

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



TRẦN ĐÌNH NHẬT DUY

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP,
TÁC DỤNG GIẢM ĐAU VÀ CHỐNG VIÊM
CỦA VIÊN NANG KHỚP BẢO AN
TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Hà Nội, 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM



TRẦN ĐÌNH NHẬT DUY

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP,
TÁC DỤNG GIẢM ĐAU VÀ CHỐNG VIÊM
CỦA VIÊN NANG KHỚP BẢO AN
TRÊN THỰC NGHIỆM**

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Chuyên ngành: Y học cổ truyền

Mã số: 8720115

Người hướng dẫn khoa học:

Hướng dẫn 1: TS. NGUYỄN THỊ MINH THU

Hướng dẫn 2: TS. PHẠM THANH TÙNG

Hà Nội, 2024

LỜI CẢM ƠN

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

Tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới TS. Nguyễn Thị Minh Thu, TS. Phạm Thanh Tùng là hai người thầy và cô hướng dẫn trực tiếp luôn theo sát, thường xuyên giúp đỡ, cho tôi nhiều ý kiến quý báu, sát thực trong quá trình học tập, nghiên cứu để hoàn thành luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Viện Nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh đã quan tâm, tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong việc nghiên cứu, thu thập, hoàn thiện số liệu để hoàn thành đề tài.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn đến các thầy, các cô trong Hội đồng thông qua đề cương luận văn đã cho tôi nhiều ý kiến quý báu trong quá trình hoàn thiện luận văn này.

Tôi vô cùng biết ơn gia đình, bạn bè, anh chị em đồng đã động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Mặc dù đã cố gắng rất nhiều, nhưng luận văn không tránh khỏi những thiếu sót, tác giả 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.

Xin chân thành cảm ơn!

Học viên

Trần Đình Nhật Duy

LỜI CAM ĐOAN

Luận văn này do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của TS.Nguyễn Thị Minh Thu, TS.Phạm Thanh Tùng. 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. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

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

Hà Nội, ngày..12..tháng..04..năm..2024..

Người viết cam đoan

Trần Đình Nhật Duy

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. TỔNG QUAN VIÊM KHỚP VÀ ĐAU KHỚP CỦA Y HỌC HIỆN ĐẠI... 3	
1.1.1. Dịch tễ	3
1.1.2. Cơ chế bệnh sinh của viêm khớp và đau khớp	3
1.1.2.1. Cơ chế bệnh sinh viêm khớp	3
1.1.2.2. Cơ chế bệnh sinh của đau khớp	6
1.1.3. Mối quan hệ giữa viêm khớp và đau khớp.....	7
1.1.4. Nguyên nhân của viêm khớp.....	8
1.1.5. Triệu chứng và chẩn đoán viêm khớp.....	10
1.1.6. Điều trị viêm khớp	12
1.2. TỔNG QUAN VIÊM KHỚP VÀ ĐAU KHỚP THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN.....	13
1.2.1. Đại cương chứng tý	13
1.2.1.1. Định nghĩa.....	13
1.2.1.2. Phân loại	14
1.2.2. Biện chứng luận trị.....	15
1.2.2.1. Biện chứng tà khí	15
1.2.2.2. Biện chứng hư thực	15
1.2.2.3. Biện chứng đàm ứ	16
1.2.3. Nguyên tắc điều trị.....	16
1.3. TỔNG QUAN VỀ SẢN PHẨM VIÊN NANG KHỚP BẢO AN.....	16
1.3.1. Nguồn gốc xuất xứ.....	16
1.3.2. Phân tích tác dụng của viên nang Khớp Bảo An theo y học hiện đại.....	17
1.3.2.1. Dây đau xương.....	17
1.3.2.2. Cốt toái bổ.....	18
1.3.2.3. Tục đoạn.....	18
1.3.2.4. Thổ phục linh.....	19
1.3.2.5. Ngưu tất nam.....	20

1.3.2.6. Hoàng bá nam	21
1.3.2.7. Kê huyết đằng.....	22
1.3.2.8. Cốt khí củ	23
1.3.2.9. Quế chi	24
1.3.3. Phân tích tác dụng của viên nang Khớp Bảo An theo y học cổ truyền	25
1.4. TỔNG QUAN VỀ MÔ HÌNH GIẢM ĐAU, CHỐNG VIÊM TRÊN Đ ĐỘNG VẬT THÍ NGHIỆM	27
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	29
2.1. Chất liệu nghiên cứu	29
2.1.1. Thuốc nghiên cứu.....	29
2.1.2. Thuốc đối chứng và hóa chất dùng trong nghiên cứu.....	30
2.1.3. Phương tiện và trang thiết bị trong nghiên cứu.....	30
2.2. Đối tượng nghiên cứu.....	31
2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	31
2.3.1. Địa điểm nghiên cứu	31
2.3.2. Thời gian nghiên cứu	31
2.4. Phương pháp nghiên cứu.....	31
2.4.1. Nghiên cứu độc tính cấp.	31
2.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm	32
2.4.2.1. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp	32
2.4.2.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn	34
2.4.3. Nghiên cứu tác dụng giảm đau	35
2.4.3.1. Phương pháp kích thích bằng nhiệt	35
2.4.3.2. Thử nghiệm đo độ đau ở chân bằng phương pháp châm kim.....	36
2.4.3.3. Thử tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau quặt.....	36
2.5. Các chỉ tiêu nghiên cứu.....	37
2.5.1. Độc tính cấp đường uống của viên nang Khớp Bảo An	37
2.5.2. Tác dụng giảm đau của viên nang Khớp Bảo An	38
2.6. Kỹ thuật phân tích số liệu.....	38
2.7. Cách khắc phục sai số	39

2.8. Đạo đức nghiên cứu	39
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	40
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp.....	40
3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột trong vòng 7 ngày sau uống thuốc.....	40
3.1.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc	41
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm của viên nang Khớp Bảo An	42
3.2.1. Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan.....	42
3.2.2. Tác dụng chống viêm mạn tính trên mô hình gây u hạt thực nghiệm	48
3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang Khớp Bảo An	49
3.3.1. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp mâm nóng.....	49
3.3.2. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp châm kim.....	51
3.3.3. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp gây đau quặn bởi acid acetic	53
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	58
4.1. Về độc tính cấp của viên nang Khớp Bảo An.....	58
4.2. Về tác dụng giảm đau chống viêm của viên nang Khớp Bảo An	59
4.2.1. Về tác dụng chống viêm.....	59
4.2.1.1. Mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin	59
4.2.1.2. Mô hình gây u hạt	63
4.2.2. Tác dụng giảm đau	65
4.2.2.1. Mô hình mâm nóng (<i>Hot plate</i>).....	65
4.2.2.2. Phương pháp rê kim	66
4.2.2.3. Mô hình gây đau quặn (<i>Writhing Tests</i>)	67
KẾT LUẬN	69
1.1. Có tính an toàn cao.....	69
1.2. Có tác dụng chống viêm và giảm đau trên thực nghiệm.....	69
1.2.1. Tác dụng chống viêm	69
1.2.1.1. Tác dụng chống viêm cấp.....	69

1.2.1.2. Tác dụng chống viêm mạn 69

1.2.2. Tác dụng giảm đau..... 69

KIẾN NGHỊ VÀ ĐỀ XUẤT 71

TÀI LIỆU THAM KHẢO

PHỤ LỤC I. XÁC NHẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU

PHỤ LỤC II. TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CỦA VIÊN NANG KHỚP BẢO AN

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1 Phân loại các vị thuốc	25
Bảng 2.1 Bảng thành phần các vị thuốc trong viên nang Khớp Bảo An	29
Bảng 3.1 Số chuột chết/sống và quan sát cơ quan tạng phủ chuột tại ngày N7 41	
Bảng 3.2 Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới thời gian phản ứng với nhiệt của chuột nhắt trắng.	41
Bảng 3.3 Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An trên chuột nhắt trắng được gây đau cơ học.....	43
Bảng 3.4 Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 2 giờ sau gây viêm.....	43
Bảng 3.5 Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 4 giờ sau gây viêm.....	45
Bảng 3.6 Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 6 giờ sau gây viêm.....	46
Bảng 3.7 Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới trung bình tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở thời điểm 24 giờ sau gây viêm.....	48
Bảng 3.8 Mức độ ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột	50

DANH MỤC HÌNH

Hình 1. 1 Dây Đau Xương	17
Hình 1. 2 Cột Toái Bỏ	18
Hình 1. 3 Tục Đoạn	19
Hình 1. 4 Thổ Phục Linh.....	20
Hình 1. 5 Nguru Tất Nam.....	21
Hình 1. 6 Hoàng Bá Nam.....	22
Hình 1. 7 Kê Huyết Đằng.....	23
Hình 1. 8 Cột Khí Củ	24
Hình 1. 9 Quế Chi	25
Hình 2. 1 Đo thể tích chân chuột.....	34
Hình 3. 1 Cơ quan phủ tạng của chuột 46 (uống KBA 264,2g/kg) sau 7 ngày	42
Hình 3. 2 Chuột 12 (lô 2) sau 2 giờ gây viêm.....	47
Hình 3. 3 Chuột 34 (lô 4) sau 4 giờ gây viêm.....	47
Hình 3. 4 Chuột 27 (lô 3) sau 6 giờ gây viêm.....	48
Hình 3. 5 Chuột 34 (lô 4) sau 24 giờ gây viêm.....	48
Hình 3. 6 U hạt được cấy trên lưng chuột 28 sau 7 ngày uống Khớp Bảo An liều 9,8928g/kg/ngày	50
Hình 3. 7 Chuột 4 (lô chứng) phản ứng với nhiệt.....	52
Hình 3. 8 Chuột 36 (lô 4) phản ứng với nhiệt.....	52
Hình 3. 9 Biểu hiện đau của chuột ở lô uống diclofenac natri sau tiêm acid acteic.....	58
Hình 3. 10 Biểu hiện đau của chuột ở lô uống KBA 9,8928g/kg/ngày sau tiêm acid acteic	58

DANH MỤC KÍ TỰ VIẾT TẮT

ACTH	:	Adrenocorticotropic
ACTH	:	Adrenocorticotropic hormone
ADAMTS	:	A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin
BMD	:	Bone Mineral Density
BMI	:	Body Mass Index
DIP	:	Distal interphalangeal joint
CAIA	:	Collagen antibody-induced arthritis
CIA	:	Collagen-induced arthritis
COX	:	Cyclo-oxygenase
HIF-2 α	:	Hypoxia-inducible factor-2 α
IL	:	Interleukin
MTF1	:	Metal-regulatory transcription factor 1
MMP	:	Matrix Metalloproteinases
MT	:	Metallicothionein
MAPK	:	Mitogen-activated protein kinase
MIR	:	MicroRNA
MSU	:	Mononatri urate
NSAID	:	N on-steroidal anti- inflammatory drugs
NO	:	Oxit nitric
NHANES	:	Third National Health and Nutrition Examination Survey
NLRP3	:	NLR family pyrin domain containing 3
TNF- α	:	Tumour necrosis factor- α
TOM	:	Translocase of the outer membrane
ZIP	:	Zrt-/Irt-like protein

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm xương khớp là bệnh viêm khớp phổ biến nhất, thường gặp ở nhiều người ở một giai đoạn nào đó trong cuộc đời. Viêm khớp được định nghĩa là tình trạng viêm khớp cấp tính hoặc mãn tính ở khớp. Viêm khớp có các triệu chứng như đau, cứng khớp, giảm phạm vi chuyển động và cứng khớp. Mặc dù bệnh viêm khớp rất phổ biến nhưng nguyên nhân vẫn chưa được tìm hiểu rõ, vì có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng tới nguyên nhân viêm khớp như di truyền, tuổi tác, chủng tộc, sắc tộc, béo phì và giới tính [1], [2], [3].

Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), giai đoạn từ năm 2011 đến 2020 được xem là “Thập niên xương khớp”. Kết quả ước tính trong một nghiên cứu về tình trạng thoái hóa khớp tại Việt Nam gần đây đã phản ánh nguy cơ gặp phải các vấn đề về thoái hóa khớp đang ngày càng trở nên phổ biến hơn và có xu hướng trẻ hóa. Theo đó, có 30% người trên tuổi 35, 60% người trên tuổi 65 và 85% người trên tuổi 85 gặp vấn đề về thoái hóa khớp. Theo ước tính của ngành y tế, Việt Nam là một trong những quốc gia có tỷ lệ mắc các bệnh xương khớp cao nhất thế giới. Trong những năm gần đây, tỷ lệ này đã tăng khoảng 20%. Thống kê cũng cho thấy cứ 10 người thì có 3 người mắc bệnh loãng xương [4].

Hiện nay Glucocorticoid là thuốc điều trị chính các bệnh viêm khớp, trong đó viêm khớp dạng thấp 56% đến 68% được điều trị bằng Glucocorticoid. Cho dù tác dụng có lợi đã được chứng minh trong các bệnh lý về viêm khớp nhưng bên cạnh đó thì tác dụng phụ cũng rất nhiều, nếu sử dụng Glucocorticoid lâu dài (>6 tháng) và liều cao (>10 mg/ngày) sẽ dẫn tới các biến cố về tim mạch, tác dụng nội tiết/chuyển hóa (tăng cân, rối loạn chuyển hóa glucose và phát triển bệnh tiểu đường), nhiễm trùng, các biến cố về dạ dày-ruột và loãng xương [5]. Ngoài ra thuốc chống viêm không steroid (NSAID) cũng thường được kê đơn để điều trị các tình trạng đau cơ xương

khớp. Nhưng khi kê đơn NSAID đường uống, bác sĩ lâm sàng phải xem xét bệnh tim mạch, mạch máu não, đường tiêu hóa và thận cũng tồn tại vì NSAID đường uống có liên quan đến nhiều tác dụng phụ trên các hệ thống này [6]. Vì vậy việc nghiên cứu ra các thuốc điều trị viêm khớp có hiệu quả điều trị cao và ít tác dụng không mong muốn đang là mục tiêu hàng đầu của các nhà y học.

Hiện nay, việc nghiên cứu các thuốc có nguồn gốc từ tự nhiên đã và đang ngày càng phát triển mạnh mẽ. Công ty TNHH Thương mại và Y dược Bảo An đã bào chế viên nang Khớp Bảo An gồm 9 vị thuốc, lấy nguồn gốc là một bài thuốc nam kinh nghiệm, được dân gian sử dụng điều trị các bệnh lý xương khớp rất có hiệu quả. Thành phần viên nang Khớp Bảo An như Dây Đau Xương, Cốt Khí Củ, Hoàng Bá Nam, Ngưu Tất Nam, Thổ Phục Linh đều có tác dụng giảm đau chống viêm trên thực nghiệm. Tuy nhiên, trên thế giới cũng như Việt Nam cho đến nay chưa có nghiên cứu nào khẳng định tính an toàn và hiệu quả khi phối hợp 9 vị thuốc này trong cùng một chế phẩm. Do vậy, để tìm hiểu một cách có khoa học về tính an toàn và hiệu quả của viên nang Khớp Bảo An và làm cơ sở cho điều trị, chúng tôi xin tiến hành đề tài **“Nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng giảm đau và chống viêm của viên nang Khớp Bảo An trên thực nghiệm”** với 2 mục tiêu:

- 1. Đánh giá độc tính cấp của viên nang Khớp Bảo An trên chuột nhắt trắng.**
- 2. Đánh giá tác dụng giảm đau, chống viêm của viên nang Khớp Bảo An trên động vật thí nghiệm.**

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. TỔNG QUAN VIÊM KHỚP VÀ ĐAU KHỚP CỦA Y HỌC HIỆN ĐẠI

1.1.1. Dịch tễ

Viêm xương khớp là dạng viêm khớp phổ biến nhất trên toàn thế giới. Các khớp bị ảnh hưởng thường xuyên nhất là hông, đầu gối, bàn tay, bàn chân và cột sống, mặc dù viêm khớp có thể ảnh hưởng đến bất kỳ khớp nào. Trên toàn cầu, các trường hợp viêm khớp phổ biến tăng 113,25%, từ 247,51 triệu năm 1990 lên 527,81 triệu vào năm 2019. Số ca mắc phổ biến cao nhất trong năm 2019 được quan sát thấy ở Trung Quốc (132,81 triệu ca), tiếp theo là Ấn Độ (62,36 triệu ca) và Mỹ (51,87 triệu ca), với tỷ lệ phần trăm thay đổi tương ứng so với năm 1990 là 156,58%, 165,75% và 79,63% [7].

Người ta ước tính rằng viêm khớp có triệu chứng ảnh hưởng đến 1/8 nam giới và phụ nữ ở Hoa Kỳ (27–31 triệu). Theo dữ liệu được lấy từ Fallon Community Health Plan, một tổ chức bảo trì sức khỏe ở Trung tâm Massachusetts, thống kê ra trong số những người trưởng thành từ 20–89 tuổi, thì tỷ lệ mắc bệnh viêm khớp gối chuẩn hóa theo độ tuổi và giới tính là 240/100.000 người/năm, viêm khớp hông là 88/100.000 người/năm và viêm khớp tay là 100/100.000 người/năm. Tuy nhiên, tỷ lệ mắc bệnh tăng theo tuổi, chững lại hoặc giảm ở độ tuổi lớn hơn (> 80 tuổi) và tỷ lệ ở phụ nữ cao hơn nam giới, đặc biệt là sau 50 tuổi [8].

1.1.2. Cơ chế bệnh sinh của viêm khớp và đau khớp

1.1.2.1. Cơ chế bệnh sinh viêm khớp

Viêm là phản ứng thiết yếu của hệ thống miễn dịch bẩm sinh đối với chấn thương/chấn thương hoặc nhiễm trùng nhằm bảo vệ vật chủ khỏi tổn thương mô hoặc lây lan nhiễm trùng. Cả viêm khớp dạng thấp và viêm khớp đều có phản ứng viêm khớp sớm và muộn không được giải quyết (viêm màng hoạt dịch), thường dẫn đến phá hủy khớp. Viêm khớp dạng thấp trái ngược với viêm khớp, là một bệnh tự miễn. Bằng chứng ngày càng tăng chỉ ra vai trò

quan trọng của kẽm trong cơ chế bệnh sinh của cả hai tình trạng vì kẽm có liên quan đến nhiều quá trình viêm và miễn dịch cũng như quá trình đồng hóa mô. Giống như việc thiếu kẽm gây ra những tác dụng phụ, việc tiếp xúc với cadmium cũng có những tác dụng phụ. Cadmium phát huy một số tác dụng của nó thông qua việc ức chế các enzyme chống oxy hóa có chứa Thiol và do đó làm thay đổi cân bằng oxy hóa khử [9].

Ở người, hai loại chất vận chuyển kẽm là họ ZIP (các protein giống Zrt-/Irt, SLC39A) và ZnT (SLC30A) với tổng số 24 protein, điều hòa kẽm trong tế bào. Các chất vận chuyển ZIP chuyển kẽm từ dịch ngoại bào hoặc từ các túi nội bào vào tế bào chất, trong khi các chất vận chuyển ZnT tạo điều kiện thuận lợi cho việc di chuyển kẽm ra không gian ngoại bào hoặc cô lập kẽm trong tế bào chất vào các khoang nội bào. Một tá metallothionein (MT), các protein liên kết kim loại nhỏ, giàu cysteine, cũng có chức năng kiểm soát kẽm trong tế bào và chúng liên kết chặt chẽ cadmium [10]. MT có vai trò quan trọng trong nhiễm trùng, miễn dịch và viêm [11]. Tất cả các protein này được tích hợp vào mạng truyền tín hiệu tế bào.

Viêm có thể kích hoạt phản ứng giai đoạn cấp tính loại bỏ kẽm (và sắt, nhưng không phải đồng) khỏi huyết tương. Tham gia vào phản ứng này là interleukin (IL) 1β được sản xuất từ đại thực bào, cortisol được sản xuất ở tuyến thượng thận và hormone vỏ thượng thận (ACTH) được sản xuất ở tuyến yên. IL- 1β , thông qua việc tạo ra oxit nitric (NO), tạo ra Zip14 trong gan và dẫn đến sự cô lập kẽm [12]. Glucocorticoid và một số cytokine như IL- 1β , IL-6 nói riêng và yếu tố hoại tử khối u- α (TNF- α) gây ra MT [13].

Một nghiên cứu giải quyết vấn đề điều hòa cân bằng nội môi kẽm trong quá trình khởi phát và tiến triển của viêm khớp cho thấy ZIP8 tăng rõ rệt ở tế bào sụn ở người bị thoái hóa khớp so với tế bào sụn bình thường, khiến nó trở thành chất vận chuyển kim loại quan trọng trong số các ZIP trong những điều kiện này [14]. Ngược lại, việc ức chế ZIP8 trong tế bào sụn viêm khớp ở

chuột sẽ bảo vệ khỏi sự thoái hóa sụn. Tuy nhiên, việc bổ sung kẽm theo tỷ lệ vào cả tế bào hoạt dịch viêm khớp dạng thấp và viêm khớp sẽ làm thay đổi biểu hiện ZIP8, cho thấy chức năng ZIP8 tăng cường cơ chế bệnh sinh của viêm khớp dạng thấp và viêm khớp. Những thay đổi trong quá trình đồng hóa kẽm này được cho là biểu hiện sự đề kháng của các tế bào hoạt dịch đối với sự tích tụ quá nhiều kẽm, điều này sẽ dẫn đến quá trình tự hủy của chúng. Điều thú vị là, yếu tố phiên mã điều hòa kim loại 1 (MTF1) dường như là yếu tố điều hòa phiên mã quan trọng của yếu tố gây thiếu oxy (HIF-2 α), từ đó điều chỉnh tăng ZIP8, tăng kẽm tế bào và hoạt động phiên mã phụ thuộc MTF1 [15]. Do đó, trục ZIP8-kẽm-MTF1 và HIF-2 α tương tác trong việc thúc đẩy quá trình phá hủy sụn viêm khớp.

Mặt khác, MT được cho là dấu ấn sinh học về tình trạng bệnh lý của bệnh viêm khớp. Chúng tăng cao trong bệnh viêm khớp dạng thấp [16], [17], với biểu hiện gen MT-1 và MT-2 có liên quan đến các bệnh tự miễn dịch nghiêm trọng hơn ở những con chuột bị sâu bướm ăn thịt [18]. Hơn nữa, các mô hình viêm khớp như viêm khớp do collagen (CIA) và viêm khớp do kháng thể collagen (CAIA) ở chuột cho thấy sự ức chế đáng kể các triệu chứng viêm khi MT-1 được biểu hiện trong khớp. Tiêm MT-1/-2 trong phúc mạc ở chuột làm giảm các chất trung gian gây viêm và ức chế viêm khớp thông qua việc sản xuất yếu tố tăng trưởng khối u- β . Tuy nhiên, khi viêm khớp dạng thấp tiến triển, nồng độ MT trong huyết thanh giảm xuống, một hiện tượng được đảo ngược khi sử dụng cortisone dẫn đến các triệu chứng được cải thiện đáng kể [9]. Nói chung, những quan sát này chứng minh vai trò bảo vệ và có thể là vai trò điều trị của MT trong viêm khớp dạng thấp.

Trong cả viêm khớp và viêm khớp dạng thấp, các cytokine gây viêm như IL-1 β và TNF- α kích thích sản xuất metalloproteinase ma trận (MMP), chẳng hạn như MMP-1, -3, -8, -9, -13 và ADAMTS [9]. MMP là một họ protein phụ thuộc vào kẽm, tích tụ trong màng hoạt dịch trong quá trình viêm

và có vai trò trung tâm trong việc phá hủy sụn trong bệnh viêm khớp [19]. Trong số các MMP liên quan đến sự thoái hóa sụn, MMP-13 là MMP chính được biểu hiện bởi tế bào sụn và tế bào hoạt dịch trong viêm khớp và viêm khớp dạng thấp ở người. Nó cắt collagen loại II, IX, X và các thành phần ma trận ngoại bào khác (ví dụ: fibronectin, aggrecan, fibromodulin). Ở tế bào sụn ở chuột, việc ức chế hoạt động MMP-13 bằng cách nhắm mục tiêu điều hòa ZIP8 với miR-488 (microRNA được tìm thấy trong tế bào sụn) sẽ phục hồi sự biệt hóa tế bào sụn/phát triển sụn [20].

1.1.2.2. Cơ chế bệnh sinh của đau khớp

Khớp gối được chi phối bởi các dây thần kinh cảm giác và giao cảm [21]. Các sợi giao cảm sau hạch tận cùng gần các mạch máu khớp, nơi chúng có thể điều hòa lưu lượng máu đến khớp thông qua các mức độ co mạch khác nhau. Dây thần kinh cảm giác có chức năng chính là phát hiện và truyền thông tin cơ học từ khớp đến hệ thần kinh trung ương. Các sợi thần kinh có bao myelin có đường kính lớn mã hóa và truyền các tín hiệu cảm thụ bản thể, có thể được hiểu là động (cảm giác chuyển động) hoặc tĩnh (cảm giác vị trí). Các sợi thần kinh cảm nhận đau thường có đường kính dưới 5 μm và không có myelin (loại IV) hoặc có myelin với đầu dây thần kinh “tự do” và không có myelin (loại III). Những sợi dẫn truyền chậm này thường có ngưỡng cao và chỉ đáp ứng với các kích thích cơ học độc hại, vì vậy được gọi là cơ quan cảm nhận đau [22].

Cơ quan thụ cảm đau nằm khắp khớp, được xác định ở dây chằng, bao, màng xương, sụn chêm và xương dưới sụn [23]. Đoạn xa nhất của dây hướng tâm loại III và loại IV không có vỏ myelin bao quanh dây thần kinh, và người ta tin rằng đây là vùng cảm giác của dây thần kinh cảm thụ đau. Kính hiển vi điện tử truyền qua cho thấy mô hình lặp lại hình đồng hồ cát dọc theo chiều dài của đầu dây thần kinh loại III và loại IV, đồng thời các vùng nhiều cũng thể hiện các đặc điểm đặc trưng của các vị trí tiếp nhận [24]. Chính trong

những cấu trúc giống như hạt này ở đầu và cuối của các đầu dây thần kinh “tự do” mà cơn đau khớp bắt nguồn.

Hiện nay chúng ta vẫn chưa thể giải thích rõ ràng tại sao một kích thích cơ học gây đau được chuyển thành tín hiệu điện, sau đó có thể truyền dọc theo dây thần kinh cảm giác đến hệ thần kinh trung ương. Bản chất bộc lộ của các đầu dây thần kinh cảm giác “tự do” có nghĩa là trục của các sợi này có thể bị căng đáng kể trong quá trình cử động của khớp. Việc xác định gần đây các kênh ion cơ học trên khớp hướng tâm loại III và loại IV bằng phương pháp điện sinh lý đã cung cấp cái nhìn sâu sắc đầu tiên về cơ chế sinh lý chịu trách nhiệm dẫn truyền cơ học ở khớp [25]. Lý thuyết hiện nay cho rằng sự chuyển động của khớp tạo ra ứng suất cắt lên trục của các đầu dây thần kinh “tự do”, dẫn đến việc mở các kênh ion được cơ giới hóa. Điều này dẫn đến sự khử cực của đầu dây thần kinh và tạo ra các điện thế hoạt động, sau đó được truyền đến hệ thống thần kinh trung ương nơi chúng được giải mã thành cảm giác cơ học. Nếu một chuyển động độc hại tác động lên khớp, tốc độ truyền tín hiệu của dây thần kinh hướng tâm sẽ tăng lên đáng kể và hệ thần kinh trung ương sẽ diễn giải hoạt động cảm thụ đau này là đau [26], [27].

1.1.3. Môi quan hệ giữa viêm khớp và đau khớp

Trong quá trình viêm, những thay đổi lớn xảy ra ở hệ thần kinh ngoại biên và trung ương dẫn đến mất ngủ (đau khi đáp ứng với một kích thích thông thường vô hại) và tăng cảm giác đau (cường độ đau tăng cao khi đáp ứng với một kích thích đau thông thường). Một phương tiện tạo ra cơn đau ở các khớp bị viêm là thông qua sự kích thích của cái gọi là “cơ quan cảm nhận đau im lặng”. Những sợi thần kinh hướng tâm này không hoạt động ở các khớp bình thường; tuy nhiên, sau tổn thương mô hoặc gây viêm, các thụ thể đau này sẽ hoạt động và bắt đầu gửi thông tin cảm thụ đau đến hệ thần kinh trung ương [27], [28]. Đầu vào bổ sung này từ ngoại vi bởi “các cơ quan cảm thụ đau im lặng” là một trong những yếu tố góp phần gây ra chứng đau khớp.

Một quá trình bổ sung gây ra cơn đau viêm khớp là sự nhạy cảm ngoại biên trong đó ngưỡng kích hoạt của các cơ quan cảm nhận đau khớp bị giảm và các dây thần kinh hướng tâm trở nên phản ứng nhanh với cả loại chuyển động bình thường và độc hại [27], [29]. Công trình tiên phong của Coggeshall và đồng nghiệp [29] cũng như Schaible và Schmidt [28], [30], [31] cho thấy rằng cảm ứng hóa học của viêm màng hoạt dịch cấp tính bằng cách tiêm kaolin và carrageenan vào nội khớp làm giảm ngưỡng kích hoạt của loại III và loại IV khớp gối hướng tâm. Tần số hoạt động của các dây thần kinh cảm giác cơ học này được tăng cường đáng kể trong quá trình cử động khớp bình thường cũng như trong quá trình duỗi quá mức và quá gấp của đầu gối. Người ta tin rằng sự gia tăng tốc độ dẫn truyền thần kinh này được hệ thống thần kinh trung ương giải thích là đau khớp và quá trình này là cơ sở sinh lý thần kinh cho chứng mất ngủ và tăng cảm giác đau khớp ở các khớp bị viêm cấp tính này. Ngưỡng cơ học giảm và tốc độ phóng điện hướng tâm tăng cao cũng đã được ghi nhận trong bệnh viêm khớp mãn tính do thuốc bổ trợ [32], [33] cũng như trong mô hình động vật bị viêm xương khớp [34]. Hoạt động thần kinh ở trạng thái nghỉ ngơi khi không có bất kỳ kích thích cơ học nào cũng được mô tả trong các mô hình viêm khớp này, điều này phù hợp với sự thức tỉnh của “những cơ quan cảm thụ đau im lặng”. Sự hoạt động tự phát của các dây thần kinh cảm giác khớp này là nguyên nhân gây ra tình trạng đau khớp khi nghỉ ngơi thường được mô tả ở các bệnh nhân viêm khớp.

1.1.4. Nguyên nhân của viêm khớp

Béo phì và rối loạn chuyển hóa: Béo phì là một trong những yếu tố nguy cơ lớn nhất và được xác định rõ ràng nhất của viêm khớp. Các tài liệu hiện tại cho thấy rằng, mặc dù cả hai đều cho thấy mối liên quan trong các nghiên cứu, mối quan hệ giữa béo phì ($BMI > 30$) và viêm khớp hông yếu hơn so với viêm khớp gối ($OR\ 2,81; 95\%CI\ 1,32-5,96$) [35]. Dữ liệu gần đây cho thấy viêm khớp có liên quan đến hội chứng chuyển hóa, gợi ý một cơ chế gây

bệnh phổ biến có thể liên quan đến các bất thường về chuyển hóa và viêm hệ thống. Trong một nghiên cứu sử dụng dữ liệu NHANES III, nguy cơ mắc hội chứng chuyển hóa tăng gấp 5,26 lần ở những người mắc bệnh viêm khớp ở độ tuổi 43,8 (tuổi trung bình của dân số nghiên cứu) [36].

Bệnh mạch máu: có thể vừa khởi đầu vừa thúc đẩy sự tiến triển của bệnh ở bệnh viêm khớp. Điều này có thể là do tắc tĩnh mạch, ứ đọng hoặc viêm tắc mạch dẫn đến giảm lưu lượng máu qua các mạch nhỏ trong xương dưới màng cứng từng đợt. Thiếu máu cục bộ dưới sụn sau đó có thể làm giảm khả năng cung cấp chất dinh dưỡng và trao đổi khí đến sụn khớp, ngoài ra còn gây ra những tác động có hại trực tiếp lên chính xương.

Tuổi tác: Tỷ lệ hiện mắc và tỷ lệ mắc bệnh viêm khớp trên X quang và có triệu chứng tăng đáng kể theo độ tuổi [37], [38]. Mối quan hệ giữa tuổi tác và nguy cơ viêm khớp có thể là do nhiều yếu tố, do hậu quả của nhiều yếu tố riêng lẻ; chúng bao gồm tổn thương do oxy hóa, làm mỏng sụn, suy yếu cơ và giảm khả năng tự nhận cảm. Hơn nữa, các cơ chế tế bào cơ bản duy trì cân bằng nội môi của mô sụn giảm theo tuổi tác, dẫn đến phản ứng không đầy đủ hoặc chấn thương khớp và dẫn đến phá hủy và mất mô khớp.

Loãng xương: Loãng xương, giống như viêm khớp, là một chứng rối loạn xương phổ biến liên quan đến tuổi tác. Mặc dù các kết quả ban đầu cho thấy sự hiện diện của mật độ khoáng xương giảm có thể bảo vệ chống lại viêm khớp, nhưng các nghiên cứu sâu hơn lại không nhất quán với những phát hiện này. Một đánh giá có hệ thống và phân tích tổng hợp về các yếu tố nguy cơ khởi phát viêm xương khớp đầu gối, được xác định bằng tự báo cáo hoặc chụp X quang, đã cho thấy ở người lớn tuổi rằng có mối liên quan chặt chẽ giữa tăng BMD và khởi phát viêm khớp gối ở người lớn tuổi. ba nghiên cứu điều tra yếu tố nguy cơ này ở phụ nữ [39]. Mặc dù cơ sở phân tử xác định và sinh lý bệnh thông thường chưa được xác định để giải thích mối quan hệ

ngịch đảo giữa viêm khớp và loãng xương, một thành phần di truyền chung có thể giải thích tại sao chúng hiếm khi cùng tồn tại.

Chấn thương: chấn thương là một trong những yếu tố nguy cơ lớn nhất dẫn đến bệnh viêm khớp gối. Các chấn thương cấp tính, bao gồm rách sụn chêm, gãy xương và trật khớp, có thể làm tăng nguy cơ phát triển viêm khớp và các triệu chứng cơ xương khớp. Ngoài tổn thương trực tiếp của các mô cục bộ do chấn thương, sự phá vỡ cơ chế sinh học bình thường và sự phân bố tải trọng bị thay đổi trong khớp cũng góp phần làm tăng nguy cơ viêm khớp sau đó. Nguy cơ này vẫn cao hơn nếu đối tượng bị viêm khớp ở khớp khác.

Tải khớp lặp đi lặp lại và quá mức, đi kèm với các hoạt động thể chất cụ thể, làm tăng nguy cơ phát triển viêm khớp ở các khớp liên quan. Những công nhân có công việc đòi hỏi phải kẹp chặt nhiều lần đã làm tăng nguy cơ viêm khớp bàn tay trên chụp X quang, đặc biệt là ở khớp DIP [37]. Ngồi xổm và quỳ kéo dài gây căng thẳng cho các khớp lớn hơn và do đó có liên quan đến việc tăng nguy cơ viêm khớp gối trên X quang từ trung bình đến nặng [28]. Đã có những kết quả trái ngược nhau trong các nghiên cứu kiểm tra mối quan hệ giữa các hoạt động thể thao và viêm khớp sau đó. Có một số bằng chứng cho thấy những vận động viên chạy đường dài ưu tú có nguy cơ cao mắc bệnh viêm khớp đầu gối và hông [38]. Các nghiên cứu khác cho thấy rằng trong trường hợp không có chấn thương khớp, việc chạy bộ giải trí và tham gia thể thao ở mức độ vừa phải dường như không làm tăng nguy cơ phát triển viêm khớp hông hoặc đầu gối trên X quang [39].

1.1.5. Triệu chứng và chẩn đoán viêm khớp

Bác sĩ lâm sàng phải phân biệt viêm khớp có triệu chứng với các thực thể khác có thể gây đau hông hoặc đầu gối, bao gồm viêm khớp (ví dụ như viêm khớp dạng thấp và vẩy nến), viêm khớp do nhiễm trùng và tinh thể (ví dụ như bệnh gút, giả gút) và các tổn thương mô mềm như viêm bao hoạt dịch, viêm gân và rách sụn chêm [40].

Viêm khớp có thể đau kéo dài hơn một giờ. Con đau do viêm khớp nhiễm trùng và viêm khớp tinh thể thường cấp tính. Những người bị đau vùng sau xương bánh chè có thể bị viêm khớp xương bánh chè, bệnh có thể tồn tại đơn độc hoặc kèm theo sự hiện diện của viêm khớp chày đùi. Do khớp xương bánh chè chịu tải khi gập đầu gối nên viêm khớp xương bánh chè đặc biệt đau khi bệnh nhân lên xuống cầu thang, ra vào ô tô hoặc tắm [41].

Khi khám thực thể, tràn dịch khớp gối thường không có hoặc ít và lạnh. Những người bị tràn dịch có thể có u nang vùng khoeo hoặc u nang “Bakers”, là phần mở rộng của sung màng hoạt dịch có thể sờ thấy ở mặt sau của đầu gối. Ngược lại, đầu gối thường có dịch tiết âm, dễ sờ thấy trong viêm khớp, viêm khớp nhiễm trùng và tinh thể. Các tổn thương mô mềm như viêm bao hoạt dịch anserine và viêm bao hoạt dịch trochanteric là ngoài khớp và không gây tràn dịch khớp. Tràn dịch không thể được phát hiện khi khám thực thể các khớp lõm như khớp háng. Viêm khớp nhiễm trùng, kết tinh và các loại viêm khác có thể được phân biệt rõ ràng với viêm khớp vì số lượng bạch cầu trong dịch khớp vượt quá 2000 tế bào/cc trong những rối loạn này.

Độ nhạy, độ đặc hiệu và tỷ lệ khả năng của các yếu tố khác nhau của khám thực thể và đặc điểm X quang đối với viêm khớp hông và đầu gối. Sự mở rộng xương khi khám thực thể là đặc hiệu (95%) đối với viêm khớp gối, mặc dù hơi không nhạy cảm (55%), trong khi crepitus nhạy cảm (89%) mặc dù hơi không đặc hiệu (58%). Gai xương trên X quang đầu gối đều có độ nhạy (91%) và khá đặc hiệu (83%). Sự kết hợp giữa gai xương và đau đầu gối có độ nhạy tốt (83%) và độ đặc hiệu (93%), với tỷ lệ khả năng là 11,9 [42]. Các đặc điểm bệnh lý và triệu chứng của viêm khớp có thể xảy ra trước khi có gai xương trên X quang. Vì vậy, X quang bình thường không loại trừ được viêm khớp.

MRI hiếm khi được chỉ định trong đánh giá hoặc quản lý viêm khớp gối hoặc hông. MRI phát hiện những thay đổi ở sụn, sụn chêm (đầu gối), môi

âm hộ (hông), xương và màng hoạt dịch, cung cấp một bức tranh đầy đủ hơn về sự liên quan bệnh lý [43]. Do độ nhạy cao của MRI rất hữu ích cho các nghiên cứu nhằm xác định sớm viêm khớp và ghi lại những thay đổi về cấu trúc theo thời gian. Trong chăm sóc lâm sàng, MRI có thể hữu ích nếu có nghi ngờ về các tình trạng như gãy xương dưới sụn, khối u hoặc nhiễm trùng sẽ được điều trị khác và khẩn cấp hơn viêm khớp.

Siêu âm có thể hình dung tình trạng tràn dịch khớp, gai xương và các đặc điểm khác [44]. So với MRI, siêu âm có độ nhạy và độ đặc hiệu vượt quá 85% trong việc phát hiện gai xương. Siêu âm không chính xác bằng MRI trong việc đánh giá mức độ thu hẹp không gian khớp [45]. Vì siêu âm ít tốn kém và dễ mang theo hơn MRI nên nó được sử dụng thường xuyên ở châu Âu và ngày càng nhiều trung tâm ở Hoa Kỳ trong chẩn đoán viêm khớp và đánh giá tiến triển.

1.1.6. Điều trị viêm khớp

Thuốc chống viêm không steroid (NSAID) là phương pháp điều trị được lý đầu tiên cho bệnh viêm khớp. NSAID có độc tính quan trọng, bao gồm kích ứng và loét đường tiêu hóa, chảy máu và giảm lưu lượng máu qua thận khi tăng nitơ huyết. Bệnh nhân đang dùng thuốc chống đông máu muốn dùng NSAID nên sử dụng thuốc ức chế COX-2 (chẳng hạn như celecoxib), loại thuốc này không làm tăng chảy máu. Những người mắc chứng khó tiêu nên sử dụng thuốc ức chế bơm proton và/hoặc thuốc ức chế COX-2. Bệnh nhân có tiền sử loét dạ dày tá tràng chảy máu thường không được kê đơn thuốc NSAID. Các yếu tố nguy cơ xuất huyết tiêu hóa do NSAID bao gồm tuổi già, bệnh lý đi kèm và sử dụng đồng thời corticosteroid và thuốc chống đông máu [46]. Những người mắc bệnh tim mạch hoặc thận có nguy cơ bị nhiễm độc thận; nên thảo luận về các lựa chọn thay thế cho NSAID. Acetaminophen kém hiệu quả hơn NSAID trong việc kiểm soát viêm khớp đầu gối (SMD 0,05) và hông (SMD 0,23) [47], [48]. Đây là lựa chọn

thay thế hợp lý, an toàn cho những người không dung nạp NSAID, nhưng không nên sử dụng ở những người mắc bệnh gan hoặc có các yếu tố nguy cơ như nghiện rượu nặng.

Những bệnh nhân không thể dùng NSAID hoặc không đáp ứng có thể thử tiêm corticosteroid vào khớp để giảm đau trong vài tuần [49]. Chúng đặc biệt hữu ích ở những bệnh nhân bị viêm khớp ở một khớp duy nhất có thể tiêm dễ dàng, chẳng hạn như đầu gối và khớp hông, thường được tiêm dưới sự hướng dẫn của hình ảnh (soi huỳnh quang hoặc siêu âm). Tiêm corticosteroid không có tác dụng giảm đau nhiều hơn giả dược sau ba tháng [50], và có thể kém hơn so với vật lý trị liệu sau một năm [51]. Một công thức tiêm steroid mới hơn (triamcinolone acetonide phóng thích kéo dài) dường như có ít tác dụng toàn thân hơn so với tiêm steroid truyền thống [52]. Một số nghiên cứu cho rằng tiêm steroid vào khớp có thể có tác dụng có hại cho sụn [50], [53]; ý nghĩa lâm sàng của những phát hiện này vẫn chưa được biết.

Đau do viêm xương khớp có thể được điều trị một phần nhờ các cơ chế trong hệ thần kinh trung ương. Một số loại thuốc đã được sử dụng để giải quyết cơn đau có nguồn gốc từ hệ thần kinh trung ương. Duloxetine, một chất ức chế tái hấp thu serotonin-norepinephrine, đã được chứng minh trong các thử nghiệm ngẫu nhiên là mang lại hiệu quả giảm đau tốt hơn so với giả dược ở những người bị viêm khớp gối [54], [55].

1.2. TỔNG QUAN VIÊM KHỚP VÀ ĐAU KHỚP THEO Y HỌC CỔ TRUYỀN

1.2.1. Đại cương chứng tý

1.2.1.1. Định nghĩa

Tý là từ gọi tắt cho sự bế tắc, chứng tý là do chính khí cơ thể bất túc, vệ ngoại bất cố, ngoại tà (phong, hàn, thấp, nhiệt) xâm phạm cơ thể làm cho kinh lạc bế tắc mà dẫn tới khí huyết vận chuyển bất thông. Trên lâm sàng biểu hiện chủ yếu là đau ở cơ, gân cốt, khớp xương, nặng nề, tê buốt, sưng và nóng thậm chí còn có thể gây phù nề và biến dạng khớp [56].

1.2.1.2. *Phân loại*

- Trong nội kinh ở kinh văn 36 có bàn về ba thứ tà khí phong, hàn, thấp hợp nhau mà thành chứng tý. Trong đó phong mạnh hơn thì thành hành tý, hàn mạnh hơn thì thành thống tý, thấp mạnh hơn thì thành trước tý [57].
- Hành tý là đau nhức chạy chỗ này qua chỗ khác. Thiên phong luận nói: “Tính của phong là hay chạy mà hay biến đổi”, cho nên phong khí thắng thì thành chứng hành tý. Các chứng đau nhức chạy khắp xương khớp là chứng này.
- Thống tý là rất ít di động, đau nhức dữ dội. Cụ Trương Cảnh Nhạc nói: “Khí âm hàn khách vào khoảng da thịt gân xương, thì ngưng kết lại, dương khí không lưu hành được, cho nên đau không thể chịu nổi. Lại nói hàn làm cho khí huyết ngưng trệ lại, ngưng lại thì mạch không thông, không thông thì đau”.
- Trước tý là thể đau không dữ, có cảm giác nặng nề. Cụ Trương Cảnh Nhạc nói: “Trước tý là thân thể nặng nề mà không di động được hoặc sinh đau nhức hoặc sinh tê dại, thấp tà theo thổ hóa, nên bệnh phần nhiều phát ở cơ nhục” [57].
- Theo kinh văn 36 còn chia chứng tý theo mùa thành 5 loại: mùa đông mà mắc bệnh thì là cốt tý, mùa xuân mắc bệnh gọi là cân tý, mùa hạ mắc bệnh gọi là mạch tý, mùa trưởng hạ mắc bệnh gọi là nhục tý, mùa thu mắc bệnh gọi là bì tý [57].
- Hơn nữa theo kinh văn 37 cho biết nếu bệnh tý mà để lâu không chữa sẽ ảnh hưởng vào ngũ tạng tương ứng, tức tà khí lưu lại ở phần biểu lâu ngày không giải thì sẽ xâm nhập vào tạng phối hợp với nó; cho nên chứng cốt tý không khỏi, nếu lại bị cảm tà khí nữa thì sẽ lưu ở thận; tương ứng như vậy thì mạch tý sẽ vào tâm; cơ tý sẽ vào can; nhục tý sẽ vào tỳ; bì tý sẽ vào phế [57].

1.2.1.3. Nguyên nhân sinh bệnh

Phong hàn thấp nhiệt xâm nhập: do bệnh nhân sống ở nơi ẩm thấp, khí hậu nóng lạnh thay đổi đột ngột nên phong hàn thấp nhiệt nhân lúc có thể hư yếu mà xâm nhập, lưu trú ở kinh lạc, gây trở trệ bế tắc ở các khớp dẫn tới khí huyết không lưu thông mà gây ra chứng tý. Tùy thuộc vào ngoại cảm tà khí có mức độ mạnh yếu khác nhau mà sinh ra hành tý, trước tý hay là thống tý. Ngoài ra nếu do phong thấp nhiệt hoặc do phong hàn thấp uất trệ hóa nhiệt, ú trệ ở cơ khớp gây sưng nóng đỏ đau các khớp, tạo thành một thể khác là nhiệt tý.

Vì điều trị sai cách, dùng quá nhiều các loại thuốc khứ phong táo thấp, ôn tán hàn thấp, thanh nhiệt táo thấp mà bệnh không khỏi, lâu dần làm cho hao thương khí huyết, tổn thương âm dịch gây khí trệ huyết ú, đàm trọc trệ lạc, đàm và ú phối hợp nên trệ, tắc kinh lạc gây sưng nề các khớp, có thể gây biến dạng khớp [56].

1.2.2. Biện chứng luận trị

1.2.2.1. Biện chứng tà khí

Triệu chứng đặc trưng của chứng tý có sự khác nhau bởi do tà khí gây bệnh nếu phong thắng thì có tính chất đau di chuyển, nếu hàn thắng đau nhức dữ dội gặp lạnh đau tăng trờm ẩm đau giảm, nếu thấp thắng thì đau có tính chất nặng nề, nhức nhối, tê buốt. Còn đau kèm theo sưng nóng đỏ thì thuộc nhiệt tý [56].

1.2.2.2. Biện chứng hư thực

- Thực chứng: bệnh mới mắc, bệnh khởi phát cấp, chính khí và tà khí chống nhau gây đau dữ dội, mạch thực có lực.
- Hư chứng: bệnh lâu ngày, bệnh tình kéo dài, chính khí hư suy nên tính chất đau âm ỉ, mạch hư vô lực [56].

1.2.2.3. Biện chứng đàm ú

Bệnh thường do chính hư tà biến, huyết ú trệ lạc, đàm trệ kinh lạc, đàm và ú kết hợp làm kinh lạc không thông mà sinh ra cứng khớp, biến dạng khớp, đau như kim châm, đau cố định lúc tăng lúc giảm, đau nhiều về đêm, co duỗi khớp khó khăn, lưỡi bệu và có điểm ú huyết, mạch trầm huyền sáp [56].

1.2.3. Nguyên tắc điều trị

- Nguyên tắc điều trị cơ bản của chứng tý là khứ tà hoạt lạc, hoãn cấp chỉ thống.
- Giai đoạn sau của chứng tý thì dùng phối hợp các thuốc bổ tích chính khí.
- Điều trị cho chứng phong tý thì dùng các vị thuốc tán phong phối hợp với các thuốc bổ huyết, vì nếu dùng các vị phong táo thời gian dài sẽ gây hao huyết.
- Điều trị cho chứng hàn tý thì dùng các vị thuốc tán hàn kèm các vị thuốc bổ khí, ôn dương để làm cho dương khí sung túc sẽ tăng cường tán hàn và thông trệ.
- Điều trị cho chứng trọc tý thì nên dùng các vị thuốc thấm thấp hóa trọc kèm các vị thuốc kiện tỳ táo thấp, vì tỳ khí thịnh vượng thì sẽ trừ được thấp.
- Điều trị cho chứng nhiệt tý thì dùng các vị thuốc thanh nhiệt và giải uất nhiệt nhưng phải kèm các vị thuốc trợ tỳ để tránh các vị thuốc có tính đắng lạnh mà làm hao tỳ khí.
- Ngoài ra can chủ cân, thận chủ cốt nên đối với chứng tý lâu ngày nên kết hợp thêm các vị bồi bổ can thận [56].

1.3. TỔNG QUAN VỀ SẢN PHẨM VIÊN NANG KHỚP BẢO AN

1.3.1. Nguồn gốc xuất xứ

Khớp Bảo An lấy nguồn gốc là một bài thuốc nam kinh nghiệm, được dân gian sử dụng điều trị các bệnh lý xương khớp rất có hiệu quả. Khớp Bảo

An gồm các thành phần sau: Dây đau xương, Cốt toái bổ, Ngưu tất nam, Tục đoạn, Cốt khí củ, Kê huyết đằng, Thổ phục linh, Hoàng bá nam, Quế chi.

1.3.2. Phân tích tác dụng của viên nang Khớp Bảo An theo y học hiện đại

Trong viên nang Khớp Bảo An có sự phối hợp của 9 vị thuốc nhằm tác dụng giảm đau chống viêm cho các bệnh lý viêm khớp cấp tính và mãn tính trong đó có:

1.3.2.1. Dây đau xương

Tên khoa học: *Caulis Tinosporae sinensis*.

Bộ phận dùng: Thân đã thái phiến, phơi hay sấy khô của cây Dây Đau Xương *Tinospora tomentosa* Miers. Syn. *Tinospora sinensis* (lour) Merr, họ Tiết dê (Menispermaceae) [58].

Thành phần hóa học chính: Alkaloid.

Tác dụng chính: Phần EtOAc của chiết xuất etanolic từ thân cây *Tinospra sinensis* có tác dụng chống viêm khớp, có thể là do ức chế sản xuất các cytokine gây viêm và điều chỉnh giảm đường truyền tín hiệu MAPK và cho rằng các flavonoid bao gồm rutin, quercetin và isorhamnetin có thể là thành phần chủ yếu có hiệu quả trong chiết xuất thô [59]. Chiết xuất ethanol và nước từ cây *Tinospora sinensis* cho chuột uống thì thấy lượng bạch cầu tăng đáng kể ($P < 0,001$) [60].



Hình 1. 1 Dây Đau Xương

1.3.2.2. *Cốt toái bổ*

Tên khoa học: *Rhizoma Drynariae*.

Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Cốt Toái Bổ còn gọi là Tắc kè đá *Drynaria fortunei* J.Sm, họ Dương xỉ (Polypodiaceae) [58].

Thành phần hóa học chính: Naringin.

Tác dụng chính: Tăng cường sự hấp thu canxi của xương, nâng cao lượng photpho và canxi trong máu giúp nhanh liền xương, thuốc có tác dụng giảm đau và an thần. Ngoài ra còn có thể làm giảm lipit máu và phòng ngừa chứng xơ vữa mạch máu [61].



Hình 1. 2 Cốt Toái Bổ

1.3.2.3. *Tục đoạn*

Tên khoa học: *Radix Dipsaci*.

Bộ phận dùng: Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tục Đoạn *Dipsacus japonicus* Miq, thuộc họ Tục đoạn (Dipsacaceae) [58].

Thành phần hóa học chính: Alkaloid, benzene.

Tác dụng chính: Tục đoạn có tác dụng làm thoát mủ đối với ung nhọt, cầm máu, giảm đau, có tác dụng làm tăng nhanh các tổ chức tái sinh. Ngoài ra dùng liều 0.2-0.3g cao đối với 1kg thể trọng chó mèo thì thấy huyết áp tăng lên, nhịp tim tăng nhanh lên [61].



Hình 1. 3 Tục Đoạn

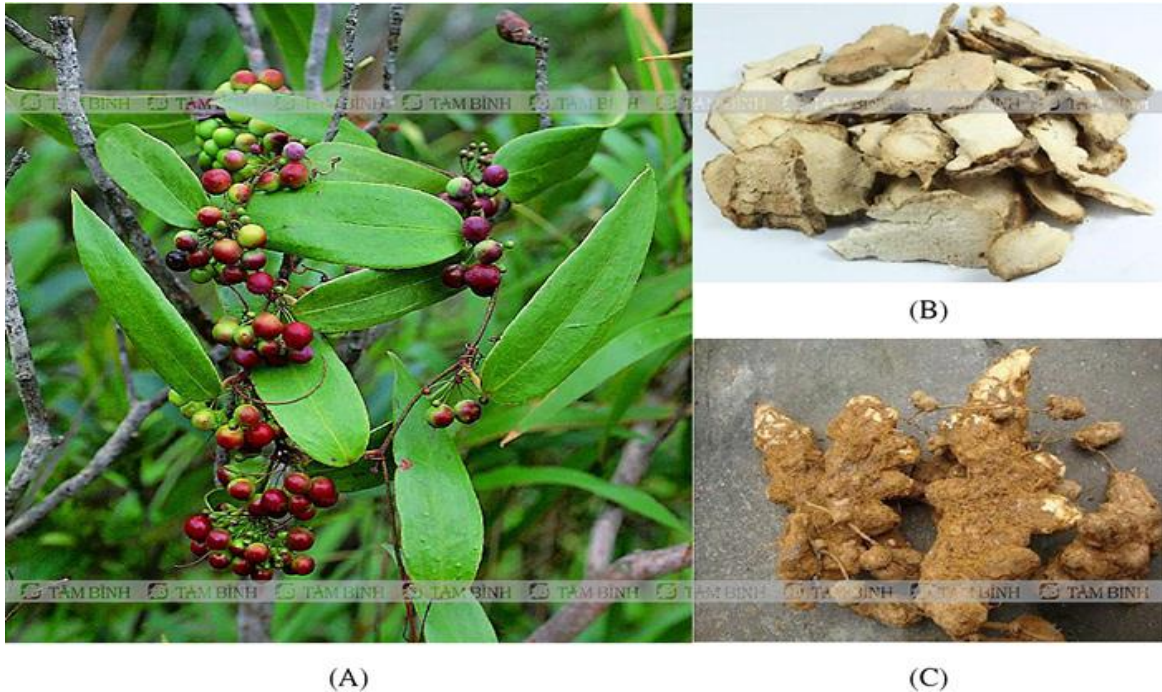
1.3.2.4. *Thỏ phục linh*

Tên khoa học: *Rhizoma Smilacis glabrae*.

Bộ phận dùng: Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thỏ Phục Linh *Smilax glabra Roxb*, thuộc họ Kim Cang (Smilacaceae) [58].

Thành phần hóa học chính: saponin, tan-nin, resin.

Tác dụng chính: Astilbin, một hợp chất flavonoid, được phân lập từ thân rễ của *Smilax glabra Roxb*. Nếu uống astilbin hàng ngày ở mức 5,3 mg/kg đã làm giảm tổn thương khớp ở chân sau của chuột AA. Theo đó, astilbin thể hiện tác dụng ức chế đáng chú ý đối với biểu hiện TNF- α , IL-1 β và IL-6 mRNA. Sự giảm đáng kể nồng độ cytokine trong huyết thanh của TNF- α , IL-1 β và IL-6 cũng được quan sát thấy ở chuột AA được điều trị bằng astilbin so với chuột AA được điều trị bằng phương tiện khác [62].



Hình 1. 4 Thỏ Phục Linh

1.3.2.5. *Ngưu tất nam*

Tên khoa học: *Radix Achyranthes bidentatae*.

Bộ phận dùng: Rễ phơi hay sấy khô của cây Ngưu Tất *Achyranthes bidentata*, họ rau dền (Amaranthaceae) [58].

Thành phần hóa học chính: saponin triterpenoid, carbohydrat.

Tác dụng chính: Dùng *Achyranthes aspera* qua đường uống cho thấy tác dụng bảo vệ đáng kể ($p < 0,01$) phụ thuộc vào liều lượng chống lại bệnh viêm khớp do formaldehyde gây ra. Vào ngày thứ 21, *Achyranthes aspera* cho thấy sự ức chế thể tích chân ở các liều khác nhau 250 mg/kg và 500 mg/kg lần lượt là 30% và 38,33%. Vào ngày thứ 14, tỷ lệ sưng khớp lần lượt là 27,2% và 36,36%. Diclofenac (10 mg/kg) có tác dụng ức chế viêm khớp và sưng khớp 36,61% ở ngày thứ 21 và 14 [63].



Hình 1. 5 Nguu Tất Nam

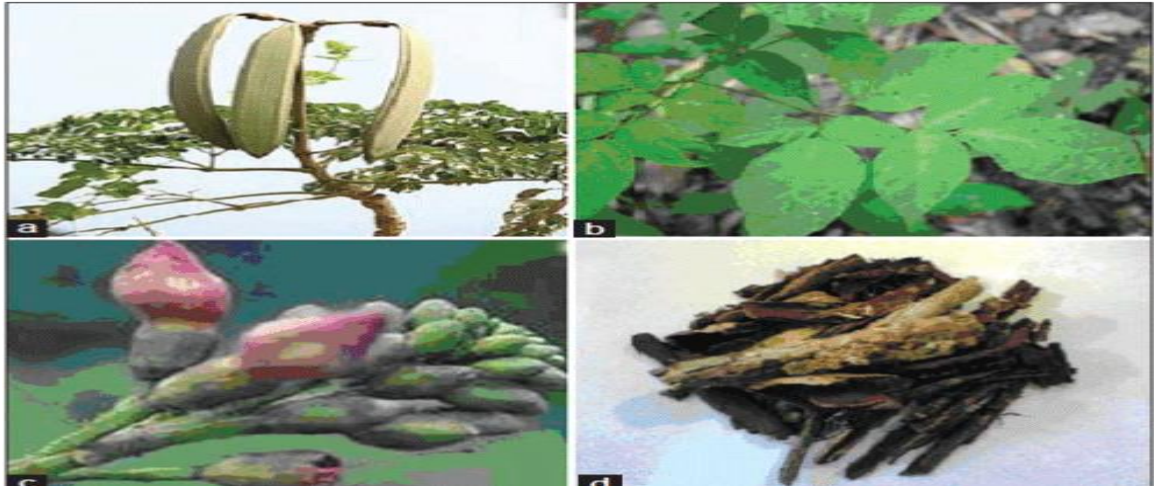
1.3.2.6. *Hoàng bá nam*

Tên khoa học: *Cortex Oroxyli indici*.

Bộ phận dùng: Vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Núc Nác *Oroxylum indicum Vent.* Thuộc họ Chùm ớt (Bignoniaceae) [58].

Thành phần hóa học chính: alkaloid.

Tác dụng chính: Sau khi được chiết trong dung môi hữu cơ, 3 liều riêng biệt, 100, 200 và 400 mg/kg thể trọng. Gây phù nề chân chuột bằng cách sử dụng carrageenan làm tác nhân gây phù nề, sau đó tiêm vào chân trái của chuột lần lượt các liều của vỏ cây Hoàng bá nam đã được chiết xuất thì thấy mức độ phù nề giảm 37,50%, 48,34% và 55,83% trong khi liều sử dụng là 100, 200 và 400 mg/kg thể trọng riêng lẻ. Ngoài ra *Oroxylum indicum* còn có thể làm giảm lipid máu và hạ đường huyết [64].



Hình 1. 6 Hoàng Bá Nam

1.3.2.7. *Kê huyết đằng*

Tên khoa học: *Caulis Spatholobi suberecti*.

Bộ phận dùng: Thân thái phiến, phơi hay sấy khô của cây Huyết Đằng *Spatholobus suberectus*, họ huyết đằng (Sargentodoxaceae) [58].

Thành phần hóa học chính: Tanin, Flavonoid, nhựa.

Tác dụng chính: Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng chiết xuất và thành phần nguyên chất từ Kê huyết đằng có phổ tác dụng dược lý in vitro và in vivo, chẳng hạn như tác dụng chống khối u, tạo máu, chống viêm, trị đái tháo đường, chống oxy hóa, kháng vi-rút và kháng khuẩn, cũng như các hoạt động khác. Kê huyết đằng có thể được áp dụng để điều trị leukopenia, thiếu máu bất sản, endometriosis, v.v. Theo các báo cáo lâm sàng. Hiệu quả truyền thống của Kê huyết đằng là do chức năng sinh học của các hợp chất hóa học của nó, đặc biệt là flavonoid [65].



Hình 1. 7 Kê Huyết Đằng

1.3.2.8. *Cốt khí củ*

Tên khoa học: *Radix Polygoni cuspidati*.

Bộ phận dùng: Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Cốt Khí *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc., thuộc họ rau răm (Polygonaceae) [58].

Thành phần hóa học chính: Stiben đặc biệt là Resveratrol.

Tác dụng chính: Resveratrol cải thiện đáng kể điểm đáng đi và tình trạng viêm màng hoạt dịch của chuột mắc viêm khớp do gout và ức chế tình trạng viêm phúc mạc do MSU gây ra. Resveratrol ức chế sự kích hoạt các dòng siêu nhỏ NLRP3 do MSU gây ra bằng cách giảm mức độ IL-1 β , IL-18 và Caspase-1 cũng như quá trình pyroptosis của đại thực bào. Ngoài ra, Resveratrol làm tăng mức độ tiềm năng màng ty thể, ức chế sự biểu hiện của P62 và Pink1, tăng cường các biểu hiện của LC3B-II, Parkin và TOMM20, đồng thời thúc đẩy quá trình giảm phân, trong khi các chất ức chế giảm thiểu đảo ngược tác dụng ức chế của Resveratrol khi kích hoạt dòng siêu nhỏ NLRP3 [66].



Hình 1.8 Cốt Khí Củ

1.3.2.9. Quế chi

Tên khoa học: *Cortex Cinnantomi*.

Bộ phận dùng: Vỏ thân hoặc vỏ cành đã chế biến và phơi khô của cây Quế *Cinnamomum cassia* Presl., thuộc họ Long não (Lauraceae) [58].

Thành phần hóa học chính: Diterpenoid, Terpenoid.

Tác dụng chính: Terpenoid là hợp chất chính trong tinh dầu *Cinnamomum cassia*. Tinh dầu thực vật có rất nhiều chức năng sinh học và hoạt động sinh lý quan trọng. Tinh dầu có tác dụng kháng khuẩn, kháng virus, chống ung thư và chống viêm mạnh là thành phần đặc trưng chính của họ Lauraceae. Ngoài ra còn có hợp chất Diterpenoid có thể là chất điều hòa miễn dịch tự nhiên có hiệu quả tiềm năng trong điều trị các bệnh tự miễn, nguyên nhân khối u và các bệnh viêm mãn tính [67].



Hình 1.9 Quế Chi

1.3.3. Phân tích tác dụng của viên nang Khớp Bảo An theo y học cổ truyền

Trong sản phẩm Khớp Bảo An có Dây đau xương vị đắng, tính mát quy vào kinh can; công năng là khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc; chủ trị chính cho các bệnh phong thấp tê dại, đau nhức xương khớp, dùng ngoài để đắp cho chấn thương kín làm quân dược [58], [68].

Ngưu tất nam vị đắng và chua, tính bình, quy kinh can thận; công năng hoạt huyết khứ ứ, bổ can thận mạnh gân xương; chủ trị phong thấp, đau nhức xương khớp, đau lưng [58], [68]. Thổ phục linh vị nhạt tính bình, quy kinh can vị; công năng trừ thấp, giải độc, thông lợi các khớp; chủ trị lở ngứa, đau nhức xương khớp [58]. Hoàng bá nam vị đắng tính hàn, quy kinh bàng quang và tỳ; công năng thanh nhiệt lợi thấp; chủ trị mẩn ngứa dị ứng, bàng quang thấp nhiệt [69]. Cả 3 vị thuốc trên hỗ trợ cho công năng khu phong trừ thấp, thông kinh hoạt lạc, chỉ thống của vị thuốc dây đau xương nên làm thân dược.

Cốt toái bổ vị đắng tính ấm, quy vào kinh can thận; công năng bổ thận, phá huyết, làm liền xương, chỉ thống; chủ trị cho các chứng bong gân, gãy xương, đau do chấn thương, bổ thận [69]. Tục đoạn vị cay đắng, tính ấm; quy kinh can thận; công năng bổ can thận, liền gân xương, thông huyết mạch; chủ

trị chấn thương, phong thấp, đau lưng mỏi gối [69]. Cốt khí củ vị đắng nhẹ, tính vi hàn, quy kinh can đờm phế; công năng trừ thấp, chỉ ho, hóa đờm; chủ trị xương khớp đau nhức, ho nhiều có đờm. 3 vị thuốc trên bổ mạnh gân xương, thư cân hoạt lạc nên làm tá dược.

Kê huyết đằng vị cay ngọt, tính ấm, quy kinh can thận; công năng hoạt huyết thông lạc, bổ huyết; chủ trị huyết hư huyết trệ, chấn thương tụ huyết, đau xương khớp do huyết ứ, vì khu phong trừ thấp nhiều sẽ làm hao huyết nên Kê huyết đằng làm tá dược để bù lại lượng huyết hao đi [58].

Quế chi vị cay ngọt tính ấm, quy kinh phế tâm bàng quang; công năng giải biểu hàn, thông dương khí, thông kinh hoạt lạc; chủ trị khí huyết ứ trệ, cảm mạo phong hàn [69]. Quế chi vào kinh thái dương vừa trừ độc thấp nhiệt vừa hỗ trợ dương khí ở biểu phận mà góp phần giúp cho các vị thuốc còn lại phát huy tác dụng tối đa nên làm sứ dược [58].

Bảng 1.1 Phân loại các vị thuốc

Phân loại	Các vị thuốc
Quân dược	Dây đau xương
Thần dược	Ngưu tất nam, Thổ phục linh, Hoàng bá nam
Tá dược	Kê huyết đằng, Cốt khí củ, Tục đoạn, Cốt toái bổ
Sứ dược	Quế chi

1.4. TỔNG QUAN VỀ MÔ HÌNH GIẢM ĐAU, CHỐNG VIÊM TRÊN ĐỘNG VẬT THÍ NGHIỆM

Bảng 1.2 Tổng quan các mô hình giảm đau, chống viêm trên động vật thí nghiệm

STT	Tên mô hình	Mục đích	Chỉ số đánh giá
1	Gây phù chân chuột bằng carrageenin	Đánh giá tác dụng chống viêm cấp	Thể tích, độ dày chân chuột, khả năng ức chế phản ứng phù
2	Gây u hạt bằng amiant	Đánh giá tác dụng chống viêm mạn	Trọng lượng hạt
3	Gây phù chân chuột bằng FCA	Đánh giá tác dụng chống viêm mạn	Thể tích, độ dày chân chuột, khả năng ức chế phản ứng phù
4	Mô hình mâm nóng (hot plate)	Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương	Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt
5	Mô hình tail-flick (vẫy đuôi chuột)	Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương	Thời gian phản ứng của chuột với nguồn nhiệt
6	Mô hình tail-immersion (nhúng đuôi)	Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương	Thời gian phản ứng của chuột với nguồn nhiệt
7	Mô hình gây đau quặn	Đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên	Thời gian phản ứng của chuột và số cơn đau
8	Phương pháp rê kim	Đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên	Lực tác động và thời gian tác động

Mô tả nguyên lý của một số mô hình giảm đau chống viêm trên thực nghiệm:

Mô hình gây phù chân chuột Carrageenin: Tiêm dung dịch Carrageenin 1% vào dưới da gan bàn chân phải của chuột. Đo thể tích chân chuột, xác định mức độ phù chân chuột. So sánh độ tăng thể tích trung bình chân chuột giữa nhóm dùng thuốc và nhóm đối chứng.

Mô hình gây u hạt bằng Amiant: Cây hạt Amiant đã tuyệt trùng vào da gáy của chuột. Sau khi cấy u hạt, chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử trong vòng 6 ngày liên tục. Ngày 7, bóc tách khối u hạt, sấy khô ở nhiệt độ 56°C trong 18 giờ. Cân trọng lượng u hạt sau khi đã được sấy khô.

Mô hình mâm nóng (Hot Plate): Đưa chuột lên mâm nóng luôn duy trì ở nhiệt độ 56°C . Thời gian phản ứng với kích thích nhiệt được tính từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột có phản xạ liếm chân sau. Loại bỏ những chuột có phản xạ quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm (sau 30 giây). So sánh thời gian phản ứng với kích thích nhiệt nước và sau khi uống thuốc thử và so sánh giữa các lô chuột với nhau.

Phương pháp rê kim: Tác dụng một lực tăng dần lên chân sau của chuột bằng một kim đầu tù. Khi đạt đến ngưỡng chuột phản ứng lại bằng cách rút chân ra khỏi kích thích đau. Kim đầu tù được nối với một máy đo tự động ghi lại lực tác động và thời gian tác dụng lên chân chuột khi chuột rút chân ra khỏi kích thích đau.

Mô hình đau quặn: Tiêm dung dịch Acid acetic 0,6% liều 0,1ml/10g thể trọng vào màng bụng. Thời gian xuất hiện cơn đau quặn bụng, theo dõi và đếm số cơn đau trong 20 phút. So sánh giữa các lô và tính % ức chế đau quặn.

Mô hình Tail- immersion (nhúng đuôi): Đưa đuôi chuột tiếp xúc với nước nóng, khoảng cách đo được xác định giống nhau cho mọi chuột là khoảng 5cm tính từ đầu mút đuôi chuột. Khi xuất hiện phản xạ cong đuôi, máy đo tự động xác định thời gian phản ứng của chuột với nguồn nhiệt.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu

Viên nang Khớp Bảo An được sản xuất bởi Công ty Cổ phần Nhà máy Bách Thảo Dược, đạt tiêu chuẩn cơ sở.

Mỗi viên nang Khớp Bảo An chứa 458 mg cao hỗn hợp tương đương với 4,58g dược liệu khô, thành phần như bảng 2.1. Hàm lượng viên (bao gồm cả tá dược) là 480mg.

Bảng 2.1. Thành phần các vị thuốc trong viên nang Khớp Bảo An

Thành phần	Tên khoa học	Khối lượng dược liệu khô (mg)/viên	Tiêu chuẩn dược liệu
Dây đau xương	<i>Caulis Tinosporae sinensis</i>	1000	DĐVN V
Cốt toái bồ	<i>Rhizoma Drynariae</i>	500	DĐVN V
Ngưu tất nam	<i>Radix Achyranthes bidentatae</i>	500	DĐVN V
Tục đoạn	<i>Radix Dipsaci</i>	500	DĐVN V
Cốt khí củ	<i>Radix Polygoni cuspidati</i>	500	DĐVN V
Kê huyết đằng	<i>Caulis Spatholobi suberecti</i>	500	DĐVN V
Thổ phục linh	<i>Rhizoma Smilacis glabrae</i>	500	DĐVN V
Hoàng bá nam	<i>Cortex Oroxyli indicis</i>	500	DĐVN V
Quế chi	<i>Cortex Cinnantomi</i>	80	DĐVN V
Phụ liệu: bột talc, magnesi stearate, natri benzoat			
Tổng		4.580mg (4,58g)	

Thuốc được đóng vỉ 10 viên; mỗi hộp có 3 vỉ, 5 vỉ, 6 vỉ, 10 vỉ.

Liều dùng dự kiến trên người: mỗi lần uống 2 - 4 viên, ngày 2 - 3 lần.

Liều trung bình dự kiến trên lâm sàng là 09 viên/ngày, tương đương 41,22g dược liệu khô/ngày/người (hay 4.122mg cao/ngày/người). Tính trung bình một người 50kg thì liều dùng dự kiến trên người sẽ là 0,8244g dược liệu khô/kg/ngày (82,44mg cao/kg/ngày), tương đương liều 9,8928g/kg/ngày trên chuột nhắt trắng với hệ số ngoại suy là 12 và liều 5,7708g/kg/ngày trên chuột cống trắng với hệ số ngoại suy là 7.

2.1.2. Thuốc đối chứng và hóa chất dùng trong nghiên cứu

+ Nước cất 2 lần

+ Diclofenac sodium nguyên chất (100,0%), 150mg/lọ, đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V, do Viện Kiểm nghiệm thuốc TƯ cung cấp, SKS: 0619047.05.

+ Codein phosphat dạng bột, do Viện Kiểm nghiệm thuốc TƯ cung cấp, SKS: 0036721.04.

+ Aspegic (Lysine acetylsalicylat) gói 100mg, lô GM 3305, hạn dùng 10/2025.

+ Prednisolon viên nén 5mg (Công ty Dược phẩm Khánh Hòa), số lô 5740723, hạn dùng tháng 8/2026.

+ Dung dịch acid acetic tinh khiết, hàm lượng $\geq 96\%$, CTCP Tập đoàn Hóa chất Đức Giang, lô 01022024, TCCS 31:2008/HCDG

+ Carragenan tinh khiết (Macklin), lô C16470862, CAS 11114-20-8.

2.1.3. Phương tiện và trang thiết bị trong nghiên cứu

+ Cân điện Precisa XB 320C, độ chính xác $d = 1\text{mg}$

+ Máy đo mức đau Dynamic Planta Aesthesiometer 37450 (Ugo Basile, Italya)

+ Hot Cold Plate, Cat. No 35100, Ugo Basile - Italy.

+ Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer, Cat, No 7140, Ugo Basile - Italy).

+ Bộ dụng cụ mô động vật cỡ nhỏ.

+ Đồng hồ bấm giây.

+ Kim cho chuột uống và các dụng cụ thí nghiệm khác.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Chuột nhắt trắng (*Mus musculus* L.), chủng Swiss, 4 - 5 tuần tuổi, trọng lượng 20 ± 2 g, trưởng thành, khỏe mạnh, không phân biệt đực cái, do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương cung cấp. Chuột cái không mang thai và chưa sinh sản lần nào. Chuột được nuôi ổn định 2 - 3 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

Chuột cống trắng (chủng *Wistar*), trưởng thành, khỏe mạnh, trọng lượng 180 - 200g, không phân biệt đực cái, do Trung tâm chăn nuôi động vật Sơn Tây cung cấp. Chuột cái không mang thai và chưa sinh sản lần nào. Chuột được nuôi ổn định 5 - 7 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.3.1. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại Viện Nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

2.3.2. Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 4-9/2024.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Nghiên cứu độc tính cấp.

Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng bằng phương pháp của Bộ Y tế và OECD [70], [71]. Kết quả được tính theo phương pháp hồi quy tuyến tính trên chương trình Probit.

50 con chuột nhắt trắng, sau khi nuôi ổn định 3 ngày, được đánh dấu, cân trọng lượng và chia ngẫu nhiên mỗi lô 10 con. Trước khi uống thuốc, chuột phải nhịn đói qua đêm (16 giờ). Cho chuột uống viên nang Khớp Bảo An bằng cách đưa thẳng thuốc vào dạ dày chuột qua kim đầu tù. Chuột được uống thuốc một liều duy nhất, uống theo liều tăng dần ở các lô, để xác định liều cao nhất không gây chết chuột (LD_{0}) và liều thấp nhất gây chết 100% số chuột trong 1 lô (LD_{100}). Sau khi uống thuốc 2 giờ, cho chuột ăn uống bình thường.

Theo dõi các biểu hiện của chuột như: các hoạt động, ăn uống, tình trạng lông, phân, các dấu hiệu nhiễm độc ở chuột trong 1 tuần, và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ. Toàn bộ số chuột chết (nếu có) do viên nang Khớp Bảo An và cả những con còn sống được mổ để quan sát đại thể các cơ quan: tim, gan, thận, phổi, bàng quang và ruột. Nếu có bất thường, làm vi phẫu mô bệnh học.

Xác định giá trị LD_{50} bằng chương trình Probit.

2.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm

2.4.2.1. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp

Mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan [72], [73].

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

- Lô 1 (n = 10): uống nước cất 0,2ml/10g.
- Lô 2 (n = 10): uống Aspegic liều 200mg/kg.
- Lô 3 (n = 10): uống viên nang Khớp Bảo An liều 9,8928g được liều khô/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).
- Lô 4 (n = 10): uống viên nang Khớp Bảo An liều 29,6784g được liều khô/kg/ngày (gấp ba liều 1).

Chuột được uống thuốc 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm carrageenin 1% (pha

trong nước muối sinh lý) với thể tích 0,05ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột.

Sau đó đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng máy đo viêm Plethysmometer No 7250 (hình 2.1) vào các thời điểm: trước khi gây viêm (V_0); sau khi gây viêm 2 giờ (V_2); 4 giờ (V_4); 6 giờ (V_6) và 24 giờ (V_{24}). Kết quả sẽ được tính công thức Fontaine.

Mức độ tăng thể tích chân chuột được tính theo công thức sau:

$$X\% = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

Trong đó: $X\%$ là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột.

V_0 là thể tích chân chuột trước khi gây viêm.

V_1 là thể tích chân chuột sau khi gây viêm.

Tác dụng chống viêm của thuốc được đánh giá bằng khả năng ức chế phản ứng phù ($Y\%$).

$$Y\% = \frac{M_c - M_t}{M_c} \times 100$$

Trong đó: $Y\%$: là tỷ lệ % giảm mức độ phù chân chuột.

M_t : là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng thuốc nghiên cứu.

M_c : là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô chứng.



Hình 2.1 Đo thể tích chân chuột

2.4.2.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn

Tác dụng chống viêm mạn của viên nang Khớp Bảo An được đánh giá trên chuột nhắt trắng gây u hạt thực nghiệm.

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

- Lô 1 (Lô chứng): gây u hạt + uống nước cất.
- Lô 2 (Lô tham chiếu): gây u hạt + uống Prednisolon liều 7,2mg/kg/ngày.
- Lô 3 (Lô trị 1): gây u hạt + uống viên nang Khớp Bảo An liều 9,8928g được liệu khô/kg/ngày (liều dự kiến có tác dụng).
- Lô 4 (Lô trị 2): gây u hạt + uống viên nang Khớp Bảo An liều 29,6784g được liệu khô/kg/ngày (gấp ba liều 1).

Gây viêm mạn bằng cách cấy hạt amian vô khuẩn ($30 \pm 0,1\text{mg}$) đã tiệt trùng (sấy ở 120°C trong 1 giờ) vào dưới da lưng hai bên của chuột. Sau khi cấy u hạt, thì các chuột được cho uống nước cất hoặc mẫu thử liên tục trong 7 ngày. Ngày thứ 8 tiến hành giết chuột bằng cloroform, phẫu thuật bóc tách lấy

u hạt bao bọc quanh hạt amian, cân bằng cân phân tích chính xác đến 0,001g và xác định khối lượng thực chất của u hạt sau khi trừ đi khối lượng của hạt amian. Tiếp theo sấy khô đến trọng lượng không đổi (sấy ở nhiệt độ 56°C trong 18 giờ) rồi cân lần 2. Sau đó so sánh khối lượng trung bình của u hạt (cả tươi và khô) giữa các lô chuột để đánh giá tác dụng ức chế viêm mạn.

Chỉ tiêu nghiên cứu: trọng lượng u hạt tươi, trọng lượng u hạt khô, tỉ lệ (%) giảm trọng lượng u hạt so với lô chứng [72], [73].

2.4.3. Nghiên cứu tác dụng giảm đau

2.4.3.1. Phương pháp kích thích bằng nhiệt

Chia chuột nhất thành 4 lô, mỗi lô có 10 con, gồm:

- Lô 1 (n=10): chứng, uống nước cất 2 lần, thể tích tương ứng liều điều trị thuốc \times 7 ngày liên tiếp.
- Lô 2 (n=10): uống codein phosphat 20mg/kg/ngày, tương đương liều có tác dụng giảm đau ở người.
- Lô 3 (n=10): uống viên nang Khớp Bảo An liều 9,8928g dược liệu khô/kg/ngày (tương đương liều dùng dự kiến trên người) \times 7 ngày liên tiếp.
- Lô 4 (n=10): uống viên nang Khớp Bảo An 29,6784g dược liệu khô/kg/ngày \times 7 ngày liên tiếp.

Trước khi uống mẫu thử, đặt từng chuột lên trên mâm nóng, đã được duy trì nhiệt độ ổn định ở 56°C bằng hệ thống ổn nhiệt. Tính thời gian từ lúc đặt chuột lên mâm nóng đến khi chuột có biểu hiện co chân sau lên hoặc liếm chân. Loại bỏ những chuột có phản ứng quá nhanh (trước 8 giây) hoặc quá chậm sau (30 giây).

Sau đó cho chuột uống mẫu thử hoặc nước cất theo liều ở từng lô như trên, mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng, trong 7 ngày liên tục. Ở ngày cuối cùng, sau 1 giờ và sau 2 giờ uống mẫu thử, đặt chuột lên mâm nóng và ghi lại thời

gian phản ứng của chuột như đã mô tả như trên. So sánh thời gian phản ứng với nhiệt trước và sau khi dùng thuốc [73], [74].

2.4.3.2. Thử nghiệm đo độ đau ở chân bằng phương pháp châm kim.

Chia chuột cống trắng thành 4 lô, mỗi lô có 10 con, gồm:

- Lô 1 (n=10): chứng, uống nước cất 2 lần, thể tích tương ứng liều điều trị, thuốc 7 ngày liên tiếp.
- Lô 2 (n=10): uống diclofenac natri liều 21mg/kg/ngày, tương đương liều có tác dụng giảm đau ở người.
- Lô 3 (n=10): uống viên nang Khớp Bảo An liều 5,7708g dược liệu khô/kg/ngày (tương đương liều dùng dự kiến trên người) × 7 ngày liên tiếp.
- Lô 4 (n=10): uống viên nang Khớp Bảo An liều 17,3124g dược liệu khô/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến trên người) × 7 ngày liên tiếp.

Trước khi cho chuột dùng mẫu thử, đặt chuột lên máy để đo lực gây đau và thời gian phản ứng với đau. Sử dụng tác nhân cơ học (đầu kim) tác động vào gan bàn chân chuột với lực gây đau ban đầu là 5 gam/giây. Chuột sẽ phản ứng rút gan bàn chân ra khỏi đầu kim. Ghi chú lại lực gây đau và thời gian phản ứng đau của từng chuột. Sau đó cho chuột uống nước và mẫu thử theo liều ở từng lô như trên, mỗi 1 ngày uống 1 lần vào buổi sáng với thể tích 0,1ml/10g trong 7 ngày liên tiếp. Trong ngày cuối cùng, sau khi uống mẫu thử 2 tiếng, đặt chuột lên máy, đo lực gây đau và thời gian phản ứng đau. So sánh lực gây đau và thời gian phản ứng đau trước và sau khi dùng mẫu thử [73], [74].

2.4.3.3. Thử tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau quặn

Mô hình gây đau quặn (Writhing Tests) bằng acid acetic được thực hiện trên chuột nhắt trắng với 4 lô, mỗi lô 10 con.

- + Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất, thể tích 10ml/kg trọng lượng chuột.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Diclofenac sodium liều 24mg/kg/ngày.

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống viên nang Khớp Bảo An liều 9,8928g dược liệu khô/kg/ngày (tương đương liều lâm sàng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống viên nang Khớp Bảo An liều 29,6784g dược liệu khô/kg/ngày (gấp 3 lần liều lâm sàng).

Chuột được uống mẫu thử hoặc nước cất 7 ngày liên tục. Ngày thứ 7 sau khi dùng thuốc 60 phút, tiến hành gây đau quặn bằng cách tiêm dung dịch acid acetic 0,6% vào phúc mạc chuột với liều 0,1 ml/10 gam thể trọng. Xác định thời gian xuất hiện cơn đau đầu tiên và đếm số cơn đau quặn mỗi 5 phút từ sau khi tiêm cho đến hết 25 phút sau tiêm acid acetic. So sánh kết quả giữa các lô nghiên cứu, tính % ức chế đau quặn theo công thức:

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

Trong đó:

A% là tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô dùng mẫu thử;

Dc là số cơn đau quặn của lô chứng sinh lý;

Dt là số cơn đau quặn của lô thử thuốc [75], [76].

2.5. Các chỉ tiêu nghiên cứu

2.5.1. Độ tính cấp đường uống của viên nang Khớp Bảo An

- Liều LD₀ (mg/kg): liều cao nhất không gây chết chuột.
- Liều chết trung bình LD₅₀ (mg/kg): liều gây chết 50% số ĐVTN.
- Liều chết tuyệt đối LD₁₀₀ (mg/kg): liều thấp nhất gây chết 100% số ĐVTN.
- Các dấu hiện ngộ độc (nếu có).
- Quan sát đại thể các cơ quan tim, gan, thận, phổi, bàng quang và ruột ở chuột chết do thuốc (nếu có) và các chuột còn sống.

Tác dụng chống viêm của viên nang Khớp Bảo An

- Trọng lượng u hạt tươi (mg).
- Trọng lượng u hạt khô (mg).
- Tỷ lệ % giảm trọng lượng u hạt.
- Mức độ tăng thể tích chân chuột.
- Tỷ lệ % giảm phù chân chuột.

2.5.2. Tác dụng giảm đau của viên nang Khớp Bảo An

- Thời gian phản ứng với nhiệt (giây).
- Lực gây đau (gam).
- Thời gian phản ứng với đau (giây).
- Số cơn đau quặn mỗi 5 phút trong 25 phút sau tiêm acid acetic.
- Thời gian xuất hiện cơn đau quặn đầu tiên.
- Tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô dùng mẫu thử so với lô chứng.

2.6. Kỹ thuật phân tích số liệu

Giá trị liều độc (LD_{50}) được tính trên chương trình Probit (Probit analysis program) của Michel Raymond (Pháp).

Các kết quả nghiên cứu về giảm đau, chống viêm được biểu thị số trung bình +/- độ lệch chuẩn ($M \pm SD$).

Các số liệu nghiên cứu được xử lý bằng phương trình Excel (Microsoft XP) theo phương pháp thống kê y học cỡ mẫu nhỏ (<30), sử dụng t-test Student và Fisher's exact test để so sánh các số liệu trước, trong và sau thử nghiệm và so sánh giữa lô dùng thuốc và lô chứng.

Trong so sánh nếu $p > 0,05$ là khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$ là khác biệt có ý nghĩa thống kê và p càng nhỏ thì khác biệt có ý nghĩa thống kê càng cao.

2.7. Cách khắc phục sai số

Động vật dùng trong nghiên cứu được nuôi như nhau, trong điều kiện thí nghiệm và duy trì điều kiện môi trường ổn định trong suốt đợt nghiên cứu để tránh ảnh hưởng của các yếu tố khách quan và ngoại lai.

Động vật được chọn vào nghiên cứu tương đối đồng đều về kích thước, đồng lứa tuổi và khỏe mạnh để loại trừ sai số về thể trạng và tuổi.

Thức ăn và nước uống dùng cho động vật có nguồn gốc rõ ràng, đảm bảo chất lượng và đồng đều giữa các cá thể ở các lô nghiên cứu.

2.8. Đạo đức nghiên cứu

Đề tài tuân thủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học. Số lượng động vật dùng trong nghiên cứu đủ để tính thống kê, không lãng phí. Động vật chết hoặc sau thử nghiệm được xử lý theo quy định. Số liệu được thu thập và xử lý khách quan, trung thực. Nghiên cứu được tiến hành nhằm mục đích phát triển thuốc từ các vị dược liệu được dùng lâu đời trong dân gian, không có mục đích nào khác.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

3.1.1. Kết quả theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột trong vòng 7 ngày sau uống thuốc

Chuột nhắt trắng ở các lô đã được uống viên nang Khớp Bảo An với liều 123,3g, 158,5g, 193,7g, 229,0g hoặc 264,2g dược liệu khô/kg thể trọng và được theo dõi liên tục trong 72 giờ đầu, theo dõi tiếp đến hết 7 ngày. Kết quả cho thấy, các chuột vẫn ăn uống, đi lại, hoạt động bình thường, lông mượt, phân khô thành khuôn, nước tiểu màu vàng nhạt. Tất cả chuột đều không có biểu hiện bất thường về hô hấp hoặc thần kinh trung ương. Chuột tăng trọng lượng sau 7 ngày theo dõi (bảng 3.1).

Bảng 3.1. Trọng lượng của chuột sau 7 ngày uống viên nang Khớp Bảo An

Lô	Trọng lượng chuột N0 (g)	Trọng lượng chuột ngày N7 (g)	p (N0-N7)
Lô 1: Uống KBA 123,3g/kg	20,79 ± 1,46	24,92 ± 0,65	p < 0,001
Lô 2: Uống KBA 158,5g/kg	20,78 ± 1,84	25,14 ± 0,76	p < 0,001
Lô 3: Uống KBA 193,7g/kg	20,33 ± 1,36	24,57 ± 0,45	p < 0,001
Lô 4: Uống KBA 229,0g/kg	20,58 ± 1,39	24,85 ± 0,82	p < 0,001
Lô 5: Uống KBA 264,2g/kg	20,37 ± 1,77	24,74 ± 0,70	p < 0,001
p (1-2), p (1-3), p (1-4), p (1-5), p (2-3), p (2-4), p (2-5), p (3-4), p (3-5), p (4-5)	p > 0,05	p > 0,05	

Bảng 3.1 cho thấy, trọng lượng của chuột ở các lô tại ngày N0 khác nhau không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). Sau uống thuốc 7 ngày, tất cả chuột ở các lô đều tăng trọng lượng so với ngày N0 (các giá trị p < 0,001).

Tuy nhiên, trọng lượng chuột ở các lô tại N7 khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.1.2. Kết quả theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau uống thuốc

Ở tất cả các lô uống thuốc, không có chuột nào tử vong. Mổ chuột để quan sát các cơ quan phủ tạng của chuột, không phát hiện bất thường (bảng 3.2 và hình 3.1).

Bảng 3.2. Số chuột chết/sống và quan sát cơ quan tạng phủ chuột tại ngày N7

Lô	Liều dùng (g dược liệu khô/kg)	Số chuột/lô (n)	Số chuột chết (tỷ lệ chuột chết)	Các cơ quan phủ tạng ở N7
1	123,3	10	0 (0%)	Bình thường
2	158,5	10	0 (0%)	Bình thường
3	193,7	10	0 (0%)	Bình thường
4	229	10	0 (0%)	Bình thường
5	264,2	10	0 (0%)	Bình thường

Ở tất cả các liều đã thử nghiệm, ngay cả ở liều 264,2g/kg (gấp 26,71 lần liều tương đương dùng điều trị trên người), không có chuột nào chết, các chuột vẫn hoạt động bình thường. Quan sát cơ quan phủ tạng chuột được mổ ở ngày 7 (tim, gan, thận phổi, bàng quang, ruột) vẫn bình thường.



Hình 3. 1 Cơ quan phủ tạng của chuột 46 (uống KBA 264,2g/kg) sau 7 ngày

Hình 3.1 cho thấy, cơ quan nội tạng của chuột vẫn bình thường, không có dấu hiệu tổn thương.

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm của viên nang Khớp Bảo An

3.2.1. Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan

Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An đến mức độ phù chân chuột sau khi gây viêm bằng carragenan được theo dõi ở 2, 4, 6 và 24 giờ sau tiêm. Kết quả cho thấy, aspegic và viên nang Khớp Bảo An có tác dụng giảm mức phù chân chuột tốt nhất ở 4 giờ và 24 giờ sau khi gây viêm. Kết quả được thể hiện ở các bảng 3.3 - 3.6 và hình 3.2 - 3.5.

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới độ phù chân chuột sau 2 giờ gây viêm

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 2 giờ (V2, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	p (V0- V2)
Lô 1: Uống nước cất	0,138 ± 0,028	0,184 ± 0,021	36,76 ± 4,02	-	< 0,001
Lô 2 (uống aspegic)	0,162 ± 0,023	0,200 ± 0,030	24,52 ± 8,28	33,29	< 0,01
Lô 3 (uống KBA 9,8928 g/kg/ngày)	0,144 ± 0,021	0,185 ± 0,024	31,23 ± 8,08	15,04	< 0,001
Lô 4 (uống KBA 29,6784 g/kg/ngày)	0,153 ± 0,018	0,193 ± 0,019	26,64 ± 7,33	27,53	< 0,001
p (1-2), p (1-3), p (1-4)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Kết quả từ bảng 3.3 cho thấy, tất cả chuột ở các lô đều có phản ứng viêm rõ với carragenan với mức liều đã sử dụng tại thời điểm 2 giờ sau tiêm (các giá trị p < 0,01 và 0,001). Aspegic có xu hướng làm giảm mức độ viêm tốt hơn viên nang Khớp Bảo An tại thời điểm 2 giờ sau gây viêm, nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới độ phù chân chuột sau 4 giờ gây viêm

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 4 giờ (V4, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	p (V0- V4)
Lô 1: Uống nước cất	0,138 ± 0,028	0,234 ± 0,018	74,46 ± 9,26	-	< 0,001
Lô 2 (uống aspegic)	0,162 ± 0,023	0,197 ± 0,034*	22,81 ± 2,80**	69,37*	< 0,05
Lô 3 (uống KBA 9,8928 g/kg/ngày)	0,144 ± 0,021	0,217 ± 0,031	53,92 ± 3,76	27,58	< 0,001
Lô 4 (uống KBA 29,6784 g/kg/ngày)	0,153 ± 0,018	0,194 ± 0,030*	28,23 ± 3,08*	62,08*	< 0,01
p (1-2), p (1-3), p (1-4)	> 0,05	* < 0,01	* < 0,01 ** < 0,001	* < 0,01	

Bảng 3.4 cho thấy, ở thời điểm 4 giờ sau gây viêm, chuột ở các lô 2, 3 và 4 đều có thể tích chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm. Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột ở cả ba lô đều thấp hơn so với lô chứng (không dùng thuốc). Tuy nhiên, tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô 2 (uống aspegic) và 4 (uống Khớp Bảo An 29,6784g/kg/ngày) thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị p < 0,001 và < 0,01 tương ứng),

còn lô 3 (uống Khớp Bảo An 9,8928g/kg/ngày) thấp hơn không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p > 0,05$). Lô 2 và lô 4 đều có tỷ lệ giảm mức phù chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,01$), còn lô 3 có giảm phù chân chuột 27,58% so với lô chứng nhưng chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới độ phù chân chuột sau 6 giờ gây viêm

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB \pm SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 6 giờ (V6, TB \pm SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB \pm SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	p (V0- V6)
Lô 1: Uống nước cất	0,138 \pm 0,028	0,200 \pm 0,031	48,18 \pm 7,95	-	< 0,001
Lô 2 (uống aspegic)	0,162 \pm 0,023	0,209 \pm 0,039	29,56 \pm 2,92	38,65	< 0,001
Lô 3 (uống KBA 9,8928 g/kg/ngày)	0,144 \pm 0,021	0,197 \pm 0,021	40,25 \pm 9,86	16,46	< 0,001
Lô 4 (uống KBA 29,6784 g/kg/ngày)	0,153 \pm 0,018	0,204 \pm 0,035	33,83 \pm 2,14	29,78	< 0,01
p (1-2), p (1-3), p (1-4)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 6 giờ gây viêm, thể tích chân chuột ở tất cả các lô vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $p < 0,01$ và $< 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử

thấp hơn so với lô chứng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Mức độ giảm phù chân chuột ở lô uống aspegic cao hơn so với 2 lô uống Khớp Bảo An nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê và so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới độ phù chân chuột sau 24 giờ gây viêm

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB \pm SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 24 giờ (V24, TB \pm SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB \pm SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	p (V0- V24)
Lô 1: Uống nước cất	0,138 \pm 0,028	0,218 \pm 0,029	61,21 \pm 4,33	-	< 0,001
Lô 2 (uống aspegic)	0,162 \pm 0,023	0,200 \pm 0,030	25,15 \pm 4,35*	58,92*	< 0,01
Lô 3 (uống KBA 9,8928 g/kg/ngày)	0,144 \pm 0,021	0,192 \pm 0,018***	35,87 \pm 4,14***	41,40***	< 0,001
Lô 4 (uống KBA 29,6784 g/kg/ngày)	0,153 \pm 0,018	0,202 \pm 0,017	33,32 \pm 6,02*	45,56*	< 0,001
p (1-2), p (1-3), p (1-4)	> 0,05	*** < 0,05	* < 0,01 *** < 0,05	* < 0,01 *** < 0,05	

Sau 24 giờ gây viêm, thể tích chân chuột ở tất cả các lô vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $p < 0,01$ và <

0,001). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng ($61,21 \pm 4,33$) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc và mẫu thử (các giá trị p tương ứng là $< 0,01$, $< 0,05$ và $< 0,01$). Aspegic có xu hướng giảm mức phù chân chuột tốt hơn Khớp Bảo An (58,92%) so với 41,40% và 45,56% tương ứng. Các lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử đều giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị p tương ứng là $< 0,01$, $< 0,05$ và $< 0,01$).



Hình 3. 2 Chuột 12 (lô 2) sau 2 giờ gây viêm



Hình 3. 3 Chuột 34 (lô 4) sau 4 giờ gây viêm



Hình 3. 4 Chuột 27 (lô 3) sau 6 giờ gây viêm



Hình 3. 5 Chuột 34 (lô 4) sau 24 giờ gây viêm

3.2.2. Tác dụng chống viêm mạn tính trên mô hình gâu hạt thực nghiệm

Tác dụng ức chế viêm mạn tính của Prednisolon và viên nang Khớp Bảo An được thể hiện ở bảng 3.7.

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An đến trọng lượng u hạt

Lô (n = 10)	Trọng lượng hạt tươi (TB ± SD, mg)	Tỷ lệ giảm trọng lượng so với chứng (%)	Trọng lượng hạt khô (TB ± SD, mg)	Tỷ lệ giảm trọng lượng so với chứng (%)
Lô 1: Chứng	475,09 ± 112,33		78,28 ± 18,51	
Lô 2: Prednisolon 7,2 mg/kg/ngày	315,94 ± 18,10*	33,50	53,34 ± 8,57*	31,86
Lô 3 (uống KBA 9,8928 g/kg/ngày)	351,79 ± 23,77*	25,95	62,91 ± 9,73**	19,63
Lô 4 (uống KBA 29,6784 g/kg/ngày)	337,02 ± 36,85*	29,06	59,64 ± 8,30**	23,81
p (1-2), p (1-3), p (1-4)	* p < 0,01		* p < 0,01 ** p < 0,05	
p (2-3)	p < 0,01		p < 0,05	
p (2-4), p (3-4)	> 0,05		> 0,05	

Cả prednisolon liều 7,2mg/kg/ngày và Khớp Bảo An liều 9,8928 và 29,6784g/kg/ngày × 7 ngày đều có tác dụng làm giảm trọng lượng u hạt tươi và khô có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị p < 0,01 và < 0,05).

Prednisolon có tác dụng ức chế viêm mạnh hơn Khớp Bảo An liều 9,8928g/kg/ngày, nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê khi dùng Khớp Bảo An liều 29,6784g/kg/ngày. Liều cao Khớp Bảo An có xu hướng làm giảm trọng lượng u hạt tốt hơn so với liều thấp, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).



Hình 3. 6 U hạt được cấy trên lưng chuột 28 sau 7 ngày uống Khớp Bảo An liều 9,8928g/kg/ngày

3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của viên nang Khớp Bảo An

3.3.1. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp mẫn nóng

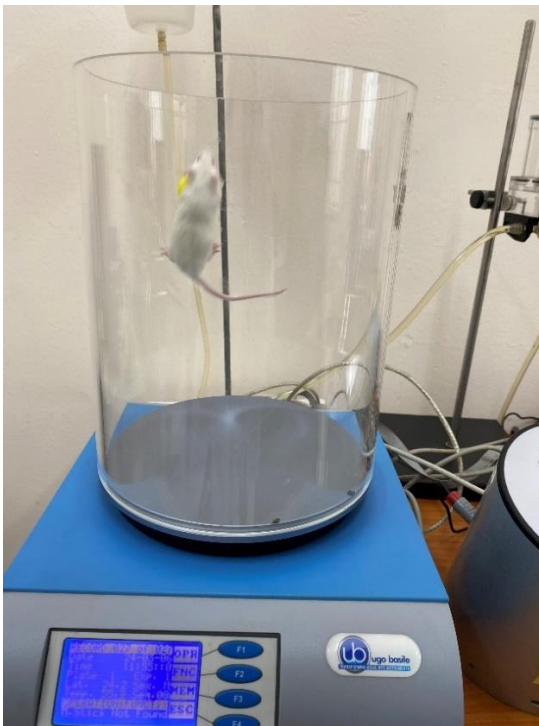
Trước và sau 7 ngày dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử, các chuột được ghi thời gian phản ứng với đau để đánh giá ảnh hưởng của từng mẫu. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.8 và hình 3.7 - 3.8.

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An tới thời gian phản ứng với nhiệt của chuột nhắt trắng (n = 10)

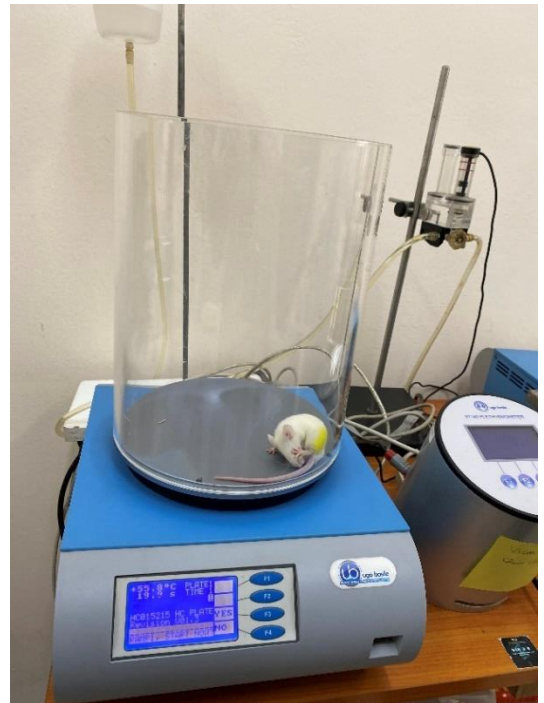
Lô (n = 10)	Thời gian phản ứng với nhiệt (giây, TB ± SD)			p (N0-N7.1), p (N0-N7.2)
	Trước (N0)	Sau 1 giờ (N7.1)	Sau 2 giờ (N7.2)	
Lô 1: chứng, uống nước cất	13,22 ± 2,41	11,68 ± 2,96	11,67 ± 3,49	> 0,05
Lô 2: uống codein phosphat 20 mg/kg	13,35 ± 2,78	22,33 ± 7,08	24,95 ± 2,07	< 0,001
Lô 3 (uống KBA 9,8928 g/kg/ngày)	12,32 ± 4,01	20,41 ± 4,81	21,98 ± 3,70	< 0,001
Lô 4 (uống KBA 29,6784 g/kg/ngày)	12,19 ± 2,51	17,3 ± 2,65	20,48 ± 4,55	< 0,001
p (1-2), p (1-3), p (1-4)	> 0,05	< 0,001	< 0,001	
p (2-3), p (2-4), p (3-4)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.8 cho thấy, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở lô chứng trước và sau khi uống nước cất 7 ngày khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trước khi dùng thuốc hoặc mẫu thử, chuột ở cả 4 lô đều có thời gian phản ứng với nhiệt tương đương nhau (các giá trị $p > 0,05$). Sau khi uống, chuột ở các lô 2, 3 và 4 đều có thời gian phản ứng với nhiệt tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống (các giá trị $< 0,001$). Đặc biệt, chuột ở lô uống codein phosphat 20mg/kg/ngày có thời gian phản ứng với nhiệt tăng lên cao nhất ($22,33 \pm 7,08$ giây sau 1 giờ và $24,95 \pm 2,07$ giây sau 2 giờ uống

thuốc), tiếp theo là lô uống Khớp Bảo An liều 9,8928g/kg/ngày \times 7 ngày ($20,41 \pm 4,81$ giây và $21,98 \pm 3,70$ giây sau 1 và 2 giờ). Lô uống Khớp Bảo An liều cao 29,6784g/kg/ngày \times 7 ngày lại có thời gian phản ứng với nhiệt thấp hơn so với lô uống Khớp Bảo An liều thấp, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Thời gian phản ứng với nhiệt ở các lô 2, 3 và 4 sau khi uống mẫu thử nghiệm 1 và 2 giờ tại N7 khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) nhưng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị $p < 0,001$).



Hình 3. 7 Chuột 4 (lô chứng)
phản ứng với nhiệt



Hình 3. 8 Chuột 36 (lô 4)
phản ứng với nhiệt

Khi gặp sức nóng của nhiệt, chuột có biểu hiện co chân sau, chùi râu, hoặc nhảy lên khỏi mâm nóng.

3.3.2. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp châm kim

Tác dụng giảm đau của viên nang Khớp Bảo An trên chuột cống trắng bằng phương pháp châm kim được thể hiện ở bảng 3.9.

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An trên chuột cống trắng được gây đau cơ học

Lô	Lực gây đau (gam)		p (lực, trước-sau)	Thời gian phản ứng đau (giây)		p (thời gian, trước-sau)
	Trước	Sau		Trước	Sau	
Lô 1: uống nước cất	7,79 ± 0,45	7,58 ± 0,39	> 0,05	4,69 ± 0,58	4,92 ± 0,32	> 0,05
Lô 2: diclofenac 21 mg/kg/ngày × 7 ngày	7,71 ± 0,45	9,22 ± 0,46**	< 0,001	4,59 ± 0,47	5,74 ± 0,31**	< 0,001
Lô 3: viên nang Khớp Bảo An 5,7708 g/kg/ngày × 7 ngày	7,64 ± 0,47	8,09 ± 0,29*	< 0,05	4,68 ± 0,54	5,34 ± 0,50***	< 0,05
Lô 4: viên nang Khớp Bảo An 17,3124 g/kg/ngày × 7 ngày	7,73 ± 0,55	8,40 ± 0,53*	< 0,05	4,87 ± 0,61	5,62 ± 0,32**	< 0,01
p (1-2), p (1-3), p (1-4)	> 0,05	* < 0,01 ** < 0,001		> 0,05	** < 0,001 *** < 0,05	
p (2-3), p (2-4)		< 0,01			> 0,05	
p (3-4)		> 0,05			> 0,05	

Bảng 3.9 cho thấy, lô chứng và tất cả các lô dùng thuốc không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về lực gây đau và thời gian phản ứng với đau tại thời điểm trước khi dùng thuốc (các giá trị $p > 0,05$). Ở lô uống diclofenac natri 7,2mg/kg/ngày, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau của chuột sau khi dùng thuốc tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước uống thuốc (các giá trị $p < 0,001$). Ở cả hai lô uống viên nang Khớp Bảo An liều 5,7708 và 17,3124g/kg/ngày \times 7 ngày, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau sau khi dùng thuốc 7 ngày cũng tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc (các giá trị $p < 0,05$ và $< 0,01$). Lực gây đau và thời gian phản ứng với đau của hai lô uống viên nang Khớp Bảo An khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.3. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp gây đau quặn bởi acid acetic

Kết quả tác dụng giảm đau của viên nang Khớp Bảo An trên mô hình gây đau quặn ở chuột nhắt trắng bởi acid acetic được thể hiện ở bảng 3.10 - 3.11 và hình 3.9 - 3.10.

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của viên nang Khớp Bảo An đến thời gian xuất hiện cơn đau đầu tiên và số cơn đau quặn ở chuột nhắt trắng trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic

Lô (n = 10)	Số cơn đau quặn trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic (TB ± SD)					Thời gian xuất hiện cơn đau (phút)
	0-5 phút	5-10 phút	10-15 phút	15-20 phút	20-25 phút	
Lô 1: Chứng, uống nước cất	2,9 ± 0,99	13,6 ± 3,10	17,7 ± 4,24	13,2 ± 4,32	10,6 ± 3,59	3,042 ± 0,110
Lô 2: Diclofenac natri 24 mg/kg/ngày	0,8 ± 0,79	5,4 ± 2,59	8,0 ± 3,16	4,6 ± 3,13	2,1 ± 1,45	5,004 ± 0,539
Lô 3 (uống KBA 9,8928 g/kg/ngày)	1,6 ± 0,70	6,1 ± 2,13	11,2 ± 4,78	4,7 ± 1,83	2,6 ± 1,26	4,658 ± 0,212
Lô 4 (uống KBA 29,6784 g/kg/ngày)	1,2 ± 0,79	5,5 ± 2,37	9,4 ± 4,62	3,5 ± 1,58	2,2 ± 1,36	4,790 ± 0,173
p (1-2), p (1-3)*, p (1-4)	< 0,001 * < 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
p (2-3)	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p (3-4), p (2-4)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

So với lô chứng, số cơn đau quặn trong mỗi 5 phút sau khi tiêm acid acetic ở cả hai lô uống Khớp Bảo An và thuốc tham chiếu diclofenac đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê (các giá trị p < 0,001 và < 0,01). Khớp Bảo An ở liều

cao 29,784 g/kg/ngày có xu hướng tác dụng giảm đau quận tốt hơn liều 9,8928 g/kg/ngày với số cơn đau quận ở mỗi thời điểm đều thấp hơn, tuy nhiên, sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (các giá trị $p > 0,05$). Chuột uống diclofenac liều 24 mg/kg/ngày có số cơn đau quận tại mỗi thời điểm đều thấp hơn so với số cơn đau của chuột uống Khớp Bảo An ngoại trừ thời điểm 15 – 20 phút sau tiêm acid acetic, số cơn đau quận của chuột uống liều cao Khớp Bảo An thấp hơn so với lô 2. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa các lô chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở 5 phút đầu tiên sau tiêm, số cơn đau quận của chuột ở lô uống diclofenac thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với chuột ở lô uống Khớp Bảo An liều 9,8928 g/kg/ngày ($p < 0,05$).

Thời gian xuất hiện cơn đau đầu tiên ở lô chứng thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với các lô còn lại (các giá trị $p < 0,001$). Chuột ở lô uống Diclofenac có thời gian xuất hiện cơn đau đầu tiên muộn nhất, sau đó đến lô uống Khớp Bảo An liều cao, rồi đến lô uống Khớp Bảo An liều thấp. Tuy nhiên, thời gian xuất hiện cơn đau đầu tiên giữa các lô 2, 3 và 4 khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Khớp Bảo An đến tỷ lệ giảm số cơn đau quặn ở chuột nhắt trắng trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic

Lô (n = 10)	Tỷ lệ giảm cơn đau quặn trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic so với lô chứng (%)				
	0-5 phút	5-10 phút	10-15 phút	15-20 phút	20-25 phút
Lô 1: Uống nước cất					
Lô 2 (uống diclofenac 24 mg/kg)	72,41	60,29	54,80	65,15	80,19
Lô 3 (uống KBA 9,8928 g/kg/ngày)	44,83	55,15	36,72	64,39	75,47
Lô 4 (uống KBA 29,6784 g/kg/ngày)	58,62	59,56	46,89	73,48	79,25
p (1-2), p(1-3), p (1-4)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
p (2-4), p (3-4)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p (2-3)	< 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

So với lô chứng, các chuột uống Khớp Bảo An và diclofenac đều làm giảm tỷ lệ số cơn đau quặn ở mỗi thời điểm 5 phút sau tiêm acid acetic tốt hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Diclofenac liều 24 mg/kg/ngày có xu

hướng làm giảm tỷ lệ con đau quặn tốt hơn Khớp Bảo An ở cả hai liều đã thử nghiệm, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) ngoại trừ ở 5 phút đầu sau tiêm, tỷ lệ giảm số con đau của lô 2 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô 3 ($p < 0,05$). Chuột uống Khớp Bảo An liều cao 29,6784 g/kg/ngày cũng có xu hướng làm giảm tỷ lệ con đau cao hơn so với lô uống liều 9,8928 g/kg/ngày, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).



Hình 3. 9 Biểu hiện đau của chuột ở lô uống diclofenac natri sau tiêm acid acetic



Hình 3. 10 Biểu hiện đau của chuột ở lô uống KBA 9,8928g/kg/ngày sau tiêm acid acetic

Sau tiêm acid acetic, các chuột đều có biểu hiện đau hóp bụng, sệt bụng xuống sàn lồng, mình kéo dài ra, một vài con kêu đau thành tiếng. Khớp Bảo An và diclofenac natri ở các liều đã sử dụng làm giảm rõ rệt số con đau quặn ở chuột.

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Về độc tính cấp của viên nang Khớp Bảo An

Muốn áp dụng một bài thuốc vào điều trị cho cộng đồng, trước tiên chúng ta nên xác minh tính an toàn của bài thuốc. Viên Nang Khớp Bảo An là chế phẩm đường uống dùng để giảm đau chống viêm cho các bệnh lý về cơ xương khớp. Để có cơ sở khoa học khi sử dụng chế phẩm dưới dạng viên nang trong điều trị, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu độc tính cấp để đánh giá tính an toàn đồng thời nghiên cứu tác dụng dược lý trên thực nghiệm.

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp đường uống của Viên nang Khớp Bảo An trên chuột trắng nhất cho thấy với liều cao nhất có thể cho chuột uống trong 72 giờ là 264,2g dược liệu khô/kg thể trọng, các chuột vẫn ăn uống, đi lại, hoạt động bình thường, lông mượt, phân khô thành khuôn, nước tiểu màu vàng nhạt. Tất cả chuột đều không có biểu hiện bất thường về hô hấp hoặc thần kinh trung ương. So với liều có hiệu quả trên chuột trắng nhất là 9,8928g/kg thể trọng, liều 264,2g/kg thể trọng gấp 26,7 lần. Như vậy chuột đã được cho uống liều gấp hơn 20 lần mức liều dự kiến có hiệu quả nhưng các chuột vẫn khỏe mạnh bình thường và không xuất hiện chuột nào chết. Một bài thuốc được xem là có khoảng an toàn điều trị tốt khi LD₅₀ lớn hơn 10 lần so với liều có tác dụng điều trị, trong khi đó viên nang Khớp Bảo An đã dùng liều gấp 26.7 lần so với liều có hiệu quả (chống viêm, giảm đau) trên chuột trắng mà không phát hiện thấy biểu hiện của độc tính cấp, không có chuột nào chết, chứng tỏ viên nang Khớp Bảo An có tính an toàn cao.

Hiện nay vẫn chưa có nghiên cứu nào đánh giá độc tính cấp khi phối hợp 9 vị thuốc có trong thành phần của viên nang Khớp Bảo An, vì vậy việc xác định độc tính cấp là rất cần thiết. Tác giả Hồ Thị Lan (2023) đã nghiên cứu độc tính cấp 2 vị thuốc Dây đau xương và Ngưu tất nam trong bài thuốc Xương Khớp Nam Thang đều cho thấy có tính an toàn cao [77], tác giả Nguyễn Thị Mai Linh (2022) đã nghiên cứu độc tính cấp 2 vị thuốc Dây đau

xương và Cốt khí củ trong bài thuốc Thái Bình HV đều cho thấy có tính an toàn cao [78], Vì vậy kết quả nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu trước đây công bố về độc tính cấp của những dược liệu thành phần trong bài thuốc.

4.2. Về tác dụng giảm đau chống viêm của viên nang Khớp Bảo An

4.2.1. Về tác dụng chống viêm

4.2.1.1. Mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin

Chế phẩm viên nang Khớp Bảo An bao gồm 9 vị thuốc: Dây đau xương, Ngưu tất nam, Tục đoạn. Quế chi, Thổ phục linh, Cốt khí cụ, Hoàng bá nam, Kê huyết đằng. Cả 9 vị thuốc này đều có tác dụng giảm đau chống viêm [60], [61], [62], [63], [64], [65], [66], [67], cho nên trong nghiên cứu lần này chúng tôi tiến hành đánh giá một cách tương đối đầy đủ tác dụng chống viêm của chế phẩm viên nang Khớp Bảo An trên các mô hình chống viêm cấp (mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin), mô hình chống viêm mạn (ức chế sự hình thành u hạt). Đây là những mô hình kinh điển hay được các tác giả sử dụng nhiều trong đánh giá tác dụng chống viêm của các chế phẩm.

Với mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin, chất gây kích thích viêm (carrageenin) có bản chất là Polysaccharide gần giống với cấu trúc vỏ vi khuẩn, vì vậy đáp ứng miễn dịch của cơ thể chủ yếu là đáp ứng không đặc hiệu với sự tham gia chủ yếu của đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính. Biểu hiện của quá trình viêm này là giãn mạch, bạch cầu xuyên mạch, tăng tiết các autacoid, như nitric oxide, histamine, serotonin, kinin, các prostaglandin..., là những chất trung gian thần kinh hoặc điều hòa thần kinh. Tác dụng chống phù viêm ở giai đoạn đầu (0-2 giờ) được xem là tác dụng ức chế các chất trung gian amino acid (histamin, serotonin) và hoạt tính ở giai đoạn sau (4-24 giờ) được xem là tác dụng ức chế các dẫn xuất của acid arachidonic, chủ yếu là các prostaglandin và bradykinin [79], [80]. Mặt khác, các quá trình viêm cấp do kháng nguyên là các Polysaccharide còn có sự tham gia của đáp ứng miễn dịch dịch thể do các lympho bào B đảm nhận. Các

kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức như Polysaccharide khi vào cơ thể sẽ được các lympho bào B nhận diện và tự sản xuất kháng thể đặc hiệu mà không cần sự trợ giúp của các lympho bào.

Kết quả thực nghiệm (bảng cho thấy ở thời điểm 4 giờ sau khi tiêm, thì viên nang Khớp Bảo An liều 29,6784g/kg/ngày và aspegic liều 200mg/kg/ngày đều có tỷ lệ giảm mức phù chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,01$), còn viên nang Khớp Bảo An liều 9,8928g/kg/ngày thấp hơn không có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p > 0,05$). Tại thời điểm sau tiêm 24 giờ, các lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử đều giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị p tương ứng là $< 0,01$, $< 0,05$ và $< 0,01$). Chứng tỏ viên nang Khớp Bảo An có tác dụng ức chế đối với nhiều loại chất trung gian autacoid. Vì vậy kết quả nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu trước đây công bố về tác dụng của những dược liệu thành phần trong bài thuốc, như tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin của Dây đau xương, Thổ phục linh, Hoàng bá nam, Ngưu tất nam, Kê huyết đằng, Cốt khí cụ, Cốt toái bổ, Quế chi [62], [63], [64], [66], [81], [82], [83], [84],

Trong đó vị thuốc Dây đau xương (*Caulis Tinosporae sinensis*) được dùng dưới dạng cao ở liều lượng 1,6g dược liệu/kg thể trọng/ngày có tác dụng ức chế viêm cấp tính trên mô hình gây phù bàn chân chuột cống bằng carragenin 1% ở thời điểm 3 giờ tương đương với aspirin mức liều 80 mg/kg thể trọng/ngày và ở mức liều tương đương 2,8 g dược liệu/kg thể trọng/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính trên mô hình gây u hạt thực nghiệm bằng amian ở chuột nhắt trắng [85].

Nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng chiết xuất nước từ thân rễ của Thổ phục linh (*Rhizoma Smilacis glabrae*) có tác dụng điều hòa miễn dịch đáng chú ý để điều trị viêm khớp dạng thấp bằng cách ức chế các hoạt động viêm tế bào cụ thể, trong khi cơ chế cơ bản vẫn chưa được làm sáng tỏ đầy

đủ. Astilbin, một dẫn xuất dihydroflavonol được phân lập từ Thổ phục linh, thể hiện nhiều khía cạnh dược lý, bao gồm các đặc tính chống oxy hóa, chống viêm và chống bệnh thận đái tháo đường. Bằng chứng đã chỉ ra rằng astilbin có thể ức chế quá mẫn cảm tiếp xúc thông qua việc thay đổi hồ sơ cytokine trong cơ thể sống của tế bào lympho, làm giảm viêm khớp do collagen thông qua rối loạn chức năng của tế bào lympho và làm giảm sự phát triển của bệnh ở chuột dễ bị lupus bằng cách ức chế tế bào T và B hoạt hóa chức năng [62]. Theo nghiên cứu cho thấy chiết xuất nước của vị thuốc Ngưu tất nam (*Radix Achyranthes bidentatae*) hoạt động chống viêm đáng kể theo cách phụ thuộc vào liều lượng, với 250 & 500 mg/kg có thể ức chế đáng kể sự tiến triển của viêm khớp dạng thấp ở động vật đang điều trị, tuy nhiên, thuốc chuẩn và chiết xuất nước đã ức chế đáng kể tình trạng sưng ở bàn chân chuột trong giai đoạn mãn tính, có thể là do ức chế chất trung gian gây viêm được giải phóng do cảm ứng formaldehyde, mặc dù cơ chế thực sự của việc ức chế viêm vẫn chưa được biết đến, nhưng nó có thể tương quan với sự hiện diện của hợp chất phenolic và flavonoid trong việc ức chế tình trạng viêm và hoạt động chống oxy hóa [63]. Sau khi dùng methanol để chiết xuất vị thuốc Hoàng bá nam (*Cortex Oroxyli indicis*) để dùng trong nghiên cứu thì thấy với liều 100,200,400 g/kg đều cho thấy sự suy giảm đáng kể về độ dày của bàn chân trong tổng thời gian kéo dài 6 giờ, so với nhóm đối chứng carrageenan, người ta thấy rằng tất cả các liều chiết xuất khác nhau đều cho thấy hoạt động chống viêm đáng kể, có ý nghĩa ($p < 0,01$), hơn nữa sau khi hoàn thành nghiên cứu sau 6 giờ thì ở liều 400 g/kg lại cho thấy hiệu quả hơn với thuốc tham chiếu ibuprofen (20 mg/kg) về mức độ giảm phù nề ở bàn chân chuột 55,83% với 53,33% [64].

Kê huyết đằng (*Caulis Spatholobi suberecti*) là một loại thuốc được sử dụng nhiều trên lâm sàng, Kê huyết đằng chứa tận 25 loại hoạt chất bên trong nó, 25 hợp chất này thể hiện hoạt động chống viêm trên mô hình viêm

của sản xuất quá mức NO trong tế bào RAW264.7 được kích thích bởi lipopolysaccharide (LPS). Isoflavone, đặc biệt là các hợp chất 20 - 22 (IC₅₀ trong đó lần lượt là 22,75 μ M, 21,11 μ M và 48,29 μ M.) có thể là thành phần quan trọng cho hoạt động chống viêm của Kê huyết đằng [82].

Vị thuốc Cốt khí cụ (*Radix Polygoni cuspidati*) có thành phần hóa học chính là Resveratrol đây là chất có tác dụng phòng ngừa và điều trị đáng kể trên mô hình chuột bị viêm khớp, mô hình chuột bị viêm phúc mạc do lắng đọng các tinh thể monosodium urat và mô hình viêm của đại thực bào có nguồn gốc từ tủy xương chuột. Cơ chế được cho là có thể thúc đẩy mitophagy thông qua con đường Pink1/Parkin để ức chế hoạt động của NLRP3 inflammasome và cải thiện viêm khớp do gút [66]. Flavonoid naringin được phân bố rộng rãi trong nhiều loại thực vật và là thành phần quan trọng của thảo dược Cốt toái bồ (*Rhizoma Drynariae*). Trong các nghiên cứu trước đây, Cốt toái bồ đã được chứng minh là có tác dụng ức chế phản ứng viêm và phá hủy xương và có tác dụng đồng hóa lên xương, đã được sử dụng rộng rãi trong điều trị lâm sàng. Naringin vẫn đang trong giai đoạn thử nghiệm. Kết quả thử nghiệm đã xác nhận rằng naringin ức chế tình trạng viêm bao gồm viêm khớp bằng cách giảm biểu hiện của các cytokine gây viêm và cơ chế có thể được giải thích là làm giảm biểu hiện của NF- κ B [83].

Vị thuốc Quế chi (*Cortex Cinnantomi*), EO (15, 30 và 60 mg/kg) làm giảm số lần quần quai bụng do acid acetic gây ra với mức ức chế lần lượt là 38,0%, 55,4% và 58,7%. EO (15, 30 và 60 mg/kg) cũng làm giảm số lần quần quai bụng do oxytocin gây ra với mức ức chế lần lượt là 27,3%, 51,7% và 69,0%. EO ức chế đáng kể giai đoạn viêm (giai đoạn thứ hai: 10–30 phút) của hành vi giật chân và liếm do formalin gây ra ở liều 15, 30 và 60 mg/kg. EO ở liều thử nghiệm là 15, 30 và 60 mg/kg cho thấy ức chế hành vi giật chân và liếm do CFA gây ra. EO (15, 30 và 60 mg/kg) cũng ức chế chứng đau tăng cơ học do carrageenan gây ra và phù chân. Nó cũng làm giảm nồng độ cytokine

(TNF- α và IL-1 β), NO và PGE2 trong mô da chân chuột do carrageenan gây ra. Hơn nữa, phân tích Western blot cho thấy biểu hiện COX-2 và iNOS trong mô da chân chuột giảm đáng kể [84].

4.2.1.2. *Mô hình gây u hạt*

Trên mô hình gây u hạt thực nghiệm, chất gây kích thích viêm là amiant, là loại kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức. Với loại kháng nguyên này, lympho bào B cần sự hỗ trợ của các cytokin (IL – 4, 5, 6, 10) do tế bào Th (T hỗ trợ) hoạt hóa tiết ra mới có thể sản xuất kháng thể. Mặt khác khi kháng nguyên là các amiant sẽ khởi động quá trình đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào là phương thức miễn dịch thứ hai bên cạnh đáp ứng miễn dịch dịch thể nhằm loại trừ kháng nguyên lạ, do các lympho bào T phụ trách. Mô hình gây u hạt trên thực nghiệm được xem là một mô hình đáng tin cậy để đánh giá tác dụng trên sự suy giảm chức năng đại thực bào và sự hình thành u hạt, dùng cho đánh giá tác dụng của thuốc ức chế chống lại sự hoạt hóa (activation), thâm nhiễm (infiltration) và kết tập (aggregation) của đại thực bào, chống lại quá trình hình thành các tổ chức u hạt trong viêm mạn [86]. Prednisolon là thuốc chống viêm steroid kinh điển, tác dụng chủ yếu chống viêm mạn tính do ức chế đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào do các lympho bào T đảm nhận, nên được dùng làm thuốc tham chiếu trên mô hình gây viêm mạn tính.

Theo kết quả nghiên cứu cho thấy cả prednisolon liều 7,2mg/kg/ngày và Khớp Bảo An liều 9,8928 và 29,6784g/kg/ngày \times 7 ngày đều có tác dụng làm giảm trọng lượng u hạt tươi và khô có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị p <0,01 và < 0,05). Prednisolon có tác dụng ức chế viêm mạnh hơn Khớp Bảo An liều 9,8928g/kg/ngày, nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê khi dùng Khớp Bảo An liều 29,6784g/kg/ngày. Liều cao Khớp Bảo An có xu hướng làm giảm trọng lượng u hạt tốt hơn so với liều thấp, nhưng

sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đây công bố về tác dụng giảm khối lượng u hạt của Dây đau xương, Cốt khí cụ, Ngưu tất nam, Thổ phục linh [62], [63], [66], [85]. Như vậy, viên nang Khớp Bảo An có tác dụng chống viêm với cả viêm cấp và viêm mạn.

Tác dụng chống viêm khớp của viên nang Khớp Bảo An là kết quả của sự phối hợp tác dụng của các dược liệu thành phần. Nghiên cứu của Nguyễn Đức Thanh, Vy Quốc Tuấn, Nguyễn Đăng Long Vũ và các cộng sự (2023) đã chứng minh Dây đau xương có cả tác dụng chống viêm cấp trên gây phù bàn chân chuột cống bằng carragenin 1% và tác dụng chống viêm mạn trên mô hình gây u hạt [85]. Các nghiên cứu của các tác giả nước ngoài cũng cho thấy vai trò của Dây đau xương ức chế các chất tiền viêm. *Tinospora sinensis* (Lour.) Merr, thuộc chi *Tinospora*, phân bố rộng rãi ở Tây Tạng và Nam Trung Quốc. Thân cây *T. sinensis*, còn được gọi là "Kuan-Jin-Teng" trong tiếng Trung, đã được sử dụng như một loại thuốc Tây Tạng để điều trị bệnh thấp khớp trong nhiều thế kỷ. Các nghiên cứu hóa thực vật trước đây về Dây đau xương đã xác nhận rằng thành phần hóa học của nó bao gồm diterpenoid, triterpene, alkaloid, lignan và flavonoid, v.v. [87], [88]. Các thành phần này có thể tham gia vào việc phát huy các hoạt động dược lý có liên quan. Theo liqiong yu và các cộng sự (2022) Flavonoid Quercetin là một hợp chất coumarin tự nhiên được tìm thấy trong nhiều loại thực vật và trong một số y học cổ truyền Tây Tạng. Nó cũng là cơ sở dược lý của Dây đau xương. Trong mô hình AA, quercetin thúc đẩy quá trình apoptosis ở các bạch cầu trung tính hoạt hóa. Ngoài ra, quercetin ức chế sự hình thành NET bằng cách ức chế sản xuất ROS và autophagy [89]. Trong một nghiên cứu gần đây, quercetin đã được chứng minh là ức chế IL-1 do tăng sinh và biểu hiện của metalloproteinase ma trận và COX-2 bởi nguyên bào sợi hoạt dịch RA [90]. Việc sử dụng Dây đau xương trong viên nang Khớp Bảo An bản thân nó đã

tạo ra tác dụng chống viêm, đồng thời thông qua vai trò thanh nhiệt, giải độc, khu phong trừ thấp là hỗ trợ tác dụng giảm đau chống viêm của chế phẩm. Nên khi kết hợp cùng 8 vị thuốc còn lại sẽ mang lại hiệu quả chống viêm giảm đau trên thực nghiệm.

4.2.2. Tác dụng giảm đau

Tác dụng giảm đau của viên nang Khớp Bảo An được đánh giá trên mô hình mâm nóng (Hot plate), mô hình gậy đau quặn (Writhing Tests), và phương pháp rê kim.

4.2.2.1. Mô hình mâm nóng (Hot plate)

Đây là mô hình dùng nhiệt tác động lên da. Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Trước khi dùng thuốc hoặc mẫu thử, chuột ở cả 4 lô đều có thời gian phản ứng với nhiệt tương đương nhau (các giá trị $p > 0,05$)
- Sau khi dùng thuốc thì lô dùng codein phosphat 20mg/kg/ngày có thời gian phản ứng với nhiệt tăng lên cao nhất ($22,33 \pm 7,08$ giây sau 1 giờ và $24,95 \pm 2,07$ giây sau 2 giờ uống thuốc), còn đối với 2 lô dùng viên nang Khớp Bảo An liều cao $29,6784\text{g/kg/ngày} \times 7$ ngày lại có thời gian phản ứng với nhiệt thấp hơn so với lô uống Khớp Bảo An liều thấp, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Như vậy, theo mô hình này cường độ kích thích gây ra cảm giác đau là dùng nhiệt tác động vào da và bộ phận nhận cảm giác đau gồm các loại thụ cảm để nhận kích thích nhiệt. Khi kích thích bằng nhiệt, có sự dẫn truyền từ ngoại vi về tủy sống, từ tủy sống kích thích lên não, chuột có phản xạ liếm chân sau. Viên nang Khớp Bảo An có tác dụng ức chế phản xạ dẫn truyền thần kinh từ ngoại vi về não. Vì vậy, viên nang Khớp Bảo An có thể có tác dụng ức chế trung tâm nhận cảm đau hoặc tăng ngưỡng nhận đau.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với Xiong Hui (2019), nghiên cứu vị thuốc Dây đau xương có thể làm giảm đáng kể tình trạng tăng cảm giác đau [59]. Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Trần Thanh Tùng (2003) về nghiên cứu vị thuốc Cốt toái bổ liều 4g/kg thể trọng/ngày cũng cho thấy tác dụng giảm đau theo mô hình mâm nóng [91]. Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Tiến Phương (2000) về vị thuốc Cốt khí củ liều 4g/kg thể trọng/ngày và 8g/kg thể trọng/ngày cũng cho thấy tác dụng giảm đau theo mô hình mâm nóng [92].

4.2.2.2. Phương pháp rê kim

Sử dụng tác nhân cơ học (châm kim) để kích thích đau, ưu điểm hơn Hot plate do có 2 tiêu chí đánh giá là thời gian phản ứng với kích thích đau và lực kích thích tới ngưỡng đau của chuột.

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Lô chứng và tất cả các lô dùng thuốc không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về lực gây đau và thời gian phản ứng với đau tại thời điểm trước khi dùng thuốc (các giá trị $p > 0,05$).
- Ở cả hai lô uống viên nang Khớp Bảo An liều 5,7708 và 17,3124g/kg/ngày \times 7 ngày, lực gây đau và thời gian phản ứng với đau sau khi dùng thuốc 7 ngày cũng tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc (các giá trị $p < 0,05$ và $< 0,01$).

Như vậy viên nang Khớp Bảo An có tác dụng giảm đau ngoại vi. Theo các nghiên cứu về thành phần của viên nang Khớp Bảo An có một số vị thuốc có thành phần chính là các flavonoid, thành phần này có tác dụng chống oxy hóa cao. Nhờ tác dụng này sẽ làm giảm gốc tự do, làm giảm sự oxy hóa lớp

phospholipid màng tế bào và giảm phóng một số chất trung gian hóa học dẫn tới viêm và đau.

Theo nghiên cứu của Lisha Dong (2017) nghiên cứu về vị thuốc Thổ phục linh có tác dụng chống oxy hóa và chống viêm nên có thể giảm đau do tác nhân cơ học [62]. Theo nghiên cứu của Velmurugan Chinnasamy và các cộng sự (2019) về vị thuốc Ngưu tất nam có hợp chất phenolic và flavonoid trong việc ức chế tình trạng viêm và hoạt động chống oxy hóa nên có thể giảm đau do tác nhân cơ học, Theo nghiên cứu của Fang-ming Yin, Lian-bo Xiao, Yun Zhang (2015) thì thành phần chính của vị thuốc Cốt toái bổ là Flavonoid naringin nên cũng có thể giảm đau do tác động cơ học.

4.2.2.3. Mô hình gây đau quặn (*Writhing Tests*)

Mô hình gây đau quặn trên chuột nhắt là mô hình được dùng để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại vi của các thuốc. Mặc dù mô hình này thiếu tính đặc hiệu nhưng nó vẫn sử dụng một cách phổ biến do tính đơn giản của nó để sàng lọc, đánh giá tác dụng giảm đau của thuốc.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy:

- So với lô chứng, số cơn đau quặn trong mỗi 5 phút sau khi tiêm acid acetic ở cả hai lô uống Khớp Bảo An và thuốc tham chiếu Diclofenac đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê (các giá trị $p < 0,001$ và $< 0,01$). Như vậy viên nang Khớp Bảo An và thuốc tham chiếu Diclofenac đều thể hiện tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn thực nghiệm, làm thời gian xuất hiện đau muộn hơn và số cơn đau quặn giảm hơn so với lô chứng sinh lý
- So với lô tham chiếu dùng Diclofenac, các lô dùng viên nang Khớp Bảo An có thời gian xuất hiện đau và số cơn đau quặn trong 20 phút sau tiêm acid acetic là tương đương, không có sự khác biệt có ý nghĩa

thống kê ($p > 0,05$). Với các liều dùng trong nghiên cứu, viên nang Khớp Bảo An có tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn tương đương với Diclofenac liều 24mg/kg cân nặng.

- So với lô chứng, các chuột uống Khớp Bảo An và diclofenac đều làm giảm tỷ lệ số cơn đau quặn ở mỗi thời điểm 5 phút sau tiêm acid acetic tốt hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

Acid acetic là nguyên nhân gián tiếp gây giải phóng bradykinin, serotonin, histamin và các prostaglandin, chính những chất này gây ra đáp ứng đau quặn [93]. Tác dụng giảm đau quặn có thể do sự ức chế sự tổng hợp của một số chất trung gian gây viêm như TNF – α , IL - 1 β , IL – 6, và PGE2. Như vậy, trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại vi, viên nang Khớp Bảo An thể hiện tác dụng khá tốt qua đó đánh giá tác dụng giảm đau.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự một số nghiên cứu về tác dụng giảm đau ngoại biên của dược liệu khác. Theo nghiên cứu của Nguyễn Tiến Phương về vị thuốc Cốt khí củ cho thấy có tác dụng làm giảm số cơn đau quặn của chuột nhắt trắng [92]. Theo nghiên cứu của Xiong Hui và các cộng sự (2019) cho thấy Dây đau xương có thể ức chế sản xuất TNF- α , IL-1 β từ đó mà làm giảm cơn đau quặn [59]. Theo nghiên cứu của Lan Sun và các cộng sự (2016) thì vị thuốc Qué chi cũng làm giảm nồng độ cytokine (TNF- α và IL-1 β), NO và PGE2 dẫn tới làm giảm cơn đau quặn [84].

Như vậy theo chúng tôi nghĩ, viên nang Khớp Bảo An thể hiện rõ tác dụng giảm đau ngoại vi (trong thử nghiệm mô hình gây đau quặn và phương pháp rê kim) và tác dụng giảm đau trung ương (trong mô hình mâm nóng).

KẾT LUẬN

Qua các kết quả nghiên cứu trên mô hình thực nghiệm với viên nang Khớp Bảo An chúng tôi đưa ra một số kết luận sau:

1.1. Tính an toàn cao

Chưa tìm thấy LD₅₀ của viên nang Khớp Bảo An theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với tất cả các liều đã thử nghiệm, ngay cả ở liều 264,2g/kg (gấp 26,71 lần liều tương đương dùng điều trị trên người), không có chuột nào chết, các chuột vẫn hoạt động bình thường. Chưa xác định được độc tính cấp đường uống.

1.2. Tác dụng chống viêm và giảm đau trên thực nghiệm

Viên nang Khớp Bảo An có tác dụng chống viêm cấp và chống viêm mạn, đồng thời có tác dụng chống viêm kiểu corticoid và giảm đau rõ rệt.

1.2.1. Tác dụng chống viêm

1.2.1.1. Tác dụng chống viêm cấp

Ở 2 liều 9,8928 g/kg/ngày và 29,6784 g/kg/ngày trên chuột nhắt trắng có tác dụng trên mô hình giảm phù chân chuột, tốt nhất là ở 4 giờ và 24 giờ sau gây viêm.

1.2.1.2. Tác dụng chống viêm mạn

Cả prednisolon liều 7,2 mg/kg/ngày và Khớp Bảo An liều 9,8928 và 29,6784 g/kg/ngày × 7 ngày đều có tác dụng làm giảm trọng lượng u hạt tươi và khô có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị $p < 0,01$ và $< 0,05$). Prednisolon có tác dụng ức chế viêm mạnh hơn Khớp Bảo An liều 9,8928 g/kg/ngày, nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê khi dùng Khớp Bảo An liều 29,6784 g/kg/ngày.

1.2.2. Tác dụng giảm đau

Có cả tác dụng giảm đau cả ngoại vi và trung ương, cụ thể:

Ở 2 liều 9,8928 g/kg/ngày và 29,6784 g/kg/ngày trên chuột nhắt trắng có tác dụng giảm đau trong phương pháp mâm nóng, làm tăng thời gian

đáp ứng (lấy thời gian từ khi đặt chuột lên miếng nóng đến khi chuột liếm chân).

Ở cả hai liều uống viên nang Khớp Bảo An liều 5,7708 và 17,3124 g/kg/ngày trên chuột cống trắng có tác dụng giảm đau trong phương pháp châm kim, làm tăng ngưỡng đau.

Ở 2 liều 9,8928 g/kg/ngày và 29,6784 g/kg/ngày trên chuột nhắt trắng có tác dụng giảm đau bằng phương pháp gây đau quặn bởi Acid Acetic, là trễ thời gian xuất hiện đau và giảm số cơn đau.

KIẾN NGHỊ VÀ ĐỀ XUẤT

Qua nghiên cứu trên thực nghiệm cho thấy đây là bài thuốc có tính an toàn cao và có tác dụng giảm đau chống viêm tốt trên thực nghiệm.

Tiếp tục nghiên cứu độc tính bán trường diễn.

Tiếp tục nghiên cứu cơ chế tác dụng dọn gốc tự do và mô hình cắt thương thận.

Tiếp tục nghiên cứu tác dụng của viên nang Khớp Bảo An theo quy định trên tiền lâm sàng và bước đầu trên lâm sàng để đáp ứng yêu cầu điều trị bệnh xương khớp.

Tiếp tục nghiên cứu tác dụng của viên nang Khớp Bảo An trên các dạng bào chế khác nhau mà tiện lợi hơn khi sử dụng cho người bệnh và có thể thương mại sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Reginato A.M. và Olsen B.R. (2002). The role of structural genes in the pathogenesis of osteoarthritic disorders. *Arthritis Res*, **4(6)**, 337.
2. Senthelal S., Li J., Ardeshirzadeh S. và cộng sự. (2023). Arthritis. *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
3. Siva C., Velazquez C., Mody A. và cộng sự. (2003). Diagnosing Acute Monoarthritis in Adults: A Practical Approach for the Family Physician. *Am Fam Physician*, **68(1)**, 83–90.
4. Who Thực Trạng Vấn Đề Xương Khớp Ở Việt Nam | Herbalife Vietnam. <<https://www.herbalife-vietnam.com/articles/situation-joint-bone-in-vietnam/>>, accessed: 07/11/2023.
5. Safy M., de Hair M.J.H., Jacobs J.W.G. và cộng sự. (2017). Efficacy and safety of selective glucocorticoid receptor modulators in comparison to glucocorticoids in arthritis, a systematic review. *PLoS ONE*, **12(12)**, e0188810.
6. Hatt K.M., Vijapura A., Maitin I.B. và cộng sự. (2018). Safety Considerations in Prescription of NSAIDs for Musculoskeletal Pain: A Narrative Review. *PM&R*, **10(12)**, 1404–1411.
7. Long H., Liu Q., Yin H. và cộng sự. (2022). Prevalence Trends of Site-Specific Osteoarthritis From 1990 to 2019: Findings From the Global Burden of Disease Study 2019. *Arthritis Rheumatol Hoboken Nj*, **74(7)**, 1172–1183.
8. O'Neill T.W., McCabe P.S., và McBeth J. (2018). Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, **32(2)**, 312–326.
9. Frangos T. và Maret W. (2020). Zinc and Cadmium in the Aetiology and Pathogenesis of Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis. *Nutrients*, **13(1)**, 53.
10. Krężel A. và Maret W. (2017). The Functions of Metamorphic Metallothioneins in Zinc and Copper Metabolism. *Int J Mol Sci*, **18(6)**, 1237.

11. Subramanian Vignesh K. và Deepe G.S. (2017). Metallothioneins: Emerging Modulators in Immunity and Infection. *Int J Mol Sci*, **18(10)**, 2197.
12. Lichten L.A., Liuzzi J.P., và Cousins R.J. (2009). Interleukin-1 β contributes via nitric oxide to the upregulation and functional activity of the zinc transporter Zip14 (Slc39a14) in murine hepatocytes. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*, **296(4)**, G860–G867.
13. Schroeder J.J. và Cousins R.J. (1990). Interleukin 6 regulates metallothionein gene expression and zinc metabolism in hepatocyte monolayer cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **87(8)**, 3137–3141.
14. Bonaventura P., Courbon G., Lamboux A. và cộng sự. (2017). Protective effect of low dose intra-articular cadmium on inflammation and joint destruction in arthritis. *Sci Rep*, **7(1)**, 2415.
15. Lee M., Won Y., Shin Y. và cộng sự. (2016). Reciprocal activation of hypoxia-inducible factor (HIF)-2 α and the zinc-ZIP8-MTF1 axis amplifies catabolic signaling in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, **24(1)**, 134–145.
16. Backman J.T., Siegle I., và Fritz P. (1998). Immunohistochemical localization of metallothionein in synovial tissue of patients with chronic inflammatory and degenerative joint disease. *Virchows Arch*, **433(2)**, 153–160.
17. Winters C., Jasani B., Marchant S. và cộng sự. (1997). Immunocytochemical identification of metallothionein-positive cells in rheumatoid synovium and analysis of their cell lineage. *Histochem J*, **29(4)**, 301–307.
18. Roy-O-Reilly M. Metallothionein Gene Dose and the Immune Response. .
19. Tak P.P. và Bresnihan B. (2000). The pathogenesis and prevention of joint damage in rheumatoid arthritis: Advances from synovial biopsy and tissue analysis. *Arthritis Rheum*, **43(12)**, 2619–2633.
20. Song J., Kim D., Lee C.H. và cộng sự. (2013). MicroRNA-488 regulates zinc transporter SLC39A8/ZIP8 during pathogenesis of osteoarthritis. *J Biomed Sci*, **20(1)**, 31.
21. McDougall J.J. (2006). Arthritis and Pain. Neurogenic origin of joint pain. *Arthritis Res Ther*, **8(6)**, 220.

22. Breathnach C.S. (2004). Charles Scott Sherrington's Integrative Action: a centenary notice. *J R Soc Med*, **97**(1), 34–36.
23. Marinozzi G., Ferrante F., Gaudio E. và cộng sự. (1991). Intrinsic innervation of the rat knee joint articular capsule and ligaments. *Acta Anat (Basel)*, **141**(1), 8–14.
24. Heppelmann B., Messlinger K., Neiss W.F. và cộng sự. (1990). Ultrastructural three-dimensional reconstruction of group III and group IV sensory nerve endings (“free nerve endings”) in the knee joint capsule of the cat: Evidence for multiple receptive sites. *J Comp Neurol*, **292**(1), 103–116.
25. Heppelmann B. và McDougall J.J. (2005). Inhibitory effect of amiloride and gadolinium on fine afferent nerves in the rat knee: evidence of mechanogated ion channels in joints. *Exp Brain Res*, **167**(1), 114–118.
26. Schaible H.G. và Schmidt R.F. (1983). Activation of groups III and IV sensory units in medial articular nerve by local mechanical stimulation of knee joint. *J Neurophysiol*, **49**(1), 35–44.
27. Grigg P., Schaible H.G., và Schmidt R.F. (1986). Mechanical sensitivity of group III and IV afferents from posterior articular nerve in normal and inflamed cat knee. *J Neurophysiol*, **55**(4), 635–643.
28. Schaible H.G. và Schmidt R.F. (1985). Effects of an experimental arthritis on the sensory properties of fine articular afferent units. *J Neurophysiol*, **54**(5), 1109–1122.
29. Coggeshall R.E., Ah Park Hong K., Langford L.A. và cộng sự. (1983). Discharge characteristics of fine medial articular afferents at rest and during passive movements of inflamed knee joints. *Brain Res*, **272**(1), 185–188.
30. Schaible H.G. và Schmidt R.F. (1988). Time course of mechanosensitivity changes in articular afferents during a developing experimental arthritis. *J Neurophysiol*, **60**(6), 2180–2195.
31. Schaible H.G., Schmidt R.F., và Willis W.D. (1986). Responses of spinal cord neurones to stimulation of articular afferent fibres in the cat. *J Physiol*, **372**(1), 575–593.
32. Guilbaud G., Iggo A., và Tegnér R. (1985). Sensory receptors in ankle joint capsules of normal and arthritic rats. *Exp Brain Res*, **58**(1), 29–40.

33. Li Z., Proud D., Zhang C. và cộng sự. (2005). Chronic arthritis down-regulates peripheral μ -opioid receptor expression with concomitant loss of endomorphin 1 antinociception. *Arthritis Rheum*, **52(10)**, 3210–3219.
34. Schuelert N. và McDougall J.J. (2006). Electrophysiological evidence that the vasoactive intestinal peptide receptor antagonist VIP6–28 reduces nociception in an animal model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, **14(11)**, 1155–1162.
35. Grotle M., Hagen K.B., Natvig B. và cộng sự. (2008). Obesity and osteoarthritis in knee, hip and/or hand: An epidemiological study in the general population with 10 years follow-up. *BMC Musculoskelet Disord*, **9**, 132.
36. Puenpatom R.A. và Victor T.W. (2009). Increased Prevalence of Metabolic Syndrome in Individuals with Osteoarthritis: An Analysis of NHANES III Data. *Postgrad Med*, **121(6)**, 9–20.
37. Felson D.T., Naimark A., Anderson J. và cộng sự. (1987). The prevalence of knee osteoarthritis in the elderly. the framingham osteoarthritis study. *Arthritis Rheum*, **30(8)**, 914–918.
38. Felson D.T., Zhang Y., Hannan M.T. và cộng sự. (1995). The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly, the framingham osteoarthritis study. *Arthritis Rheum*, **38(10)**, 1500–1505.
39. Blagojevic M., Jinks C., Jeffery A. và cộng sự. (2010). Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage*, **18(1)**, 24–33.
40. Katz J.N., Arant K.R., và Loeser R.F. (2021). Diagnosis and Treatment of Hip and Knee Osteoarthritis: A Review. *JAMA*, **325(6)**, 568–578.
41. Duncan R., Peat G., Thomas E. và cộng sự. (2009). Does isolated patellofemoral osteoarthritis matter?. *Osteoarthritis Cartilage*, **17(9)**, 1151–1155.
42. Altman R., Asch E., Bloch D. và cộng sự. (1986). Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*, **29(8)**, 1039–1049.
43. Hunter D.J., Zhang W., Conaghan P.G. và cộng sự. (2011). Systematic review of the concurrent and predictive validity of MRI biomarkers in OA. *Osteoarthritis Cartilage*, **19(5)**, 557–588.

44. Bijlsma J.W., Berenbaum F., và Lafeber F.P. (2011). Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *The Lancet*, **377(9783)**, 2115–2126.
45. Podlipská J., Guermazi A., Lehenkari P. và cộng sự. (2016). Comparison of Diagnostic Performance of Semi-Quantitative Knee Ultrasound and Knee Radiography with MRI: Oulu Knee Osteoarthritis Study. *Sci Rep*, **6**, 22365.
46. Lanza F.L., Chan F.K.L., Quigley E.M.M. và cộng sự. (2009). Guidelines for Prevention of NSAID-Related Ulcer Complications. *Off J Am Coll Gastroenterol ACG*, **104(3)**, 728.
47. Bannuru R.R., Schmid C.H., Kent D.M. và cộng sự. (2015). Comparative Effectiveness of Pharmacologic Interventions for Knee Osteoarthritis. *Ann Intern Med*, **162(1)**, 46–54.
48. Comparative effectiveness of glucosamine, chondroitin, acetaminophen or celecoxib for the treatment of knee and/or hip osteoarthritis: a network meta-analysis. *Clin Exp Rheumatol*, <<https://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=12104>>, accessed: 03/10/2024.
49. Cheng O.T., Souzdalnitski D., Vrooman B. và cộng sự. (2012). Evidence based knee injections for the management of arthritis. *Pain Med Malden Mass*, **13(6)**, 740–753.
50. McAlindon T.E., LaValley M.P., Harvey W.F. và cộng sự. (2017). Effect of Intra-articular Triamcinolone vs Saline on Knee Cartilage Volume and Pain in Patients With Knee Osteoarthritis. *JAMA*, **317(19)**, 1967–1975.
51. Deyle G.D., Allen C.S., Allison S.C. và cộng sự. (2020). Physical Therapy versus Glucocorticoid Injection for Osteoarthritis of the Knee. *N Engl J Med*, **382(15)**, 1420–1429.
52. Conaghan P.G., Hunter D.J., Cohen S.B. và cộng sự. (2018). Effects of a Single Intra-Articular Injection of a Microsphere Formulation of Triamcinolone Acetonide on Knee Osteoarthritis Pain. *J Bone Joint Surg Am*, **100(8)**, 666–677.
53. Zeng C., Lane N.E., Hunter D.J. và cộng sự. (2019). Intra-articular corticosteroids and the risk of knee osteoarthritis progression: results from the Osteoarthritis Initiative. *Osteoarthritis Cartilage*, **27(6)**, 855–862.

54. Hochberg M.C., Wohlreich M., Gaynor P. và cộng sự. (2012). Clinically Relevant Outcomes Based on Analysis of Pooled Data from 2 Trials of Duloxetine in Patients with Knee Osteoarthritis. *J Rheumatol*, **39**(2), 352–358.
55. Osani M.C. và Bannuru R.R. (2019). Efficacy and safety of duloxetine in osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Korean J Intern Med*, **34**(5), 966–973.
56. Trần Quốc Bảo (2011). Bệnh Học nội khoa y học cổ truyền. *Bệnh Học nội khoa y học cổ truyền*. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, 354-355–356.
57. GS. Trần Thúy, PGS. TS. Vũ Nam, và PTS.TS. Nguyễn Nhược Kim (2014). Kinh văn. *Nội kinh*. Nhà xuất bản Y học, 130–131.
58. Duoc-dien-Viet-Nam-5-Tap-1-2.pdf. <<https://duocdienvietnam.com/wp-content/uploads/2023/05/Duoc-dien-Viet-Nam-5-Tap-1-2.pdf>>, accessed: 03/10/2024.
59. Xiong H., Ding X., Wang H. và cộng sự. (2019). Tibetan medicine Kuan-Jin-Teng exerts anti-arthritic effects on collagen-induced arthritis rats via inhibition the production of pro-inflammatory cytokines and down-regulation of MAPK signaling pathway. *Phytomedicine*, **57**, 271–281.
60. Manjrekar P.N., Jolly C.I., và Narayanan S. (2000). Comparative studies of the immunomodulatory activity of *Tinospora cordifolia* and *Tinospora sinensis*. *Fitoterapia*, **71**(3), 254–257.
61. Trần Văn Kỳ (2013). Cây thuốc. *Dược học cổ truyền*. Nhà xuất bản Đà Nẵng, 750–751, 754–755.
62. Dong L., Zhu J., Du H. và cộng sự. (2017). Astilbin from *Smilax glabra* Roxb. Attenuates Inflammatory Responses in Complete Freund's Adjuvant-Induced Arthritis Rats. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*, **2017**, 8246420.
63. Chinnasamy V., Subramaniyan V., Chandiran S. và cộng sự. (2019). Antiarthritic Activity of *Achyranthes Aspera* on Formaldehyde - Induced Arthritis in Rats. *Open Access Maced J Med Sci*, **7**(17), 2709–2714.
64. Begum Mst.M., Islam A., Begum R. và cộng sự. (2019). Ethnopharmacological Inspections of Organic Extract of *Oroxylum indicum* in Rat Models: A Promising Natural Gift. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*, **2019**, 1562038.

65. Pan Y., Luo X., và Gong P. (2023). *Spatholobi caulis*: A systematic review of its traditional uses, chemical constituents, biological activities and clinical applications. *J Ethnopharmacol*, **317**, 116854.
66. Fan W., Chen S., Wu X. và cộng sự. (2021). Resveratrol Relieves Gouty Arthritis by Promoting Mitophagy to Inhibit Activation of NLRP3 Inflammasomes. *J Inflamm Res*, **14**, 3523–3536.
67. Zhang C., Fan L., Fan S. và cộng sự. (2019). Cinnamomum cassia Presl: A Review of Its Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology. *Molecules*, **24(19)**, 3473.
68. Nguyễn Việt Thân (2010). Các vị thuốc đông y. *Cây thuốc việt nam và những bài thuốc thường dùng tập 1*. Nhà xuất bản Y học, 14-372–572.
69. Lê Quý Nguu (1999). Dược tài đông y. *Dược tài đông y*. Nhà xuất bản Thuận Hóa, 27, 503–505, 533–534.
70. thuvienphapluat.vn (2020). Quyết định 141/QĐ-K2ĐT 2015 Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng lâm sàng thuốc đông y. THƯ VIỆN PHÁP LUẬT, <<https://thuvienphapluat.vn/van-ban/The-thao-Y-te/Quyết-dinh-141-QĐ-K2ĐT-2015-Huong-dan-thu-nghiem-tien-lam-sang-lam-sang-thuoc-dong-y-414589.aspx>>, accessed: 04/10/2024.
71. OECD (2015), *Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion*, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
72. 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, 357–425.
73. Viện Dược Liệu (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ dược thảo*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, 321–333.
74. Deuis J.R., Dvorakova L.S., và Vetter I. (2017). Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Front Mol Neurosci*, **10**, 284.
75. Gawade S.P. (2012). Acetic acid induced painful endogenous infliction in writhing test on mice. *J Pharmacol Pharmacother*, **3(4)**, 348.
76. Dzoyem J.P., McGaw L.J., Kuete V. và cộng sự. (2017). Chapter 9 - Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*. Academic Press, 239–270.

77. Hồ Thị Lan (2023), *Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng của bài thuốc “Xương khớp Nam Thang” trên mô hình thực nghiệm thoái hóa khớp gối*, Luận văn thạc sĩ y học, Học Viên Y Dược Học Cổ Truyền Việt Nam.
78. Nguyễn Thị Mai Linh (2022), *Nghiên cứu độc tính cấp, bán trường diễn và tác dụng giảm đau của bài thuốc Thái Bình HV trên động vật thí nghiệm*, Luận văn thạc sĩ y học, Học Viên Y Dược Học Cổ Truyền Việt Nam.
79. Behrens E.M. (2008). Macrophage activation syndrome in rheumatic disease: What is the role of the antigen presenting cell?. *Autoimmun Rev*, **7(4)**, 305–308.
80. Vinegar R., Schreiber W., và Hugo R. (1969). Biphasic Development of Carrageenin Edema in Rats. *J Pharmacol Exp Ther*, **166(1)**, 96–103.
81. Phạm T. chí K. nghiệm và A. toàn thực (2023). Study on the anti-arthritic effects of *Tinospora sinensis* Merr. *Tạp Chí Kiểm Nghiệm Và Toàn Thực Phẩm*, **6(2)**, 199–209.
82. Liu X.-Y., Zhang Y.-B., Yang X.-W. và cộng sự. (2021). Simultaneous determination of twenty-five compounds with anti-inflammatory activity in *Spatholobi Caulis* by using an optimized UFLC-MS/MS method: An application to pharmacokinetic study. *J Pharm Biomed Anal*, **204**, 114267.
83. Yin F., Xiao L., và Zhang Y. (2015). [Research progress on *Drynaria fortunei* naringin on inflammation and bone activity]. *Zhongguo Gu Shang China J Orthop Traumatol*, **28(2)**, 182–186.
84. Sun L., Zong S.-B., Li J.-C. và cộng sự. (2016). The essential oil from the twigs of *Cinnamomum cassia* Presl alleviates pain and inflammation in mice. *J Ethnopharmacol*, **194**, 904–912.
85. Thanh N.D., Tuan V.Q., Vu N.D.L. và cộng sự. (2023). Study on the anti-arthritic effects of *Tinospora sinensis* Merr. *Vietnam J Food Control*, **6(2)**, 199–209.
86. Kumar R., Gupta Y.K., và Singh S. (2016). Anti-inflammatory and anti-granuloma activity of *Berberis aristata* DC. in experimental models of inflammation. *Indian J Pharmacol*, **48(2)**, 155.
87. Yang Y., Zhou J., Xu Z. và cộng sự. (2017). Freestanding flexible Ni₁₂P₅ in bacteria based carbon @ reduced graphene oxides paper for lithium-ion anode. *Mater Lett*, **207**, 153–156.

88. Nagar S., Hensel A., Mischnick P. và cộng sự. (2018). A unique polysaccharide containing 3-*O*-methylarabinose and 3-*O*-methylgalactose from *Tinospora sinensis*. *Carbohydr Polym*, **193**, 326–335.
89. Yuan K., Zhu Q., Lu Q. và cộng sự. (2020). Quercetin alleviates rheumatoid arthritis by inhibiting neutrophil inflammatory activities. *J Nutr Biochem*, **84**, 108454.
90. Yu L., Li S., Pu L. và cộng sự. (2022). Traditional Tibetan medicine: therapeutic potential in rheumatoid arthritis. *Front Pharmacol*, **13**, 938915.
91. Trần Thanh Tùng (2003), *Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau và độc tính cấp của cốt toái bổ*, luận văn tốt nghiệp bác sĩ y khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.
92. Nguyễn Tiến Phương (2000), *Nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau và độc tính cấp của Cốt khí cụ*, Luận văn thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
93. Bendtzen K., Hansen M.B., Ross C. và cộng sự. (1995). Cytokines and autoantibodies to cytokines. *Stem Cells*, **13(3)**, 206–222.

PHỤ LỤC I.
XÁC NHẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU

HỌC VIỆN YDHCT VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU YDCT TUỆ TĨNH

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

Hà Nội, ngày 06 tháng 12 năm 2024

GIẤY XÁC NHẬN

Viện nghiên cứu Y - Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh, Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam
xác nhận:

Học viên cao học: **Trần Đình Nhật Duy**

Lớp cao học: K15 ngành Y học cổ truyền

Mã học viên: 22CHY0010

Cơ sở đào tạo : Học viện Y - Dược học cổ truyền Việt Nam

Đã tham gia nghiên cứu và thực hiện đề tài: **Nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng giảm đau và chống viêm của Viên nang Khớp Bảo An trên thực nghiệm.**

Tại: Viện nghiên cứu Y - Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh, với sự giúp đỡ của các giảng viên, nghiên cứu viên và kỹ thuật viên.

Nội dung thực hiện: Nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng giảm đau và chống viêm của Viên nang Khớp Bảo An trên thực nghiệm.

Thời gian từ: 04/2024 đến 09/2024

Cán bộ hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Thị Minh Thu.

TS. Phạm Thanh Tùng

PHÓ VIỆN TRƯỞNG PHỤ TRÁCH



PHỤ LỤC II.
TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CỦA VIÊN NANG KHỚP BẢO AN

VIỆN NGHIÊN CỨU Y-DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH		
Mã số: TCKT.TP.03	TIÊU CHUẨN CƠ SỞ KHỚP BẢO AN	Trang: 1 / 5

I. PHẠM VI ÁP DỤNG TIÊU CHUẨN

TT	Nội dung	Phạm vi áp dụng
1	Sản phẩm	Khớp Bảo An
2	Số đăng ký/Số công bố	
3	Quy cách đóng gói	60 viên/lọ
4	Địa điểm sản xuất	Cty cổ phần nhà máy Bách Thảo Dược

HỌC VIỆN

Mã số: TCKT.TP.03	TIÊU CHUẨN CƠ SỞ KHỚP BẢO AN	Trang: 2 / 5
----------------------	---	--------------

II. THEO DÕI SỬA ĐỔI

TT	Trang	Nội dung sửa đổi	Ngày hiệu lực	Ghi chú

0
 V
 GHI
 Y.
 CỔ
 TU
 2C1

VIỆN NGHIÊN CỨU Y-DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

Mã số: TCKT.TP.03	TIÊU CHUẨN CƠ SỞ KHỚP BẢO AN	Trang: 3 / 5
----------------------	---	--------------

III. THÀNH PHẦN CẤU TẠO

Dây đau xương	1000 mg;
Cốt toái bồ	500 mg;
Ngưu tất nam	500 mg;
Tục đoạn	500 mg;
Cốt khí cù	500 mg;
Kê huyết đằng	500 mg;
Thỏ phục linh	500 mg
Hoàng bá nam	500 mg
Quế chi	80 mg

Phụ liệu: magnesium stearate, talc, sodium benzoate, vỏ nang gelatin

IV. YÊU CẦU KỸ THUẬT

1. Trạng thái sản phẩm

- Dạng bào chế: Viên nang cứng, bột trong nang màu nâu xám, hơi xốp, mùi dược liệu đặc trưng, không nấm mốc
- Khối lượng trung bình viên: 600mg ± 7,5% (đã bao gồm vỏ nang)

2. Chỉ tiêu chất lượng chủ yếu

STT	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Mức chất lượng
1	Dây đau xương	Định tính	Dương tính
2	Ngưu tất	Định tính	Dương tính
3	Cốt toái bồ	Định tính	Dương tính

3. Giới hạn về vi sinh vật

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

IV. PHƯƠNG PHÁP THỬ

1. Trạng thái sản phẩm: Cảm quan

2. Khối lượng tịnh: Thử theo ĐBVN V, phụ lục 11.3. Cân khối lượng 20 viên nang.

3. Chỉ tiêu chất lượng:

3.1 Hóa chất, thuốc thử

VIỆN NGHIÊN CỨU Y-DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH		
Mã số: TCKT.TP.03	TIÊU CHUẨN CƠ SỞ KHỚP BẢO AN	Trang: 4 / 5

- n-hexan
- ethyl acetat
- Dicloromethane
- Vanilin 2% trong acid Sulfuric
- Toluen
- methanol
- Acid sulfuric loãng
- n- butanol
- acid formic
- ether dầu hỏa (60°C đến 90°C)
- anisadehyd
- acid hydrochloric
- anhydrid acetic – acid sulfuric (20:1)
- acetone
- kali hydroxyd 10%

3.2. Phương pháp định tính: Sắc ký lớp mỏng

- Tiến hành theo được điển Việt Nam V (PL 5.4). Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10µl dung dịch mẫu thử và dung dịch mẫu đối chiếu đã chuẩn bị ở phần trên trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra. Quan sát dưới ánh sáng thường và ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 254nm, 365 nm (hoặc hiện màu bằng thuốc thử đặc hiệu), trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu sắc, cùng giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

3.3. Chuẩn bị mẫu định tính

3.3.1. Định tính Dây đau xương

- Bản mỏng: Silicagel GF₂₅₄
- Dung môi triển khai: *Cloroform – ethyl acetat – methanol – nước = 15 : 40 : 22 : 10*
- Dung dịch thử: Lấy 10g chế phẩm, thêm 100 ml cloroform, đun hồi lưu trên cách thủy 1h. loại bỏ dịch cloroform, làm khô cặn chế phẩm. Làm ẩm cặn bằng 2ml nước, sau đó thêm 10ml n-butanol bão hòa nước, lắc siêu âm 30 min; gạn lấy dịch chiết butanol, thêm 3 thể tích amoniac đậm đặc, lắc đều rồi để yên cho tách lớp. Gạn lấy lớp trên, bốc hơi đến khô, hòa tan cặn trong 1ml methanol được dung dịch chấm sắc ký.
- Dung dịch đối chiếu: Lấy 2g dược liệu, nghiền nhỏ. Thêm 30ml cloroform, tiến hành như dung dịch thử.
- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol, sấy bản mỏng ở 105°C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường và ánh sáng tử ngoại 366nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

3.3.2. Định tính Ngưu tất

- Bản mỏng: Silicagel GF₂₅₄
- Dung môi triển khai: *Ether dầu hỏa (30 °c đến 40 °C) – ethyl acetat – acid acetic băng (7,5 : 2,5 : 0,25).*
- Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g bột chế phẩm, thêm 20 ml nước, lắc để nước thấm đều, để yên 15min, thêm 80 ml methanol, cho vào bình cầu miệng mài, đun sôi hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, lọc, làm bay hơi dung môi đến cạn. Thêm vào cặn 5 ml nước và 50 ml ether dầu hỏa (30°C đến 60 °C), lắc khoảng 3 min đến 5 min, để lắng, gạn lấy phần dịch chiết ether dầu hỏa,

VIỆN NGHIÊN CỨU Y-DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH		
Mã số: TCKT.TP.03	TIÊU CHUẨN CƠ SỞ KHỚP BẢO AN	Trang: 5 / 5

làm bay hơi hết dung môi. Hòa cần trong 2 ml methanol làm dung dịch chấm sắc ký.

- Dung dịch đối chiếu: Lấy 2g bột dược liệu, làm ẩm bằng 10ml nước, để yên 15min, nghiền dược liệu thành bột ướt trong cối sứ, thêm 50ml methanol, tiến hành tương tự như dung dịch thử.
- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng phơi khô ngoài không khí, phun dung dịch kali hydroxyd 10% trong ethanol. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

3.3.3. Định tính Cốt toái bộ

- Bản mỏng: Silicagel GF₂₅₄
- Dung môi triển khai: *Ethyl acetat - methanol - nước = 100 : 17 : 13*
- Dung dịch thử: Lấy 10g bột chế phẩm, thêm 100 ml ethanol 96 %, đun hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, để nguội, lọc, để bay hơi dịch lọc đến cạn. Thêm vào cần 10 ml nước và 1 ml dung dịch acid hydrocloric 10%, đun hồi lưu trong cách thủy 30 min, để nguội sau đó lắc với ether ethylic 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết ether, để bay hơi tự nhiên còn khoảng 1 ml dùng làm dung dịch chấm sắc ký.
- Dung dịch đối chiếu: Lấy 2g dược liệu, tiến hành tương tự như dung dịch thử.
- Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát các vết dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sau đó cho bản mỏng tiếp xúc với hơi amoniac. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

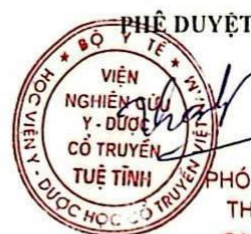
4. Giới hạn vi sinh vật

Tên chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
E.coli	KPH /g	TCVN 7924-2 : 2008
Cl.perfringenes	≤ 10 cfu/g	TCVN 4991 : 2005
Coliform	≤ 10 cfu/g	TCVN 6848 : 2007
Tổng VSV hiếu khí	≤ 10.000 cfu/g	TCVN 4884-1:2015
Tổng bào tử nấm men, nấm mốc	≤ 100 cfu/g	TCVN 8275-2:2010

Ngày 29 tháng 11 năm 2023

NGƯỜI SOẠN THẢO

Trần Văn Thanh



PHÓ VIỆN TRƯỞNG
THƯỜNG TRỰC

TS. Trần Văn Thanh