm thi [10], [11].

#### *1.2.2.2. Điều trị viêm đường hô hấp mạn tính theo Y học cổ truyền*

- Thể đàm thấp: ho hay tái phát, trời lạnh ho tăng, đờm trắng dễ khạc, sắc trắng loãng hoặc đờm thành cục dính, buổi sáng ho nhiều, ngực đầy tức, kém ăn, rêu lưỡi trắng dính, mạch nhu hoạt. Pháp điều trị: táo thấp hóa đàm, chỉ khái. Bài thuốc: Nhị trần thang gia giảm, Linh quế truyệt cam thang, Đối pháp lập phương.....

- Thể thủy âm( hàn âm): ho hay tái phát, thở xuyễn, trời lạnh ho tăng, nhiều rale âm, đờm nhiều trắng loãng, càng vận động càng tăng triệu chứng, khó thở có thể không nằm được, sợ lạnh, rêu lưỡi trắng trơn, mạch tế nhược. Pháp điều trị: ôn phế hóa đàm. Bài thuốc: Tiểu thanh long thang gia giảm, Hạnh tô tán, Chỉ khái tán, Đối pháp lập phương.... [2].

#### ***1.2.3. Tình hình nghiên cứu điều trị viêm đường hô hấp bằng y học cổ truyền (YHCT)***

##### *1.2.3.1. Một số nghiên cứu trên thế giới*

- Trên tạp chí Y sinh học và dược lý trị liệu tập 153, tháng 9 năm 2022 có đăng tải bài viết “ Thuốc Y Học Cổ Truyền Trung Quốc(TCM) có tác dụng hiệu quả trong việc chống lại viêm phổi do virus cúm (IVP)”. Tài liệu này cung cấp hướng dẫn nghiên cứu các phương pháp thử nghiệm của Y học cổ truyền Trung Quốc được sử dụng trong phòng ngừa và điều trị IVP; trình bày cơ chế phân tử của thuốc chống IVP theo Y học cổ truyền Trung Quốc từ nhiều khía cạnh khác nhau.

Nghiên cứu cung cấp bằng chứng thực nghiệm về hiệu quả và tính an toàn của Thuốc Y Học Cổ Truyền Trung Quốc trong điều trị viêm phổi do virus cúm. Nó thiết lập ý nghĩa lâm sàng và triển vọng phát triển của Y Học Cổ Truyền Trung Quốc trong điều trị viêm phổi do virus cúm. [12]

- Tạp chí Y dược học cổ truyền số 15-2024, các nhà nghiên cứu của Khoa Y học Dân tộc, Khoa Dược, Đại học Y học Cổ truyền Thành Đô, Thành Đô, Trung Quốc đã có công trình nghiên cứu “ các vị thuốc Y học cổ truyền Tây Tạng và tiềm năng điều trị viêm phổi”, các vị thuốc tiêu biểu như: hồng hoa, long đờm thảo, tần giao, hắc mai biển, đỗ quyên, mộc hương, cây rum, cam thảo, gỗ đàn hương, gỗ đàn hương.....Trong nghiên cứu này, các loại thuốc Tây Tạng tự nhiên đã được ghi nhận là có thể điều trị nhiều loại bệnh phổi, chẳng hạn như viêm phổi, lao phổi và áp xe phổi. Trong số đó, 182 (31,1%) loại thuốc Tây Tạng có thể điều trị nhiều loại bệnh phổi và 126 (21,5%) loại thuốc không được chỉ định cho các bệnh phổi cụ thể. Có 120 (20,5%) loại thuốc Tây Tạng chữa viêm phổi và 24 (4,1%) loại thuốc chữa viêm phế quản. Các loại cây thuộc họ Long đờm chủ yếu được dùng để chữa viêm phổi và một số loại cây cũng có thể chữa viêm phổi. Hoa lan chủ yếu được dùng để chữa suy hô hấp. Hai loại cây ( *Fagopyrum dibotrys* (D. Don) Hara, *Fagopyrum esculentum* Moench) được chỉ định để chữa ung thư phổi. [13]

- Năm 1956 (Trung Hoa y học tạp chí, 10: 964-968) Tôn Thế Tích đã báo cáo dùng vacxin thương hàn tiêm tĩnh mạch thỏ để gây sốt rồi so sánh tác dụng giảm sốt của một số vị thuốc đông y thấy vị Phòng phong do U Đạt Vọng xác định là *Silerdivaricatum* chế thành thuốc sắc 20% (trọng lượng trên thể tích) và thuốc ngâm với liều 10mg cho 1kg thể trọng cho vào dạ dày thì nửa giờ sau khi cho thuốc, tác dụng giảm sốt rõ rệt. [14]

-Từ Trần (1947), Luu Quốc Thanh (1950) và Không Khản (1955) đã nghiên cứu tác dụng kháng sinh của nhiều vị thuốc bắc, thấy nước sắc hoàng cầm 100% có khả năng ức chế vi khuẩn *Corynebacterium diphtheriae*, *Streptococcus hemolytic A*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella*, *colibacille*, *Streptococcus hemolyticus B*, *Mycobacterium tuberculosis*. [15]

-Theo nghiên cứu của Hui Zhao và cộng sự, Updated pharmacological effects of *Lonicerae japonicae flos*, with a focus on its potential efficacy on coronavirus disease–2019 (COVID-19), PubMed, National Library of Medicine journal, volume 60, October 2021, Kim ngân hoa có nhiều tác dụng dược lý mới, liên quan đến tác dụng kháng viêm, hạ sốt, kháng virus, vi khuẩn, tăng đáp ứng

miễn dịch, tác dụng trên gan, hệ thần kinh và tim, cũng như hiệu quả tiềm tàng đối với COVID-19. [16]

- Theo Tác giả Dong Li và Li Wu. A Coumarins from the roots of *Angelica dahurica* cause anti-allergic inflammation, PubMed, National Library of Medicine journal, volume 14, June 2017. Kết quả là trong vị thuốc Bạch chỉ có 15 hợp chất bao gồm 13 coumarin đã được xác định là isoimperatorin, imperatorin, oxypeucedanin, oxypeucedanin hydrate, bergapten, byakangelicin, phellopterin, byakangelicol, isopimpinellin, xanthotoxol, xanthotoxin, pimpinellin, scopoletin,  $\beta$ -sitosterol và daucosterol. Các hợp chất 1–13 có thể làm giảm giải phóng histamine, với các hợp chất 4–6 thể hiện hoạt động mạnh nhất. Hơn nữa, các hợp chất 1–12 có thể ức chế sự tiết yếu tố hoại tử khối u- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$  và IL-4, với các hợp chất 5 và 7 thể hiện tác dụng ức chế mạnh nhất. Các hợp chất này thực hiện các tác dụng ức chế lên sự biểu hiện của các gen cytokine gây viêm thông qua việc ức chế hoạt hóa yếu tố hạt nhân- $\kappa$ B. Sàng lọc ảo bằng chương trình ghép nối chỉ ra rằng hợp chất 3 là chất đối kháng thụ thể histamine H<sub>1</sub> mạnh. Ngoài ra, các đặc tính lý hóa được tính toán của các hợp chất này hỗ trợ hầu hết các furanocoumarin được đưa đến các vị trí liên kết và thấm qua màng tế bào. Tóm lại, nghiên cứu hiện tại cho thấy rằng coumarin trong Bạch chỉ có khả năng làm giảm dị ứng cấp tính sau phản ứng viêm mãn tính và chỉ ra rằng tình trạng viêm dị ứng của loại cây thuốc này là kết quả của nhiều tác dụng của các hợp chất này. [17]

#### *1.2.3.2. Một số nghiên cứu ở Việt Nam*

- Theo Tạp chí y học Việt Nam tập 519 số 2, tháng 10/2022, có đăng tài đề tài nghiên cứu “Đánh giá tác dụng chống viêm phổi của viên nang mềm Tổng Vệ Nhân trên thực nghiệm” của 2 nhà nghiên cứu Nguyễn Thanh Hà Tuấn và Ngô Thị Mỹ Bình thực hiện. Viên nang mềm Tổng Vệ Nhân (Vn TVN), do Công ty cổ phần tập đoàn Dược Mỹ phẩm Vinpharma sản xuất, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần trong 01 viên nang mềm chứa 280mg cao khô chiết xuất tương đương: Hoàng kỳ 1000mg Đông trùng hạ thảo 400mg, Bạch truật 300mg, Phòng phong 300mg, Hồng sâm 200mg, Mộc hương 200mg, Kê huyết đằng 150mg, Phục thần 100mg, Đương quy 100mg, Thymomodulin 30mg, Thymomodulin 30mg, Riboflavin( Vitamin B2

20mg, Nicotinamid (Vitamin B3) 20 mg, Thiamin nitrate (Vitamin B1) 8 mg, Pyridoxin hydroclorid (Vitamin B6) 8 mg. Thuốc trong viên nang mềm là bột thuốc dạng nhão, Viên nang mềm Tổng Vệ Nhân liều 416 mg/kg/ngày và 832 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 W/D 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, tế bào, LDH và Nox trong dịch rửa phế quản. [18]

- Trần Thị Thanh Tú cùng các cộng sự đã thực hiện đề tài: “Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm ho, long đờm của viên nang “Liên Ngân SK” trên động vật thực nghiệm”. Thành phần của viên nang Viên nang cứng Liên ngân SK: Xuyên tâm liên 180mg, Kim ngân hoa 180mg, Đinh lăng 50mg, Sâm đại hành 50mg, Nhân sâm 40mg. Khối lượng tịnh (không tính vỏ nang): 500mg/viên. 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. [19]

- Theo Nguyễn Quỳnh Chi “Nghiên cứu một số tác dụng dược lý của Khương hoạt bắc có trên thị trường Việt nam”, tạp chí Dược học, số 11 năm 2000. Khương hoạt có tác dụng kháng viêm cấp, kháng viêm mạn. Khương hoạt đã được báo cáo là có hoạt tính kháng virus được chứng minh trên chuột nhiễm virus cúm, giúp chúng kéo dài tuổi thọ và tránh khỏi tử vong. Ngoài ra Khương hoạt còn có tác dụng điều hòa miễn dịch và cũng có ít độc tính tế bào hơn. [20]

- Theo Dược Điển Việt Nam 5 tập 2 (Xuất bản năm 2017). Bách bộ (rễ) trang 1068 – 1069:

+) Kháng vi trùng: các thành phần dưỡng chất có chứa trong Bách bộ có tác dụng kháng khuẩn đối với một số chủng khuẩn như Staphylococcus aureus, Hemolytic streptococcus, Streptococcus pneumoniae và Neisseria meningitidis.

+) Tác dụng lên hệ hô hấp: Bách bộ dùng dưới dạng thuốc sắc không mang lại tác dụng giảm ho do chích Iod ở mào nhưng thuốc giúp làm giảm hưng phấn trung khu hô hấp ở động vật. Từ đó giúp làm giảm ho do ức chế phản xạ ho. Bên cạnh đó, bách bộ có tác dụng giống như Amionophylline giúp làm giãn cơ và thông khí.

+) Chữa ho: Hoạt chất stemonin có trong Bách bộ có công dụng làm giảm tính hưng phấn của trung tâm hô hấp ở động vật. Do đó, giúp ức chế phản xạ ho, do đó làm giảm ho. [21]

- Theo Nhận thức cây thuốc và dược liệu NXB Y Học 2021, Xuyên khung, trang 74 – 75:

+) Thành phần hóa học: Cây chứa chủ yếu là alcaloid bay hơi và tinh dầu. Các hoạt chất như: ferulic acid, senkyunolide, ligustilide...

+) Tác dụng kháng khuẩn: ức chế nhiều vi khuẩn gây bệnh như Shigella, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella thương hàn và khuẩn tả. [22]

- Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam (Nhà Xuất bản Y Học 2004). Bạch chỉ, trang 598 - 601

+) Tác dụng chống viêm: Với mô hình gây viêm thực nghiệm bằng Kaolin trên chuột cống trắng, Bạch chỉ với liều lượng 10g/kg có tác dụng chống viêm.

+) Tác dụng kháng khuẩn: bằng phương pháp khuếch tán môi trường nuôi cấy vi khuẩn, nước sắc Bạch chỉ có tác dụng kháng khuẩn đối với các chủng phế cầu, tụ cầu, tụ cầu vàng, liên cầu, bacillus subtilis, bacillus typhi, enterococcus, shigella, vibrio cholerae. Ngoài ra Bạch chỉ còn có tác dụng kháng virus. [23]

-Theo Võ Văn Chi Từ điển Cây thuốc Việt Nam Tập 1, NXB Y Học 2021, Cát cánh, trang 90 – 91: rễ Cát cánh có nhiều tác dụng như giúp hạ huyết áp, giảm lipid, kháng viêm, chống khối u, giảm ho và đờm, tăng bài tiết acid cholic và có tác dụng chống oxy hóa. Ngoài ra, Cát cánh còn chứa lybetyol, một loại polyacetylen có tác dụng chống lại khối u. [24]

### **1.3. Tổng quan về bài thuốc bào chế Chế phẩm Milnalung**

Bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang” là bài thuốc cổ có xuất sứ từ “Thử sự nan trị”. [3] Thành phần bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang” nguyên bản gồm: Khương hoạt 6g, Phòng phong 6g, Xuyên khung 4g, Thương truật 6g, Tế tân 2g,



Bạch chỉ 4g, Hoàng cầm 4g, Sinh địa 4g, Cam thảo 4g. Tác dụng: khu phong, tán hàn, trừ thấp, thanh phế nhiệt. Bài thuốc được dùng cho các chứng cảm mạo 4 mùa, có tác dụng khu phong tán hàn, thanh phế nhiệt, thông kinh hoạt lạc, hành khí hoạt huyết, giảm đau nhức thân mình. Các vị Khương hoạt, Phòng phong, Thương truật, Bạch chỉ, Xuyên khung, Tế tân đều là loại thuốc tân ôn, táo, có mùi thơm, dùng chung với các bài như ‘Ma hoàng thang’, ‘Quế chi thang’, đều thuộc phạm vi của tân ôn giải biểu. Tuy nhiên, đời nhà Tống, Kim, Nguyên, có một số thầy thuốc cho rằng dùng ‘Ma hoàng thang’, ‘Quế chi thang’ thường bị thời tiết hạn chế, không thể sử dụng quanh năm được, vì vậy, Trương Khiết Cổ đã chế ra bài ‘Cửu vị khương hoạt thang’ để thay thế cho các bài ‘Ma hoàng thang’ và ‘Quế chi thang’, là những bài thuốc thường dùng để giải biểu. Khi dùng cần phải theo chứng mà biến hoá, như thấp tà nhẹ, có thể bỏ Thương truật; đầu không đau nhiều, có thể bỏ Tế tân; nếu không có nhiệt bên trong, nên giảm Hoàng cầm, Sinh địa (Phương tễ học giảng nghĩa), gia Quế chi để thông kinh hoạt lạc... [3]

Chế phẩm Milnalung được bào chế từ bài thuốc cổ phương “Cửu vị khương hoạt thang” gia thêm các vị Cát cánh, Bách bộ, Kim ngân hoa. Thành phần các vị thuốc bào chế Chế phẩm Milnalung có 12 vị, với tổng 60g dược liệu, gồm: Khương hoạt 6g, Phòng phong 6g, Xuyên khung 4g, Sinh địa 4g, Cam Thảo 4g, Thương truật 6g, Tế tân 2g, Bạch chỉ 4g, Hoàng cầm 4g, Kim ngân hoa 8g, Bách bộ 6g, Cát cánh 6g.

Trong bài thuốc vị Khương hoạt là chủ dược có tác dụng khu phong tán hàn, trừ thấp; Phòng phong, Thương truật phối hợp tăng thêm tác dụng khu phong, tán hàn, trừ thấp, chỉ thống; Xuyên khung, Bạch chỉ, Tế tân khu phong, tán hàn, hành khí, hoạt huyết, chữa đau đầu, mình mảy; Sinh địa thanh nhiệt lương huyết, sinh tân dịch; Hoàng cầm thanh thấp nhiệt tả phế hỏa, giảm bớt tính cay, ôn táo của các vị thuốc; Kim ngân hoa thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm; Cát cánh chỉ khái, hóa đờm, bài nùng, tuyên phế, lợi hầu họng; Bách bộ nhuận phế, chỉ khái, sát trùng; Cam thảo có tác dụng điều hòa các vị thuốc.

## **1.4. Tổng quan về các vị thuốc bào chế Chế phẩm Milnalung**

### **1.4.1. Khương Hoạt**

*Bộ phận dùng:* Rễ của cây Khương hoạt.

*Tính vị, quy kinh:* Vị cay, đắng, có mùi thơm, tính ôn. Quy kinh Bàng quang, Thận, Phế.

*Công dụng:* Tán hàn, khu phong, trừ thấp, chỉ thống.

*Chủ trị:* Cảm mạo phong hàn nhức đầu, sốt mồ hôi không ra được, phong thấp, tê đau vai, đau nhức mình mẩy, đau đầu, lưng đau mỏi, ung nhọt.

### **1.4.2. Phòng Phong**

*Bộ phận dùng:* Rễ của cây Phòng phong.

*Tính vị, quy kinh:* Phòng phong vị cay ngọt, tính ôn, không độc. Quy vào kinh Đại trường, Phế, Can, Tỳ, Vị.

*Công năng:* Hành kinh lạc, khu phong, bổ trung, ích thần, trừ độc tính của phụ tử, thư cân mạch, chỉ thống, thông lợi ngũ tạng, phát hãn, giải biểu, năng an thần và định chí.

*Chủ trị:* Ngoại cảm phong hàn, trị 36 chứng phong, tâm phiền, chảy nước mắt sống, băng trung, lậu hạ, mồ hôi trộm, chứng sợ gió, đau đầu, xương khớp nhức mỏi.

### **1.4.3. Xuyên Khung**

*Bộ phận dùng:* Củ xuyên khung.

*Tính vị, quy kinh:* Xuyên khung vị đắng, cay, hơi ngọt, tính ấm. Quy kinh Can, Đờm, Tỳ, Tam Tiêu.

*Công năng:* Tác dụng bổ huyết, nhuận táo, khai uất, khu phong, chỉ thống, nhuận Can, khứ phong.

*Chủ trị:* Đau đầu, đau khớp, rối loạn kinh nguyệt, đau bụng kinh, căng tức ngực sườn, sản hậu, liệt nửa người do tai biến...

### **1.4.4. Bạch Chỉ**

*Bộ phận dùng:* Rễ cây bạch chỉ

*Tính vị, quy kinh:* Vị cay, ngọt nhẹ, tính ấm. Quy vào các kinh Bàng quang, Phế, Tỳ, Vị, Đại trường, Can.

*Công năng:* Kháng khuẩn, giảm đau, giúp tàn hàn, tiêu mủ, trừ phong, giải độc, chỉ thống, hoạt huyết, táo thấp.

*Chủ trị:* Đau đầu, đau chân răng, đau mắt, Bệnh hậu sản, phong, chóng mặt, viêm mũi, viêm xoang, chảy nước mũi trong, táo bón, bệnh trĩ, sốt ở trẻ em, ung nhọt, mụn đinh, bệnh bạch đới, cảm cúm, ra mồ hôi trộm, đại tiện, tiểu tiện ra máu, giải độc do rắn rết cắn hoặc do nhiễm từ thạch...

#### **1.4.5. Bách Bộ**

*Bộ phận dùng:* Phần rễ củ.

*Tính vị, quy kinh:* Vị ngọt đắng, tính hơi ôn. Quy kinh Phế.

*Công năng:* Nhuận phế, chỉ khái, sát trùng.

*Chủ trị:* Trị ho do hư lao, thường dùng trong trị lao phổi, phế quản viêm mạn tính, ho gà, giun đũa, giun kim.

#### **1.4.6. Cát Cánh**

*Bộ phận dùng:* Rễ cây.

*Tính vị, quy kinh:* Vị đắng, tính ôn. Quy kinh Phế.

*Công năng:* Bài nùng, tuyên phế, khử đàm lợi yết và khai thông phế khí.

*Chủ trị:* Các bệnh lý như họng đau nói khàn, chứng lỵ, tiểu tiện lung bế (tiểu tiện không thông), áp xe phổi (ngực đau phế ung), ho có nhiều đờm, viêm họng sung đau.

#### **1.4.7. Tế Tân**

*Bộ phận dùng:* Rễ cây.

*Tính vị, quy kinh:* Vị cay, tính ấm. Quy kinh Tâm, Phế, Can và Thận.

*Công năng:* Khu phong tán hàn, trừ thấp, hành thủy, chỉ thống, ôn phế khu đờm.

*Chủ trị:* Trúng phong hàn, đau nhức đầu, phong thấp, ho, hen, đau răng, ngạt mũi, bí mồ hôi, ứ huyết. Dùng ngoài chữa hôi miệng.

#### **1.4.8. Thương Truật**

*Bộ phận dùng:* Phần rễ củ.

*Tính vị, quy kinh:* Tính ấm, vị cay và đắng. Quy kinh Tỳ, Vị.

*Công năng, Chủ trị:* Kiện tỳ, làm ra mồ hôi, sáng mắt, giảm đau, an thần, bồi bổ cơ thể, lợi tiêu hóa, chủ trị ăn uống không ngon miệng, chậm tiêu, tiêu chảy, khô mắt, người uể oải, không có mồ hôi...

#### **1.4.9. Kim Ngân Hoa**

*Bộ phận dùng:* Hoa cây Kim ngân.

*Tính vị, quy kinh:* Kim ngân tính hàn, vị đắng, ngọt, không độc. Quy kinh Tâm, Phế, Vị, Tỳ.

*Công năng:* Thanh nhiệt, giải độc, tiêu khát, tiêu thũng, khu phong, trừ thấp.

*Chủ trị:* Ôn bệnh phát nhiệt, tiêu chảy, ghẻ lở, nổi mụn nhọt, mẩn ngứa, đau họng, bệnh sỏi, giang mai, hắc bào, sung viêm tuyến vú do tắc sữa, cảm cúm...

#### **1.4.10. Hoàng Cầm**

*Bộ phận dùng:* Rễ cây.

*Tính vị, quy kinh:* Vị đắng, tính hàn và không có độc. Quy kinh Đại trường, Tâm, Phế, Đờm, Bàng quang.

*Công năng:* Tả phế hỏa, trừ thấp nhiệt, tiêu cốc, chỉ huyết, an thai, tiết lợi, hạ huyết bế...

*Chủ trị:* Ho do phế nhiệt, tiêu chảy, mụn nhọt, mắt đỏ sưng đau, đau bụng, chảy máu cam, tiêu ra máu, rong kinh, động thai...

#### **1.4.11. Sinh Địa**

*Bộ phận dùng:* Rễ củ.

*Tính vị, quy kinh:* vị ngọt đắng và tính hàn. Được quy vào các kinh Can, Thận và Tâm.

*Công năng:* Thanh nhiệt, làm mát máu, tăng sinh dịch cơ thể, bổ âm.

*Chủ trị:* Dùng để chữa các bệnh thiếu máu, người yếu mệt, chảy máu cam, kinh nguyệt không đều, ho ra máu, động thai...

#### **1.4.12. Cam Thảo**

*Bộ phận dùng:* Rễ và thân của cây cam thảo.

*Tính vị, quy kinh:* Tính bình và vị ngọt. Quy kinh Tỳ, Vị, Tâm và Phế.

*Công năng, chủ trị:* Giải độc, kiên gân, nội lực và trường cơ nhục, lợi khí huyết, hạ chí, chỉ khát, ôn trung và thông kinh mạch, định phách, dưỡng khí, ích tinh, thông cửu khiếu, lợi bách mạch và an hồn, ích khí, nhuận phế, thông hành 12 kinh và hoãn cấp, chỉ thống, chỉ khai và thanh nhiệt.

## **1.5. Tổng quan về các mô hình nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm trên thực nghiệm.**

### ***1.5.1. Tổng quan về các mô hình nghiên cứu độc tính cấp trên thực nghiệm***

Đánh giá tính an toàn của thuốc và các sản phẩm chăm sóc sức khỏe nói chung là một bước quan trọng trong quá trình nghiên cứu phát triển. Trước khi thử nghiệm lâm sàng, cần có các bằng chứng về tính an toàn của thuốc trên thực nghiệm, trong đó độc tính cấp và độc tính bán trường diễn được quy định phải tiến hành đánh giá. Một số độc tính khác được tiến hành đánh giá khi có yêu cầu cụ thể hoặc nghi ngờ có thể có độc tính, như độc tính sinh sản, độc tính sinh ung thư, độc tính trên nhiễm sắc thể...Ngoài ra, với mỗi lô sản xuất trước khi đưa ra thị trường cần được đánh giá tính an toàn bằng độc tính bất thường. [25]

**Như vậy, độc tính cấp được quy định bắt buộc phải thử đối với những chế phẩm mới có dự định cho sử dụng trên người.**

#### **Mục tiêu:**

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

- Liều an toàn;
- Liều dung nạp tối đa;
- Liều gây ra độc tính có thể quan sát được;
- Liều thấp nhất có thể gây chết động vật thí nghiệm (nếu có);
- Liều LD<sub>50</sub> gần đúng (nếu có thể xác định được);
- Những triệu chứng ngộ độc điển hình có thể quan sát được trên động vật và khả năng hồi phục (nếu có)

#### *Thực nghiệm*

Động vật nghiên cứu: thử ít nhất trên 2 loài động vật có vú, trong đó có một loài không gặm nhấm. Tùy điều kiện, có thể chấp nhận thử độc tính cấp trên một loài động vật.

- Loài gặm nhấm thường sử dụng là chuột nhắt, chuột cống.
- Loài không gặm nhấm có thể dùng là chó hoặc khỉ.

Nên sử dụng số lượng động vật thí nghiệm nhỏ nhất, tùy theo mô hình áp dụng (thường là 3 đến 5 con/mức liều). [25],[26],[27]

#### *Đường dùng*

Theo đường dự kiến dùng cho người (đường uống, tiêm, hô hấp).

#### *Mức liều thử*

Một số mô hình được dùng với số lượng động và số liều dùng ít nhất như:

- Mô hình liều cố định: thử với một số liều cố định 5, 50, 300, 2000, 5000mg/kg. Dùng 5 con vật cho mỗi nhóm, thử lần lượt từng mức liều một. Lựa chọn liều khởi đầu là một trong số các liều cố định đã gợi ý, tùy theo kết quả đáp ứng của liều khởi đầu mà tiến hành thử tiếp những mức liều cao hơn hoặc thấp hơn. Thử nghiệm sẽ được tiếp tục cho đến khi xác định được một mức liều gây độc tính rõ ràng, hoặc liều gây chết không quá 1 con, hoặc liều cao nhất không gây ảnh hưởng gì hoặc mức liều thấp nhất gây chết động vật thí nghiệm.

- Mô hình phân loại độc: thử theo quy trình bậc thang, mỗi bước dùng 3 con cùng giới (uống một trong các mức liều đã được xác định). Tùy theo động vật có chết hay không ở một bước thử mà xác định cho bước thử tiếp theo, như không cần thử thêm nữa, hoặc thử thêm 3 con vật nữa với cùng mức liều đó hoặc thử thêm trên 3 con nữa ở mức liều cao hơn hoặc thấp hơn.

- Mô hình thử Tăng - Giảm: thử lần lượt các liều đơn đã được định trước, mỗi liều ở một thời điểm, cách nhau tối thiểu là 48 giờ. Con vật đầu tiên uống ở mức liều thấp hơn gần nhất với liều ước tính LD<sub>50</sub>. Nếu con vật đó sống thì liều cho con tiếp theo sẽ tăng 3,2 lần so với liều vừa thử trước đó, còn nếu bị chết thì giảm liều xuống 3,2 lần. Quan sát cẩn thận tình trạng từng con vật trong suốt 48 giờ để quyết định nên cho con tiếp theo uống hay không và cho uống với liều bao nhiêu.

- Mô hình theo Litchfield – Wilcoxon: Động vật thường dùng là chuột nhắt trắng, cả 2 giống, trọng lượng  $20 \pm 2g$ , được chia thành từng lô, mỗi lô 10 con. Số lượng khoảng 100 con. Cho từng lô chuột uống thuốc thử với các liều khác nhau từ liều cao nhất không gây chết tới liều thấp nhất gây chết 100% chuột. Chuột được uống thuốc bằng kim hơi cong có đầu tù với độ dài đưa vào đến dạ dày chuột.

Chuột được nhịn ăn 12 -16 giờ trước khi uống thuốc, vẫn uống nước đầy đủ.[28], [29], [30]

*Chỉ tiêu theo dõi*

- Tình trạng chung của chuột: hoạt động tự nhiên, tư thế, màu sắc (mũi, tai, đuôi), lông, phân, nước tiểu...

- Tỷ lệ chuột chết trong vòng 72 giờ.

- Khi có chuột chết, mổ để quan sát đại thể các cơ quan phủ tạng. Nếu cần, làm thêm vi thể để xác định nguyên nhân.

**1.5.2. Tổng quan về các mô hình nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm trên thực nghiệm.**

**1.5.2.1. Mô hình đánh giá tác dụng chống viêm cấp**

Quá trình viêm cấp với các biểu hiện phù viêm, tiết dịch viêm, đau, nóng đỏ. Từ 1937, Selye đã mô tả các triệu chứng khi tiêm lòng trắng trứng vào phúc mạc chuột cống trắng. Sau khi tiêm, xảy ra tăng thân nhiệt cấp, phù và ngứa ở miệng, mũi, lưỡi, tai, chân và bộ phận sinh dục. Các triệu chứng này lại được mô tả với tên là “phù dạng phản vệ” (anaphylactoid edema), “viêm dạng phản vệ” (anaphylactoid inflammation). Về sau, người ta thấy rằng phù dạng phản vệ cũng có thể gây ra với các chất khác. Một kiểu phù dạng phản vệ có thể thu được khi dùng tại chỗ các chất gây phù. Gây phù tại chỗ có đặc điểm là phù tốt, kéo dài khá lâu và độc tính không lớn, tác dụng có hại trên hệ tim mạch ít. Phù dạng phản vệ tại chỗ cũng có các biểu hiện sưng, nóng, đỏ, đau và rối loạn chức phận của cơ quan có liên quan, tức là cũng có 5 dấu hiệu cơ bản của quá trình viêm. Các mô hình gây phù viêm cấp hiện nay thường gây phù viêm bàn chân chuột, với các chất gây phù viêm như Carragenin, lòng trắng trứng, formalin....

Ngoài gây phù viêm, mô hình gây tăng tiết dịch rỉ viêm cũng thường được sử dụng trong đánh giá tác dụng chống viêm cấp. Hai mô hình gây tăng tiết dịch rỉ viêm thường dùng là mô hình gây viêm màng phổi thực nghiệm và mô hình gây viêm màng bụng thực nghiệm. Cơ chế của phương pháp gây rỉ dịch màng phổi cũng tương tự với phương pháp gây phù thực nghiệm. Viêm làm tăng sự rỉ dịch kể cả rỉ dịch màng phổi. Các thuốc chống viêm làm giảm sự tiết dịch rỉ màng phổi do một

số tác nhân gây viêm. Thực nghiệm đã chứng minh, thể tích rỉ dịch màng phổi do tinh dầu thông giảm rất nhiều nếu dùng thuốc chống viêm. Các tác nhân thường dùng để gây rỉ dịch màng phổi: tinh dầu thông; caragenin; phẩm xanh Evans; phẩm xanh Evans và Caragenin. Cơ chế của phương pháp gây rỉ dịch màng bụng cũng tương tự như phương pháp gây rỉ dịch màng phổi thực nghiệm. Khi tiêm các chất gây viêm vào phúc mạc chuột, sẽ có hiện tượng rỉ dịch vào khoang giữa 2 màng bụng. Các thuốc chống viêm làm giảm sự tiết dịch rỉ màng bụng do một số tác nhân gây viêm gây ra. Việc gây rỉ dịch màng bụng đơn giản hơn nhiều so với gây rỉ dịch màng phổi, đặc biệt là thao tác tiêm chất gây viêm vào trong màng phổi khó và phức tạp hơn tiêm vào trong màng bụng. Vì vậy mô hình gây viêm màng bụng thường được sử dụng trong nghiên cứu. [31] ,[32]

#### *1.5.2.2. Phương pháp gây u nang lưng thực nghiệm*

U nang cũng là trường hợp đặc biệt của viêm. Phương pháp cho khả năng xác định thể tích của dịch trong nang và thành phần của dịch trong đó (giống trong viêm cấp tính); đồng thời, xác định khối lượng của mô tạo thành vỏ nang (do quá trình tăng sinh của viêm mạn tính).

Nguyên tắc của phương pháp là: cạo lông ở lưng chuột cống trắng, bơm không khí vào dưới da lưng chuột tạo thành túi khí, tiêm vào túi khí dịch chất gây viêm một hoặc nhiều lần. Sau một thời gian, dịch rỉ vào túi khí, còn vỏ túi khí, các mô sẽ tăng sinh tạo thành một nang. Nếu để càng lâu, vỏ nang càng dày và càng dễ bóc tách khỏi các mô bên cạnh.

Mô hình này nhạy với các thuốc chống viêm steroid. Thuốc chống viêm steroid làm giảm dịch trong nang, giảm các chất trung gian gây viêm, giảm các chất chuyển hóa của acid arachidonic, giảm khối lượng vỏ nang. Còn các thuốc chống viêm phi steroid thường chỉ có tác dụng yếu.

Các tác nhân thường dùng gây u nang lưng thực nghiệm: dầu ba đậu; tinh dầu thông; parafin lỏng; CCl<sub>4</sub>; caragenin (dung dịch 2%); độc tố uốn ván;..... [31] ,[32]

#### *1.5.2.3. Phương pháp gây u hạt thực nghiệm*

Phương pháp gây u hạt thực nghiệm, lần đầu tiên, được Meier et al. (1950) tiến hành. Các tác giả đã xác định được bằng cortison ức chế sự hình thành các mô



hạt khi cấy dưới da một viên bông. Các tác giả đã dùng chuột cống trắng gây mê. Trên sống lưng, gàn gáy chuột, rạch một khía nhỏ trên da. Bóc lớp da và đưa một viên bông vê tròn đã được tiệt trùng từ trước nặng 20, 30 hoặc 40 mg vào đó, rồi khâu vết mổ lại.

Sau 8 đến 14 ngày, giết chuột, bóc tách lấy u hạt (cả u hạt có bông ở giữa). Sấy khô u hạt ở 60 độ C đến khối lượng không đổi, rồi đem cân. Khối lượng u hạt (cả bông) trừ đi khối lượng viên bông cấy lúc ban đầu sẽ được khối lượng mô tăng sinh của u hạt. Lô chuột dùng thuốc chống viêm mạn tính có khối lượng trung bình u hạt nhỏ hơn lô chứng không dùng thuốc.

Trong mô hình gây u hạt bằng viên bông, cần phải 8 ngày kể từ khi cấy viên bông, mới có thể bóc tách u hạt được dễ dàng, và càng để lâu thì việc bóc tách càng dễ. U hạt cũng có thể gây ra bằng các chất khác, miễn là các chất này không bị tiêu đi sau khi cấy vào dưới da chuột.

Các tác nhân gây u hạt thực nghiệm: bông; amiăng; bột polyester, ivalon, silicon; polyvinyl clorid; giấy. [31] ,[32]

#### *1.5.2.4. Phương pháp gây áp xe hạt thực nghiệm*

Tiêm dưới da chỗ giàu mô liên kết (vùng gáy vai chỗ đầu chõm của xương bả vai hoặc khoang bụng) một chất kích ứng như tinh dầu thông hoặc dung dịch đậm đặc caragenin sẽ gây ra một ổ hoại tử. Lúc đầu cũng có hiện tượng viêm cấp xảy ra, máu dồn đến, bạch cầu, đại thực bào, thể tiêu bào (lysosom) đến để tiêu diệt vật lạ. Nhưng chất này độc, các tế bào đến bị chết. Cơ thể sẽ huy động các loại mô bào, nguyên bào sợi, nguyên bào lưới, mô liên kết ở xung quanh tạo thành một vỏ cách ly ổ hoại tử khỏi cơ thể, gây ra quá trình tăng sinh thành một áp xe hạt.

Áp xe hạt gồm một ổ hoại tử ở giữa, xung quanh là các mô liên kết bao quanh. Lúc đầu, áp xe hạt còn dính nhiều với các mô xung quanh, nhưng lâu ngày áp xe hạt tách biệt với các mô xung quanh và có thể bóc tách dễ dàng. Các thuốc chống viêm mạn tính, đặc biệt là các thuốc chống viêm steroid, ức chế sự tăng sinh, nên làm giảm sự tạo thành áp xe hạt và khối lượng áp xe hạt sẽ nhỏ hơn. [31] ,[32]

## Chương II

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

#### 2.1. Chất liệu nghiên cứu

Chế phẩm Milnalung được bào chế từ bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang gia giảm”, dạng cao lỏng, do Công ty cổ phần Dược phẩm Phú Tín sản xuất, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Tổng bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang gia giảm” (1 thang thuốc) có 60g dược liệu khô. Thành phần bài thuốc được trình bày ở bảng 2.1.

**Bảng 2.1. Thành phần bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang gia giảm”**

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng
1	Khương hoạt	<i>Notopterygium incisum</i>	6 g
2	Phòng phong	<i>Saphoshnikovia divaricata</i>	6 g
3	Xuyên khung	<i>Ligusticum striatum</i>	4 g
4	Bạch chỉ	<i>Angelica dahurica</i>	4 g
5	Bách Bộ	<i>Stemona tuberosa</i>	6 g
6	Cát cánh	<i>Platycodon grandiflorum</i>	6 g
7	Tế tân	<i>Radix asari</i>	2 g
8	Thương truật	<i>Atractylodes lancea</i>	6 g
9	Kim ngân hoa	<i>Lonicera japonica Thunb</i>	8 g
10	Hoàng cầm	<i>Scutellaria baicalensis</i>	4 g
11	Sinh địa	<i>Rehmannia glutinosa</i>	4 g
12	Cam Thảo	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	4 g

Các dược liệu trong bài thuốc đều đạt tiêu chuẩn dược điển Việt Nam V. Từ 60g dược liệu khô của bài thuốc bào chế ra tương ứng là 10ml cao lỏng chế phẩm. Theo liều dự kiến dùng trên người 1 thang thuốc/ngày tương ứng 10ml cao lỏng chế phẩm/ngày hay 0,2 ml/kg/ngày. Quy đổi ra liều dùng trên chuột cống (hệ số 7) là 1,4 ml/kg/ngày, liều dùng trên chuột nhắt trắng (hệ số 12) là 2,4ml/kg/ngày. [33]

## 2.2. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng Swiss trưởng thành, khoẻ mạnh, cân nặng 18 - 20g, tuổi từ 6-8 tuần, số lượng 50 con, cả 2 giống, sử dụng cho: nghiên cứu độc tính cấp của chế phẩm Milnalung.

Chuột cống trắng chủng Wistar trưởng thành, khoẻ mạnh, cân nặng 180 - 200 g, tuổi từ 6-8 tuần, số lượng 40 con, cả 2 giống đực và cái, sử dụng cho nghiên cứu tác dụng chống viêm phổi chế phẩm Milnalung.

Động vật do cơ sở chăn nuôi động vật thí nghiệm Vân Anh, Đan Phượng, Hà Nội cung cấp. Động vật được nuôi ổn định trong điều kiện phòng nuôi động vật thí nghiệm của Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y (nhiệt độ 24-27°C, độ ẩm 50 - 60%, chu kỳ sáng/tối 12h/12h chiếu sáng từ 6h-18h) ít nhất 1 tuần trước khi làm thí nghiệm và được theo dõi, chăm sóc cẩn thận trong suốt quá trình 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. Hàng ngày theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

## 2.3. Các trang thiết bị, hoá chất phục vụ cho nghiên cứu

### 2.3.1. Các máy móc thiết bị

- Máy ELISA của hãng Bio-Rad (Mỹ).
- Cân phân tích  $10^{-4}$ , model CP224S (Sartorius - Đức).
- Cân điện tử 2200g độ chính xác 0,01g (HL-Nhật Bản)
- Máy ly tâm lạnh Microtube (MikRo 22R, Hettich - Đức).
- Máy đo pH (pH metter F-51, Horiba-Kyoto-Nhật Bản).
- Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ.
- Kim cong đầu tù chuyên dụng dùng cho chuột uống thuốc (Nhật Bản), loại thích hợp dùng cho chuột nhắt (20 gauge feeding tubes, dài 3,81 cm) hoặc dùng cho chuột cống (16 gauge feeding tubes, dài 7,62 cm).
- Ống mao quản thủy tinh dùng để lấy máu chuột ((Brand™ Micro-haematocrit Capillary Tubes, đường kính trong  $1.15 \pm 0.05$  mm, đường kính ngoài khoảng 1,5 mm).
- Các thiết bị làm tiêu bản mô bệnh học.
- Một số thiết bị và dụng cụ nghiên cứu khác.

### 2.3.2. Hóa chất nghiên cứu.

- Lactate Dehydrogenase Activity Assay Kit (Sigma, Mỹ);
- Nitrite Assay Kit (Griess Reagent) (Sigma, Mỹ)
- Rat CRP/C-Reactive Protein ELISA Kit (Sigma, Mỹ);
- Lipopolysaccharides từ Escherichia coli O111:B4 (Sigma, Mỹ)
- Hóa chất làm tiêu bản mô bệnh học và các hóa chất khác



*Hình 2.1. Máy xét nghiệm ELISA*



*Hình 2.2. Máy xét nghiệm sinh hoá*



*Hình 2.3. Cân điện tử*



*Hình 2.4. Kim cong đầu tù*

### 2.3.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- **Thời gian:** nghiên cứu được tiến hành từ tháng 07/2023 đến tháng 05/2024.
- **Địa điểm:** Bộ môn Dược lý – Học viện quân y.
- **Cơ quan đọc tiêu bản:** Khoa giải phẫu bệnh và pháp y – Bệnh viện Quân y 103 – Học viện Quân y.

### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm, có đối chiếu với nhóm chứng.

### 2.4.1. Đánh giá độc tính cấp

#### \*Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD<sub>50</sub> của mẫu thử trên chuột nhắt trắng chủng Swiss theo đường uống bằng phương pháp của Litchfield – Wilcoxin, theo quy định của Bộ Y Tế Việt Nam, và theo hướng dẫn của OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development - Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế) về đánh giá tính an toàn và hiệu lực của thuốc. [31], [32]

#### \* Cỡ mẫu

Mẫu nghiên cứu là 50 chuột nhắt trắng được chia làm 5 lô, mỗi lô 10 con và được uống mẫu thuốc nghiên cứu theo liều tăng dần

#### \*Phương pháp tiến hành

- Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm
- Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con
- Sau 12h nhịn ăn, chuột được uống thuốc cưỡng bức, thuốc thử được đưa thẳng vào dạ dày chuột bằng kim cong đầu tù
- Cho chuột uống thuốc với các liều tăng dần, tối đa 3 lần/24 giờ, mỗi lần uống cách nhau 3 giờ.



*Hình 2.5. Chuột uống thuốc bằng kim cong đầu tù*

#### \* Chỉ tiêu theo dõi đánh giá kết quả

- Theo dõi các biểu hiện nhiễm độc sớm:

+ Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu và có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết...), khả năng và thời gian hồi phục và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc.

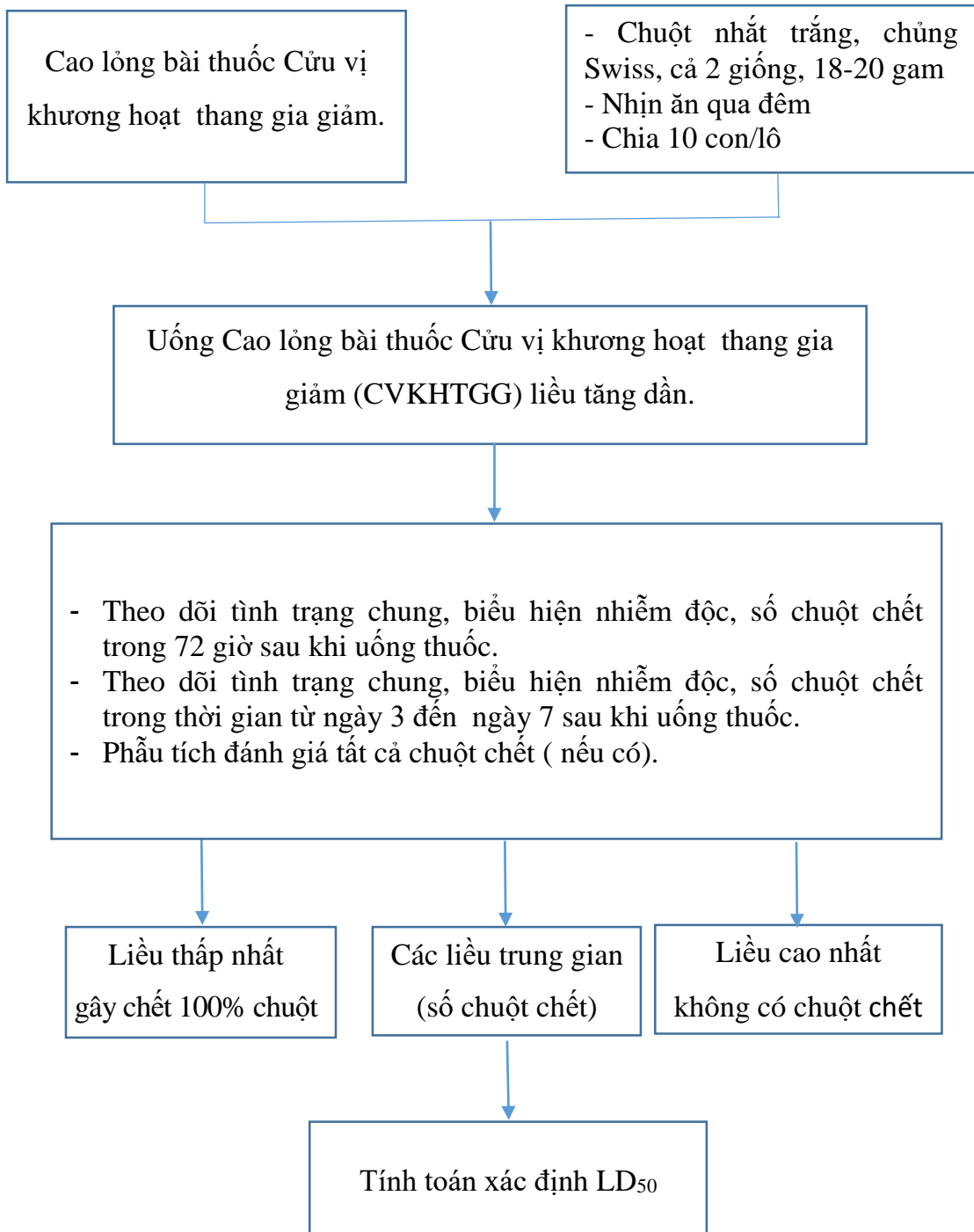
+ Tất cả chuột chết (nếu có) được mổ để đánh giá tổn thương đại thể và xác định nguyên nhân gây độc.

+ Tìm liều cao nhất không gây chết chuột, liều thấp nhất gây chết 100% số chuột và các liều trung gian, số chuột chết ở các liều trung gian (nếu có).

Từ đó xây dựng đồ thị tuyến tính (sử dụng giấy probit hoặc phần mềm excel) để xác định LD<sub>50</sub> của mẫu thử.

- Theo dõi các biểu hiện nhiễm độc muộn và khả năng hồi phục các biểu hiện nhiễm độc:

+ Tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống Cao lỏng bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang gia giảm”. Các chỉ tiêu theo dõi tương tự như theo dõi trong 72 giờ đầu. [31] ,[32]

**Sơ đồ 2.1. Quy trình nghiên cứu độc tính cấp**

### **2.4.2. Đánh giá tác dụng chống viêm đường hô hấp trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS**

#### **\* Thiết kế nghiên cứu**

Tiến hành nghiên cứu theo phương pháp được mô tả bởi Alaa N. A. Fahmi và cộng sự (2018). [31], [32]

#### **\* Cỡ mẫu**

Mẫu nghiên cứu là 40 chuột cống trắng được chia làm 4 lô, mỗi lô 10 con.

#### **\* Phương pháp tiến hành**

Chuột cống trắng 40 con chia thành 4 lô, mỗi lô 10 con. Lô 1 (chứng): không gây viêm phổi + uống nước cất. Lô 2 (mô hình): gây viêm phổi + uống nước cất. Lô 3 (trị 1): gây viêm phổi + uống Milnalung liều 1,4 ml/kg/ngày. Lô 4 (trị 2): gây viêm phổi + uống Milnalung liều 2,8 ml/kg/ngày.

Các chuột được uống Milnalung 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. [34], [35]

#### **\* 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 ở đám rối tĩnh mạch dưới hốc mắt, ly tâm 1000×g trong 20 phút tách lấy huyết thanh để xét nghiệm định lượng Protein phản ứng C (CRP). [36]

\* Đánh giá các chỉ số trong dịch rửa phế nang, phế quản.

Chuột được gây mê bằng hỗn hợp Ketamin/Xylazin với liều Ketamin (100 mg/ml) 75 mg/kg, liều Xylazin (20 mg/ml) là 5 mg/kg tiêm phúc mạc (tiêm 1ml hỗn hợp gồm 0,75ml Ketamin và 0,25ml Xylazin cho 1kg chuột). Chuột được đặt nội khí quản, mở lồng ngực, phế quản chính bên trái và thùy trên phổi phải được buộc lại. Dịch rửa phế nang, 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 nang phế quản thu được, ly tâm (1000 × g, 10 phút, 4°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 nang phế quản. [37]

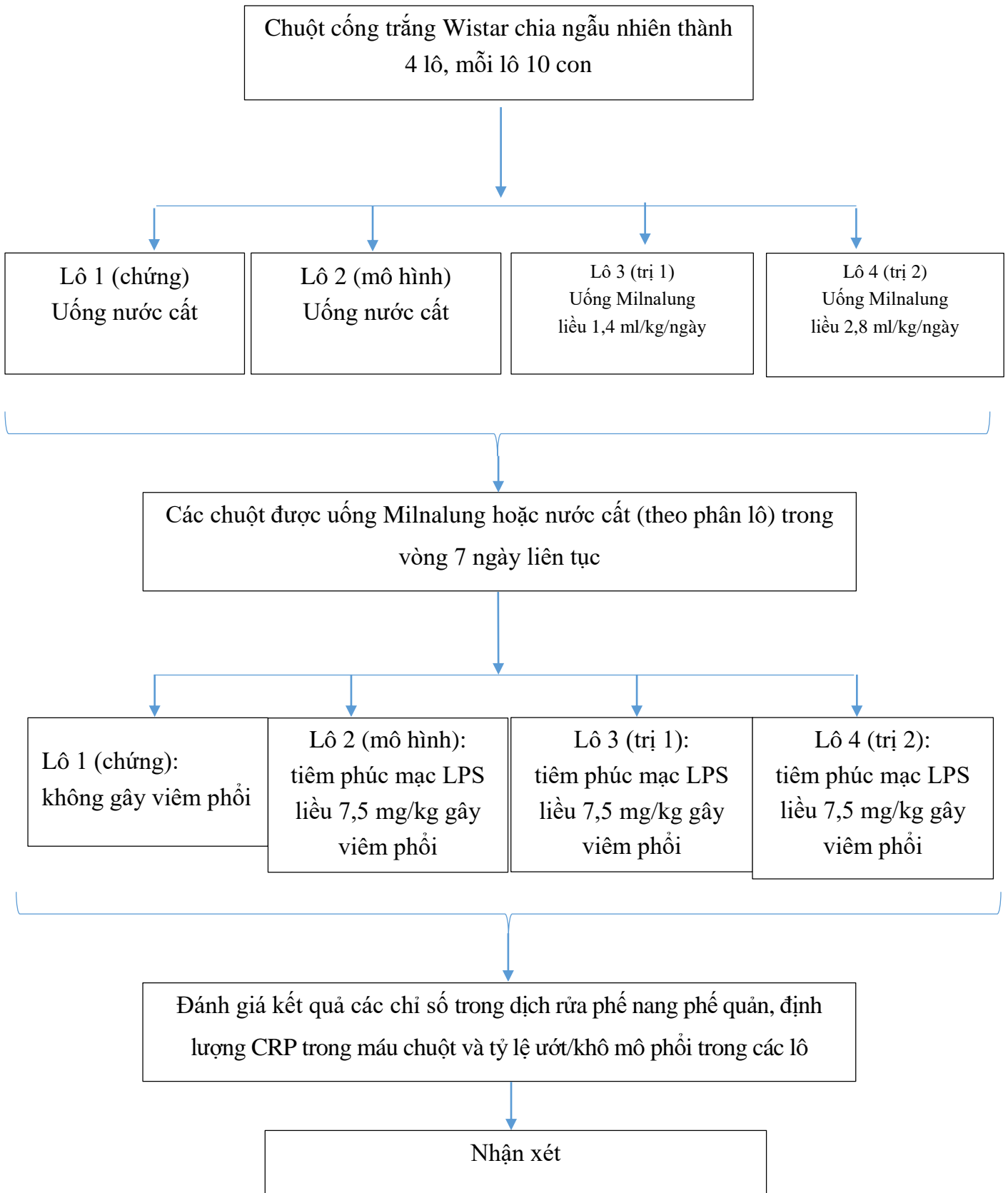
\* Đánh giá mức độ phù nề nhu mô phổi thông qua tỷ lệ ướt/khô.

Mức độ phù nề phổi được đánh giá bằng cách xác định tỷ lệ ướt/khô 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°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. Dựa trên 5 tiêu chí đánh giá tổn thương phổi( xung huyết phế nang, xuất huyết, thâm nhiễm bạch cầu trung tính, độ dày của thành phế nang và phù kẽ), mỗi tiêu chí có điểm tối đa là 3 điểm, tối thiểu là 0 điểm; Như vậy tổng số điểm được dùng để đánh giá tổn thương phổi, có giá trị từ 0 đến 15 điểm. [36],[37], [38]

**Sơ đồ 2.2. Quy trình nghiên cứu tác dụng chống viêm phổi**

## 2.5. Một số kỹ thuật thực hiện trên thực nghiệm

### \* Kỹ thuật cho chuột uống cưỡng bức:

- Mẫu thử được lấy sẵn vào xilanh có gắn kim đầu tù chuyên dụng của Nhật Bản, loại thích hợp dùng cho chuột nhắt (20 gauge feeding tubes, dài 3,81 cm) hoặc dùng cho chuột cống (16 gauge feeding tubes, dài 7,62 cm).

- Ngón trỏ và ngón cái bàn tay trái đưa lên giữ da gáy sát phía đầu chuột, bàn tay ôm nhẹ thân chuột, kẹp đuôi chuột vào giữa các ngón tay còn lại để cố định chuột.

- Tay phải cầm xilanh có gắn kim đầu tù cho uống thuốc nhẹ nhàng đưa qua miệng vào thẳng dạ dày chuột (kim uống thuốc vào sâu khoảng 2/3 kim). Nhẹ nhàng bơm mẫu thử vào thẳng dạ dày chuột theo liều đã xác định .

### \* Kỹ thuật lấy mẫu máu:

Tiến hành lấy máu ở đám rối mạch phía dưới mắt (Retro-Orbital Blood Collection). Cách tiến hành cụ thể như sau:

- Ngón trỏ và ngón cái bàn tay trái đưa lên giữ da gáy sát phía đầu chuột, bàn tay ôm nhẹ thân chuột, kẹp đuôi chuột vào giữa các ngón tay còn lại để cố định chuột và làm căng vùng da quanh mắt.

- Đầu của ống mao quản thủy tinh (Brand™ Micro-haematocrit Capillary Tubes, đường kính trong  $1.15 \pm 0.05$  mm, đường kính ngoài khoảng 1,5 mm) được đặt ở ngay phía dưới mắt vào vị trí đám rối mạch phía dưới mắt (chéch góc 30 độ so với mũi).

- Đẩy nhẹ ngón tay cái đủ để đâm thủng tổ chức mô và đi vào vị trí đám rối mạch phía dưới mắt.

- Giữ cố định chuột và ống lấy máu, máu sẽ chảy qua ống mao dẫn thủy tinh vào ống lấy máu.

- Sau khi lấy đủ lượng máu cần thiết (lấy tối đa 2,5 ml/chuột), ống mao dẫn nhanh chóng được rút ra, ấn giữ nhẹ vùng lấy máu bằng gạc sạch vô trùng để cầm máu.

### \* Đánh giá cân nặng chuột

Cân nặng của chuột được đánh giá vào thời điểm 7h30 sáng sau khi chuột được nhịn đói qua đêm. Tiến hành cân chuột bằng cân chính xác  $10^{-2}$ g.

**\*Quy trình nhuộm HE** (tiến hành tại khoa giải phẫu bệnh pháp y, bệnh viện 103, Học viện Quân y) được mô tả tóm tắt như sau:

- Cố định và xử lý mẫu:

+ Mẫu mô được đưa ngay vào dung dịch cố định (formol đậm trung tính 10%) với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20- 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định trong 24 giờ.

+ Rửa mẫu trong nước máy chảy qua đêm.

+ Khử nước bằng nồng độ cồn tăng dần (ethanol 30%, 50%, 70% và 90% trong 2 giờ ở mỗi loại, tiếp theo là ethanol 100% trong 2 giờ x 3 lần và ethanol 100% qua đêm).

+ Làm sạch trong xylen (trong 2 giờ x 2 lần);

- Vùi và đúc parafin: Mục đích để tạo khuôn cho bệnh phẩm để khi cắt không làm biến dạng tế bào và cấu trúc của chúng. Chất được dùng làm khuôn phổ biến nhất là paraffin có nhiệt độ nóng chảy phù hợp từ 56 - 58<sup>0</sup>C. Yêu cầu bệnh phẩm định hướng mô học đúng và cần thao tác nhanh để bệnh phẩm, paraffin và cassette gắn kết vững chắc.

- Cắt và dán mảnh:

+ Mẫu đúc Parafin được cắt lát với độ dày 4-5  $\mu$ m bằng máy cắt vi phẫu rotary microtome.

+ Các lát cắt parafin được trải lên bề mặt của bồn nước (40<sup>0</sup>C) và sau đó được dán mảnh trên các phiến kính, và được làm khô để gắn chặt các mảnh cắt vào các phiến kính.

- Nhuộm HE (Hematoxylin - Eosin): các phần mô trên các phiến kính được khử parafin bằng xylen (trong 5 phút x 3 lần), ngâm lại trong nồng độ cồn giảm dần (100%, 100%, 90%, 80% và 70% trong 3 phút ở mỗi phần) và rửa sạch bằng nước cất trong 5 phút. Sau rửa, các phần mô được nhuộm bằng Harris hematoxylin trong 5-7 phút; rửa bằng nước máy chảy trong 3-6 phút; khử màu trong axit còng trong 3-5 giây; rửa sạch bằng nước máy chảy trong 1 phút; ngâm trong dung dịch natri cacbonat trong 30 giây; rửa trong nước máy chảy trong 30 giây và nhuộm ngược bằng eosin Y trong 1 phút. Sau đó, các phần nhuộm được khử nước bằng cách tăng

nồng độ ethanol (70%, 80%, 90% và 100% trong 3 phút ở mỗi phần); Làm sạch trong xylen (trong 5 phút x 2 lần); nhỏ polystyren dibutylphthalate xylen lên trên và phủ bằng tấm kính phủ.

- Kiểm tra hình ảnh bằng kính hiển vi quang học. Các ảnh chụp vi thể được chụp bằng máy ảnh kỹ thuật số gắn với kính hiển vi. [39]

## **2.6. Sai số và biện pháp khắc phục sai số**

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

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

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

- Số liệu được đo đạc cẩn thận và chính xác bằng các dụng cụ, máy móc tại phòng thí nghiệm đã được chuẩn hóa và có độ chính xác cao.

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

- Các tiêu chuẩn và chỉ tiêu rõ ràng để đưa ra kết quả chính xác và sát với mục tiêu.

- Lưu trữ số liệu, thông tin bằng sổ ghi chép, chụp ảnh.

## **2.7. Xử lý số liệu**

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean  $\pm$  SD. Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0, sử dụng thuật toán One-way ANOVA hậu kiểm bằng LSD test để so sánh giá trị trung bình. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

## **2.8. Đạo đức trong nghiên cứu**

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng bảo vệ đề cương Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

Nghiên cứu được triển khai theo đúng đề cương đã được phê duyệt.

Nghiên cứu được thực hiện trên chuột cống trắng, và chuột nhắt 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. Trung thực trong xử lý số liệu.

Động vật trong nghiên cứu được chăm sóc tại phòng nuôi động vật thí nghiệm đạt tiêu chuẩn, các nghiên cứu thực hiện dưới sự hướng dẫn của Bộ môn Dược lý - Học viện Quân y.

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

Việc lựa chọn động vật thí nghiệm, điều kiện nuôi, chăm sóc và sử dụng động vật đều tuân thủ chặt chẽ theo “Hướng dẫn nội dung cơ bản thẩm định kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng thuốc tân dược, thuốc cổ truyền, vắc xin và sinh phẩm y tế” của Bộ y tế. [25]

### CHƯƠNG 3

#### KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

##### 3.1.1. Kết quả đánh giá biểu hiện độc tính sớm (72 giờ sau uống thuốc)

Kết quả đánh giá số chuột có biểu hiện bất thường, số chuột sống/chết ở các lô nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.1.

**Bảng 3.1. Kết quả đánh giá độc tính sớm (72 giờ sau uống thuốc) của mẫu thử ở các lô nghiên cứu (n=10 ở mỗi lô)**

Lô chuột	Liều dùng	Thể tích cho uống	Trong 72 giờ đầu sau uống thuốc	
			Số chuột có biểu hiện bất thường	Số chuột sống/chết
Lô 1	15ml/kg	0,15ml/10g x 1lần	Không	10/0
Lô 2	30ml/kg	0,15ml/10g x 2lần	Không	10/0
Lô 3	45ml/kg	0,15ml/10g x 3lần	Không	10/0
Lô 4	60ml/kg	0,20ml/10g x 3lần	Không	10/0
Lô 5	75ml/kg	0,25ml/10g x 3lần	Không	10/0

**Nhận xét:**

Chuột được cho uống mẫu thử với các mức liều từ 15ml/kg thể trọng tức gấp 6,25 lần liều lâm sàng quy đổi, trong 72 giờ đầu sau uống thuốc không thấy có biểu hiện bất thường cũng như không thấy có chuột chết. Liều 30ml/kg tức gấp 12,5 lần liều lâm sàng quy đổi trong 72 giờ đầu sau uống thuốc không thấy có biểu hiện bất thường cũng như không thấy có chuột chết. Liều 45ml/kg tức gấp 18,75 lần liều lâm sàng quy đổi trong 72 giờ đầu sau uống thuốc không thấy có biểu hiện bất thường cũng như không thấy có chuột chết. Liều 60ml/kg tức gấp 25 lần liều lâm sàng quy đổi trong 72 giờ đầu sau uống thuốc không thấy có biểu hiện bất thường cũng như không thấy có chuột chết. Liều đến 75ml/kg thể trọng tức gấp 31,25 lần liều lâm sàng quy đổi, theo dõi sát sau uống thuốc 72 giờ đầu sau uống thuốc, tất cả các chuột ở tất cả các lô nghiên cứu đều không thấy có biểu hiện bất thường cũng như không thấy có chuột chết.



### 3.1.2. Kết quả đánh giá biểu hiện độc tính muộn (từ ngày 4 đến ngày 7 sau uống thuốc)

Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.2.

**Bảng 3.2. Kết quả đánh giá độc tính muộn (từ ngày 4 đến ngày 7 sau uống thuốc) của mẫu thử ở các lô nghiên cứu (n=10 ở mỗi lô)**

Lô chuột	Liều dùng	Thể tích cho uống	Từ ngày 4 đến ngày 7 sau uống thuốc	
			Số chuột có biểu hiện bất thường	Số chuột sống/chết
Lô 1	15ml/kg	0,15ml/10g x 1lần	Không	10/0
Lô 2	30ml/kg	0,15ml/10g x 2lần	Không	10/0
Lô 3	45ml/kg	0,15ml/10g x3lần	Không	10/0
Lô 4	60ml/kg	0,20ml/10g x 3lần	Không	10/0
Lô 5	75ml/kg	0,25ml/10g x 3lần	Không	10/0

#### Nhận xét:

Tiếp tục theo dõi chuột trong thời gian từ ngày 4 đến ngày 7 sau uống mẫu thử, tất cả các chuột ở tất cả các lô nghiên cứu đều không thấy có biểu hiện bất thường cũng như không thấy có chuột chết.

Vì không có chuột chết nên chưa xác định được LD<sub>50</sub> của Chế phẩm Milnalung dạng Cao lỏng có nguồn gốc từ bài “Cứu vị khương hoạt thang gia giảm” trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon.

### 3.2. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm đường hô hấp trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS

#### 3.2.1. Kết quả đánh giá mức độ phù nề nhu mô phổi thông qua tỷ lệ ướt/khô mô phổi.

**Bảng 3.3. Kết quả tỷ lệ ướt/khô mô phổi**  
( $n = 10$  ở mỗi lô, Mean  $\pm$  SD).

Lô nghiên cứu	Tỷ lệ ướt /khô mô phổi (lần)	Phần trăm tăng giảm so với lô chứng	Phần trăm tăng giảm so với lô mô hình
Lô chứng (1)	4,29 $\pm$ 0,65	-	-
Lô mô hình (2)	5,72 $\pm$ 0,67	Tăng 33,33%	-
Lô trị 1 (3)	4,62 $\pm$ 0,65	Tăng 7,69%	Giảm 19,23%
Lô trị 2 (4)	4,56 $\pm$ 0,77	Tăng 6,29 %	Giảm 20,28%
P <sub>2-1</sub>	< 0,001	-	-
P <sub>3,4-2</sub>	< 0,01	-	-
P <sub>4-3</sub>	> 0,05	-	-

#### Nhận xét:

Ở lô mô hình gây viêm phổi bằng LPS, tỷ lệ ướt/khô mô phổi tăng 33,33 % so với ở lô chứng không gây viêm, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

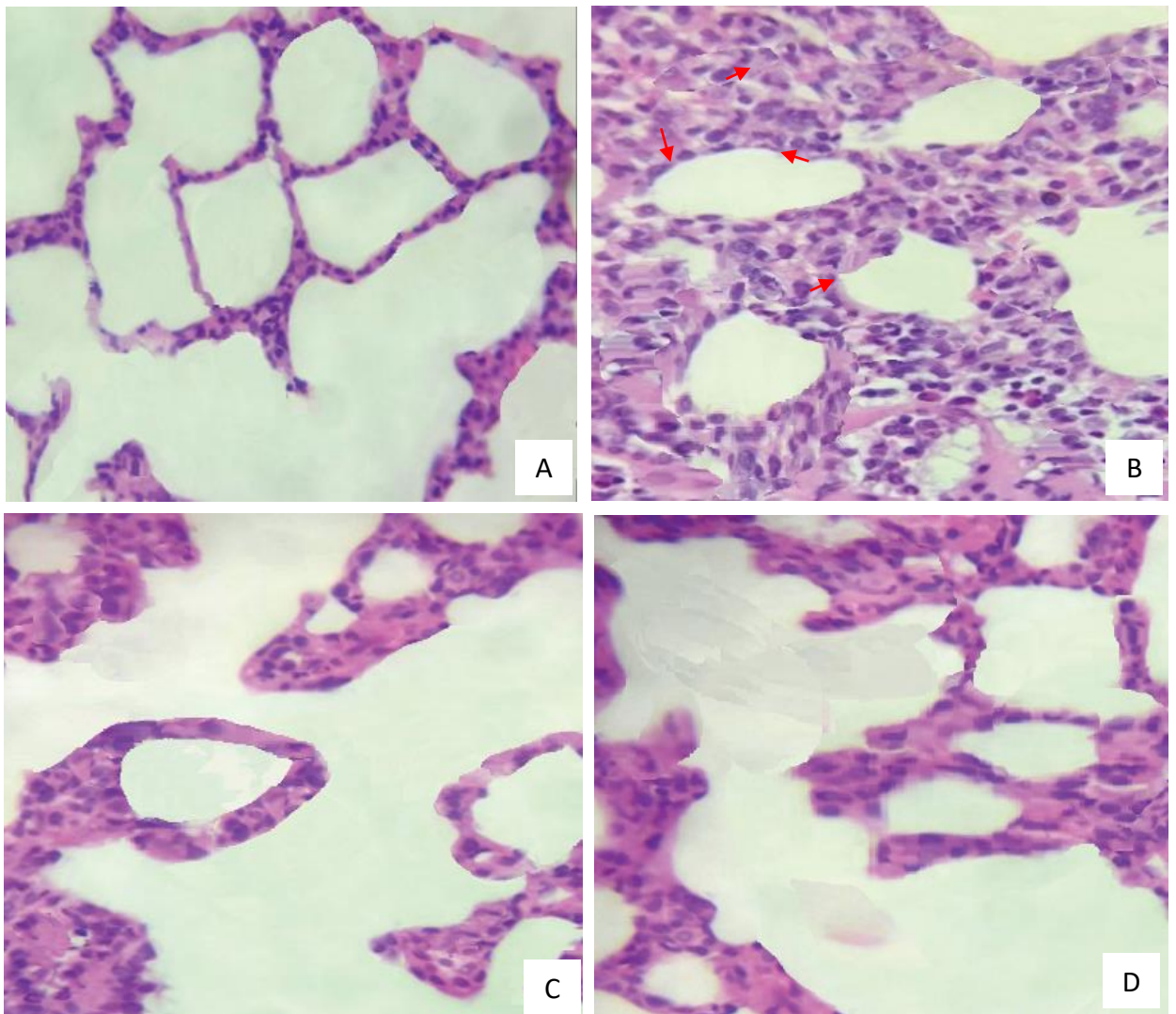
Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, tỷ lệ ướt/khô mô phổi giảm lần lượt là 19,23% và 20,28% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Tỷ lệ ướt/khô mô phổi ở lô dùng Milnalung liều cao thấp hơn nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với ở lô dùng Milnalung liều thấp ( $p > 0,05$ ).

Các kết quả trên chứng tỏ mức độ phù nề nhu mô phổi của chuột ở lô mô hình tăng cao rõ rệt so với lô chứng; mức độ phù nề nhu mô phổi của chuột ở lô trị 1 và trị 2 giảm rõ rệt so với lô mô hình. Qua đây chứng minh Chế phẩm Milnalung có tác dụng làm giảm phù nề nhu mô phổi trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS.

### 3.2.2. Kết quả đánh giá tổn thương phổi ở các lô chuột nghiên cứu

#### 3.2.2.1. Kết quả đánh giá mô bệnh học phổi



**Hình 3. Hình ảnh mô bệnh học phổi chuột đại diện ở các lô nghiên cứu.**

A. Chuột 9 (lô chứng);

B. Chuột 12 (lô mô hình);

C. Chuột 25 (lô trị 1); D. Chuột 38 (lô trị 2).

Mũi tên đỏ chỉ thâm nhiễm tế bào viêm.

**Nhận xét:**

Dựa trên các tiêu chí đánh giá mô bệnh học nhu mô phổi bị viêm: xung huyết phế nang, xuất huyết, thâm nhiễm bạch cầu trung tính, độ dày thành phế nang, phù kẽ, nhóm nghiên cứu đã thu được kết quả như sau:

- Hình ảnh mô bệnh học phổi chuột ở lô chứng bình thường (hình 3A).
- Lô mô hình cho thấy hình ảnh phổi phù nề, dày thành phế nang, thâm nhiễm nhiều tế bào viêm (hình 3B).
- Sự hồi phục nhìn thấy rõ ở các lô dùng Milnalung (hình 3C, 3D).

**3.2.2.2. Kết quả Điểm đánh giá tổn thương phổi ở các lô chuột nghiên cứu**

Dựa vào kết quả đánh giá tổn thương mô bệnh học phổi, Điểm đánh giá được tính bán định lượng theo thang điểm từ 0-3 cho các mục: xung huyết phế nang, xuất huyết, thâm nhiễm bạch cầu trung tính, độ dày thành phế nang, phù kẽ. Trong đó 0 = tổn thương ở mức tối thiểu, 1 = tổn thương nhẹ, 2 = tổn thương vừa phải, 3 = tổn thương nghiêm trọng. Tổng số điểm được dùng để đánh giá tổn thương phổi có giá trị từ 0-15.

**Bảng 3.4. Điểm đánh giá tổn thương phổi ở các lô chuột nghiên cứu***(n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD).*

Lô nghiên cứu	Điểm đánh giá tổn thương phổi	Phần trăm tăng giảm so với lô chứng	Phần trăm tăng giảm so với lô mô hình
Lô chứng (1)	0,20 ± 0,42	-	-
Lô mô hình (2)	7,20 ± 2,25	Tăng 3500%	-
Lô trị 1 (3)	4,50 ± 1,58	Tăng 2150 %	Giảm 37,5%
Lô trị 2 (4)	3,90 ± 1,52	Tăng 1850 %	Giảm 45,83%
P <sub>2-1</sub>	< 0,001	-	-
P <sub>3,4-2</sub>	< 0,01	-	-
P <sub>4-3</sub>	> 0,05	-	-

**Nhận xét:**

Ở lô mô hình gây viêm phổi bằng LPS, Điểm đánh giá tổn thương phổi tăng 3500% so với ở lô chứng không gây viêm, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, Điểm đánh giá tổn thương phổi giảm lần lượt là 37,5% và 45,83% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Điểm đánh giá tổn thương phổi ở lô dùng Milnalung liều cao thấp hơn nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với ở lô dùng Milnalung liều thấp ( $p > 0,05$ ).

Các kết quả trên thể hiện mức độ tổn thương phổi của chuột ở lô mô hình tăng cao rõ rệt so với lô chứng; mức độ tổn thương phổi của chuột ở 2 lô trị 1 và trị 2 giảm rõ rệt so với lô mô hình.

Kết quả chứng minh Chế phẩm Milnalung có tác dụng làm giảm mức độ tổn thương phổi trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS.

### 3.2.3. Kết quả định lượng CRP trong máu chuột.

**Bảng 3.5. Kết quả định lượng CRP trong máu chuột ( $n = 10$  ở mỗi lô, Mean  $\pm$  SD).**

Lô nghiên cứu	CRP trong máu (mg/L)	Phần trăm tăng giảm so với lô chứng	Phần trăm tăng giảm so với lô mô hình
Lô chứng (1)	96,79 $\pm$ 9,03	-	-
Lô mô hình (2)	326,54 $\pm$ 41,63	Tăng 237,37 %	-
Lô trị 1 (3)	159,25 $\pm$ 59,92	Tăng 64,53%	Giảm 51,23%
Lô trị 2 (4)	147,94 $\pm$ 63,39	Tăng 52,85%	Giảm 54,69%
P <sub>2-1</sub>	< 0,001	-	-
P <sub>3,4-2</sub>	< 0,01	-	-
P <sub>4-3</sub>	> 0,05	-	-

#### Nhận xét:

Ở lô mô hình gây viêm phổi bằng LPS, CRP trong máu chuột tăng 237,37 % so với ở lô chứng không gây viêm, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, CRP trong máu chuột giảm lần lượt là 51,23% và 54,69% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

CRP trong máu chuột ở lô dùng Milnalung liều cao thấp hơn nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với ở lô dùng Milnalung liều thấp ( $p > 0,05$ ).

Kết quả nghiên cứu cho thấy Chế phẩm Milnalung có tác dụng làm giảm nồng độ CRP trong máu chuột công trạng gây viêm phổi bằng LPS, chứng tỏ tác dụng chống viêm của Chế phẩm Milnalung.

### 3.2.4. Kết quả đánh giá các chỉ số trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS

#### 3.2.4.1. Kết quả đánh giá nồng độ protein trong dịch rửa phế nang phế quản chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS

**Bảng 3.6. Kết quả đánh giá nồng độ protein trong dịch rửa phế nang, phế quản ( $n = 10$  ở mỗi lô, Mean  $\pm$  SD).**

Lô nghiên cứu	Nồng độ Protein (mg/L)	Phần trăm tăng giảm so với lô chứng	Phần trăm tăng giảm so với lô mô hình
Lô chứng (1)	368,36 $\pm$ 33,08	-	-
Lô mô hình (2)	458,57 $\pm$ 50,41	Tăng 24,49 %	-
Lô trị 1 (3)	400,43 $\pm$ 33,20	Tăng 8,71 %	Giảm 12,68 %
Lô trị 2 (4)	395,91 $\pm$ 37,05	Tăng 7,48 %	Giảm 13,66 %
P <sub>2-1</sub>	< 0,001	-	-
P <sub>3,4-2</sub>	< 0,01	-	-
P <sub>4-3</sub>	> 0,05	-	-

#### Nhận xét:

Ở lô mô hình gây viêm phổi bằng LPS, nồng độ protein trong dịch rửa phế nang, phế quản tăng 24,49% so với ở lô chứng không gây viêm, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, nồng độ protein trong dịch rửa phế nang, phế quản giảm lần lượt là 12,68% và 13,66% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Nồng độ protein trong dịch rửa phế nang, phế quản ở lô dùng Milnalung liều cao thấp hơn nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với ở lô dùng Milnalung liều thấp ( $p > 0,05$ ).

Kết quả nghiên cứu cho thấy Chế phẩm Milnalung có tác dụng làm giảm nồng độ Protein trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS, chứng tỏ Chế phẩm Milnalung làm giảm tính thấm mao mạch, góp phần giảm nhẹ triệu chứng viêm.

3.2.4.2. Kết quả đánh giá Tổng số tế bào trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột

**Bảng 3.7. Kết quả đánh giá Tổng số tế bào (G/L) trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột (n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD).**

Lô nghiên cứu	Tổng số tế bào (G/L)	Phần trăm tăng giảm so với lô chứng (%)	Phần trăm tăng giảm so với lô mô hình (%)
Lô chứng (1)	0,48 ± 0,11	-	-
Lô mô hình (2)	4,15 ± 1,25	Tăng 764,58 %	-
Lô trị 1 (3)	2,51 ± 0,93	Tăng 422,1 %	Giảm 39,52 %
Lô trị 2 (4)	2,37 ± 0,73	Tăng 393,75 %	Giảm 42,89 %
P <sub>2-1</sub>	< 0,001	-	-
P <sub>3,4-2</sub>	< 0,01	-	-
P <sub>4-3</sub>	> 0,05	-	-

**Nhận xét:**

Ở lô mô hình gây viêm phổi bằng LPS, Tổng số tế bào trong dịch rửa phế nang, phế quản tăng 764,58 % so với ở lô chứng không gây viêm, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, Tổng số tế bào trong dịch rửa phế nang, phế quản giảm lần lượt là 39,52 % và 42,89 % so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Tổng số tế bào trong dịch rửa phế nang, phế quản ở lô dùng Milnalung liều cao thấp hơn nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với ở lô dùng Milnalung liều thấp ( $p > 0,05$ ).

Kết quả nghiên cứu cho thấy Chế phẩm Milnalung có tác dụng làm giảm Tổng số tế bào trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS, chứng tỏ Chế phẩm Milnalung làm giảm tính thấm mao mạch, góp phần giảm nhẹ triệu chứng viêm.

3.2.4.3. Kết quả đánh giá hoạt độ NO<sub>x</sub> trong dịch rửa phế nang, phế quản



**Bảng 3.8. Kết quả đánh giá hoạt độ NOx trong dịch rửa phế nang, phế quản (n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD).**

Lô nghiên cứu	NOx (μmol/L)	Phần trăm tăng giảm so với lô chứng	Phần trăm tăng giảm so với lô mô hình
Lô chứng (1)	3,28 ± 0,41	-	-
Lô mô hình (2)	7,47 ± 1,53	Tăng 127,74 %	-
Lô trị 1 (3)	5,28 ± 1,17	Tăng 60,96 %	Giảm 29,32%
Lô trị 2 (4)	5,09 ± 1,18	Tăng 55,18 %	Giảm 31,86%
P <sub>2-1</sub>	< 0,001	-	-
P <sub>3,4-2</sub>	< 0,01	-	-
P <sub>4-3</sub>	> 0,05	-	-

**Nhận xét:**

Ở lô mô hình gây viêm phổi bằng LPS, nồng độ NOx trong dịch rửa phế nang, phế quản tăng 127,74 % so với ở lô chứng không gây viêm, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, nồng độ NOx trong dịch rửa phế nang, phế quản giảm lần lượt là 29,32% và 31,86% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Nồng độ NOx trong dịch rửa phế nang, phế quản ở lô dùng Milnalung liều cao thấp hơn nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với ở lô dùng Milnalung liều thấp ( $p > 0,05$ ).

Kết quả nghiên cứu cho thấy Chế phẩm Milnalung có tác dụng làm giảm nồng độ NOx trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS, chứng tỏ Chế phẩm Milnalung có tác dụng kháng viêm, chống oxy hóa, bảo vệ tế bào nhu mô phổi hiệu quả.

3.2.4.4. Kết quả đánh giá hoạt độ LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản

**Bảng 3.9. Kết quả đánh giá hoạt độ LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản (n = 10 ở mỗi lô, Mean ± SD).**

Lô nghiên cứu	Hoạt độ LDH (U/L)	Phần trăm tăng giảm so với lô chứng	Phần trăm tăng giảm so với lô mô hình
Lô chứng (1)	126,69 ± 33,93	-	-
Lô mô hình (2)	373,60 ± 76,43	Tăng 194.89%	-
Lô trị 1 (3)	271,33 ± 55,66	Tăng 114.17%	Giảm 27.37%
Lô trị 2 (4)	257,54 ± 59,45	Tăng 103.28%	Giảm 31.07%
P <sub>2-1</sub>	< 0,001		
P <sub>3,4-2</sub>	< 0,01		
P <sub>4-3</sub>	> 0,05		

**Nhận xét:**

Ở lô mô hình gây viêm phổi bằng LPS, hoạt độ LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản tăng 194.89% so với ở lô chứng không gây viêm, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, hoạt độ LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản giảm lần lượt là 27.37% và 31.07% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Hoạt độ LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản ở lô dùng Milnalung liều cao thấp hơn nhưng chưa có ý nghĩa thống kê so với ở lô dùng Milnalung liều thấp ( $p > 0,05$ ).

Kết quả nghiên cứu cho thấy Chế phẩm Milnalung có tác dụng làm giảm hoạt độ LDH của dịch rửa phế nang, phế quản trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng LPS chứng tỏ tác dụng kháng viêm, chống oxy hóa, bảo vệ tế bào nhu mô phổi hiệu quả của Chế phẩm Milnalung.

## CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

### 4.1. Bàn luận về độc tính cấp của Chế phẩm Milnalung trên chuột nhắt trắng.

Theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới, ngoại trừ các bài thuốc cổ phương được chiết xuất theo phương pháp truyền thống, tất cả các thuốc có nguồn gốc từ dược liệu đều phải đánh giá độc tính cấp trên động vật thực nghiệm trước khi đưa vào thử nghiệm trên người. Chế phẩm Milnalung dạng Cao lỏng có nguồn gốc từ bài thuốc cổ phương “Cửu vị khương hoạt thang” gia thêm 3 vị Kim ngân hoa, Bách bộ, Cát cánh. Thành phần các vị thuốc của Chế phẩm Milnalung bao gồm: Khương hoạt 6g, Phòng phong 6g, Xuyên khung 4g, Sinh địa 4g, Thương truật 6g, Bạch chỉ 4g, Tế tân 2g, Hoàng cầm 4g, Cam thảo 4g gia thêm 3 vị Kim Ngân hoa 8g, Cát cánh 6g, Bách bộ 6g. Tổng bài thuốc 12 vị với 60g, được bào chế theo phương pháp hiện đại, Chế phẩm Milnalung là đối tượng cần được đánh giá về độc tính cấp. [31], [32]

Theo định nghĩa của Hệ thống hòa hợp toàn cầu (Globally Harmonised System - GHS), độc tính cấp là những tác dụng không mong muốn xảy ra sau khi dùng một chất trong vòng 24 giờ. Động vật (thường dùng chuột) được dùng thuốc trong 24 giờ và được quan sát trong 1 tuần để xác định các triệu chứng độc (nếu có). Chuột nghiên cứu được lựa chọn bao gồm cả chuột đực và chuột cái, kết quả nghiên cứu vì thế bao hàm cho cả 2 giống. Đường đưa thuốc sử dụng là đường uống, theo đúng như đường dự kiến sử dụng trên người. Khi sử dụng đường uống, để bảo đảm cho chuột dùng được một lượng thuốc lớn với độ chính xác cao, việc đưa thuốc cưỡng bức vào dạ dày chuột qua kim cong đầu tù chuyên dụng được thực hiện. Thao tác này có thể gây tổn hại đường thực quản dạ dày gây xuất huyết hoặc thủng dạ dày, hoặc có thể đưa nhầm thuốc vào đường hô hấp gây sặc thuốc, suy hô hấp làm chuột chết. Ngoài ra thao tác bắt chuột nếu thực hiện không tốt sẽ gây tổn thương chuột, thậm chí có thể làm chết chuột. Chính vì vậy thao tác này được tiến hành bởi một kỹ thuật viên có kinh nghiệm, bảo đảm việc đưa thuốc vào dạ dày ruột với một lượng chính xác mà không gây tổn thương cho chuột.

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

Nghiên cứu độc tính cấp của Chế phẩm Milnalung có nguồn gốc từ bài thuốc cổ phương “Cửu vị khương hoạt thang” gia giảm theo đường uống trên chuột nhắt trắng, chuột được cho uống mẫu thử liều là 15ml/kg/ngày tăng dần đến liều tối đa là 75ml/kg/ngày so với liều dự kiến có tác dụng, liều tối đa gấp trên 31 lần mà không thấy xuất hiện dấu hiệu của độc tính sớm trong thời gian 72 giờ sau khi cho uống Milnalung và không thấy xuất hiện dấu hiệu của độc tính muộn trong khoảng thời gian sau khi uống Milnalung từ 4-7 ngày. Vì không có chuột chết nên chưa xác định được LD<sub>50</sub> của Chế phẩm Milnalung dạng Cao lỏng có nguồn gốc từ bài “Cửu vị khương hoạt thang” gia giảm trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon. [31], [32]

Các kết quả này cho thấy chế phẩm Milnalung là an toàn trong thử nghiệm độc tính cấp, khoảng an toàn rộng .

Kết quả nghiên cứu là phù hợp bởi các vị thuốc trong bài thuốc này đều có nguồn gốc từ thảo dược và đã được nhân dân ta cũng như một số nước Đông Á sử dụng từ lâu đời để làm thuốc uống và không thấy gây độc với người sử dụng.

## **4.2. Bàn luận về tác dụng chống viêm đường hô hấp của Chế phẩm Milnalung trên chuột cống trắng.**

Lipopolysaccharide (LPS) là một thành phần của thành tế bào vi khuẩn gram âm. Việc giải phóng nó là yếu tố nguyên nhân chính gây nhiễm độc tố nội sinh, liên quan đến rối loạn chức năng tuần tự của nhiều cơ quan, bao gồm phổi, tim, gan và thận [39]. Vì vậy, LPS được sử dụng để gây ra tình trạng viêm phổi do độc tố. Các cơ chế góp phần tiềm ẩn bao gồm sự phá vỡ tính toàn vẹn của màng mao mạch phế nang và thâm nhiễm bạch cầu trung tính quá mức vào các khoảng phế nang.

Các chỉ số đánh giá bao gồm Protein phản ứng C (CRP) trong máu chuột; một số chỉ số trong dịch rửa phế quản; tỷ lệ ướt/khô của nhu mô phổi và mô bệnh học phổi.

### **4.2.1. Định lượng CRP 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. [40] ,[41]

Do tính chất nhạy với phản ứng viêm, CRP được sử dụng để chẩn đoán tình trạng viêm và theo dõi đáp ứng của cơ thể đối với liệu pháp điều trị viêm. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, CRP trong máu chuột

giảm lần lượt là 51,23% và 54,69% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$  (bảng 2), chứng tỏ Chế phẩm Milnalung có tác dụng chống viêm hiệu quả. So sánh với nghiên cứu của Trần Thị Thanh Tú đề tài: “Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm ho, long đờm của viên nang “Liên Ngân SK” trên động vật thực nghiệm”, Ở các lô dùng “Liên Ngân SK” liều 1 và liều 2, CRP trong máu chuột giảm lần lượt là 46,03% và 51,12% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$  .... chúng tôi thấy Milnalung có hiệu quả tốt hơn.

Chế phẩm Milnalung được bào chế từ bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang” gia thêm Kim ngân hoa, Cát cánh, Bách bộ. Tổng số vị là 12, được phân chia thành các nhóm khu phong, trừ thấp, tán hàn, thanh nhiệt giải độc, thanh nhiệt lương huyết, hóa đàm, bài nùng, tiêu viêm, quân thần tá sứ đầy đủ. Chủ dược là Khương hoạt đóng vai trò là quân, giữ vị trí quan trọng nhất, có tác dụng phát tán phong hàn, trừ phong thấp, chỉ thống, thông kinh hoạt lạc. Khương hoạt vị cay ôn tác dụng tương đối mạnh, thiên về đi lên, thiên đi ra biểu, cho nên dùng rất tốt với các chứng nửa người trên. Phòng phong và Thương truật làm tăng thêm tác dụng trừ phong thấp. Tế tân, Xuyên khung, Bạch chỉ trừ phong, tán hàn, hành khí, hoạt huyết, Cát cánh, Bách bộ là những dược liệu rất tốt cho bệnh hô hấp như tác dụng chống viêm, giảm ho, long đờm, chống oxy hóa. Sinh địa thanh nhiệt lương huyết, sinh tân dịch; Hoàng cầm thanh thấp nhiệt tả phế hỏa, giảm bớt tính cay, ôn táo của các vị thuốc. So với Liên Ngân SK thành phần gồm có Xuyên tâm liên, Kim ngân( thanh nhiệt giải độc), Sâm đại hành, Nhân sâm( bổ khí huyết) thì chúng ta có thể thấy được sự toàn diện của Chế phẩm Milnalung về công thủ, bổ tả.

Theo các nghiên cứu YHHĐ dịch chiết Khương hoạt có chứa n-hexan cho tác dụng ức chế tốt nhất chống lại 5-LOX và COX. Trong đó, phenethylferat, faltarindiol lên men đã được phân lập và có tác dụng chống viêm. [42],[43] Dịch chiết Tế tân cho thấy khả năng chống viêm đáng kể chống lại chứng viêm do xylene gây ra. Hoàng cầm có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm, chống khối u, kháng virus, chống oxy hóa. Dịch chiết của rễ Hoàng cầm có phổ kháng khuẩn khá rộng và có tác dụng ức chế nhiều loại vi khuẩn như trực khuẩn bạch hầu, thương hàn, ho gà, tụ cầu khuẩn, song cầu khuẩn, viêm não, viêm phổi, liên cầu khuẩn tan huyết. Ngoài ra, Hoàng cầm

còn có tác dụng hạ nhiệt tốt, kháng viêm, giảm ho, trừ đờm, lợi tiểu, và hạ huyết áp. Các thành phần trong Cam thảo có nhiều tác dụng khác nhau. Saponin giúp giảm ho, long đờm, chống loét dạ dày, ức chế tác dụng của histamin gây ra tăng tiết dịch vị, và có tác dụng chống viêm và chống dị ứng. Acid glycyrrhizic có tác dụng kháng viêm và kháng virus. [44] Tinh dầu trong Bạch chỉ có tính chất sinh học đặc trưng và hương thơm, và có nhiều tác dụng dược lý như chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống viêm, diệt côn trùng và tăng cường thẩm thấu qua da. Các hợp chất coumarin trong Bạch chỉ có thể làm giảm sự giải phóng histamin và ức chế sự tiết ra yếu tố hoại tử khối u- $\alpha$ , Interleukin (IL)-1 $\beta$  và IL-4. Các hợp chất này thực hiện các tác động ức chế đối với sự biểu hiện của các cytokine gây viêm thông qua việc ức chế hoạt hóa yếu tố hạt nhân- $\kappa$ B, do đó Bạch chỉ có tác dụng chống viêm dị ứng, làm giảm dị ứng cấp tính sau phản ứng viêm mãn tính, chữa được các bệnh bao gồm: viêm mũi, hen suyễn và viêm kết mạc. Thương truật là loại cây có chứa nhiều hợp chất quan trọng như sesquiterpenes, sesquiterpenoids, polyetylen alkynes, phytosterol, v.v. Các chất này bao gồm elemol,  $\beta$ -selinene và atractylone(ATL). Atractylone là một chất sesquiterpenic, có tác dụng chống viêm và chống nhiễm độc gan. Ở nồng độ 9,35%. Atractylone có thể ức chế viêm dị ứng. Nó cũng có thể giảm tổn thương phổi do virus cúm A gây ra và ức chế các phản ứng dị ứng qua trung gian tế bào mast. Atractylone cũng có thể ức chế hoạt động histidine decarboxylase và giải phóng tryptase và histamine trong các tế bào HMC-1. ATL-I có nhiều hoạt tính trị liệu như chống ung thư, chống viêm và chống dị ứng. ATL-II là một hợp chất có tác dụng chống ung thư và chống viêm. ATL-III là một chất sesquiterpene có tác dụng chống viêm đối với đại thực bào và gây độc tế bào đối với tế bào ung thư. ATL-III có thể giảm sự tăng sinh tế bào mast và giảm các mức cytokine tiền viêm như IL-6, TNF- $\alpha$  và IL-8.  $\beta$ -Sitosterol, Hinesol có tác dụng chống viêm mạnh và gây độc tế bào đối với tế bào ung thư. [45],[46] Kim ngân hoa có nhiều tác dụng như kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, hạ sốt, chống dị ứng, chống oxy hóa, bảo vệ gan, điều hòa miễn dịch, chống khối u, tăng cường chuyển hóa chất béo, hạ đường huyết, giãn cơ và chống kết tập tiểu cầu, và nhiều tác dụng khác nữa. Chrysoeriol, một flavone có tác dụng chống viêm trong chứng phù tai chuột do 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate gây ra bằng

cách giảm độ dày, trọng lượng và số lượng tế bào viêm. Nó cũng điều chỉnh giảm nồng độ của các protein và cytokine gây viêm. LJP-1, một polysaccharit phân lập từ Kim ngân hoa, cũng có khả năng làm giảm viêm da tiếp xúc dị ứng ở tai chuột. [40], [41] Năm glucoside iridoid mới trong Kim ngân hoa cũng làm giảm yếu tố kích hoạt tiểu cầu và có tác dụng chống viêm. HS-23, một chiết xuất Ethanol của Kim ngân hoa, giảm thiểu tổn thương do nhiễm trùng thông qua việc ức chế tín hiệu TLR4. Kim ngân hoa qua đường hô hấp cũng có tác dụng chống viêm trong bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính bằng cách giảm nồng độ TNF- $\alpha$  và IL-6 trong dịch phế quản, số lượng tế bào viêm và phục hồi phân phối Elastin và collagen. Rễ Cát cánh có nhiều tác dụng như giúp hạ huyết áp, giảm lipid, kháng viêm, chống khối u, giảm ho và đờm, tăng bài tiết acid cholic và có tác dụng chống oxy hóa. Flavonoid là một trong những thành phần sinh học chính có tác dụng chống ho, chống ung thư, chống oxy hóa, chống viêm, hạ đường huyết, chống béo phì và tăng cường miễn dịch đáng kể. Platycodin (PD) là một Saponin vừa là thuốc vừa là dinh dưỡng và có tác dụng chống ho cao, chống béo phì, chống xơ hóa, chống viêm và chống khối u. Các thí nghiệm trong ống nghiệm cho thấy platycodin D3 có thể loại bỏ đờm và cho thấy hoạt động chống viêm. [42] Ta có thể thấy trong 12 vị của Chế phẩm Milnalung thì có tới 8 vị có tác dụng chống viêm rõ ràng theo các nghiên cứu đã chỉ ra, chứng tỏ Chế phẩm Milnalung có khả năng kháng viêm tốt và đây là nguyên nhân chính làm cho chỉ số CRP trong máu chuột giảm rõ rệt ở các lô chuột trị 1,2 so với lô chuột mô hình.

Đôi chiếu với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thanh Hà Tuấn (2022) về tác dụng chống viêm phổi của “viên nang Tổng vệ nhân”. Ở các lô dùng “viên nang Tổng vệ nhân” liều 1 và liều 2, CRP trong máu chuột giảm lần lượt là 47,61% và 50,32% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . chúng tôi thấy Milnalung có hiệu quả tốt hơn.

Thành phần trong viên nang Tổng vệ nhân: Hoàng kỳ, Đông trùng hạ thảo, Bạch truat, Phòng phong, Hồng sâm, Mộc hương, Kê huyết đằng, Phục thần, Đương quy, Vitamin B2, Vitamin B3, Vitamin B1, Vitamin B6 cũng có đầy đủ Quân thần tá sứ như Chế phẩm Milnalung có nguồn gốc từ bài “Cửu vị khương hoạt thang” gia Kim ngân, Cát cánh, Bách bộ. Nhưng ta có thể thấy được Viên nang Tổng vệ nhân



thiên về bổ nhiều hơn, phù hợp với bệnh cảnh người già ốm lâu khỏi, bệnh mạn tính đường hô hấp, cơ thể suy nhược. Chức năng công phá, thanh nhiệt giải độc, khu phong tán hàn trừ thấp, tuyền phế hóa đàm, bài nùng, chỉ khái chưa biểu hiện rõ ràng so với Chế phẩm Milnalung. Các vị có tính kháng viêm mạnh trong “viên nang Tổng vệ nhân” ít hơn Chế phẩm Milnalung nên chỉ số CRP trong máu chuột ở các lô trị dùng “viên nang Tổng vệ nhân” giảm ít hơn so với các lô trị dùng Chế phẩm Milnalung. [42]

#### **4.2.2. Định lượng NOx và LDH**

Để đánh giá tình trạng viêm tại phổi, ngoài tổng số tế bào và nồng độ protein trong dịch rửa phế nang phế quản (giúp đánh giá tác dụng chống viêm), nghiên cứu còn đánh giá NOx và LDH. [43] ,[44], NO là một phân tử phổ biến với nhiều chức năng sinh lý đa dạng, bao gồm giãn cơ trơn trong mạch máu, dẫn truyền thần kinh, tác động lên chức năng miễn dịch và chức năng tiêu cầu. NO đóng vai trò quan trọng trong bệnh sinh của bệnh hô hấp, và sản xuất NO tăng lên trong các bệnh như viêm phổi, hen suyễn,... NO được hình thành bởi enzyme nitric oxide synthase từ L-arginine và có thời gian bán hủy ngắn < 1 giây trong máu. Các phản ứng oxy hóa của NO rất phức tạp và liên quan đến nitơ ở nhiều trạng thái oxy hóa khác nhau. NO kết hợp cực kỳ nhanh với các gốc superoxide để tạo ra peroxynitrite. Phản ứng này xảy ra ưu tiên so với phản ứng bất hoạt superoxide bởi superoxide dismutase. Peroxy nitrite không ổn định ở pH sinh lý và dễ dàng phân hủy thành nitrite và nitrate. [36] Như vậy, chỉ số NOx (nồng độ nitrate và nitrite) trong dịch rửa phế nang phế quản được sử dụng để đánh giá quá trình sản xuất NO nội sinh trong viêm phổi, thông qua đó đánh giá được hiệu quả điều trị của chế phẩm. [45],[46],[47]

LDH hay Lactate Dehydrogenase là một enzym của hầu hết các tế bào trong cơ thể tham gia vào phản ứng Pyruvat tạo thành lactat, giúp chuyển hóa đường thành năng lượng cho các tế bào sử dụng. Khi cơ thể ở trạng thái bình thường thì enzym LDH chỉ tồn tại trong các tế bào. Tuy nhiên khi bị viêm phổi sẽ khiến tế bào bị hư hỏng hoặc phá hủy sẽ dẫn tới LDH phóng thích từ tế bào vào lòng phế nang phế quản khiến nồng độ LDH trong dịch rửa tăng cao. Như vậy xét nghiệm LDH trong dịch rửa phế nang phế quản giúp xác định mức độ tổn thương tế bào. [48], [49], [50];

Kết quả nghiên cứu cho thấy ở các lô dùng Chế phẩm Milnalung, các chỉ số trong dịch rửa phế nang, phế quản giảm có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) so với lô mô hình. Kết quả thể hiện Chế phẩm Milnalung có tác dụng chống viêm đường hô hấp, làm giảm sản xuất NOx, LDH, giảm tổn thương phổi, giảm phù nề nhu mô phổi. Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, hoạt độ NOx trong dịch rửa phế quản giảm lần lượt là 29,32 % và 31,86 % so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . So sánh với nghiên cứu của Trần Thị Thanh Tú (2023) với “Viên nang Liên ngân SK” về hoạt độ NOx trong dịch rửa phế quản trên chuột sử dụng liều 1 và liều 2 giảm lần lượt là 26,13% và 30,62% so với lô mô hình không uống thuốc; Kết quả thể hiện Chế phẩm Milnalung có hiệu quả tốt hơn. Đối chiếu với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thanh Hà Tuấn (2022) về tác dụng chống viêm phổi của “viên nang Tổng vệ nhân”. Hoạt độ NOx trong dịch rửa phế quản trên chuột sử dụng liều 1 và liều 2 giảm lần lượt là 27,15% và 29,17% so với lô mô hình không uống thuốc, kết quả thể hiện Chế phẩm Milnalung có hiệu quả tốt hơn.

Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản giảm lần lượt là 27,37% và 31,07% so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . So sánh với nghiên cứu của Trần Thị Thanh Tú (2023) với “Viên nang Liên ngân SK” về hoạt độ LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản trên chuột sử dụng liều 1 và liều 2 giảm lần lượt là 24,21% và 29,63% so với lô mô hình không uống thuốc, chúng tôi thấy Milnalung có hiệu quả tốt hơn. Đối chiếu với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thanh Hà Tuấn (2022) về tác dụng chống viêm phổi của “viên nang Tổng vệ nhân” về hoạt độ LDH trong dịch rửa phế quản trên chuột sử dụng liều 1 và liều 2 giảm lần lượt là 25,39% và 30,48% so với lô mô hình không uống thuốc, kết quả thể hiện Chế phẩm Milnalung có hiệu quả tốt hơn.

Theo YHCT Chế phẩm Milnalung có nguồn gốc từ Bài thuốc cổ phương “Cửu vị Khương hoạt thang” gia Kim ngân, bách bộ, cát cánh. Nguyên cục bài thuốc có tác dụng khu phong, tán hàn trừ thấp, hành khí hoạt huyết, tiêu viêm, có cả thanh nhiệt lương huyết sinh tân dịch( sinh địa, hoàng cầm).. Chế phẩm Milnalung thành phần có thêm vị Kim ngân, Bách bộ, Cát cánh càng làm mạnh thêm tác dụng tiêu viêm, tuyên phế, thanh phế nhiệt, hóa đàm, chỉ khái. Trong bài thuốc nhiều vị quy

kinh phế và thăng phù lên trên như: Khương hoạt, Bách bộ, Cát cánh, Phòng phong, Bạch chỉ, Tế tân có tác dụng khu phong tán hàn, trừ thấp đưa tà khí ra bên ngoài. Hoàng cầm có tác dụng thanh nhiệt lương huyết, giải độc, tiêu viêm vùng thượng tiêu trong đấy có tạng phế, đường hô hấp.[50] Tác nhân gây bệnh được loại bỏ, lại được tăng cường thêm cơ chế kháng viêm tốt, thanh nhiệt giải độc hiệu quả và có cả cơ chế sinh thêm tân dịch nên hoạt độ NOx, LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản của những lô chuột dùng Chế phẩm Milnalung giảm hơn so với những lô chuột dùng các chế phẩm khác.

Theo các nghiên cứu YHHT dịch chiết n-hexan từ Khương hoạt cho tác dụng ức chế tốt nhất chống lại 5-LOX và COX. [51], [52]. Trong đó, phenethylferat, faltarindiol lên men đã được phân lập và có tác dụng chống viêm. Chiết xuất metanol từ Khương hoạt có tác dụng chống oxy hóa phụ thuộc vào liều lượng và lớn hơn khi so sánh với chiết xuất *N. forbesii*. Quá trình tiền xử lý cận mãn tính với các chất chiết xuất có thể dẫn đến sự gia tăng hàm lượng chất chống oxy hóa trong tế bào gan được sử dụng để xác định hàm lượng của các sản phẩm bậc hai và bậc ba của quá trình peroxy hóa lipid, kích hoạt các hệ thống nhặt rác gốc tự do và hoặc ngăn chặn gốc tự do được tạo ra. Tác dụng chống oxy hóa cũng được chỉ ra trong một nghiên cứu khác là lý do ức chế chuyển hóa thuốc của chiết xuất Khương hoạt vì người ta quan sát thấy rằng nó kéo dài quá trình thôi miên do Phenobarbital gây ra ở gan [53], [54]... do đó Khương hoạt làm giảm hoạt độ NOx, LDH vì cơ chế kháng viêm mạnh và tác dụng chống oxy hóa tốt. [21]

Các hợp chất coumarin trong Bạch chỉ có thể làm giảm sự giải phóng histamin và ức chế sự tiết ra yếu tố hoại tử khối u- $\alpha$ , Interleukin (IL)-1 $\beta$  và IL-4. Các hợp chất này thực hiện các tác động ức chế đối với các cytokine gây viêm thông qua việc ức chế hoạt hóa yếu tố hạt nhân- $\kappa$ B. Các chất đối kháng thụ thể histamin H1 có khả năng ức chế sản xuất NOx bởi các đại thực bào thông qua việc điều hòa enzym cảm ứng. Tinh dầu Bạch chỉ bao gồm terpenoit và các hợp chất oxy hóa của chúng có tính chất sinh học đặc trưng và hương thơm, và có nhiều tác dụng dược lý như chống oxy hóa, kháng khuẩn, chống viêm, diệt côn trùng và tăng cường thẩm thấu qua da. [21] Do các cơ chế kháng viêm, chống oxy hóa, kháng histamin trên, Bạch

chỉ có tác dụng làm giảm các chỉ số hoạt độ NOx, LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản của chuột.

Phòng phong có hoạt tính đối kháng với histamin, Phòng phong còn có tác dụng kháng virus herpes, giúp làm tăng các chỉ số miễn dịch và các immunoglobulin, bạch cầu, tế bào lympho, CD5+ và CD72+. Chính vì vậy nên Phòng phong làm giảm các chỉ số hoạt độ NOx, LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản của chuột. [21]

Trong dịch chiết Thương truật có Atractylodin (Atr), là một chất alkyne polyetylen, có tác dụng chống viêm. Atr có thể ức chế phản ứng viêm gây ra bởi LPS bằng cách ngăn chặn hoạt động của myeloperoxidase (MPO), giảm tỷ lệ trọng lượng ướt-khô của phổi, ngăn chặn sự xâm nhập của các tế bào viêm và giảm bài tiết các protein viêm như TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  và MCP-1. Vì có nhiều cơ chế kháng viêm, ngăn chặn sự thâm nhiễm của các tế bào viêm và giảm bài tiết Protein viêm nên Thương truật làm cắt chuỗi phản ứng viêm, các chỉ số CRP hạ xuống nên các tế bào được bảo vệ không bị nhiễm độc và phá hủy, vì vậy giúp cho hoạt độ NOx, LDH giảm. Các tác dụng của Thương truật như: ức chế phản ứng viêm gây ra bởi LPS, giảm tỷ lệ trọng lượng ướt-khô của phổi, ngăn chặn sự xâm nhập của các tế bào viêm và giảm bài tiết các protein viêm của Thương truật hoàn toàn đáp ứng đầy đủ các yêu cầu của mục tiêu đánh giá tác dụng chống viêm đường hô hấp của Chế phẩm Milnalung trên thực nghiệm. [21]

Tế tân có thể cải thiện hoạt động của nitric oxide synthase (iNOS), giảm hàm lượng malonodialdehyde (MDA), loại bỏ các gốc tự do và giảm hoạt độ NOx, đồng thời giảm tác hại của các gốc tự do oxy đối với lipid tế bào. Tế tân cũng có thể làm tăng hoạt động của superoxide dismutase (SOD), tăng cường khả năng thu hồi các gốc tự do của cơ thể và giảm tác hại của các gốc tự do đối với cơ thể. Tế tân có thể làm tăng đáng kể hoạt động của Glutathione Peroxidase (GSH-Px) và ức chế các phản ứng gốc tự do. Những cơ chế trên trực tiếp làm giảm hoạt độ NOx và LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản của chuột bị viêm phổi do LPS. [21]

Theo các nghiên cứu thì Hoàng cầm có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm, chống khối u, kháng virus, chống oxy hóa hiệu quả với các bệnh viêm phổi nên

Hoàng cầm có tác dụng làm giảm hoạt độ NOx và LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột bị viêm phổi. [21]

Trong dịch chiết vị thuốc Cam thảo có chứa glycyrrhizin có tác dụng giảm viêm phế quản. Có báo cáo cho thấy glycyrrhizin có hoạt tính chống viêm và chống oxy hóa, và có thể kích thích sản xuất Interferon bên trong cơ thể. Các loại flavonoid bao gồm flavanone, flavon, flavonol, chalcon, Isoflavone, isoflavanone, isoflavan và isoflaven trong dịch chiết vị thuốc Cam thảo có khả năng chống viêm, chống oxy hóa, chống ung thư, kháng khuẩn, kháng virus, bảo vệ dạ dày, và các tác dụng khác. Saponin giúp giảm ho, long đờm, ức chế tác dụng của histamin, và có tác dụng chống viêm và dị ứng. [53], [54]. Vì có nhiều hoạt chất kháng viêm, kháng Histamin, chống Oxy hóa nên vị thuốc Cam thảo có tác dụng làm giảm hoạt độ NOx, LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột bị viêm phổi. [21]

Kim ngân hoa có nhiều tác dụng như kháng khuẩn, kháng nấm, kháng viêm, hạ sốt, chống dị ứng, chống oxy hóa, bảo vệ gan, điều hòa miễn dịch, chống kết tập tiểu cầu, và nhiều tác dụng khác nữa. Trong dịch chiết Kim ngân hoa có Chrysoeriol một flavone, có tác dụng chống viêm, nó cũng điều chỉnh giảm nồng độ của các protein và cytokine gây viêm. Kim ngân cũng có tác dụng chống viêm trong bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính bằng cách giảm nồng độ TNF- $\alpha$  và IL-6 trong dịch phế quản, số lượng tế bào viêm. Do vậy Kim ngân có tác dụng làm giảm hoạt độ NOx, LDH trong dịch rửa phế quản, phế nang chuột bị viêm phổi. [21]

Các nghiên cứu trên dịch chiết của Cát cánh cũng cho thấy có nhiều Saponin, Flavonin có tác dụng chống ho, chống ung thư, chống oxy hóa, chống viêm và tăng cường miễn dịch đáng kể [55],[56],[57]. Trong số các flavonoid thì luteolin-7- O -glucoside và apigenin-7- O -glucoside thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh vì vậy Cát cánh làm giảm viêm, chống oxy hóa mạnh nên làm giảm hoạt độ NOx, LDH. [21]

Trong một số nghiên cứu về vị thuốc Xuyên khung thì có khoảng 174 hợp chất đã được tách ra. Trong đó, Phthalide và alkaloid được xem là các hoạt chất sinh học chính mang lại những đặc tính dược lý như chống thiếu máu não và cơ tim, bảo vệ mạch máu, ngăn ngừa hình thành huyết khối, hạ huyết áp, ngăn ngừa xơ vữa

động mạch, giảm co thắt, chống viêm, và chống oxy hóa. Chính vì vậy Xuyên khung cũng có tác dụng làm giảm hoạt độ NO và LDH trong dịch rửa phế quản, phế nang của chuột bị viêm phổi. [21]

Theo các nghiên cứu trên thì trong bài thuốc có tới 10/12 vị có tính kháng viêm, chống oxy hóa nên Chế phẩm Milnalung là một sản phẩm được bào chế từ bài thuốc có tính kháng viêm, chống oxy hóa mạnh. Đây là nguyên nhân dẫn đến kết quả đánh giá hoạt độ NOx và LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản chuột tại những lô trị giảm rõ rệt so với lô mô hình.

#### **4.2.3. Định lượng Tổng số tế bào trong dịch rửa phế nang, phế quản**

Ở các lô dùng Milnalung liều 1 và liều 2, Tổng số tế bào trong dịch rửa phế quản giảm lần lượt là 39,52 % và 42,89 % so với lô mô hình không uống thuốc. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$

So sánh với nghiên cứu của Trần Thị Thanh Tú (2023) với Viên nang Liên ngân SK về sự giảm tế bào trong dịch rửa phế quản trên chuột sử dụng liều 1 và liều 2 giảm lần lượt là 32,52% và 38,78% so với lô mô hình không uống thuốc; chúng tôi thấy Milnalung có hiệu quả tốt hơn.

So sánh với nghiên cứu của Nguyễn Thanh Hà Tuấn (2022) về tác dụng chống viêm phổi của viên nang Tổng vệ nhân về sự giảm tế bào trong dịch rửa phế quản trên chuột sử dụng liều 1 và liều 2 giảm lần lượt là 31,33% và 37,82% so với lô mô hình không uống thuốc; chúng tôi thấy Chế phẩm Milnalung có hiệu quả tốt hơn.

Trong Chế phẩm Milnalung, nhiều vị thuốc có tính kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus. Vừa điều trị nguyên nhân gây bệnh (vi khuẩn, virus...) lại vừa điều trị triệu chứng, mang lại hiệu quả vừa khử khuẩn, vừa giảm viêm lại làm tăng sinh tân dịch làm loãng đờm, làm loãng dịch rỉ viêm. Vì trong bài thuốc có rất nhiều vị quy kinh phế và thăng phù lên trên nên có tác dụng tăng cường hiệu quả lên phế, đường hô hấp. Các phản ứng viêm giảm, các tế bào được nuôi dưỡng, không bị phá vỡ, nên giảm tiết các cytokine, NO... làm vững bền thành mạch, giảm tính thấm thành mạch, lưu lượng máu di chuyển qua ít hơn nên các tế bào viêm đi vào gian bào ít hơn dẫn tới kết quả nghiên cứu tổng số tế bào trong dịch rửa phế nang, phế quản giảm rõ rệt. [43]. [44].

Qua các nghiên cứu trên ta có thể thấy được hầu hết các vị thuốc trong Chế phẩm Milnalung đều có tính chống viêm, chống oxy hóa, một số vị có tính kháng Histamin nên các chỉ số CRP trong máu chuột ở các lô trị giảm rõ rệt; đồng thời các chỉ số về các tế bào viêm thâm nhiễm, nồng độ protein, hoạt độ NOx và LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản cũng giảm rõ rệt so với lô chứng.

Những kết quả nghiên cứu về tác dụng chống viêm đường hô hấp của Chế phẩm Milnalung hoàn toàn phù hợp với thành phần cấu tạo của bài thuốc dùng để bào chế.

## KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi xin đưa ra kết luận:

### **1. Độ an toàn của Chế phẩm Milnalung trên chuột nhắt trắng.**

Chuột được cho uống mẫu thử với các mức liều từ 15ml/kg/ngày gấp 6,25 lần liều lâm sàng quy đổi là 2,4ml/kg/ngày; đến 75ml/kg/ngày tức gấp 31,25 lần liều lâm sàng quy đổi dự kiến có tác dụng. Theo dõi sát sau uống thuốc 72 giờ đầu sau uống thuốc và từ ngày 4 đến ngày 7 sau uống thuốc tất cả các chuột ở tất cả các lô nghiên cứu đều không thấy có biểu hiện bất thường cũng như không thấy có chuột chết.

*Các kết quả này cho thấy Chế phẩm Milnalung là an toàn trong thử nghiệm độc tính cấp, khoảng an toàn rộng .*

### **2. Tác dụng chống viêm đường hô hấp của Chế phẩm Milnalung trên chuột cống trắng.**

Chế phẩm Milnalung liều 1,4 ml/kg/ngày và 2,8ml/kg/ngày có tác dụng chống viêm đường hô hấp gây ra do Lipopolysaccharide ở chuột cống trắng. Cụ thể:

- Làm giảm phù nề nhu mô phổi thông qua làm giảm tỷ lệ ướt/khô của nhu mô phổi.
- Giảm tổn thương phổi thông qua điểm đánh giá mô bệnh học phổi.
- Giảm tình trạng viêm đường hô hấp thông qua làm giảm CRP trong máu chuột; giảm protein, tổng số tế bào, hoạt độ NOx và LDH trong dịch rửa phế nang, phế quản.



## **KIẾN NGHỊ**

Từ kết quả **Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm đường hô hấp của Chế phẩm Milnalung trên thực nghiệm**, chúng tôi xin đề xuất kiến nghị sau:

- Tiếp tục thực hiện các nghiên cứu đi sâu để tìm hiểu cơ chế tác dụng của Chế phẩm Milnalung có nguồn gốc từ Bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang” gia giảm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đông Y và Covid-19, PGS Nguyễn Thị Bay, Tạp chí Hội Y Học TP.Hồ Chí Minh, tr 1-2.
2. Bệnh Học Nội Khoa Y Học Cổ Truyền Tập 1- Đại Học Y Hà Nội ,Nhà Xuất bản y học 2017, tr 11-28.
3. Trần Văn Kỳ 250 Bài Thuốc Đông Y Cổ Truyền Chọn Lọc, NXB Hồng Đức 2020, tr 24-25.
4. Sách Bệnh Học Nội Khoa Tập 1- Đại Học Y Hà Nội ,Nhà Xuất bản y học 2020, tr 75-89.
5. Ngô Ngọc Liên, Sinh lý niêm mạc đường hô hấp trên và ứng dụng, Nội san Tai mũi họng, số 1 năm 2000, tr 68-74.
6. Học viện Quân Y (2007), Bệnh học Tai mũi họng, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân Việt Nam, tr 157-159.
7. Vũ Văn Đỉnh, Hồi Sức Cấp Cứu Toàn Tập, Nhà Xuất bản y học 2009, tr 11.
8. Bộ môn Y học dân tộc, Trường Đại học Y Hà Nội (2001). Kim quỹ yếu lược, Nhà xuất bản Y học, tr 83.
9. Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y Hà Nội (2006). Nội kinh, Nhà xuất bản Y học, tr 150.
10. Học viện Quân Y (2012), Bệnh học Y học cổ truyền, Nhà xuất bản Quân đội nhân dân Việt Nam, tr 95-101.
11. Học viện Quân Y (2010), Lý luận cơ bản Y học cổ truyền, Nhà xuất bản Y học, tr 155
12. Traditional Chinese medicines as effective agents against influenza virus-induced pneumonia *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Volume 153, September 2022.
13. Canlin Li , Yuan Li, Xi Huang , Si Li, Kangzhuo Sangji , Rui Gu , Traditional Tibetan medicine: therapeutic potential in lung diseases, *National Library Of Medicine*, 2024 Mar 18;15:1365911
14. 防风的退烧作用, 孙世熙, 中华医学杂志 1956, 10 : 964.

15. Đỗ Tất Lợi, Những Cây Thuốc Và Vị Thuốc Việt Nam, Nhà Xuất bản Y Học 2004, tr 316.
16. Hui Zhao, Updated pharmacological effects of *Lonicerae japonicae* flos, with a focus on its potential efficacy on coronavirus disease–2019 (COVID-19), PubMed, National Library of Medicine journal, Volume 60, October 2021.
17. Dong Li & Li Wu, A Coumarins from the roots of *Angelica dahurica* cause anti-allergic inflammation, PubMed, National Library of Medicine journal, volume 14, June 2017.
18. Tạp chí y học Việt Nam tập 519 số 2, tháng 10/2022, Nguyễn Thanh Hà Tuấn, Ngô Thị Mỹ Bình “Đánh giá tác dụng chống viêm phổi của viên nang mềm Tổng Vệ Nhân trên thực nghiệm”
19. Trần Thị Thanh Tú Đề tài: “Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm ho, long đờm của viên nang “Liên Ngân SK” trên động vật thực nghiệm”, Học viện y dược học cổ truyền Việt Nam.
20. Nguyễn Quỳnh Chi “Nghiên cứu một số tác dụng dược lý của Khương hoạt bắc có trên thị trường Việt nam” , tạp chí Dược học, số 11 năm 2002, tr 17-20.
21. Bộ Y tế (2018), Dược điển Việt Nam V, Nhà xuất bản Y học, tr 1068, 1070, 1095, 1100, 1121, 1164, 1185, 1218, 1289, 1328, 1348, 1378.
22. Trần Hùng, Nhận thức cây thuốc và dược liệu, NXB Y Học 2021, Xuyên khung, tr 74 – 75.
23. Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam (Nhà Xuất bản Y Học 2004). Bạch chỉ, tr 598 – 601.
24. Võ Văn Chi Từ điển Cây thuốc Việt Nam Tập 1, Nhà Xuất Bản Y Học 2021, Cát cánh, tr 90 – 91.
25. Bộ Y Tế, Cục Khoa Học Công Nghệ & Đào Tạo, Quyết Định số : 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015 về việc Ban hành tài liệu chuyên môn hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc Đông y, thuốc từ Dược liệu.
26. Saganuwan SA. 2016. Toxicity study of drugs and chemicals in animals: An overview, BJVM, 2016 2016 online first, ISSN, pp 1311-1477.
27. Erhirhie, E. O., Ihekwereme, C. P., & Ilodigwe, E. E. 2018. Advances in acute Toxicology, 11(1), pp 5–12.

28. Chinedu, E., Arome, D., & Ameh, F. S. 2013. A new method for determining acute toxicity in animal models. *Toxicology international*, 20(3), pp 224–226.
29. Neil Sass. 2000. Humane Endpoints and Acute Toxicity Testing, *ILAR Journal*, Volume 41, Issue 2, 2000, pp 114–123.
30. Organization of Economic Co-operation and Development - OECD (2001), The OECD Guideline for Testing of Chemicals: 423 Acute Oral Toxicity—Acute Toxic Class Method, OECD, Paris, France, 2001.
31. 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.
32. Đỗ Trung Đàm (2017). Phương pháp dược lý nghiên cứu tác dụng giảm đau. Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý. Nhà xuất bản Y học. Hà Nội. tr. 357 – 425; 427 – 533.
33. Đỗ Trung Đàm (2006). “Phương pháp ngoại suy liều có hiệu quả tương đương giữa người và động vật thí nghiệm” *Tạp chí dược học*, số 479, tr 38-41.
34. Jung Y. Y., Nam Y., Park Y. S., et al (2013). Protective effect of phosphatidylcholine on lipopolysaccharide-induced acute inflammation in multiple organ injury. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 17:209–216.
35. Baudiss K., de Paula Vieira R., Cicko S., et al (2016). C1P Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury by Preventing NF-kappaB Activation in Neutrophils. *The Journal of Immunology*. 196:2319–2326.
36. Radi R. (2018). Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(23), pp 5839–5848.
37. Mô Phôi- Đại Học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y Học 2007, tr147-159.
38. Mô Bệnh Học- Đại Học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y Học 2007, tr147-159.
39. Bộ y tế(2013), Quyết định số: 5199/QĐ-BYT ngày 25/12/2013 về việc ban hành tài liệu “ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Giải phẫu bệnh-Tế bào học”, tr 64-68.

40. Farhana, A., & Lappin, S. L. (2023). Biochemistry, Lactate Dehydrogenase. In StatPearls. StatPearls Publishing.
41. S. Biswas J. Bhattacharyya, and A. G. Datta (2004), Mode of action of endotoxin: role of free radicals and antioxidants, *Current Medicinal Chemistry*, 11 359-68
42. X. Dai C. Fu, Y. Yang, M. Lin, et al (2017), Dexmedetomidine attenuates lipopolysaccharide- induced acute lung injury by inhibiting oxidative stress, mitochondrial dysfunction and apoptosis in rats, *Molecular Medicine Reports*, 15 131-8
43. Z. Dong and Y. Yuan (2018), Accelerated inflammation and oxidative stress induced by LPS in acute lung injury: Inhibition by ST1926, *International Journal of Molecular Medicine*, 41 3405-21
44. R. F. Guo and P. A. Ward (2007), Role of oxidants in lung injury during sepsis, *Antioxidants & Redox Signaling*, 9 (11), pp 1991-2002
45. Voynow, J. A., & Rubin, B. K. (2009). Mucins, mucus, and airway secretions. *CHEST*, 135, pp 505-512.
46. Fahy, J. V., & Dickey, B. F. (2010). Airway mucus function and dysfunction. *New England journal of medicine*, 363(23), pp 2233-2247.
47. S.Mehta (2005), The effects of nitric oxide in acute lung injury, *Vascular Pharmacology*, pp 390-403.
48. L. D. Traber, P. Enkhbaatar, and D. L. Traber (2010), The role of nitric oxide and reactive nitrogen species in experimental ARDS, *Frontiers in Bioscience - Scholar*, pp18-29.
49. Y. Ling Z. Gu, and B. Cong (2000), Peroxynitrite mediated acute lung injury induced by lipopolysaccharides in rats, *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 80 (1), pp 58-61.
50. Nguyễn Nhược Kim. *Bệnh Học Nội Khoa Y học cổ truyền*. Nhà xuất bản Y Học 2022, tr 23-28.
51. *Sinh Lý Học- Đại Học Y Hà Nội*, Nhà xuất bản Y Học 2020, tr 60-99.
52. *Sinh Lý Bệnh Học- Đại Học Y Hà Nội*, Nhà xuất bản Y Học 2020, tr 209-230.
53. *Dược Lý Học- Đại Học Y Hà Nội*, Nhà xuất bản Y Học 2007, tr 49-88.

54. Dược Lý Học Lâm Sàng- Đại Học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y Học 2018, tr115-136.
55. Hóa Sinh- Đại Học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y Học 2022, tr 10-34.
56. Nguyễn Anh Tuấn, Ung Thư, Nhà xuất bản Thế Giới 2019, tr 155-179.
57. Miễn Dịch Học- Đại Học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y Học 2007, tr 147-159.

## PHỤ LỤC 1

### Các vị thuốc trong bài thuốc “Cửu vị khương hoạt thang” gia giảm.

#### 1. Khương hoạt

**Tên gọi khác:** Xuyên khương, Trúc tiết khương, Hồ vương sứ giả

**Tên khoa học:** *Notopterygium incisum*

**Họ:** Hoa tán (Apiaceae)

**Bộ phận dùng:** Phần rễ phình ra thành củ của cây khương hoạt.

**Tên Dược:** *Rhizoma et Radix Notopterygii*.

**Thành phần hóa học:** Trong Khương hoạt có tinh dầu, chất coumarin: notopterol và isoimperatorin lần lượt là 34% và 3,8%.

**Tính vị, quy kinh, công dụng, liều dùng:** Khương hoạt có vị cay, đắng, tính ấm. Quy kinh Bàng quang, Thận. Khương hoạt có tác dụng đưa phong hàn ra khỏi cơ thể, hỗ trợ các bệnh xương khớp, giảm đau. Vị thuốc này được dùng chữa nhức đầu, cảm mạo, phong hàn, sốt không ra mồ hôi, gân xương đau nhức, chữa phù thũng, mày đay, mẩn ngứa...Liều dùng: 4 - 12g/ngày.

**Theo y học hiện đại:** Các hoạt chất chiết xuất từ Khương hoạt có nhiều công dụng như chống viêm, chống dị ứng, hạ sốt, giảm đau, chống oxy hóa, kháng khuẩn, tác dụng tốt đối với tim mạch....

#### 2. Phòng phong

**Tên gọi khác:** Bách chi, Lan căn, Bình phong, Thiên phòng phong, Đông phòng phong

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

**Họ:** hoa tán (Apiaceae)

**Bộ phận dùng:** Rễ của cây Phòng phong.

**Tên Dược:** *Radix Sileris*.

**Thành phần hóa học:** Dược liệu Phòng phong chứa các thành phần hóa học sau như Manitol, Tinh dầu, Marmesin, Xanthotoxin, Phenol, Falcarindiol, Saposhnikovan, Scopolatin,...

**Tính vị, quy kinh, công dụng, liều dùng:** Phòng phong có vị cay ngọt, hơi ấm. Quy kinh Bàng Quang, Can và Tỳ. Công dụng: Trị cảm lạnh mà ra mồ hôi không dứt, trị đau do phong thấp, đau cơ khớp khi thay đổi thời tiết, ngứa toàn thân (phong), chống co giật do bệnh uốn ván, cầm đi lỏng. Liều dùng: 4 – 12g/ngày.

**Theo y học hiện đại:** Nước sắc từ dược liệu có tác dụng in vitro với một số vi khuẩn như *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*,... Ngoài ra nước sắc từ Phòng phong cũng có tác dụng một số loại virus cúm. Chất chiết xuất từ dược liệu có tác dụng hạ nhiệt và giảm đau. Nước sắc Phòng phong có thể thoái nhiệt (hạ thân nhiệt).

### **3. Xuyên khung**

#### **Tên gọi, phân nhóm**

**Tên khác:** Dược cần, khung cùng, mã hàm cung, phủ khung, tây khung, hương thảo, xà ty thảo, giải mạt gia.

**Tên khoa học:** *Ligusticum striatum*

**Họ:** Hoa tán (Apiaceae)

**Bộ phận dùng:** Thân rễ của cây Xuyên khung.

**Tên Dược:** *Rhizoma Ligustici Wallichii*.

**Thành phần hóa học:** Phân tích củ xuyên khung, các nhà nghiên cứu tìm thấy nhiều hoạt chất như: Alcaloid; Protocatechuic acid; Saponin; Chuanxiongzine; 1-Hydroxy-1,3; Methoxy-4-hydroxyphenylethane; Perlolirine; Indole; Phytochemistry; Hydroxybenzoic acid, Tetramethylpyrazine, 1-5-Hydroxymethyl-2-Furyl-9H-pyrido, Wallichilide, Tetramethylpyrazine, 3-Butylidene-7-Hydroxyphthalide, 3-Butylidenephthalide, Ligustilide, Tetramethylpyrazine, 4-Hydroxy-3-Methoxy styrene, Protocatechuic acid, Coffeic acid...

**Tính vị, quy kinh, công dụng, liều dùng:** Xuyên khung vị đắng, cay, hơi ngọt, tính ấm; Quy kinh Can, Đờm, Tỳ, Tam Tiêu. Xuyên khung có tác dụng bổ huyết, nhuận táo, khai uất, khu phong, chỉ thống, nhuận can, khứ phong. Chủ trị đau đầu, đau khớp, rối loạn kinh nguyệt, đau bụng kinh, căng tức ngực sườn, sản hậu, liệt nửa người do tai biến... Dùng độc vị hoặc kết hợp cùng các thảo dược khác sắc uống, làm hoàn. Liều dùng: 6 – 12g/ngày.



**Theo y học hiện đại:** Xuyên khung có tác dụng ức chế đối với một số loại vi khuẩn gây bệnh như thương hàn, vi khuẩn tả hay *Shigella sonnei*. Điều này cho thấy dược liệu có tính kháng khuẩn, kháng sinh. Đối với hệ thần kinh, xuyên khung có tác dụng an thần, gây ngủ khi thử nghiệm trên chuột. Ở hệ tim mạch, dược liệu này có tác dụng làm tăng co bóp hoặc giảm nhịp tim ở ếch, cóc, kích thích lưu thông tuần hoàn máu não và làm hạ huyết áp kéo dài do tác dụng của chất Ancaloid. Ngoài ra xuyên khung còn thể hiện khả năng chống đông máu, làm ngưng tập tiểu cầu và ức chế co bóp tử cung.

#### **4. Bạch chỉ**

**Tên khác:** Bách chiêu, an bạch chỉ, chỉ hương, xuyên bạch chỉ, lan hòe, bạch cự, thần hiêu, chỉ hương, phù ly, linh chỉ, hung an bạch chỉ.

**Tên khoa học:** *Angelica dahurica*

**Họ:** Hoa tán (Apiaceae)

**Bộ phận dùng:** Rễ cây bạch chỉ.

**Tên Dược: Radix Angelicae Dahuricae.**

**Thành phần hóa học :** Theo Tài Nguyên Cây Thuốc Việt Nam, thành phần chủ yếu của bạch chỉ là tinh dầu. Ngoài ra còn có các dẫn chất Curamin bao gồm: Byakangelicin, Byak, Angelicol, Oxypeucedanin, Imperatorin, Isoimperatorin, Phelloterin, Xanthotoxin, Anhydro, Byakangelicin, Neobyak, Angelicol, Marmezin, Scopetin, Angelicotoxin, Hydrocarotin, Angelic acid, 5-Methoxyl-8-Hydroxypsoralen, Furanocoumarines

**Tính vị, quy kinh, công dụng, liều dùng:** Bạch chỉ có vị cay, tính ấm. Quy kinh: Phế, Vị, Đại tràng. Bạch chỉ có tác dụng tán phong, trừ thấp, tiêu thũng, chỉ thống. Dùng làm thuốc hạ sốt, giảm đau, điều trị cảm cúm, sốt xuất huyết, đau nhức đầu, đau răng, đau bụng kinh. Bạch chỉ còn dùng chữa đau khớp xương, viêm tuyến vú, mụn nhọt mưng mủ, vết thương do va đập, bỏng, rắn độc cắn. Liều dùng: 5-10g/ngày.

**Theo y học hiện đại:** Bạch chỉ có tác dụng giảm đau, kích thích trung khu thần kinh. Các chất trong dược liệu này còn có tác dụng làm tăng tiết axit trong dạ dày và ức chế sự phát triển của một số loại vi khuẩn gây bệnh, chẳng hạn như vi khuẩn Gram (+),

trực khuẩn lỵ, thương hàn hay vi khuẩn lao. Pommade trong Bạch chỉ có khả năng ngăn ngừa và trị liệu chứng loét giác mạc do bị bỏng ánh sáng.

Thành phần Angelicotoxin khi được sử dụng với liều lượng nhỏ gây kích thích trung khu vận mạch, làm huyết áp tăng.

## **5. Bách Bộ**

**Tên khác:** Dây ba mươi, sam sip lạc (gọi theo tiếng Tày), hiungui (Giarai), síp (Thái), rabat tohai hoặc đệt ác.

**Tên khoa học:** *Stemona tuberosa*

**Họ:** Bách Bộ (Stemonaceae)

**Tên Dược:** **Radix Stemonaceae.**

**Bộ phận dùng:** Dùng rễ củ cây Bách bộ, rễ thường cong queo dài từ 5-25cm đường kính từ 0,5-1,5cm. Đầu trên hơi phình to, đầu dưới thuôn nhỏ dần.

**Thành phần hóa học:** Rễ củ cây Bách bộ có chứa nhiều alcaloid, bao gồm các thành phần chính như isotuberostemonin, stemonin, stemin, tuberostemonin, oxytuberostemonin, hypotuberostemonin, protid 9,0%, lipid 0,83%, glucid 2,3% và các acid hữu cơ như citric, malic, formic và succinic,...

**Tính vị ,quy kinh, công dụng, liều dùng:** Tính ấm, vị ngọt, đắng. Quy kinh Phế. Bách bộ có tác dụng sát trùng, diệt rận và nhuận phế chỉ khái. Do đó, thuốc có tác dụng chữa bách nhật khái (ho gà), giun kim, chàm lở, thương phong khái thấu, phế lao và chảy rận. Liều dùng: 6-20g/ngày.

**Tác dụng theo Y học hiện đại:** Tác dụng diệt ký sinh trùng, Chữa ho: Hoạt chất stemonin có trong Bách bộ có công dụng làm giảm tính hưng phấn của trung tâm hô hấp ở động vật, điều trị giun và diệt côn trùng, tác dụng kháng khuẩn.

## **6. Cát cánh**

**Tên khác:** Tề ni, khở ngạch, bạch dược, cánh thảo, mộc tiện, đô ất la sắt, cát tường xử hoặc khở cánh.

**Tên khoa học:** *Platycodon grandiflorum* hay *Platycodon grandiflorus*

**Họ:** Hoa chuông Campanulaceae

**Bộ phận dùng:** Rễ cây cát cánh.

**Tên Dược:** **Radix Platycodi Grandiflori.**

**Thành phần hóa học:**

Polygalain acid, A-spinasteryl-b -D-glucoside, Platycodigenin, Betulin, Platycogenic acid, Alpha-spinasterol, Stigmasterol.

**Tính vị, quy kinh, công dụng, liều dùng:** Cát cánh vị đắng, tính ôn. Quy kinh Phế. Cát cánh có tác dụng bài nùng, tuyên phế khử đàm lợi yết và khai thông phế khí. Chính vì vậy, chúng thường chủ trị các bệnh lý như họng đau nói khàn, tiểu tiện lung bế (tiểu tiện không thông), áp xe phổi (ngực đau phế ung), ho có nhiều đờm, viêm họng sưng đau. Thường dùng dưới dạng thuốc sắc. Liều dùng: 4-12g/ngày .

**Theo Y học hiện đại:** Cát cánh có tác dụng làm long đờm mạnh. Nước sắc cát cánh có tác dụng làm giảm đường huyết. có tác dụng trong việc chuyển hóa và làm giảm cholesterol ở gan. nước thuốc cát cánh có công dụng ức chế nhiều loại nấm da thông thường. Cát cánh chứa nhiều hoạt chất Saponin có tác dụng tán huyết mạnh gấp 2 lần so với Saponin trong viên chí.

**7. Tế tân**

**Tên gọi khác:** Hoa tế tân, Tế thảo, Tiểu tân, Kim bồn thảo, Độc diệp thảo.

**Tên khoa học:** Asarum sieboldii.

**Họ:** Mộc hương (Aristolochiaceae)

**Bộ phận dùng:** Rễ cây Tế tân.

**Tên Dược:** Radix Asari.

**Thành phần hóa học:** Trong tế tân có 2,75% tinh dầu, trong đó thành phần chủ yếu là pinen, methyl-eugenola một hợp chất phenola có độ chảy 110°C, một hợp chất xeton, một lượng nhỏ axit hữu cơ, nhựa trong đó có chừng 0,2% chất trung tính với công thức C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub> và độ chảy 124°C. Trong tế tân có L.asarinin C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub> và chừng 3% tinh dầu, trong tinh dầu thành phần chủ yếu là methyl eugenola chừng 50%, ngoài ra còn một ít asaryl-xeton C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O một chất phenol, axit panmitic.

**Tính vị, quy kinh, công dụng, liều dùng:** Tế tân vị cay, tính ấm. Quy kinh Tâm, Phế, Can và Thận. Công dụng: tán phong hàn, hành thủy khí, thông khiếu. Dùng trong những trường hợp phong hàn, phong thấp, đầu nhức, ho khí đưa ngược lên, đau răng, ngạt mũi, bí mồm hôi, ứ huyết. Cũng theo sách cổ, phàm khí hư mà không ra mồ hôi, huyết hư sinh nhức đầu, âm hư mà ho thì không dùng được. Liều dùng: 2 - 4g/ngày.

**Theo y học hiện đại:** Sử dụng cồn chiết xuất từ Tế tân in vitro cho thấy tác dụng rõ rệt đối với vi khuẩn Gram dương và trực khuẩn thương hàn. Thử nghiệm trên động vật cho thấy thuốc có tác dụng hạ nhiệt, kháng khuẩn và giảm đau (tác dụng gây tê tại chỗ).

## **8. Thương Truật**

**Tên thường gọi:** Mã kế, Địa quỳ, Thiên tinh sơn kế, Sơn tinh, Xích truật, Mao truật...

**Tên khoa học:** *Atractylodes chinensis* (DS) Loidz hoặc *Atractylodes lancea*.

**Họ khoa học:** Họ Cúc (Compositae).

**Bộ phận dùng:** rễ cây thương truật.

**Tên Dược:** **Rhizoma Atractylodis.**

**Thành phần hóa học:**

Thương truật có thành phần hóa học khá đa dạng và phong phú.

Thân rễ: Glycosid kali atractylat, hydroxyatractylon, hinesol, Tinh dầu: cymen, beta selinene, elemol, arcurenmen.

Ngoài ra còn chứa: Atractyol, Caryophyllene, Elemene, Selience, Eudesmol, Guaiene, b-Maaliene, Chamigrene ...cùng nhiều chất khoáng khác.

**Tính vị ,quy kinh, công dụng, liều dùng:** Thương truật có tính ấm, vị cay và đắng. Quy kinh Tỳ và Vị. Công dụng kiện tỳ, làm ra mồ hôi, sáng mắt, giảm đau, an thần, bồi bổ cơ thể, lợi tiêu hóa, chủ trị ăn uống không ngon miệng, chàm tiêu, tiêu chảy, khô mắt, người uể oải, không có mồ hôi... Liều dùng: 8-20 g/ngày.

**Theo Y học hiện đại**

Cam thảo có tác dụng hạ đường huyết; hỗ trợ tiêu hóa: giảm đầy hơi, khó tiêu, ăn ngon miệng hơn... nhờ chất b-Eudesmol; an thần, kháng khuẩn, kháng virus.

## **9. Kim Ngân Hoa**

**Tên gọi khác:** Nhãn đông hoa, Ngân hoa, Kim Ngân Hoa Lộ, Mật Ngân Hoa....

**Tên Khoa Học:** *Lonicera japonica* Thunb.

**Họ khoa học:** họ com cháy (Caprifoliaceae)

**Bộ phận dùng:** Cành, lá, hoa, thân kim ngân đều có thể dùng làm thuốc. Tuy nhiên hoa là bộ phận được sử dụng phổ biến nhất.

**Tên Dược:** **Flos Lonicerae.**

**Thành phần hóa học:** Luteolin, Inositol, Tannin Hoa chứa Scolymozid (Lonicerin), 1 số Carotenoid (S Caroten, Cryptoxantin, Auroxantin). Lá chứa Loganin, Chlorogenic acid, Isochlorogenic acid, Ginnol, b-Sitosterol, Stigmasterol, b-Sitosterol-D-Glucoside, Stimasteryl-D-Glucoside.

**Tính vị ,quy kinh, công dụng, liều dùng:** Vị đắng, tính hàn. Quy kinh Phế, Vị, Tâm Tỳ; Công dụng: thanh nhiệt, giải độc, giải trừ các khí ôn dịch, uế trọc tà. Trị ôn bệnh phát sốt, nhiệt lý, rôm sảy, mụn nhọt, hắc lào, giang mai. Liều dùng: 12 – 20g/ngày.

**Theo y học hiện đại:**

Kim ngân có tác dụng ức chế mạnh đối với tụ cầu khuẩn, trực khuẩn thương hàn, trực khuẩn lỵ Shigella. Nước sắc có tác dụng mạnh hơn các dạng bào chế khác. Kim ngân hoa có thể làm giảm sức hoạt động của PR8 ở virus cúm nhưng không có tác dụng ở phôi gà con đã tiêm chủng. Kim ngân hoa làm giảm chất xuất tiết, giải nhiệt và làm tăng tác dụng thực bào của bạch cầu, có tác dụng điều trị những trường hợp kết mạc viêm mạn, giác mạc loét. Kim ngân hoa làm tăng bài tiết dịch vị và mật, tăng tác dụng thu liễm do có chất Tanin, có tác dụng lợi tiểu.

**10. Hoàng cầm**

**Tên gọi khác:** Thử vĩ cầm, Hoàng văn, Điều cầm, Không trường, Tửu cầm...

**Tên khoa học:** Scutellaria baicalensis.

**Họ:** Hoa môi (Lamiaceae).

**Bộ phận dùng:** Phần rễ cây chính là bộ phận được sử dụng để làm dược liệu.

**Tên Dược: Radix Scutellariae.**

**Thành phần hóa học:** Baicalei, Wogonoside, Baicalein, b-Sitosterol, Skullcapflavone, Methoxyflavanone, Benzoicacid, Wogoside, Oroxylin, OroxylinA, Wogonin.

**Tính vị, quy kinh, công dụng, liều dùng:** Hoàng cầm vị đắng, tính hàn và không có độc. Quy kinh: Đại trường, Tâm, Phế, Đờm, Bàng quang. Công dụng: tả phế hỏa, trừ thấp nhiệt, tiêu cốc, chỉ huyết, an thai, tiết lợi, hạ huyết bế...chủ trị ho do phế nhiệt, tiêu chảy, mụn nhọt, mắt đỏ sưng đau, đau bụng, chảy máu cam, tiêu ra máu, rong kinh, động thai...Liều dùng: 12 – 20g/ngày.

**Theo y học hiện đại:** Hoàng cầm có tác dụng hạ huyết áp, hạ lipid máu, ức chế nhu động ruột. Hoàng cầm có khả năng kháng khuẩn phổ rộng. Thực nghiệm cho thấy

Hoàng cầm có tác dụng ức chế tụ cầu vàng, phế cầu khuẩn, não mô viêm Neisseria, trực khuẩn bạch cầu, trực khuẩn lao, nấm da và Leptospira... Thành phần Baicalein trong hoàng cầm có khả năng ức chế tế bào giải phóng enzyme. Từ đó đem lại tác dụng ngăn ngừa dị ứng. Đồng thời Baicalin và Baicalein còn được chứng minh là có khả năng giãn phế quản trong thực nghiệm gây dị ứng suyễn. Ngoài ra Hoàng cầm còn có tác dụng hạ thân nhiệt, lợi tiểu, tăng lượng mật...

## 11. Sinh địa

**Tên gọi khác:** Địa hoàng, Nguyên sinh địa

**Tên khoa học:** *Rehmannia glutinosa*

**Họ (familia):** Orobanchaceae

**Bộ phận dùng:** Rễ củ chính là bộ phận của cây được sử dụng để làm vị thuốc.

**Tên khoa học:** *Radix Rehmanniae*.

**Thành phần hóa học :**

Trong Sinh địa, người ta đã lấy ra được một số hoạt chất: manit  $C_6H_8(OH)_6$ , rehmanin là một glucozit, glucoza và một ít caroten.

**Tính vị ,quy kinh, công dụng, liều dùng:** Sinh địa có vị ngọt đắng và tính hàn. Quy kinh: Can, Thận và Tâm. Công dụng thanh nhiệt, làm mát máu, tăng sinh dịch cơ thể, bổ âm. Dùng để chữa các bệnh thiếu máu, người yếu mệt, chảy máu cam, kinh nguyệt không đều, ho ra máu, động thai... Liều dùng: 10 – 20g/ngày.

**Theo y học hiện đại:** Tác dụng chống viêm rất tốt, ức chế miễn dịch kiểu cocticoid nhưng không làm ức chế hay gây teo tuyến thượng thận, cường tim, cầm máu, hạ áp, hạ đường huyết, bảo vệ gan, chống nấm, chống phóng xạ, lợi tiểu.

## 12. Cam Thảo

**Tên khác:** Sinh cam thảo, bắc cam thảo, quốc lão

**Tên khoa học:** *Glycyrrhiza uralensis* Fisch

**Họ:** Cánh Bướm hoặc họ Đậu với tên danh pháp khoa học là Fabaceae.

**Bộ phận dùng:** Rễ và thân của cây cam thảo.

**Tên Dược:** *Radix Glycyrrhizae*.

**Thành phần hóa học:**

Cây cam thảo chứa các thành phần hóa học như Glycyrrhizin, Neo-liquiritin, Isoliquiritigenin, Liquiritin, Isoliquiritin, Licurazid, Liquiritigenin.

**Tính vị, quy kinh, công dụng, liều dùng:** Cam thảo có tính bình, vị ngọt, không chứa độc. Quy kinh: Tỳ, Vị, Tâm và Phế. Cam thảo có tác dụng: giải độc, kiên gân, nội lực và trường cơ nhục, lợi khí huyết, hạ chí, chỉ khát, ôn trung và thông kinh mạch, định phách, dưỡng khí, ích tinh, thông cửu khiếu, lợi bách mạch và an hồn, ích khí, nhuận phế, thông hành 12 kinh và hoãn cấp, chỉ thống, chỉ khai và thanh nhiệt. Người bệnh có thể sử dụng cam thảo bằng cách sắc thuốc uống, nhai trực tiếp, dùng cao lỏng hoặc sử dụng các sản phẩm có chứa vị thuốc này như kẹo cam thảo, trà cam thảo. Tùy thuộc vào tình trạng cần điều trị mà liều lượng cam thảo sẽ được sử dụng khác nhau..  
Liều dùng: 4 – 20 g/ ngày.

**Theo y học hiện đại:** Theo một số nghiên cứu lâm sàng, cây cam thảo chứa hơn 300 hợp chất khác nhau và có tính chống viêm, kháng khuẩn mạnh mẽ. Chính vì vậy, cây mang lại nhiều lợi ích tuyệt đối với sức khỏe như điều trị viêm da và nhiễm trùng, chữa viêm loét dạ dày, điều trị viêm gan C, chữa sâu răng, điều trị viêm họng và chỉ khát hóa đờm, tác dụng nội tiết tố, chống co thắt cơ trơn ở đường tiêu hóa.

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

GIẤY XÁC NHẬN

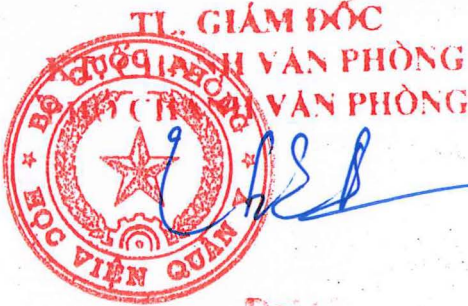
Bộ môn Dược lý, Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y xác nhận học viên Nguyễn Văn Ánh thực hiện nội dung nghiên cứu thực nghiệm của đề tài luận văn “Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm phổi của chế phẩm Milnalung trên thực nghiệm” tại Bộ môn từ 07/2023 đến 05/2024.

Các nội dung nghiên cứu:

- Đánh giá độc tính cấp của chế phẩm Milnalung trên chuột nhắt trắng.
- Đánh giá tác dụng chống viêm phổi của chế phẩm Milnalung trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng lipopolysaccarid (LPS).

Học viện Quân y xác nhận chữ ký của  
Đại tá PGS.TS Nguyễn Hoàng Ngân,  
Chủ nhiệm Bộ môn Dược lý là đúng.

Hà Nội, ngày 02 tháng 12 năm 2024  
Chủ nhiệm Bộ môn



Đại tá  
Vũ Đình Phú

Đại tá PGS. TS. Nguyễn Hoàng Ngân



HỌC VIỆN QUÂN Y  
BỘ MÔN DƯỢC LÝ - VIỆN ĐÀO TẠO DƯỢC

SỐ LIỆU NGHIÊN CỨU  
Của học viên Nguyễn Văn Ánh

Đề tài luận văn: **Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm phổi của chế phẩm Milnalung trên thực nghiệm**

Các nội dung nghiên cứu và bảng kết quả

**1. Đánh giá độc tính cấp của chế phẩm Milnalung trên chuột nhắt trắng**

- Bảng kết quả theo dõi đánh giá độc tính sớm và độc tính muộn.

**2. Đánh giá tác dụng chống viêm phổi của chế phẩm Milnalung trên chuột cống trắng gây viêm phổi bằng lipopolysaccharid (LPS).**

- Các bảng kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm phổi của chế phẩm Milnalung ở các lô chuột nghiên cứu: lô chứng sinh lý, lô mô hình, lô trị 1, lô trị 2.

Học viện Quân y  
Bộ môn Dược lý - Viện Đào tạo Dược

**KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ ĐỘC TÍNH CẤP CỦA CHẾ PHẨM MILNALUNG**

**Bảng 1. Kết quả đánh giá độc tính sớm (72 giờ sau uống thuốc) (n=10 ở mỗi lô)**

Lô chuột	Liều dùng (ml/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Trong 72 giờ đầu sau uống thuốc	
			Số chuột có biểu hiện bất thường	Số chuột sống/chết
Lô 1	15ml/kg	0,15ml/10g x 1lần	Không	10/0
Lô 2	30ml/kg	0,15ml/10g x 2lần	Không	10/0
Lô 3	45ml/kg	0,15ml/10g x 3lần	Không	10/0
Lô 4	60ml/kg	0,20ml/10g x 3lần	Không	10/0
Lô 5	75ml/kg	0,25ml/10g x 3lần	Không	10/0

**Bảng 2. Kết quả đánh giá độc tính muộn (từ ngày 4 đến ngày 7 sau uống thuốc) (n=10 ở mỗi lô)**

Lô chuột	Liều dùng (ml/kg thể trọng)	Thể tích cho uống	Từ ngày 4 đến ngày 7 sau uống thuốc	
			Số chuột có biểu hiện bất thường	Số chuột sống/chết
Lô 1	15ml/kg	0,15ml/10g x 1lần	Không	10/0
Lô 2	30ml/kg	0,15ml/10g x 2lần	Không	10/0
Lô 3	45ml/kg	0,15ml/10g x 3lần	Không	10/0
Lô 4	60ml/kg	0,20ml/10g x 3lần	Không	10/0
Lô 5	75ml/kg	0,25ml/10g x 3lần	Không	10/0

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM PHỔI CỦA CHẾ PHẨM MILNALUNG  
 (Lô chứng sinh lý)**

<b>LÔ NC</b>	<b>SST</b>	<b>CRP trong máu (mg/L)</b>	<b>Tỷ lệ ướt /khô mô phổi (lần)</b>	<b>Nồng độ Protein (mg/L)</b>	<b>Hoạt độ LDH (U/L)</b>	<b>NOx (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	<b>Tổng số tế bào (G/L)</b>	<b>Điểm đánh giá tổn thương phổi</b>
Lô chứng sinh lý	1	109,53	4,53	327,22	120,84	0,33	0,429	1,51
	2	93,31	4,06	353,16	121,75	0,13	0,726	0,65
	3	112,66	4,69	363,92	137,32	0,35	0,566	1,46
	4	97,03	5,19	392,41	100,26	0,38	0,47	0,69
	5	100,14	5,16	344,94	110,88	0,44	0,56	1,17
	6	92,75	4,25	443,04	186,26	0,31	0,38	1,19
	7	85,92	3,24	376,58	185,96	0,29	0,36	1,25
	8	91,32	3,38	373,42	99,25	0,25	0,39	0,39
	9	85,63	4,19	335,44	91,52	0,31	0,42	1,24
	10	99,57	4,25	373,42	112,85	0,29	0,45	1,18
	<b>Mean</b>	<b>96,79</b>	<b>4,29</b>	<b>368,36</b>	<b>126,69</b>	<b>0,31</b>	<b>0,48</b>	<b>1,07</b>
	<b>SD</b>	<b>9,03</b>	<b>0,65</b>	<b>33,08</b>	<b>33,93</b>	<b>0,08</b>	<b>0,11</b>	<b>0,37</b>

Học viện Quân y  
 Bộ môn Dược lý - Viện Đào tạo Dược

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM PHỔI CỦA CHẾ PHẨM MILNALUNG  
 (Lô mô hình)

LÔ NC	SST	CRP trong máu (mg/L)	Tỷ lệ ướt /khô mô phổi (lần)	Nồng độ Protein (mg/L)	Hoạt độ LDH (U/L)	NOx ( $\mu\text{mol/L}$ )	Tổng số tế bào (G/L)	Điểm đánh giá tổn thương phổi	
Lô chứng bệnh lý (mô hình)	11	225,24	4,77	398,41	497,96	6,72	5,57	6,57	
	12	201,94	6,85	488,49	347,82	9,64	5,35	8,22	
	13	198,06	5,46	406,37	340,63	7,69	4,62	4,04	
	14	192,23	4,77	462,15	300,05	5,32	3,46	6,46	
	15	226,21	5,54	447,77	316,51	7,15	2,91	7,69	
	16	270,87	5,69	537,45	305,59	5,61	2,88	9,38	
	17	250,49	5,85	422,31	497,31	9,26	5,72	5,62	
	18	255,34	6,23	537,85	310,16	8,08	3,08	4,81	
	19	215,92	6,46	466,53	416,56	9,01	2,72	6,03	
	20	329,13	5,54	418,33	403,45	6,18	5,23	6,36	
	<b>Mean</b>		<b>236,54</b>	<b>5,72</b>	<b>458,57</b>	<b>373,60</b>	<b>7,47</b>	<b>4,15</b>	<b>6,52</b>
	<b>SD</b>		<b>41,63</b>	<b>0,67</b>	<b>50,41</b>	<b>76,43</b>	<b>1,53</b>	<b>1,25</b>	<b>1,58</b>

Học viện Quân y  
 Bộ môn Dược lý - Viện Đào tạo Dược

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM PHỔI CỦA CHẾ PHẨM MILNALUNG**  
 (Lô trị 1)

<i>LÔ NC</i>	SST	CRP trong máu (mg/L)	Tỷ lệ ướt /khô mô phổi (lần)	Nồng độ Protein (mg/L)	Hoạt độ LDH (U/L)	NOx ( $\mu\text{mol/L}$ )	Tổng số tế bào (G/L)	Điểm đánh giá tổn thương phổi
Lô trị 1	31	116,12	5,13	441,06	298,54	6,96	3,18	3,96
	32	141,33	4,13	342,21	206,98	4,01	2,03	5,88
	33	117,22	4,75	407,98	211,26	4,62	2,08	2,24
	34	115,32	3,75	349,81	279,66	4,67	1,64	4,83
	35	302,03	4,52	432,32	391,73	4,38	1,36	5,58
	36	224,43	5,25	406,84	299,58	5,11	3,43	4,17
	37	164,92	5,36	418,25	262,86	6,83	1,85	4,39
	38	124,13	4,25	386,83	211,95	4,13	3,57	5,38
	39	148,05	5,38	425,86	261,15	5,23	1,97	4,52
	40	138,94	3,69	393,16	289,56	6,86	3,96	3,25
	Mean	<b>159,25</b>	<b>4,62</b>	<b>400,43</b>	<b>271,33</b>	<b>5,28</b>	<b>2,51</b>	<b>4,42</b>
	SD	<b>59,92</b>	<b>0,65</b>	<b>33,20</b>	<b>55,66</b>	<b>1,17</b>	<b>0,93</b>	<b>1,10</b>

Học viện Quân y  
 Bộ môn Dược lý - Viện Đào tạo Dược

**KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM PHỔI CỦA CHẾ PHẨM MILNALUNG  
 (Lô trị 2)**

LÔ NC	SST	CRP trong máu (mg/L)	Tỷ lệ ướt /khô mô phổi (lần)	Nồng độ Protein (mg/L)	Hoạt độ LDH (U/L)	NOx ( $\mu\text{mol/L}$ )	Tổng số tế bào (G/L)	Điểm đánh giá tổn thương phổi
Lô trị 2	61	123,03	5,38	457,62	296,74	6,89	3,83	5,25
	62	103,84	4,56	401,49	191,66	4,14	1,85	2,74
	63	102,47	4,15	434,57	372,46	4,53	2,96	5,14
	64	233,71	5,31	408,92	212,15	6,82	1,71	4,88
	65	292,19	3,88	371,75	290,68	5,51	2,16	2,82
	66	111,03	3,38	364,31	201,25	4,06	1,86	3,29
	67	130,23	4,13	416,01	229,77	3,74	3,02	4,26
	68	145,07	5,05	342,38	235,76	5,99	1,94	5,82
	69	120,29	4,04	353,16	223,95	4,02	1,62	3,29
	70	117,55	5,75	408,92	320,99	5,21	2,73	4,69
	<b>Mean</b>	<b>147,94</b>	<b>4,56</b>	<b>395,91</b>	<b>257,54</b>	<b>5,09</b>	<b>2,37</b>	<b>4,22</b>
	<b>SD</b>	<b>63,39</b>	<b>0,77</b>	<b>37,05</b>	<b>59,45</b>	<b>1,18</b>	<b>0,73</b>	<b>1,11</b>



## TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CHẾ PHẨM MILNALUNG

**1. Nguồn gốc:** Chế phẩm Milnalung là sản phẩm dạng cao lỏng được bào chế từ bài thuốc “cửu vị khương hoạt thang gia giảm”. Cao lỏng được bào chế theo phương pháp chiết xuất dược liệu với nước cất, chiết nóng (100<sup>0</sup>C, 2 lần), dịch chiết được loại tạp, cô dưới áp suất thấp thành dịch chiết 6:1.

Công thức bài thuốc:

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng
1	Khương hoạt	<i>Notopterygium incisum</i>	6 g
2	Phòng phong	<i>Saphoshnikovia divaricata</i>	6 g
3	Xuyên khung	<i>Ligusticum striatum</i>	4 g
4	Bạch chỉ	<i>Angelica dahurica</i>	4 g
5	Bách Bộ	<i>Stemona tuberosa</i>	6 g
6	Cát cánh	<i>Platycodon grandiflorum</i>	6 g
7	Tế tân	<i>Radix asari</i>	2 g
8	Thương truật	<i>Atractylodes lancea</i>	6 g
9	Kim ngân hoa	<i>Lonicera japonica Thunb</i>	8 g
10	Hoàng cầm	<i>Scutellaria baicalensis</i>	4 g
11	Sinh địa	<i>Rehmannia glutinosa</i>	4 g
12	Cam Thảo	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	4 g
<b>Tổng bài thuốc</b>			<b>60g</b>

### 2. Yêu cầu chất lượng

**2.1. Tính chất:** Dịch lỏng, màu nâu, không có nấm mốc, mùi thơm dược liệu, vị ngọt hơi cay.



2.2. *Định tính*: Phải có phép thử định tính của các dược liệu thành phần (Khương hoạt, Phòng phong, Xuyên khung, Bạch chỉ, Bách Bộ, Cát cánh, Tế tân, Thương truật, Kim ngân hoa, Hoàng cầm, Sinh địa, Cam thảo).

2.3. *Độ nhiễm khuẩn*: Tổng số vi sinh vật hiếu khí không quá  $10^4$  CFU/g; tổng số nấm không quá  $10^2$  CFU/g; Không quá  $10^2$  CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 g. Không có *Salmonella* trong 10 g. Không có *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* trong 1 g. Phụ lục 13.6, “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”- DĐVN V.

### 3. Phương pháp thử

#### 3.1. Tính chất

Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

#### 3.2. Định tính

Theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4- DĐVN V)

#### 3.3. Độ nhiễm khuẩn

Tiến hành thử theo phương pháp đĩa thạch, Phụ lục 13.6, “Thử giới hạn nhiễm khuẩn”- DĐVN V.

### 4. Đóng gói, ghi nhãn, bảo quản

Đóng trong chai nhựa kín.

Nhãn rõ ràng, đúng quy chế.

Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh sáng.

Hà Nội, ngày 22 tháng 07 năm 2023

**CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN**



GIÁM ĐỐC  
Th.S.BS: Đinh Mạnh Mạnh



**QUY TRÌNH BÀO CHẾ CHẾ PHẨM MILNALUNG**  
(bào chế tại công ty cổ phần dược phẩm Phú Tín)

Chế phẩm Milnalung được bào chế từ bài thuốc “cửu vị khương hoạt thang gia giảm” ở dạng cao lỏng

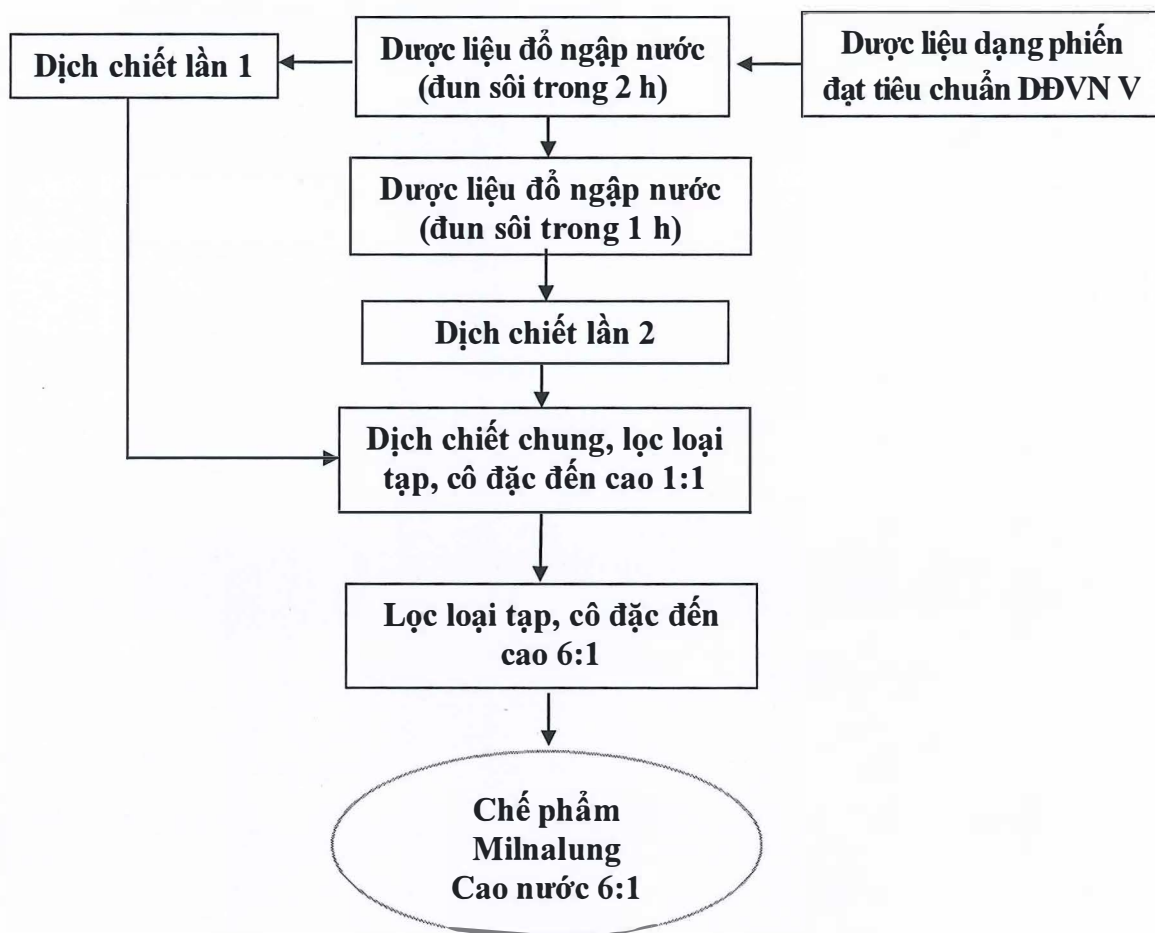
**1. Thành phần bài thuốc “cửu vị khương hoạt thang gia giảm”**

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Hàm lượng
1	Khương hoạt	<i>Notopterygium incisum</i>	6 g
2	Phòng phong	<i>Saphoshnikovia divaricata</i>	6 g
3	Xuyên khung	<i>Ligusticum striatum</i>	4 g
4	Bạch chỉ	<i>Angelica dahurica</i>	4 g
5	Bách Bộ	<i>Stemona tuberosa</i>	6 g
6	Cát cánh	<i>Platycodon grandiflorum</i>	6 g
7	Tế tân	<i>Radix asari</i>	2 g
8	Thương truật	<i>Atractylodes lancea</i>	6 g
9	Kim ngân hoa	<i>Lonicera japonica Thunb</i>	8 g
10	Hoàng cầm	<i>Scutellaria baicalensis</i>	4 g
11	Sinh địa	<i>Rehmannia glutinosa</i>	4 g
12	Cam Thảo	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	4 g
<b>Tổng bài thuốc</b>			60g

Các dược liệu trong bài thuốc đều đạt tiêu chuẩn dược điển Việt Nam



## 2. Sơ đồ quy trình bào chế dịch chiết



Hình 1. Quy trình bào chế chế phẩm Minalung

### 3.Thuyết minh chi tiết quy trình:

#### 3.1. Giai đoạn chuẩn bị:

- Kiểm tra vệ sinh và khả năng vận hành các máy móc và thiết bị liên quan,
- Kiểm tra và cân dược liệu,
- Chuẩn bị bao bì,
- Kiểm tra hồ sơ lô sản xuất kèm theo.

#### 3.2. Giai đoạn chiết xuất:

- Dược liệu dạng phiến đạt tiêu chuẩn DDVN V, sau khi được cân theo tỷ lệ của bài thuốc được chuyển vào hệ thống chiết.

- Cho nước cất vào bình chiết, ngập trên dược liệu, đậy nắp kín, cài đặt các thông số và tiến hành chiết xuất theo điều kiện sau:

+ Lượng nước cất dùng chiết (lít): gấp 10 lần khối lượng dược liệu (kg).

+ Nhiệt độ chiết: 100<sup>0</sup>C.

+ Thời gian và số lần chiết: lần 1 đun sôi trong 120 phút, lần 2 đun sôi trong 60 phút.

Trong quá trình chiết xuất cần kiểm tra và kiểm soát tốt các thông số về nhiệt độ, thời gian và hoạt động của hệ thống chiết.

- Thu và xử lý dịch chiết:

Sau lần chiết đầu tiên, bơm dịch chiết sang bình trung gian qua hệ thống lọc dịch chiết. Sau đó cấp dung môi (nước cất) cho lần chiết thứ 2 và tiếp tục chiết xuất.

#### 3.3. Quá trình cô đặc

+ Dịch chiết lần 1 và lần 2 được gộp chung và được chuyển từ bình chiết sang bình đựng trung gian nhờ bơm áp suất giảm và được lọc qua bộ lọc. Cô đặc dịch chiết đến cao 1: 1 ở điều kiện nhiệt độ 60<sup>0</sup>C, áp suất chân không 50 bar.

+ Để nguội, lọc bằng bông gạc. Cô đặc dịch chiết đến cao 6: 1 ở điều kiện nhiệt độ 60<sup>0</sup>C, áp suất chân không 50 bar.

Ngày 22 tháng 07 năm 2023

**CÔNG TY CP DƯỢC PHẨM PHÚ TÍN**



GIÁM ĐỐC  
Trần Ngọc Đình Minh Miền