BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO **BỘ Y TẾ**

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

------- ☙ ✧ ❧ -------

HOÀNG THỊ VÂN

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM GIẢM ĐAU VÀ ĐỘC TÍNH CẤP TRÊN THỰC NGHIỆM CỦA BÀI THUỐC "PHONG THẤP THANG"

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - NĂM 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO **BỘ Y TẾ**

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

------- ☙ ✧ ❧ -------

HOÀNG THỊ VÂN

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM GIẢM ĐAU VÀ ĐỘC TÍNH CẤP TRÊN THỰC NGHIỆM CỦA BÀI THUỐC "PHONG THẤP THANG"

Chuyên ngành : Y học cổ truyền

Mã số : 8720115

LUẬN VĂN THẠC SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

HD1: TS. Nguyễn Tiến Chung

HD2: TS. Trần Thế Linh

HÀ NỘI - NĂM 2024

LỜI CẢM ƠN

Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, em chân thành gửi lời cảm ơn tới:

Đảng ủy, Ban Giám đốc, Phòng Đào tạo Sau Đại học, các Bộ môn, Khoa phòng, Viện nghiên cứu Y dược cổ truyền Tuệ Tĩnh, các thầy cô trong Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và Khoa nghiên cứu thực nghiệm – Viện Y học cổ truyền Tuệ Tĩnh đã tạo điều kiện, giúp đỡ em trong quá trình học tập và làm luận văn.

TS Nguyễn Tiến Chung, Giảng viên bộ môn Nội, Phó Giám đốc Bệnh viện Tuệ Tĩnh, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam và TS Trần Thế Linh, Phó trưởng khoa Nội, Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương là 2 người thầy trực tiếp hướng dẫn, đã dành nhiều thời gian và công sức dạy bảo, truyền đạt cho em nhiều kiến thức khoa học quý báu.

Các thầy cô trong Hội đồng thông qua đề cương và Hội đồng bảo vệ luận văn Thạc sĩ của Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, những người thầy, người cô đã cho em những ý kiến đóng góp quý báu, giúp em sửa chữa những thiếu sót, hạn chế để hoàn thiện luận văn của mình.

Con gửi tới bố mẹ lòng biết ơn sâu sắc, những người có công sinh thành, nuôi dưỡng, dạy dỗ và luôn dành cho con những tình cảm yêu quý nhất.

Xin gửi lời cảm ơn tới toàn thể gia đình, bạn bè, những người luôn động viên, giúp đỡ và tạo những điều kiện thuận lợi giúp tôi hoàn thành luận văn này.

Hà Nội, ngày 31 tháng 10 năm 2024

Tác giả luận văn

Hoàng Thị Vân

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Hoàng Thị Vân**, học viên cao học khóa 15 – Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam, chuyên ngành Y học cổ truyền xin cam đoan:

Đây là luận văn do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS.BS. Nguyễn Tiến Chung và TS. BS. Trần Thế Linh.

Những số liệu có được trong luận văn này do tôi trực tiếp thu thập tại Viện nghiên cứu y dược cổ truyền Tuệ Tĩnh - Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam.

Kết quả nghiên cứu này chưa từng được công bố và không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác.

Tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm về tất cả những vấn đề trình bày trong luận văn này.

Hà Nội, ngày 31 tháng 10 năm 2024

Người viết cam đoan

Hoàng Thị Vân

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Tiếng Việt

GS	Giáo sư
PGS	Phó giáo sư
TS	Tiến sĩ
Ths	Thạc sĩ
YHCT	Y học cổ truyền
YHHĐ	Y học hiện đại

Tiếng Anh

WHO	World Health Organization
FCA	Freund’s complete adjuvant

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ 1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU 3
1.1. Tổng quan về viêm 3
1.1.1. Khái niệm 3
1.1.2. Nguyên nhân 4
1.1.3. Phân loại 4
1.2. Tổng quan về đau 8
1.2.1. Định nghĩa 8
1.2.2. Cơ chế đau 9
1.2.3. Các loại đau 10
1.3. Tổng quan viêm và đau theo y học cổ truyền 12
1.3.1. Sơ lược quan niệm viêm và đau theo y học cổ truyền 12
1.3.2. Các thể lâm sàng và điều trị 13
1.4. Tổng quan về bài thuốc "Phong Thấp Thang" 16
1.4.1. Nguồn gốc xuất xứ 16
1.4.2. Thành phần bài thuốc 16
1.4.3. Các nghiên cứu của bài thuốc 20
1.4.4. Phân tích bài thuốc theo tác dụng y học cổ truyền 21
1.5. Tổng quan mô hình chống viêm, giảm đau nghiên cứu trên động vật 21
1.5.1 Đánh giá tác dụng chống viêm cấp 21
1.5.2. Đánh giá tác dụng chống viêm mạn 24
1.5.3. Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương 26
1.5.4. Đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên 27
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 29
2.1. Bài thuốc Phong Thấp Thang 29
2.1.1. Công thức bài thuốc 29
2.1.2. Quy trình bào chế 29
2.1.3. Dạng bào chế 31

2.1.4. Thuốc đối chứng và hóa chất trong nghiên cứu 31
2.1.5. Các vật liệu và phương tiện khác.....31
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu 32
2.3. Đối tượng nghiên cứu.....32
2.4. Phương pháp nghiên cứu.....32
2.4.1. Nghiên cứu độc tính cấp 32
2.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm 35
2.4.3. Nghiên cứu tác dụng giảm đau 37
2.5. Phương pháp xử lý số liệu 39
2.6. Đạo đức trong nghiên cứu 39
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....40
3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp 40
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau 40
3.2.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau trung ương.....56
3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau ngoại biên.....57
3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm.....56
3.3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp.....40
3.3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn.....48
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN 61
4.1. Độc tính cấp của bài thuốc Phong Thấp Thang 61
4.2. Tác dụng giảm đau, chống viêm của dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang.....62
4.2.1. Về tác dụng giảm đau 62
4.2.2. Về tác dụng chống viêm 67
4.3. Tác dụng giảm đau, chống viêm theo Y học cổ truyền..... 70
KẾT LUẬN 73
KHUYẾN NGHỊ..... 74
TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC

DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Công thức bài thuốc nghiên cứu.....29
Bảng 3.1. Kết quả độc tính cấp của bài thuốc "Phong Thấp Thang" 40
Bảng 3.2. Ảnh hưởng Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 1 giờ gây viêm bằng Carragenan 41
Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 2 giờ gây viêm bằng carrageenan.....42
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 4 giờ gây viêm bằng carragenan.....43
Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 6 giờ gây viêm bằng carragenan.....44
Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 24 giờ gây viêm bằng carragenan.....45
Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 48 giờ gây viêm bằng carragenan.....46
Bảng 3.8. Mức độ giảm phù bàn chân chuột 47
Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 2 ngày gây viêm bằng FCA.....49
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 7 ngày gây viêm bằng FCA.....50
Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 14 ngày gây viêm bằng FCA.....51
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 21 ngày gây viêm bằng FCA.....52
Bảng 3.13. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 28 ngày gây viêm bằng FCA.....53
Bảng 3.14. Mức độ giảm phù viêm mạn bàn chân chuột 54

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới thời gian phản ứng với nhiệt của chuột nhắt trắng 56
Bảng 3.16. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang đến sự giảm số cơn đau quặn ở chuột nhắt trắng trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic.....58
Bảng 3.17. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang đến tỷ lệ giảm số cơn đau quặn ở chuột nhắt trắng trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic 59

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1: Tỷ lệ giảm phù ở các nhóm trong mô hình chống viêm cấp.....48
Biểu đồ 3.2: Mức độ giảm phù ở các nhóm trong mô hình chống viêm mạn.....55
Biểu đồ 3.3: Thời gian đáp ứng đau của các nhóm trong mô hình nhúng đuôi.....57
Biểu đồ 3.4: Tỷ lệ giảm số cơn đau quặn trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic 60

DANH MỤC HÌNH, SƠ ĐỒ

Hình 1.1. Vị thuốc Dây chiều.....16
Hình 1.2. Vị thuốc Cà gai leo.....17
Hình 1.3. Vị thuốc Cỏ cây gạo.....18
Hình 1.4. Vị thuốc Dây xấu hổ 19
Hình 2.1. Dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang.....31
Hình 3.1. Chân phải chuột 23 (lô 3) ở ngày 21 sau tiêm FCA 54
Hình 3.2. Biểu hiện đau của chuột ở lô uống diclofenac natri sau tiêm acid acetic .60
Hình 3.3. Biểu hiện đau của chuột ở lô uống Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày sau tiêm acid acteic.....60

Sơ đồ 2.1. Quy trình nghiên cứu. 39

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm là phản ứng của cơ thể tại mô liên kết - một mô có mặt ở mọi cơ quan - biểu hiện bằng sự thực bào tại chỗ, có tác dụng loại trừ tác nhân gây viêm và sửa chữa tổn thương; đồng thời kèm những biểu hiện bệnh lý. Đau là một trải nghiệm cảm giác và cảm xúc khó chịu liên quan đến tổn thương mô thực tế hoặc tiềm năng, đây là một trải nghiệm cá nhân bị ảnh hưởng ở mức độ khác nhau bởi các yếu tố sinh học, tâm lý và xã hội. Do vậy khi cơ thể xuất hiện bệnh lý liên quan đến đau và viêm thường đem lại cảm giác khó chịu ảnh hưởng tới sinh hoạt và đời sống [1][2].

Với sự phát triển của YHHĐ nhiều loại thuốc chống viêm giảm đau đã được ứng dụng trên lâm sàng: Thuốc giảm đau Paracetamol, thuốc kháng viêm không steroid (NSAIDs), Glucocorticoid. Kết hợp một số phương pháp không dùng thuốc như: Phục hồi chức năng (vật lý trị liệu, siêu âm, chiếu đèn hồng ngoại, tắm suối khoáng…), tập luyện (bao gồm cả tập vận động và thụ động)...giúp cho tình trạng viêm đau giảm đi đem lại hiệu quả đáng kể, có ý nghĩa về mặt thời gian trong sự tiến triển của bệnh [3].

Theo YHCT, hiện tượng "bất thông tắc thống" nghĩa là cơ chế biểu hiện bởi khí huyết trong kinh mạch không lưu thông thông suốt mà gây đau. Viêm không có trong y văn của YHCT nhưng khi đau mà có sưng, nóng, đỏ hoặc không đỏ nghĩa là quá trình viêm đã diễn ra, thuộc về thấp nhiệt tý chứng. Như vậy là đau thường đi kèm với viêm trong các bệnh lý đặc biệt là viêm khớp, thuốc phạm vi chứng tý theo YHCT. Nguyên nhân thường gặp do khí trệ, huyết ứ, khí uất, hàn ngưng, huyết hư, đàm ứ, thận hư. Muốn chữa đau, viêm thì phải khu tà, kết hợp hành khí, hoạt huyết, chỉ thống và phương pháp không dùng thuốc khác như châm cứu, xoa bóp bấm huyệt, khí công chủ yếu làm thông kinh lạc, điều hoà âm dương, khí huyết [4].

Bài thuốc "Phong Thấp Thang" được chúng tôi đặt từ bài thuốc có tên ban đầu là "Thuốc Phong Thấp" được thầy thuốc đông y tỉnh Thái Nguyên sử dụng để điều trị đau nhức xương khớp, được thu thập thông qua đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ y tế công bố trong bài báo "Công năng, chủ trị của một số bài thuốc Nam thường dùng" số 1B tháng 12/2023 Tạp chí y học Việt Nam. Bài thuốc bao gồm các vị thuốc:

Dây chiều, Cà gai leo, Vỏ cây gạo, Dây xấu hổ. Một trong số các vị thuốc trên được sử dụng nhiều trong các bài thuốc nam để chữa chứng xương khớp đau nhức như Dây xấu hổ, Dây chiều trong bài thuốc Cao Phong Thấp; Cà gai leo, Dây chiều trong bài Thang Trị Phong Thấp; Vỏ cây gạo trong bài Viên Mã Tiền [5][6].

Cùng với cơ chế Lý-Pháp-Phương-Dược của YHCT, các vị thuốc sẽ là minh chứng khoa học cho YHHĐ của phương thuốc cổ truyền. Bài thuốc "Phong Thấp Thang" là bước đầu trong lộ trình phát triển sản phẩm từ bài thuốc cổ truyền, nhằm tiếp cận nhanh nhất tới người có bệnh lý về đau, viêm. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau cũng như độc tính cấp đối với bài thuốc này. Do đó, chúng tôi thực hiện đề tài: "**Đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau và độc tính cấp trên thực nghiệm của bài thuốc Phong Thấp Thang**" được tiến hành nhằm mục tiêu:

1. Đánh giá độc tính cấp của bài thuốc Phong Thấp Thang.

2. Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau trên thực nghiệm của bài thuốc Phong Thấp Thang.

Chương 1
TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về viêm

1.1.1. Khái niệm

Viêm là quá trình bệnh lý rất phổ biến, vì:

(1) Có vô số yếu tố cụ thể có thể gây viêm

(2) Bất cứ cơ quan và mô nào cũng có thể bị viêm.

Do vậy, y học biết tới viêm rất sớm; khái niệm về viêm có từ trước công nguyên và thay đổi theo sự tiến bộ của y học.

Cách đây hơn 2000 năm Celcius đã đặt cột mốc quan trọng khi ông đưa ra một tổng kết nổi tiếng về viêm, với 4 tính chất: sưng, nóng, đỏ, đau. Từ đó, người ta thấy viêm không phải là một bệnh cụ thể mà là một quá trình bệnh lý chung, gặp ở nhiều bệnh khác nhau. Tuy nhiên, Celcius mới nêu các biểu hiện bên ngoài, mang tính hình thái của viêm. Galen bổ sung thêm một tính chất mới: viêm gây rối loạn chức năng. Dẫu sao, sự mô tả như trên khiến người ta chỉ nhìn ra mặt có hại của viêm. Với sự xuất hiện của kính hiển vi, Metnhicôp phát hiện tượng thực bào trong viêm, giúp ta thấy viêm còn là một phản ứng bảo vệ cơ thể; đồng thời nhờ các nghiên cứu của Conheim cuối thế kỷ XIX về rối loạn vận mạch trong viêm, dần dần y học mô tả những rối loạn bên trong liên quan tới bản chất của viêm.

Chung nhất, có thể nói viêm là phản ứng của cơ thể tại mô liên kết - một mô có mặt ở mọi cơ quan - biểu hiện bằng sự thực bào tại chỗ, có tác dụng loại trừ tác nhân gây viêm và sửa chữa tổn thương; đồng thời kèm theo những biểu hiện bệnh lý. Khi động vật tiến hóa đến giai đoạn xuất hiện hệ tuần hoàn thì viêm bao giờ cũng kèm theo thay đổi mạch máu, với sự tham gia của thần kinh, nhằm đưa các tế bào thực bào (có mặt trong lòng mạch) tới vị trí diễn ra phản ứng viêm (ở ngoài lòng mạch).

Như vậy, viêm vừa là một phản ứng bảo vệ cơ thể chống lại yếu tố gây bệnh, vừa là phản ứng bệnh lý vì quá trình viêm gây ra tổn thương, hoại tử, rối loạn chức

năng cơ quan... có thể ở mức độ rất nặng nề, nguy hiểm.

1.1.2. Nguyên nhân

Mọi nguyên nhân dẫn đến tổn thương và làm chết một lượng tối thiểu tế bào tại chỗ đều có thể gây viêm tại chỗ đó. Có thể xếp thành 2 nhóm lớn.

1.1.2.1. Nguyên nhân bên ngoài

- Cơ học: từ sây sát nhẹ tới chấn thương nặng… gây phá huỷ tế bào và mô, làm phóng thích ra những chất gây viêm nội sinh.

- Vật lý: nhiệt độ quá cao hay quá thấp làm thoái hóa protid tế bào gây tổn thương enzym; tia xạ (UV, tia X) do tạo ra các gốc oxy tự do gây phá huỷ một số enzym oxy hóa, còn gây tổn thương ADN.

- Hóa học: các acid, kiềm mạnh, các chất hóa học khác (thuốc trừ sâu, các độc tố ...) gây huỷ hoại tế bào hoặc phong bế các hệ enzym chủ yếu.

- Sinh học: là nguyên nhân phổ biến nhất gồm virus, vi khuẩn, ký sinh trùng đơn bào, đa bào hay nấm...

1.1.2.2. Nguyên nhân bên trong

Có thể gặp như thiếu oxy tại chỗ, hoại tử mô, xuất huyết, rối loạn thần kinh dinh dưỡng (tắc mạch). Ngoài ra, viêm có thể bị gây ra do phản ứng kết hợp kháng nguyên - kháng thể như viêm cầu thận, viêm trong hiện tượng Arthus.

1.1.3. Phân loại

Có nhiều cách phân loại, mỗi cách đưa lại một lợi ích riêng.

- Theo nguyên nhân: viêm nhiễm khuẩn và viêm vô khuẩn.

- Theo vị trí: viêm nông, viêm sâu (bên ngoài và bên trong).

- Theo dịch rỉ viêm: viêm thanh dịch, viêm tơ huyết, viêm mủ... tùy theo dịch viêm giống huyết thanh, huyết tương hay chứa nhiều bạch cầu thoái hóa...

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

cấp, có đáp ứng tức thời và sớm với tổn thương. Một chức năng cốt lõi của đáp ứng là huy động bạch cầu tới vị trí tổn thương, ở đó chúng có thể giúp làm sạch vi khuẩn và các tác nhân gây viêm khác, đồng thời làm tiêu huỷ các mô hoại tử do viêm gây ra. Tuy nhiên, chính bạch cầu lại có thể kéo dài viêm và cảm ứng sự tổn thương mô do giải phóng các enzym, chất trung gian hóa học và các gốc oxy có độc tính. Viêm cấp có 3 hiện tượng cấu thành: làm dãn mạch, do đó tăng lượng máu tới ổ viêm; thay đổi cấu trúc trong mạch vi tuần hòan, cho phép các protein huyết tương ra khỏi mạch máu; và di tản bạch cầu từ vi tuần hoàn và tích tụ chúng vào nơi tổn thương. Những cấu phần trên gây sưng, nóng và đỏ trong viêm cấp, còn đau và rối loạn chức năng cơ quan thì xuất hiện muộn hơn trong quá trình phát triển của viêm: do hóa chất trung gian và bạch cầu thực bào.

- Theo tính chất: viêm đặc hiệu và không đặc hiệu. Viêm đặc hiệu do hậu quả xấu của phản ứng miễn dịch; còn lại, là viêm không đặc hiệu. Tuy nhiên, hai loại này chỉ khác nhau về cơ chế gây viêm mà không khác nhau về bản chất.

1.1.3.1. Viêm cấp

Trong viêm cấp, các rối loạn tuần hoàn xảy ra sớm nhất, sự co các tiểu động mạch xảy ra trong khoảng thời gian rất ngắn, sau đó là sự dãn các tiểu động mạch và tăng tính thấm thành mạch do có sự co thắt tế bào nội mô tạo thành khoảng hở giữa các tế bào, tạo điều kiện cho sự thoát mạch tế bào và các protein huyết tương. Chúng giữ 2 vai trò (1) kích thích và điều khiển quá trình viêm và (2) tác động qua lại với các thành phần của đáp ứng miễn dịch.

Những biến đổi chủ yếu trong viêm cấp:

Trong phản ứng viêm cấp bao giờ cũng có 4 hiện tượng đồng thời tồn tại và liên quan chặt chẽ với nhau:

- Rối loạn tuần hoàn: bao gồm rối loạn vận mạch (vascular reaction), thành lập dịch viêm (exudation of plasma), bạch cầu xuyên mạch (emigration of WBC), hiện tượng thực bào (phagocytosis).

- Rối loạn chuyển hóa.

- Tổn thương tổ chức.

- Tăng sinh tế bào

- Biểu hiện tại chỗ của viêm

Tại chỗ viêm ta thấy:

- Nhiễm toan: do sự ứ đọng lactic acid, thể ceton pH từ 6,5 – 5,5

- Phù nề hay sưng: do sự tăng tính thấm thành mạch máu và sự tích tụ dịch viêm

- Đỏ: do xung huyết, ứ trệ tuần hoàn

- Nóng: do tăng tuần hoàn và tăng chuyển hóa

- Đau: do phù nề, dịch viêm chèn ép vào các mạch đoạn thần kinh. Do các hóa chất trung gian như prostaglandin, bradykinin tác động trực tiếp lên dây thần kinh cảm giác hoặc do nhiễm toan.

- Biểu hiện toàn thân: bao gồm sốt, tăng bạch cầu, tăng proteine huyết tương lưu hành:

Sốt là do sự tổng hợp chất gây sốt nội sinh từ bạch cầu trung tính và đại thực bào, chất này giống IL-1 (EP/IL-1), tác động lên trung tâm điều nhiệt ở vùng dưới đồi gây sốt.

Tăng bạch cầu với công thức bạch cầu chuyển trái. Sự gia tăng bạch cầu là do tác động của C3a và các chất kích thích sinh bạch cầu ở tủy xương (CSF: colony-stimulating factor) sản xuất bởi các tế bào thực bào.

Gia tăng lượng proteine huyết tương đa số được sản xuất từ gan bao gồm: fibrinogen, C-reactive proteine, haptoglobin, alpha-1 antitrypsin và ceruloplasmin. Sự gia tăng protein huyết tương cùng với sự kết thành cuộn của hồng cầu làm tăng tốc độ lắng máu (ESR: erythrocyte sedimentation rate).

1.1.3.2. Viêm mạn

Nhiều bệnh chỉ có viêm cấp, kết thúc bằng khỏi hoặc chết mà không chuyển sang mạn tính (sởi, đậu mùa, viêm ống thận...). Viêm cấp tính có thể được loại trừ hoàn toàn, không để lại hậu quả đáng kể nào về cấu trúc hay chức năng cho cơ quan và mô bị viêm (khỏi bệnh), nhưng cũng có thể chuyển sang viêm mạn tính, trong đó các dấu hiệu cấp diễn biến bề ngoài (sưng, nóng, đỏ, đau) không rõ rệt - hoặc không

có - như khi còn viêm cấp. Rất hay gặp viêm gan cấp chuyển sang viêm gan mạn, viêm đường tiết niệu cấp (thận, bể thận, bàng quang) chuyển thành mạn; hoặc trong bệnh lậu, mắt hột và nhiều bệnh khác cũng có tình trạng tương tự.

Viêm mạn tính có thể bắt đầu ngay từ đầu, nếu các cơ chế bảo vệ và chống viêm của cơ thể không sớm loại trừ được tác nhân gây viêm mà chỉ kiềm chế được chúng. Chẳng hạn, trong bệnh phong, mắt hột, lupus ban đỏ... Nhưng đa số là từ viêm cấp chuyển sang.

Do vậy, biểu hiện của viêm mạn tính gồm:

- Tiết dịch, nhưng sưng, đỏ và nóng thì không rõ rệt, hoặc không có.

- Chức năng mô và cơ quan ít bị ảnh hưởng, hoặc chỉ suy giảm chậm chạp.

- Hiện tượng huy động bạch cầu vẫn còn, nhưng không lớn, tình trạng tăng bạch cầu trung tính không rõ rệt; tuy vẫn có thực bào tại ổ viêm nhưng không mạnh mẽ; chỉ đủ sức khống chế yếu tố gây viêm mà không loại trừ được; trong khi đó cơ thể đủ thời gian để huy động các biện pháp bảo vệ bằng lympho bào và thực hiện sự hàn gắn từng phần bằng thâm nhập tế bào xơ non (fibroblast) vào ổ viêm; tuy nhiên hàn gắn rất chậm.

Điều kiện để một viêm cấp chuyển thành mạn tính là:

- Yếu tố gây viêm còn tồn tại (vi khuẩn không bị tiêu diệt hết, dị vật chưa được loại trừ triệt để, hoặc tiếp tục tạo mới...).

- Bạch cầu hạt trung tính và đại thực bào tiếp tục tới ổ viêm nhưng không đủ sức loại trừ hẳn yếu tố gây bệnh mà chỉ kiềm chế và duy trì thế cân bằng. Nói khác, bạch cầu tiếp tục chết tại ổ viêm (tạo dịch nhiều mủ).

- Có sự thâm nhiễm và tham gia của lympho-bào tại ổ viêm; có thể quan sát dễ dàng dưới kính hiển vi.

- Có sự thâm nhập và tham gia hàn gắn của tế bào sợi non (tạo mô xơ và mạch máu) ở rìa ổ viêm.

Trong đa số trường hợp, cuối cùng viêm mạn tính bị loại trừ, để lại một sẹo (xơ) lớn hay nhỏ; nhưng cũng có khi kéo dài để:

(1) Chuyển sang dạng tạo thành mô hạt rồi mới bị loại trừ và để lại sẹo lồi.

(2) Làm chết bệnh nhân do suy kiệt (lỗ rò trong viêm xương, viêm cầu thận nhiễm mỡ, lao hạch, bụi phổi...).

1.1.3.3. Những biến đổi chủ yếu trong viêm:

Tại ổ viêm, có bộ 3 biến đổi chủ yếu sau đây:

- Rối loạn tuần hoàn: bao gồm rối loạn vận mạch (vascular reaction), tạo dịch rỉ viêm (exudation of plasma), bạch cầu xuyên mạch (emigration of WBC), hiện tượng thực bào (phagocytosis).

- Rối loạn chuyển hóa: Rối loạn chuyển hóa glucid, rối loạn chuyển hóa lipid, rối loạn chuyển hóa protid.

- Tổn thương mô và tăng sinh tế bào.

Sự phân chia như vậy có tính chất nhân tạo để cho dễ hiểu; trên thực tế chúng đan xen và liên quan chặt chẽ với nhau.

Nếu ổ viêm đủ lớn, có những biến đổi trong toàn cơ thể do:

- Các yếu tố từ ổ viêm vào máu: chất gây sốt, sản phẩm của acid…

- Toàn thân phản ứng đối với viêm: tăng số bạch cầu, tăng miễn dịch…[7].

1.2. Tổng quan về đau

1.2.1. Định nghĩa

Đau là một trải nghiệm cảm giác và cảm xúc khó chịu liên quan đến, hoặc giống với tổn thương mô thực tế hoặc tiềm năng.

Đau luôn là một trải nghiệm cá nhân bị ảnh hưởng ở các mức độ khác nhau bởi các yếu tố sinh học, tâm lý và xã hội.

Đau và nociception là những hiện tượng khác nhau. Đau không thể được suy ra chỉ từ hoạt động trong các tế bào thần kinh cảm giác. Thông qua kinh nghiệm sống của họ, các cá nhân học được khái niệm về nỗi đau. Báo cáo của một người về trải nghiệm đau đớn cần được tôn trọng." Mặc dù cơn đau thường đóng vai trò thích nghi, nhưng nó có thể có tác động xấu đến chức năng, sức khỏe xã hội và tâm lý [2].

1.2.2. Cơ chế đau

Thông qua hoạt động của nhiều chất trung gian gây viêm, một "súp gây viêm" được tiết ra tại vị trí tổn thương để kích thích kích hoạt hóa thụ thể đau. Các thụ thể đau hướng tâm từ ngoại vi truyền tín hiệu độc hại đến các tế bào thần kinh chiếu nằm ở sừng sau của tủy sống. Các tế bào ở sừng sau nằm trong các lớp có các phần riêng biệt về mặt sinh lý, gọi là laminae. Dựa trên loại khớp thần kinh trong các lá được hình thành bởi sợi cảm thụ đau, một tập hợp con của các nơ-ron chiếu này sẽ chuyển thông tin đến vỏ não cảm giác thân thể thông qua đồi thị, nơi cung cấp thông tin về các đặc điểm không gian và cường độ của kích thích gây đau.

Với sự khác biệt giữa đau và cảm giác đau, điều cần thiết là phải xem xét các con đường thần kinh khác nhau liên quan đến thành phần vỏ não. Quá trình này được tạo điều kiện thuận lợi bởi các tế bào thần kinh chiếu tham gia vào vỏ não và vỏ não thông qua các kết nối với nhân cạnh cánh tay của thân não cũng như với amygdala. Được coi là con đường đi lên khởi đầu nhận thức có ý thức về cơn đau. Thông tin đi lên cũng có thể thúc đẩy các tế bào thần kinh của tủy bụng và vùng xám quanh não giữa tham gia vào các hệ thống phản hồi đi xuống điều chỉnh đầu ra từ tủy sống, do đó điều chỉnh cảm giác đau. Điều này xảy ra thông qua việc giải phóng hormone và hóa chất (ví dụ, opioid nội sinh, GABA, glycine) có thể có đặc tính giảm đau nhằm hạn chế cảm giác đau. Ngược lại, các chất như chất P, glutamate và aspartate có thể tác động lên tủy sống, để kích thích cảm giác đau.

Sự kích thích cục bộ của A-delta và A-beta cũng có tác dụng điều chỉnh việc truyền thông tin về cơn đau, thông qua việc kích thích các tế bào thần kinh trung gian. Những tế bào thần kinh trung gian này có tác dụng ức chế các tế bào thần kinh chiếu ở sừng sau, truyền tín hiệu đến hệ thống trước bên. Đây là cơ chế chính đằng sau việc xoa bóp vết thương nhằm làm dịu cơn đau nhói.

Có một số quá trình tâm lý đằng sau nhận thức về nỗi đau. Việc chú ý hướng đến cảm giác đau đớn và nguồn gốc của nó có thể giúp nâng cao trải nghiệm đau đớn. Ví dụ, những bệnh nhân mắc chứng bận tâm về cơ thể và bệnh nghi bệnh được phát hiện là chú ý quá mức đến các cảm giác của cơ thể, khuếch đại chúng thành cảm

giác đau đớn. Tương tự, các yếu tố khác như đánh giá nhận thức về ý nghĩa của cảm giác, phản ứng cảm xúc và tâm sinh lý, kỳ vọng và kỹ năng đối phó đều có thể đóng vai trò phản hồi ảnh hưởng đến nhận thức về cơn đau.

1.2.3. Các loại đau

- Đau cấp tính : Tại vị trí tổn thương mô cục bộ, việc kích hoạt các bộ chuyển đổi cảm thụ đau góp phần gây ra dạng đau này. Môi trường chấn thương cục bộ có thể làm thay đổi thêm các đặc điểm của cơ quan cảm nhận đau, các kết nối trung tâm và hệ thần kinh tự trị.

- Đau mãn tính : Đau dai dẳng thường liên quan đến các tình trạng (ví dụ như: đái tháo đường, viêm khớp và phát triển khối u) có khả năng gây viêm mô mãn tính hoặc thay đổi tính chất của dây thần kinh ngoại biên (bệnh thần kinh). Do tính chất không ngừng của cơn đau mãn tính, người ta kỳ vọng rằng các yếu tố bên ngoài như căng thẳng, cảm xúc và môi trường có thể tạo ra tác động tổng thể lên các mô bị tổn thương để tăng cường độ và sự dai dẳng của cơn đau.

- Đau cơ thể: Dạng đau này có thể cấp tính hoặc mãn tính và là cơn đau được kích hoạt bởi các thụ thể đau ở mô da hoặc mô sâu. Ví dụ, trong trường hợp đau cơ thể ở da, trong trường hợp bị cắt da, nó được mô tả là đau nhói hoặc nóng rát và có khu trú rõ ràng. Trong trường hợp đau cơ thể phát sinh từ các mô sâu, chẳng hạn như ở khớp, gân và xương, nó được mô tả là đau nhói hoặc đau nhức nhiều hơn và ít khu trú hơn.

- Đau nội tạng: Cơn đau này phát sinh chủ yếu từ các nội tạng và các cấu trúc cơ thể sâu (ví dụ, đau từ đường tiêu hóa). Đau nội tạng không khu trú rõ rệt được truyền bởi các sợi C từ các cấu trúc sâu đến tủy sống.

- Bệnh lý thần kinh: Cơn đau dai dẳng này thường là hậu quả của sự tổn thương các sợi thần kinh này, dẫn đến sự gia tăng hoạt động tự phát hoặc thay đổi tính chất dẫn truyền hoặc dẫn truyền thần kinh của chúng.

- Chứng mất ngủ: Cơn đau do một kích thích thường vô hại được gọi là chứng mất ngủ. Mặc dù cơ chế này chưa được hiểu đầy đủ, nhưng người ta cho rằng nó có khả năng phát sinh từ 1) sự nhạy cảm của da, dẫn đến giảm ngưỡng của các cơ quan

cảm nhận đau thầm lặng hoặc 2) tổn thương các tế bào thần kinh ngoại biên gây ra những thay đổi về cấu trúc khiến các sợi nhạy cảm khi chạm vào định tuyến lại và hình thành các khớp thần kinh ở những vùng tủy sống thường nhận cảm giác đau.

- Tăng cảm giác đau: Xảy ra khi các kích thích độc hại tạo ra phản ứng đau quá mức. Các cơ chế tương tự như được đề xuất trong trường hợp mất ngủ, với những bệnh nhân có biểu hiện đau tăng lên hoặc tăng cảm giác đau, cũng như cơn đau kéo dài.

- Đau quy chiếu: Khi có cảm giác đau ở một vị trí không phải là vị trí kích thích đau, nó được gọi là đau quy chiếu. Ví dụ cổ điển về cơn đau quy chiếu liên quan đến cơn đau lan xuống cổ, vai và lưng sau nhồi máu cơ tim. Hiện tại không có sự đồng thuận nào về cơ chế thực sự đằng sau cơn đau quy chiếu và có một số giả thuyết. Cơn đau quy chiếu có thể là đau nội tạng hoặc cơ thể, với cơn đau đầu mô tả cơn đau từ một cơ quan và cơn đau sau mô tả cơn đau từ các mô sâu như cơ hoặc khớp. Trong lý thuyết quy chiếu hội tụ của Ruch năm 1961, trong đó các sợi cảm giác đau nội tạng hướng tâm và các sợi soma đi vào cùng các đoạn hạch rễ lưng cột sống của tủy sống, khiến hệ thần kinh trung ương hiểu sai cơn đau là phát sinh từ đâu đó trên thành cơ thể chứ không phải từ nội tạng. Đau quy chiếu cơ thể xảy ra khi các cấu trúc cột sống như đĩa đệm hoặc khớp nhận được một kích thích độc hại, và cơn đau sau đó được giải thích là khu trú ở các mô sâu - phổ biến nhất là các mô ở chi dưới. Điều này được cho là xảy ra bởi các tế bào thần kinh phân bố các mô soma này hội tụ với các tế bào thần kinh hướng tâm nhận cảm đau trên cùng các tế bào thần kinh bậc hai trong tủy sống.

Kiểm tra liên quan

Bản chất phức tạp, đa diện và chủ quan của cơn đau khiến việc đo lường lâm sàng trở nên khá khó khăn. Trong vài thập kỷ qua, một số biện pháp đã được xác nhận phát triển nhằm nỗ lực hỗ trợ nghiên cứu về cơ chế gây đau và kết quả đo lường. Đối với cơn đau cấp tính, liên quan đến việc quản lý các thủ tục phẫu thuật hoặc bệnh tâm thần cấp tính, thang đo tương tự hình ảnh (VAS) và thang đánh giá số (NRS) thường được sử dụng nhất để đánh giá cường độ của cơn đau. Đối với cơn đau mãn tính, các

công cụ đa chiều như Bảng câu hỏi về cơn đau McGill (MPQ) và Bản kiểm kê cơn đau ngắn gọn (BPI) đã được phát triển [8].

1.3. Tổng quan viêm và đau theo y học cổ truyền

1.3.1. Sơ lược quan niệm viêm và đau theo y học cổ truyền

Viêm không phải là một bệnh cụ thể mà là một quá trình bệnh lý chung. Trong y văn của YHCT không có chứng viêm; nhưng viêm có biểu hiện sưng nóng đỏ nếu thuộc nhiệt (dương chứng), còn sưng không nóng đỏ thì thuộc về hàn (âm chứng), có thể do nguyên nhân nội nhân hoặc ngoại nhân.

Đau thường với viêm theo YHCT đau có nghĩa là "Thống", trong YHCT là do "Bất thông" của khí huyết trong kinh mạch. Nguyên nhân thường gặp là do tạng phủ hư suy và tà khí phong hàn thấp nhiệt xâm nhập vào cơ thể làm bế tắc kinh lạc, ảnh hưởng đến đường vận hành khí huyết, dẫn đến tình trạng bì phu, cân cơ, cốt, cơ nhục khớp xương phát sinh đau đớn, co duỗi khớp khó khăn, cứng khớp, nặng thì sưng nóng đỏ đau, biến dạng. Thống là đau, bao gồm tất cả các loại đau do khí trệ, huyết ứ, khí uất, hàn ngưng, huyết hư; muốn chữa được chứng đau (chỉ thống) thì phải làm cho khí huyết lưu thông, còn muốn huyết thông (hành huyết) thì phải hành khí (khí hành thì huyết hành, khí không hành thì huyết ứ trệ, huyết ứ trệ thì gây đau) bất vinh ắt thống, bất thông ắt thống tức bất thông, thông tức bất thống. Chính vì vậy khi "Trị thống" bằng y học cổ truyền thường dùng kèm thuốc hành khí, hành huyết và phương pháp không dùng thuốc khác như châm cứu, xoa bóp bấm huyệt, khí công chủ yếu làm thông kinh lạc, điều hoà âm dương, khí huyết [4].

Đau mà có sưng, nóng, đỏ hoặc không đỏ là quá trình viêm đã diễn ra. Trong đó, nóng đỏ là biểu hiện của nhiệt chứng, sưng là biểu hiện của thũng, đau là biểu hiện của tý thống. Thuật ngữ đau và viêm trong YHCT được gọi là thấp nhiệt tý chứng.

Đau và viêm là triệu chứng gặp trong nhiều bệnh lý viêm khớp. Theo YHCT bệnh lý về khớp thuộc phạm vi chứng tý.

1.3.2. Các thể lâm sàng và điều trị

1.3.2.1. Phong hàn thấp tý

- Hành tý:

Chứng trạng: Chân tay mình mẩy, các khớp, cơ nhục đau, có tính chất di chuyển chạy chỗ này chỗ khác không cố định, khớp co duỗi khó khăn, khởi đầu có thể thấy biểu hiện sợ gió, phát sốt. Rêu lưỡi trắng mỏng, mạch phù hoặc phù hoãn.

Biện chứng: Khớp đau, co duỗi khó khăn là biểu hiện chung của chứng phong hàn thấp tý. Các khớp đau chạy chỗ này chỗ khác không cố định là do phong tà thịnh, đặc tính phong lưu hành và biến động luôn nên gọi là Hành tý. Ngoại tà bó lại ở phần biểu làm cho vinh vệ bất hòa gây phát sốt, sợ gió, sợ lạnh. Rêu lưỡi trắng mạch phù là tà khí ở biểu.

Chẩn đoán:

Bệnh danh: Chứng tý thể hành tý.

Bát cương: Biểu hàn; nếu bệnh mới mắc là biểu thực, bệnh lâu ngày là biểu hư trung hiệp thực.

Nguyên nhân: Phong, hàn thấp tà mà phong tà là chính.

Bệnh cơ: Tà khí phong kiêm hiệp hàn thấp, lưu trệ ở kinh mạch gây tắc trở làm khí huyết vận hành không thông mà gây ra.

Pháp điều trị: Khu phong tán hàn trừ thấp hoạt huyết chỉ thống.

Phương thuốc: Phòng phong thang gia giảm.

- Thống tý:

Chứng trạng: Các khớp đau, đau có xu thế tương đối cấp và nặng, vị trí co duỗi khó khăn, đau cố định, gặp lạnh đau tăng, được ấm thì đỡ đau, các khớp sợ lạnh, chất lưỡi đạm, rêu lưỡi trắng mỏng, mạch huyền khẩn.

Biện chứng: Khớp đau, co duỗi khó khăn là biểu hiện chung của chứng phong hàn thấp tý. Đau có tính cố định, trời lạnh đau tăng, được nóng thì bớt, rêu lưỡi trắng, mạch huyền khẩn là chứng của đau do hàn thiên thắng nên gọi là thống tý. Ngoại tà bó lại ở phần biểu làm cho vinh vệ bất hòa gây phát sốt, sợ gió, sợ lạnh, là tà khí ở biểu.

Chẩn đoán bát cương: Biểu thực hàn.

Nguyên nhân: Phong, hàn, thấp tà mà hàn tà là chính.

Bệnh cơ: Vì tà khí phong hàn thấp lưu trệ ở kinh lạc, trở tắc khí huyết mà gây ra bệnh. Mà hàn tà thiên thịnh hơn; hàn là âm tà có tính ngưng kết gây đau có chỗ nhất định, đau dữ dội. Được nhiệt khí huyết có phần lưu thông nên bớt đau; gặp lạnh làm cho huyết càng ngưng sáp gây đau dữ.

Pháp điều trị: Tán hàn thông lạc, trừ phong trừ thấp.

Phương thuốc: Ô đầu thang gia giảm.

- Trước tý:

Chứng trạng: Cơ thể xương khớp, cơ nhục mỏi, nặng nề, đau, sưng đau tản mạn, các khớp hoạt động bất lợi, cơ thể tê bì, chất lưỡi đạm, rêu lưỡi trắng nhớt, mạch nhu hoạt.

Biện chứng: Khớp co duỗi không lưu lợi là triệu chứng chung của chứng phong hàn thấp tý, đau các khớp với đặc trưng chủ yếu là nhức mỏi, tê bì, sưng nhiều, thường chỉ bị một khớp, đau mỏi các cơ, trời ẩm thấp bệnh tăng, rêu lưỡi trắng nhớt, mạch nhu hoạt là biểu hiện của thấp thiên thắng gọi là thấp tý. Ngoại tà bó lại ở phần biểu làm cho vinh vệ bất hòa gây sợ gió, sợ lạnh, là tà khí ở biểu.

Chẩn đoán bát cương: Biểu thực hàn.

Nguyên nhân: Phong, hàn, thấp tà mà thấp tà là chính.

Bệnh cơ: Vì tà khí phong hàn thấp lưu trệ ở kinh lạc, trở tắc khí huyết mà gây ra bệnh. Thấp có tính trọc dính trở trệ các khớp làm cho chân tay nặng nề, cử động không thoải mái, tê dại.

Pháp điều trị: Trừ thấp thông lạc, trừ phong tán hàn.

Phương thuốc: Ý dĩ nhân thang gia giảm.

Nếu phong, hàn, thấp lâu ngày thiên thịnh không rõ: Có thể chọn bài Quyên tý thang là phương thông dụng điều trị phong hàn thấp tý.

1.3.2.2. Phong thấp nhiệt tý

Chứng trạng: Khớp sưng nóng đỏ đau, cự án, gặp lạnh đỡ đau; bệnh có thể biểu hiện ở một khớp hoặc lan ra nhiều khớp; thường kèm các chứng trạng toàn thân như phát sốt, sợ gió, ra mồ hôi, miệng khát, phiền táo bất an. Chất lưỡi đỏ rêu lưỡi vàng

hoặc vàng, bẩn, khô, mạch hoạt sác hoặc phù sác. Ngoài ra còn có các chứng trạng như có hạt kết tụ hoặc ban đỏ quanh khớp.

Biện chứng: Khớp sưng nóng đỏ đau là chứng trạng chung của phong thấp nhiệt tý. Bệnh ở khớp thuộc biểu; bệnh có biểu chứng phát sốt, sợ gió. Bệnh biểu hiện nhiệt thịnh: phát nóng, rêu lưỡi vàng khô, mạch hoạt sác; nhiệt thịnh thương âm: khát nước phiền muộn không yên. Chứng phong thấp nhiệt tý phát bệnh gấp hơn, khớp sưng nóng đỏ đau, cự án thuộc thực chứng.

Chẩn đoán bát cương: Biểu thực nhiệt.

Bệnh nguyên: Phong thấp nhiệt tà.

Bệnh cơ: Tà nhiệt ủng trệ ở kinh lạc, đầy lấp kinh mạch gây tắc trở dẫn đến khí huyết tắc vận hành không thông làm cho cục bộ khớp sưng nóng đỏ đau, co duỗi khó khăn. Tà khí hãm vào trong làm cho bệnh tình có nhiều diễn biến.

Pháp điều trị: Thanh nhiệt thông lạc, sơ phong trừ thấp.

Phương thuốc: Bài thuốc kinh nghiệm (Thuốc nam và châm cứu Bộ y tế):

Bài thuốc cổ phương: Bạch hổ gia quế chi thang.

1.3.2.3. Chứng đàm ứ tý trở

Chứng trạng: Chứng tý lâu ngày, cơ nhục xương khớp đau kích thích, đau cố định một chỗ, hoặc xương khớp cơ phù tím tối, sưng to, ấn cứng, tứ chi tê bì hoặc nặng nề, hoặc cứng khớp biến dạng khớp, co duỗi bất lợi, có hạt kết tụ, ban ứ, màu đen tối, phù 2 mí mắt, hoặc hồi hộp khó thở. Lưỡi chất tím tối hoặc có ban ứ, chất lưỡi trắng bẩn, mạch huyền sáp.

Bệnh nguyên, bệnh cơ: Đàm ứ tương hỗ kết tụ, ứ trệ cơ phu, tắc trở kinh mạch.

Pháp: Hóa đàm khứ ứ, quyên tý thông lạc.

Phương: Song hợp thang gia giảm.

1.3.2.4. Chứng can thận bất túc

Chứng trạng: Chứng tý lâu ngày không khỏi, các khớp co duỗi bất lợi, teo cơ, lưng gối mỏi mềm, liệt dương, di tinh, hoặc phát sốt mệt mỏi, tâm phiền miệng khát. Chất lưỡi hồng nhạt, rêu lưỡi trắng mỏng hoặc ít tân, mạch trầm tế
hoặc tế sác.

Bệnh nguyên, bệnh cơ: Can thận bất túc, cân mạch không được nuôi dưỡng đầy đủ, ôn ấm. Chính khí hư phong hàn thấp thừa cơ xâm phạm.

Pháp điều trị: Tư bổ can thận, thư cân chỉ thống.

Phương đại diện: Bổ huyết vinh cân hoàn gia giảm [4].

1.4. Tổng quan về bài thuốc "Phong Thấp Thang"

1.4.1. Nguồn gốc xuất xứ

Bài thuốc "Phong Thấp Thang" có tên bài thuốc gốc là "Thuốc Phong Thấp" được thầy thuốc Đông y tỉnh Thái Nguyên sử dụng để điều trị đau nhức xương khớp, được thu thập thông qua đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ Y Tế công bố bài báo "Công năng, chủ trị của một số bài thuốc Nam thường dùng" số 1B tháng 12/2023 Tạp Chí Y Học Việt Nam [5].

1.4.2. Thành phần bài thuốc

Dây chiều 20g	Vỏ cây gạo 12g
Cà gai leo 12g	Dây xấu hổ 20g

1.4.2.1. Dây chiều

Hình 1.1. Vị thuốc Dây chiều

- Mô tả:

Tên khoa học: *Caulis Tetracerae scandens.*

Phân bố: Khá phổ biến ở nước ta. Còn phân bố ở Ấn Độ, Mianma, Xri Lanca, Trung Quốc, Lào, Campuchia, Malaixia đến Nven Caledoni.

Bộ phận dùng: thân leo đã phơi hoặc sấy khô chặt từng đoạn 3-5 cm.

- Thành phần hóa học: 3 flavonoid chính và các flavonoid khác

- Tác dụng dược lý:

Tác dụng chống viêm được nghiên cứu trong đề tài: Nghiên cứu tác dụng chống viêm giảm đau của cây thuốc dân gian Chặc chìu" [9], Đánh giá tác dụng của Chạc chìu trên mô hình viêm màng bụng ở chuột nhắt và chuột cống thực nghiệm [10] và đề tài Tác dụng chống viêm và cơ chế tác dụng chống viêm mô tả trên mô hình in vitro và in vivo [11].

- Tính vị quy kinh: vị chua, chát, tính bình.

- Công năng, chủ trị:

+ Công năng: Thu liễm chỉ tả, tiêu thũng chỉ thống.

+ Chủ trị: Chữa tê thấp, ứ huyết, đau bụng, phù thũng, gan lách sưng to, bạch đới… [12].

1.4.2.2. Cà gai leo

Hình 1.2. Vị thuốc Cà gai leo

-Mô tả:

Tên khoa học: *Herba Solani procumbensis*.

Bộ phận dùng: dược liệu là phần trên mặt đất được phơi hoặc sấy khô ở 50–60 °c.

- Thành phần hóa học: Toàn cây và nhiều nhất ở rễ có ancaloid.

- Tác dụng dược lý:

Tác dụng chống viêm được nghiên cứu trong đề tài: Nghiên cứu cây Cà gai leo làm thuốc chống viêm gan và ức chế xơ gan [13] và Đánh giá tác dụng của Cà gai leo trên bệnh nhân viêm kẽ răng [14].

- Tính vị, quy kinh: Khô, ôn, hơi có độc.

- Công năng, chủ trị:

+ Công năng: Phát tán phong thấp, tiêu độc, trừ ho, giảm đau, cầm máu.

+ Chủ trị: Phong thấp, đau nhức các đầu gân xương, xơ gan, viêm nhiễm quanh răng [12].

1.4.2.3. Vỏ cây gạo

Hình 1.3. Vị thuốc Cỏ cây gạo

-Mô tả:

Tên khoa học: *Cotex Bombacis ceiba*

Phân bố: Phổ biến ở đầu khắp các tỉnh ở Việt Nam. Cây thường mọc ở ven bờ sông suối, ở chân đồi, ưa khí hậu nhiệt đới hơi khô, ưa sáng, đất cát pha, tầng sâu dày. Còn có ở Ấn Độ, Xri Lanca, Trung Quốc, Lào, Malaixia, Indonexia.

Bộ phận dùng: Vỏ cây được phơi sấy khô.

- Thành phần hóa học: chưa nghiên cứu được thành phần cụ thể trên vỏ.

- Tác dụng dược lý:

Tác dụng kháng khuẩn chống lại vi khuẩn gram âm và gram dương trong đề tài Green synthesis of iron oxide nanoparticles using Bombax malabaricum for antioxidant, antimicrobial and photocatalytic applications [15].

- Tính vị, quy kinh: Có vị hơi đắng, tính mát.

- Công năng, chủ trị:

+ Công năng: Khu phong trừ thấp, thông huyết tiêu thũng.

+ Chủ trị: Trị thấp khớp, đụng giập gãy xương, cầm máu trong chữa băng huyết [16].

1.4.2.4. Dây xấu hổ

Hình 1.4. Vị thuốc Dây xấu hổ

-Mô tả:

Tên khoa học: *Herba Mimosae pudicae.*

Phân bố: Nguyên sản ở vùng nhiệt đới châu Mỹ, được truyền vào nước ta, mọc khắp nơi. Thường gặp ven đường, bãi cỏ, bờ đê, các bãi hoa, trên đất khô cằn, chịu úng kém. Cũng gặp ở khắp các nước nhiệt đới trên thế giới.

Bộ phận dùng: Phần dược liệu trên mặt đất được phơi sấy khô.

-Thành phần hóa học: Toàn cây chứa alkaloid là minosin và crocetin; còn có flavonosid, các loại alcol, acid amin, acid hữu cơ.

-Tác dụng dược lý

Tác dụng chống viêm được nghiên cứu trong các đề tài đề tài: Tác dụng bảo vệ của Mimosa pudica L.in một mô hình L-arginine của viêm tụy hoại tử cấp tính ở chuột [17], Đánh giá dược lý và độc tính của Mimosa pudica [18] và Nghiên cứu chống viêm và chống oxy hóa về chiết xuất ethano-lic của Mimosa pudica [19].

- Tính vị quy kinh: Vị ngọt, se, tính hơi hàn, có ít độc

- Công năng, chủ trị:

+ Công năng: Tiêu viêm, thanh nhiệt, an thần.

+ Chủ trị: Thường dùng trị: Viêm phế quản, Viêm kết mạc cấp, Viêm gan, viêm ruột non, Phong thấp tê bại [16].

1.4.3. Các nghiên cứu của bài thuốc

Hiện nay chưa có nghiên cứu nào về bài thuốc "Phong Thấp Thang". Tuy nhiên các vị thuốc trong bài thuốc đã được nghiên cứu về tác dụng như:

+Nghiên cứu tác dụng chống viêm giảm đau của cây thuốc dân gian Chặc chìu" [9].

+Đánh giá tác dụng của Chặc chìu trên mô hình viêm màng bụng ở chuột nhắt và chuột cống thực nghiệm [10].

+ Tác dụng chống viêm và cơ chế tác dụng chống viêm mô tả trên mô hình in vitro và in vivo [11].

+ Nghiên cứu tác dụng chống viêm và chống ung thư của một số cây thuốc dân gian Việt Nam (2019) [9].

+ Nghiên cứu cây Cà gai leo làm thuốc chống viêm gan và ức chế xơ gan [13].

+ Đánh giá tác dụng của Cà gai leo trên bệnh nhân viêm kẽ răng [14].

+ Green synthesis of iron oxide nanoparticles using Bombax malabaricum for antioxidant, antimicrobial and photocatalytic applications [15].

+ Tác dụng bảo vệ của Mimosa pudica L.in một mô hình L-arginine của viêm tụy hoại tử cấp tính ở chuột [17].

+ Đánh giá dược lý và độc tính của Mimosa pudica [18].

+ Nghiên cứu chống viêm và chống oxy hóa về chiết xuất ethano-lic của Mimosa pudica [19].

1.4.4. Phân tích bài thuốc theo tác dụng y học cổ truyền

- Dây chiều có vị chua, chát, tính bình. Có tác dụng tiêu thũng chỉ thống thu liễm chỉ tả.

- Cà gai leo có vị hơi the, tính ấm có tác dụng tán phong thấp giảm đau.

- Vỏ cây gạo có vị hơi đắng, tính mát. Có tác dụng khu phong trừ thấp, thông huyết tiêu thũng.

- Dây xấu hổ có vị ngọt, se, tính hơi hàn, có ít độc. Có tác dụng tiêu viêm, hạ nhiệt, an thần [12][16].

- Bốn vị thuốc kết hợp với nhau có tác dụng: Trị phong thấp, hoạt huyết, thông kinh lạc.

1.5. Tổng quan mô hình chống viêm, giảm đau nghiên cứu trên động vật

Trên thực nghiệm có nhiều mô hình nghiên cứu về phương pháp dược lý tác dụng chống viêm và giảm đau, dưới đây là một vài mô hình điển hình, thường được áp dụng.

1.5.1 Đánh giá tác dụng chống viêm cấp

- Mô hình gây phù chân chuột bằng Kaolin:

Nguyên tắc:

Cao lanh (tiếng Anh: Kaolin, Bolus alba, White bole; tiếng Pháp: Bol blanc), nhân hoá học, cao lanh là alumino-silicat hydrat hoá với các tỷ lệ SiO_2, Al_2O_3 và H_2O khác dân gọi là đất sét trắng, thường dùng trong công nghiệp làm đồ gốm. Về mặt cấu tạo nhau, nên được ký hiệu là $(SiO_2)x$ $(Al_2O_3)y$ (H_2O), thường gặp nhất

theo tỷ lệ (SiO2)2 (Al2O3) (H,O)2 và có thể viết theo công thức chung là HzAlSizOg.H2O.

Cao lanh không tan trong nước, không tan trong acid hoặc kiềm ở nhiệt độ thường. Cao lanh thường được dùng trong công nghiệp làm đồ gốm sứ (kể cả cối chày sứ), gạch, xi măng, vật cách điện và cách nhiệt. Cao lanh được dùng trong y dược để chữa ỉa chảy cấp tính và để gây viêm bàn chân chuột là loại cao lanh tự nhiên đã tinh chế loại bỏ tạp chất.

Dùng hỗn dịch cao lanh trong nước, tiêm vào dưới da gan bàn chân chuột sẽ gây ra sưng, nóng, đỏ, đau và những thay đổi chức năng ở ổ viễm là những biểu hiện của viêm cấp tính để nghiên cứu thuốc chống viêm. Trong mô hình gây viêm cấp bằng cao lanh, có thể nghiên cứu trên mỗi biểu hiện thay đổi trên; ở đây, ta xác định thông số sưng phù, là thông số dễ xác định nhất.

Mô hình gây viêm cấp tính bằng cao lanh trước đây được dùng nhiều, đặc biệt là khi chưa phát hiện ra caragenin. Nhưng gần đây ít dùng hơn, vì cao lanh không tan trong nước, phải pha thành hỗn dịch và dễ lắng, nên liều dùng khó đảm bảo được mức độ chính xác [20].

Tiến hành:

Dùng chuột cống trắng. Trước khi thí nghiệm, cho chuột uống nước 0,5 ml cho 100g thể trọng. Gây phù bàn chân chuột bằng cách tiêm dưới da ở bề mặt gan bàn chân sau chuột 0,1 ml dịch treo chứa 1g Kaolin trong 10 ml dung dịch có 0,2% gôm adragan, được pha chế ngay trước khi tiêm, vì nếu để lâu, Kaolin sẽ lắng xuống.

Đo thể tích bàn chân sau tới khớp cổ chân bằng một dụng cụ đo thể tích trước và 5 giờ sau khi tiêm Kaolin (vào lúc phù chân chuột gây bằng Kaolin ở mức độ cao nhất). Mức độ tăng thể tích chân chuột biểu thị mức độ viêm cấp.

Thuốc thử nghiệm, nếu cho uống thì cho chuột uống 1 giờ trước khi tiêm Kaolin; nếu tiêm thuốc thì tiêm 30 phút trước khi tiêm Kaolin. Chuột đối chứng được cho dung dịch NaCl đẳng trương. Tác dụng ức chế phủ được biểu thị bằng tỷ lệ % giảm mức độ tăng thể tích bàn chân của lô chuột thử thuốc so với mức độ tăng của lô đối chứng [21].

- Mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenin:

Nguyên tắc:

Caragenin (tiếng Anh là carrageenin, carrageenan, carrageen, tiếng Pháp là carragénine) là sulfopolygalactosid. Galactosid này là do các phân tử galactose liên kết với nhau theo kết nối 1−3 thành một chuỗi dài các phân tử galactose. Mỗi phân tử galactose trong chuỗi dài này (ở vị trí 4) lại liên kết với một phân tử galactose (ở vị trí 1) tạo thành một mạch nhánh qua kết nối 1−4. Ở vị trí 4 hoặc vị trí 2 của galactose mạch nhánh hầu hết có một gốc sulfat. Như vậy, mỗi monomer của chất trùng hợp này là 4-sulfat-B-D-galactopyranosyl (1-4)- a-D-galactose hoặc 2-sulfat-B-D- galactopyranosyl (1–4)- a-D-galactose. Các monomer này liên kết với nhau nối 1−3.

Caragenin được chiết từ các loài tảo đỏ (red seaweed), nguồn chính là từ Chondrus crispus L., Gigartina stellata và G. mammilosa, thường được dùng làm chất tạo gel, nhũ hoá, ổn định các dịch. Trong y tế, caragenin là chất làm dịu (demulcent) và để gây phù thực nghiệm ở động vật thí nghiệm.

Khi được tiêm dưới da gan bàn chân (sp: subplantar) chuột cống trắng hoặc chuột nhắt trắng sẽ gây ra phản ứng "sưng", "nóng", "đỏ ", "đau" và "thay đổi chức năng" của nhiều thông số hoá sinh ngay tại chỗ tiêm, là những biểu hiện điển hình nhất của quá trình viêm cấp tính. Có thể nghiên cứu mỗi trong các biểu hiện trên, nhưng trong trường hợp này, ví dụ, ta chỉ xác định thông số "sưng phù" ở chân chuột là thông số dễ xác định nhất [20].

Tiến hành:

Trong thử nghiệm này, gây phù bàn chân sau của chuột bằng cách tiêm dưới da ở bề mặt gan bàn chân sau của chuột 0,1 ml dịch treo 0,8% carragenin, pha trong nước cất hay dung dịch NaCl đẳng trương. Cách pha dịch treo: cho carragenin vào một cối nhỏ, cho dần nước vào và nghiền bằng chầy cho phân tán đều. Để nửa giờ cho phồng lên rồi hãy dùng. Chỉ pha trước khi dùng, vì nếu để lâu carragenin sẽ lắng xuống.

Trong quá trình viêm gây bởi carragenin, mức độ viêm tối đa ở trong khoảng thời gian 3 – 4 giờ. Nên để đánh giá mức độ viêm, do thể tích bàn chân tới khớp cổ chân trước và 3 giờ sau khi tiêm carragenin. Trừ một số đặc điểm nêu trên, thử nghiệm trên phù chân chuột gây bằng carragenin được tiến hành tương tự như phù chân chuột gây bằng Kaolin.

Carragenin (viscarin) là chất sulfopolygalactosid, chiết xuất từ Chondrus crispus, có tác dụng gây viêm [21].

Kết luận: Nhóm nghiên cứu lựa chọn mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenin vì đây là mô hình kinh điển cho đánh giá tác dụng chống viêm cấp.

1.5.2. Đánh giá tác dụng chống viêm mạn

- Mô hình gây u hạt bằng Amian:

Nguyên tắc:

U hạt do amian (còn gọi là amiăng, thạch miên; tiếng Anh là asbestos hoặc amianthus; tiếng Pháp là amiante) dễ hình thành hơn u hạt do hạt bông, vì thế chỉ cần sau 5 ngày là có thể bóc tách được dễ dàng. Amian nặng hơn bông, nên thường dùng viên Amian 30 mg cho chuột cống trắng, còn chuột nhắt trắng thì dùng viên 6 mg hoặc10 mg. Amian là chất có thể gây ung thư, khi tiếp xúc cần thận trọng [20].

Tiến hành:

Thí nghiệm được tiến hành trên chuột cống trắng. Một mẩu sợi amian đường kính mặt cắt khoảng 2 mm, có trọng lượng 30 ± 1 mg được vê tròn và sấy tiệt khuẩn trong 2 giờ ở nhiệt độ 160°C trong tủ sấy. Chuột được gây mê bằng ether. Cạo sạch lông vùng lưng phía trên, dùng kéo phẫu thuật mắt bấm một lỗ chếch sang bên, luồn kéo vào hướng lên đầu, mở rộng 2 mũi kéo để tách kỹ da lưng ra khỏi cơ, rồi cấy dưới da, vào nơi đã bóc tách, viên sợi amian. Đặt kẹp hoặc khâu bằng chỉ để nổi liền chỗ mổ ở lưng.

Thuốc được cho uống hoặc tiêm dưới da mỗi buổi sáng trong 5 ngày liên tục, lần đầu cho thuốc ngay sau khi cấy viên sợi amian. Chuột đối chứng được cho nước muối sinh lý với cùng thể tích. Chiều ngày thứ 5 kể từ ngày mổ (ngày mổ: ngày 1), giết chuột bằng cloroform, bóc tách u hạt và cân tươi ngay từng u hạt; khi cân, để

trong một miếng giấy không hút ẩm. Tính trọng lượng thực sự của u hạt bằng cách trừ trọng lượng viên sợi amian (30 mg).

Khi mổ chuột, dùng dụng cụ đã được tiệt khuẩn bằng cách luộc trong nước đun sôi. Sau đó ngâm trong một cốc có chân đựng cồn 90° trong đó cho một lượng thuốc kháng sinh (ví dụ: streptomycin). Mỗi lần dùng xong lại đặt ngâm dụng cụ vào đó.

Tác dụng ức chế sự tạo u hạt được biểu thị bằng tỷ lệ % giảm trọng lượng trung bình các u hạt ở lô thử thuốc so với trọng lượng này ở lô đối chứng[21].

- Mô hình gây phù chân chuột bằng FCA:

Một giải pháp của carrageenan trong nước muối tiêm dưới da ở chuột gây ra một cấp tính trở nên tối đa 3 đến 5 giờ sau khi tiêm và giảm dần sau 24 giờ, trong khi tiêm dưới da chất bổ trợ Freund hoàn chỉnh (CFA) trong nước muối gây sưng kéo dài hơn, trở nên tối đa sau 24 giờ và tồn tại ít nhất 7 ngày. Tình trạng viêm được tạo ra trong các mô hình này có thể được sử dụng để đánh giá việc sản xuất các chất trung gian gây viêm tại các vị trí viêm, đặc tính chống viêm của các tác nhân như thuốc chống viêm không steroid (NSAID) và hiệu quả của các hợp chất giảm đau giả định để đảo ngược quá mẫn cảm với da. Đơn vị này mô tả các phương pháp để gợi ra và đo viêm do carrageenan và CFA gây ra ở bàn chân hoặc miếng rung, có thể biểu hiện dưới dạng phù nề và quá mẫn cảm.

Do sự khác biệt có thể có giữa hệ thống cảm giác rễ lưng và hệ thống cảm giác sinh ba, tiêm da của bàn chân hoặc miếng đệm rung được mô tả. Theo cách này, viêm da có thể được đánh giá trong các mô được bẩm sinh bởi các tế bào thần kinh hạch gốc lưng thắt lưng (bàn chân) và bởi các tế bào thần kinh hạch sinh ba (miếng rung). Giao thức này tập trung vào việc gây viêm ở chuột; tuy nhiên, nó có thể dễ dàng được điều chỉnh cho chuột >20 g bằng cách sử dụng thể tích tiêm nhỏ hơn (tức là 50 µl cho miếng đệm rung và 25 đến 50 µl cho bàn chân và một cú đấm sinh thiết 3 mm).

Tiến hành: Tiêm dung dịch FCA (1mg/ml) 0,02ml/chuột vào dưới da gan bàn chân sau, bên 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 [22].

Kết luận: Nhóm nghiên cứu lựa chọn mô hình gây phù chân chuột bằng FCA, vì đây là mô hình đánh giá được chi tiết các chỉ số tại các thời điểm cho đánh giá tác dụng chống viêm mạn.

1.5.3. Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương

- Mô hình mâm nóng (Hot Plate)

Nguyên tắc: Trong mô hình tấm nóng (hot plate) tấm kim loại nóng có nhiệt độ 55°C (54-56 °C), bên trên có một khong hình trụ rỗng 2, nóng là tác nhân gây đau. Để chuột lên một đầu bằng chất dẻo trong suốt để giữ chuột. Nhiệt ở tấm nóng làm đau chân chuột. Khi chuột cảm nhận thấy đau, chuột liếm chân sau hoặc nhảy lên, bám vào mép trên của chuột lên tấm nóng đến lúc chuột cảm nhận được đau dài hơn so với lỗ không dùng. Thuốc có tác dụng giảm đau trong mô hình này sẽ làm thời gian kê từ khi bỏ thuốc (lô đối chứng). Phương pháp này phù hợp để nghiên cứu thuốc giảm đau opioid (opioid analgesic) hoặc còn gọi là thuốc giảm đau gây ngủ (narcotic analgesic).

Tiến hành: 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 trước và sau khi uống thuốc thử và so sánh giữa các lỗ chuột với nhau [20].

- Mô hình Tail-flick (vẫy đuôi)

Nguyên tắc: Một nguồn sáng mạnh đi qua một thấu kính lồi để tập trung tia sáng lên da đuôi (cách gốc đuôi 2 cm) đã cắt bỏ hết lông của chuột cống trắng thí nghiệm. Tiềm thời (latency time) là thời gian từ khi bắt đầu chiếu tia đến khi chuột có cảm nhận được đau chít. Nếu tiềm thời ở lô dùng thuốc kéo dài có ý nghĩa thống kê so với lô chứng không trên da đuôi, mà biểu hiện đối với chuột là đuôi chuột quẫy mạnh hoặc chuột kêu chít; thì thuốc có tác dụng giảm đau trong mô hình thực nghiệm này. Mô hình nhạy với thuốc giảm đau opioid (thuốc giảm đau gây ngủ: narcotic

analgesic), không thích hợp để nghiên cứu các thuốc giảm đau không gây ngủ (non-narcotic analgesic).

Tiến hành: Đưa chuột tiếp xúc với nguồn bức xạ nhiệt. Khoảng cách đo được xác định giống nhau cho mọi chuột là 2-3cm tính từ đầu mút đuôi chuột. Khi xuất hiện phản xạ vẫy đuôi, máy đo tự động xác định thời gian phản ứng của chuột với nguồn nhiệt [20].

- Mô hình Tail- immersion (nhúng đuôi)(Gây đau bằng nước ngóng trên đuôi chuột)

Nguyên tắc: Tác nhân gây đau trong mô hình này là nước nóng. Nhúng đuôi chuột trong nước cảm nhận được đau mà biểu hiện là đuôi chuột quây mạnh. Thời gian từ khi nhúng đuôi nóng ở 58 °C (nếu là chuột nhắt trắng) hoặc 55°C (nếu là chuột cống trắng), sẽ nhúng đuôi chuột vào nước nóng đến khi đuôi chuột quẫy mạnh, gọi là tiềm thời cảm nhận đau (LT, latency time) của chuột, thường là dưới 5 giây. Dùng thuốc cho chuột, sau đó lại đo tiềm thời; nếu chuột không cảm nhận được đau sau 5 giây (LT > 5 giây) thì thuốc có tác dụng giảm đau. Mô hình này thích hợp để nghiên cứu thuốc giảm đau opioid (thuốc giảm đau gây ngủ: narcotic analgesic).

Tiến hành: 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 [20].

Kết luận: Nhóm nghiên cứu lựa chọn mô hình Tail- immersion (nhúng đuôi) vì vật liệu thí nghiệm đơn giản, khoảng cách đo số liệu thuận lợi cho việc đánh giá tác dụng giảm đau trung ương.

1.5.4. Đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên

- Mô hình gây đau quặn

Nguyên tắc: Khi tiêm dung dịch acid acetic vào phúc mạc chuột nhắt trắng sẽ làm cho chuột xoắn mình sang một bên, co thót bụng, bụng chạm sát vào sàn. Các biểu hiện của đau kinh trung ương và các thuốc kháng histamin đều có tác dụng làm

giảm các cơn đau quặn như trên tạo thành từng cơn. Các thuốc giảm đau, các thuốc kích thích hệ thần đau trong mô hình này.

Tiến hành: Tiêm dung dịch Acid acetic 0,6 % liều 0,1 ml/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 [20].

- Phương pháp rê kim: Phương pháp rê kim sử dụng tác nhân cơ học (đầu kim) tác động vào gan bàn chân chuột với lực gây đau tối đa là 5g (để tránh gây tổn thương mô) và tốc độ lực là 0,5g/giây, chuột sẽ phản ứng bằng cách rút gan bàn chân ra khỏi đầu kim [23].

Kết luận: Nhóm nghiên cứu lựa chọn mô hình gây đau quặn vì độ chính xác khá tuyệt đối về liều lượng thuốc thử và thời gian xuất hiện cơn đau cho việc đánh giá tác dụng giảm đau ngoại biên.

Chương 2
ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Bài thuốc Phong Thấp Thang

2.1.1. Công thức bài thuốc

Bảng 2.1. Công thức bài thuốc nghiên cứu

STT	Tên vị thuốc	Tên khoa học	Liều lượng
1	Dây chiều	*Caulis Tetracerae scandens*	20 gram
2	Cà gai leo	*Herba Solani procumbensis*	12 gram
3	Vỏ cây gạo	*Cotex Bombacis ceiba*	12 gram
4	Dây xấu hổ	*Herba Mimosae pudicae*	20 gram

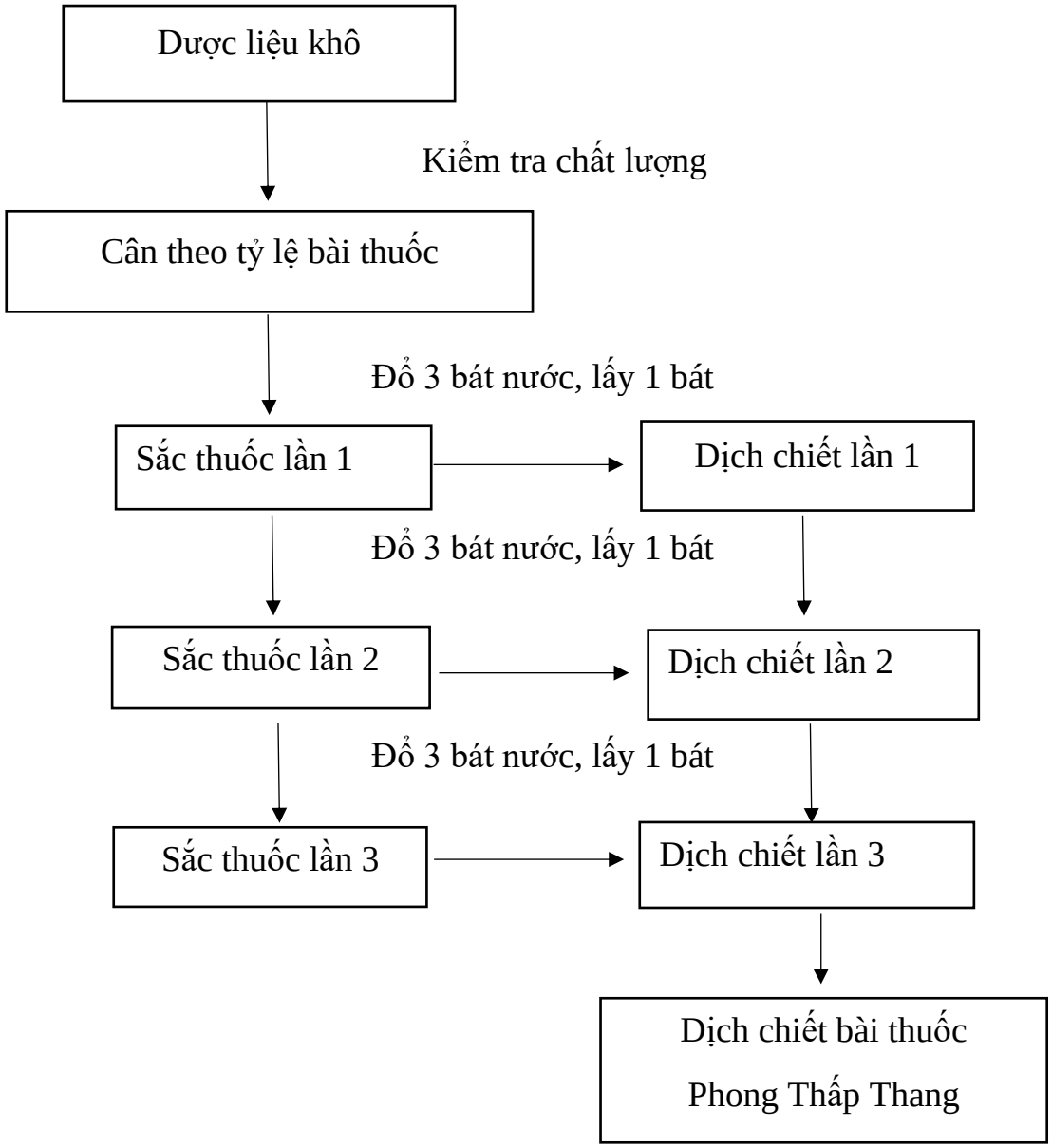
Các vị thuốc được sắc theo quy trình Bộ Y Tế: mỗi thang thuốc đều sắc 3 lần, mỗi lần cho 2 bát nước sắc lấy một nửa bát (cũng có thể cho 3 bát nước lấy 1 bát), hai lần sau mỗi lần cho 3 bát nước sắc còn 1 bát. Trộn đều chia 3 lần trong ngày để uống lúc ấm, sử dụng 1 thang/ngày (Phụ lục 2).

Các nguyên liệu bài thuốc được dùng dưới dạng nguyên liệu khô và đạt tiêu chuẩn cơ sở.

2.1.2. Quy trình bào chế

Thuốc được sắc theo phương pháp YHCT bằng máy sắc thuốc bán tự động, được dịch chiết toàn phần trong nước, tỉ lệ 1:1. Như vậy nồng độ dược liệu trong dịch chiết là 1g/ml.

Quy trình bào chế:



2.1.3. Dạng bào chế

Bài thuốc được bào chế dưới dạng dịch chiết toàn phần trong nước theo tỉ lệ 1:1 (1g dược liệu/1ml nước).

Hình 2.1. Dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang

Vì dạng bào chế của bài thuốc này đã được sử dụng trên người, nên nhóm nghiên cứu ngoại suy từ liều dùng trên người cho các thử nghiệm. Liều dùng thông thường trên người là 1 thang/24 giờ, mỗi thang chứa 64 gam dược liệu, một người trung bình cân nặng 50kg. Như vậy liều dùng trung bình trên người là: 1.26g/kg thể trọng/24 giờ. Liều dùng trên chuột nhắt bằng 12 lần liều dùng trên người, tức là 15,36 g/kg thể trọng chuột/24 giờ.

2.1.4. Thuốc đối chứng và hóa chất trong nghiên cứu

- Nước cất 2 lần.

- Diclofenac sodium nguyên chất (100,0%), 150 mg/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.

- Dung dịch acid acetic tinh khiết, hàm lượng ≥ 96%, CTCP Tập đoàn Hóa chất Đức Giang, lô 01022024, TCCS 31:2008/HCĐG.

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

- Freund’s Completed Adjuvant tinh khiết (Sigma Aldrich), F5881-10M.

2.1.5. Các vật liệu và phương tiện khác

- Cân điện Precisa XB 320C, độ chính xác d = 1mg.

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

- Bể ổn nhiệt của Sheldon Manufacturing (USA), model SWB15-2.

- Đồng hồ bấm giây.

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

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: Viện nghiên cứu y dược cổ truyền Tuệ Tĩnh – Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam.

- Nghiên cứu tiến hành: từ tháng 04/2024-09/2024.

2.3. Đối tượng nghiên cứu.

- Chuột nhắt trắng (Mus musculus L.), chủng Swiss, 4 - 5 tuần tuổi, trọng lượng 20 ± 2g, trưởng thành, khỏe mạnh, không phân biệt đực cái, do Trung tâm nhân giống chuột J10 - Học viện Quân Y cung cấp.

- Chuột cái không mang thai, không nuôi con bú và chưa sinh sản lần nào. Chuột được nuôi ổn định 2 - 3 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

- Động vật ăn thức ăn theo tiêu chuẩn cho động vật nghiên cứu, nước sạch đun sôi để nguội uống tự do tại phòng thực nghiệm của Viện nghiên cứu Y Dược cổ truyền Tuệ Tĩnh.

- Hàng ngày quan sát, theo dõi ghi chép diễn biến kết quả thí nghiệm.

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

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Nghiên cứu độc tính cấp

Tiến hành lựa chọn để đưa vào nghiên cứu theo tiêu chuẩn của Bộ Y tế và các nghiên cứu khác [24], [25], [26], [27], [28], [29]. Chỉ những chuột có cân nặng từ 18-22g mới đưa vào thí nghiệm, ưu tiên lựa chọn những chuột có trọng lượng 20g. Lựa chọn cả chuột đực và chuột cái. Các chuột khoẻ mạnh lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, hoạt động, vận động bình thường, ăn uống bình thường và chất thải bình thường. Nuôi dưỡng các chuột trong điều kiện nuôi động vật thí nghiệm trong 5-7 ngày, tiếp tục theo dõi các chuột trong thời gian này để kịp thời loại bỏ các chuột có biểu hiện bất thường.

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn 16 giờ, nước uống tự do. Sau 16 giờ, chuột được chia ngẫu nhiên thành các lô, mỗi lô 10 con. Các ở mỗi lô tăng dần, lô thử được cho uống thuốc với thể tích 0,1ml/10g/24 giờ. Mức liều cho uống

Theo dõi, đánh giá tình trạng chung của chuột ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Tình trạng chung của chuột được đánh giá thông qua các chỉ tiêu sau:

- Theo dõi, đánh giá tình trạng hoạt động, vận động của chuột: Quan sát từng chuột có biểu hiện của trạng thái kích thích thần kinh hay không (như tăng hoạt động, dễ kích thích bởi các tác nhân ánh sáng, tiếng động...); có biểu hiện của trạng thái ức chế thần kinh hay không (giảm hoạt động, lờ đờ, hay nằm nhiều,...); có biểu hiện về tổn thương thần kinh vận động hay không (dáng đi lảo đảo, bị rung các chi, nặng có thể bị co giật hay yếu cơ đi lại khó khăn,...).

- Theo dõi, đánh giá tình trạng ảnh hưởng tới thần kinh thực vật: quan sát từng chuột tình trạng ra mồ hôi (biểu hiện lông bị ướt, bệt, dính hay lông khô) hoặc biến đổi sắc tố da (bị khô da, đỏ da, tím tái da hay không); đồng từ mắt có biểu hiện bị co, giãn hay không,

- Theo dõi đánh giá tình trạng hô hấp:

+ Quan sát từng chuột có biểu hiện bị khó thở không, khi khó thở chuột sẽ có biểu hiện co rút các cơ thở vùng cổ, ngực và có biểu hiện tím tái mỗi miệng các chi do thiếu oxy. Dựa vào sự co rút các cơ thở đánh giá biểu hiện khó thở dạng nhanh nông hay có biểu hiện ức chế làm chậm nhịp thở...

+ Quan sát từng chuột có biểu hiện của họ không: khi họ chuột rùng người lại, cơn ho gây vận động đột ngột của vùng đầu và cổ.

- Theo dõi và đánh giá tình trạng ăn uống của chuột: Quan sát từng chuột ngày đầu tiên do đưa lượng thuốc nhiều vào dạ dày, việc theo dõi đánh giá chỉ mang tính tham khảo. Từ ngày thứ 2 trở đi, quan sát đánh giá sự ảnh hưởng của thuốc đến hoạt động ăn uống của chuột, lượng thức ăn và nước uống mà chuột tiêu thụ...

- Theo dõi, đánh giá tình trạng chất thải của chuột: Quan sát từng chuột có biểu hiện của đi ngoài phân nát hay lỏng nước không, xuất hiện ở những mức liều nào, sau dùng thuốc bao lâu, sau bao lâu thì hồi phục. Quan sát hậu môn các chuột. Những chuột không đi ngoài thì hậu môn khô. Các chuột có biểu hiện đi ngoài hậu môn ướt, dính phân, có thể có viêm tấy đỏ...

- Theo dõi, quan sát, đánh giá những biểu hiện bất thường khác như bị đau quặn bụng biểu hiện thóp bụng, áp bụng xuống sàn, duỗi dài hai chân sau, bị ngứa đưa chân lên gãi...

- Theo dõi, đánh giá số chuột chết ở mỗi lô trong vòng 72 giờ sau khi cho chuột uống thuốc lần cuối. Với mỗi chuột bị chết, ghi chép đầy đủ các biểu hiện của chuột trước khi chết, thời điểm xuất hiện các biểu hiện đó, thời gian kéo dài của các biểu hiện đó và thời điểm khi chuột chết.

Tiến hành phẫu tích quan sát tình trạng các tạng ngay sau khi có chuột chết (nếu có) để xác định nguyên nhân gây độc.

Tính toán LD_{50} được thực hiện dựa trên các số liệu về khoảng cách giữa mức liều cao nhất chưa gây chết một con chuột nào và mức liều thấp nhất gây chết 100% số chuột, cùng số chuột chết ở các lô trung gian trong thời gian 72 giờ sau uống thuốc.

$$LD_{50} = LD_{100} - \sum\left(\frac{a\ x\ b}{n}\right)$$

LD_0: mức liều cao nhất chưa gây chết một con chuột nào

LD_{100}: mức liều thấp nhất gây chết 100% số chuột

a: số chuột chết

b: khoảng cách giữa các liều

n: số chuột ở mỗi nhóm

Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng chung của chuột và số chuột chết ở mỗi lô (nếu có) cho đến hết 14 ngày sau khi uống thuốc. Các dấu hiệu bất thường của chuột cũng như số chuột chết trong thời gian sau 72 giờ cho đến hết 14 ngày sau khi uống thuốc, được dùng để xem xét đánh giá về khả năng gây độc muộn của chế phẩm nghiên cứu.

2.4.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm

2.4.2.1. Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp

Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenan. Chuột nhắt trắng được chia làm 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

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

- Lô 3 (lô trị 1): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 15,36 g/kg/ngày (liều lâm sàng).

- Lô 4 (lô trị 2): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 30,72 g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

- Lô 5 (lô trị 3): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 7,68 g/kg/ngày (một nửa liều 1).

Chuột được uống thuốc thử hoặc nước cất 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm carrageenan 1% (pha trong nước muối sinh lý, ngay trước khi tiêm) 0.025 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột, nước uống tự do.

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer) vào các thời điểm: Trước khi gây viêm (V%); (V24), 48 giờ (V48). sau khi gây viêm 1 giờ (Vi), 2 giờ (V2), 4 giờ (V) và 6 giờ (V%), 24 giờ (V24) và 48 giờ (V48).

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

$$X\% = \frac{Vt - Vo}{Vo} \times 100$$

Trong đó:

+ X% là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột.

+ V_o là thể tích bàn chân chuột ngay sau khi tiêm Carrageenin.

+ V là thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau 1, 2, 4, 6, 24, 48 giờ sau khi tiêm Carrageenin.

Tác dụng ức chế phù được biểu thị bằng % giảm mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô dùng thuốc nghiên cứu so với mức độ tăng của lô chứng sinh lý và được tính theo công thức:

$$Y\% = \frac{Mc - Mt}{Mc} \times 100$$

Trong đó:

Y% là tỷ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột.

Mc là tỉ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột lô đối chứng .

Mt là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng thuốc nghiên cứu [30], [31], [32].

2.4.2.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn

Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn theo mô hình gây viêm mạn bằng FCA trên chuột nhắt trắng. Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên làm 5 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

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

- Lô 3 (lô trị 1): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 15,36 g/kg/ngày (liều lâm sàng).

- Lô 4 (lô trị 2): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 30,72 g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

- Lô 5 (lô trị 3): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 7,68 g/kg/ngày (một nửa liều 1).

Gây viêm mạn bằng cách tiêm FCA. Chuột được uống thuốc thử hoặc nước cất 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm FCA (1mg/ml) 0.02 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên trái của chuột, nước uống tự do.

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer) vào các thời điểm: Trước khi gây viêm (V%); sau khi gây viêm cách 2 – 7 – 14 – 21 – 28 ngày (V_2), (V_7,), (V_{14}), (V_{21}), (V_{28}).

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

$$X\% = \frac{Vt - Vo}{Vo} \times 100$$

Trong đó:

+X% là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột.

+V_o là thể tích bàn chân chuột ngay sau khi tiêm FCA.

+V_t là thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau tiêm FCA.

Tác dụng ức chế phù được biểu thị bằng % giảm mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô dùng thuốc nghiên cứu so với mức độ tăng của lô chứng sinh lý và được tính theo công thức:

$$Y\% = \frac{Mc - Mt}{Mc} \times 100$$

Trong đó:

Y% là tỷ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột.

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

M_t là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng thuốc nghiên cứu [33], [35].

2.4.3. Nghiên cứu tác dụng giảm đau

2.4.3.1. Nghiên cứu tác dụng giảm đau trung ương

Đánh giá tác dụng giảm đau bằng phương pháp nhúng đuôi. Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 10 con:

- Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.

- Lô 2 (lô tham chiếu): Uống Codein liều 20mg/kg/ngày.

- Lô 3 (lô trị 1): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 15,36 g/kg/ngày (liều lâm sàng).

- Lô 4 (lô trị 2): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 30,72 g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).

- Lô 5 (lô trị 3): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 7,68 g/kg/ngày (một nửa liều 1).

Đánh giá phản ứng đau của chuột tại thời điểm trước uống (T0), 30 phút (T1), 60 phút (T2), 120 phút (T3) sau khi uống.

Phương pháp nhúng đuôi để đo ngưỡng đau được thực hiện như sau: Đưa đuôi chuột tiếp xúc với nguồn nước nóng ổn định 58°C. Khoảng cách đo được xác định giống nhau cho mọi chuột là khoảng 5cm tính từ đầu mút đuôi chuột. Ta tính thời điểm bắt đầu nhúng đuôi chuột đến thời điểm chuột xuất hiện phản xạ nhúng đuôi [35], [36].

2.4.3.2. Nghiên cứu tác dụng giảm đau ngoại biên

Nghiên cứu tác dụng giảm đau theo mô hình gây đau quặn sử dụng acid acetic. Chuột nhắt trắng được chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con

- Lô 1 (lô chứng): Uống nước cất.
- Lô 2 (lô tham chiếu): Diclofenac sodium liều 24 mg/kg.
- Lô 3 (lô trị 1): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 15,36 g/kg/ngày (liều lâm sàng).
- Lô 4 (lô trị 2): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 30,72 g/kg/ngày (gấp đôi liều 1).
- Lô 5 (lô trị 3): Uống dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang liều 7,68 g/kg/ngày (một nửa liều 1).

Chuột được uống thuốc thử hoặc nước cất 5 ngày liên tục. Ngày thứ 5, sau khi dùng thuốc 60 phút, tiến hành gây đau quặn bằng cách tiêm phúc mạc bằng dung dịch acid acetic 0,6% liều 0,1 ml/10g thể trọng. Sau khi tiêm acid acetic vào ổ bụng, ở tất cả các chuột đều có những cơn đau quặn với biểu hiện thóp bụng lại, áp bụng xuống sàn, duỗi dài thân và chân sau. Thời gian xuất hiện đau (tính từ lúc tiêm acid acetic đến khi có cơn đau quặn đầu tiên) và đếm số cơn đau quặn trong từng khoảng thời gian 5 phút cho đến kết thúc 20 phút sau tiêm acid acetic được ghi lại đối với từng chuột trong mỗi lô. So sánh kết quả giữa các lô nghiên cứu, tính % ức chế đau quặn theo công thức:

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

Trong đó:

A% là tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô thử thuốc.

Dc là số con đau quặn của lỗ chứng sinh lý.

Dt là số cơn đau quặn của lô thử thuốc [37], [38].

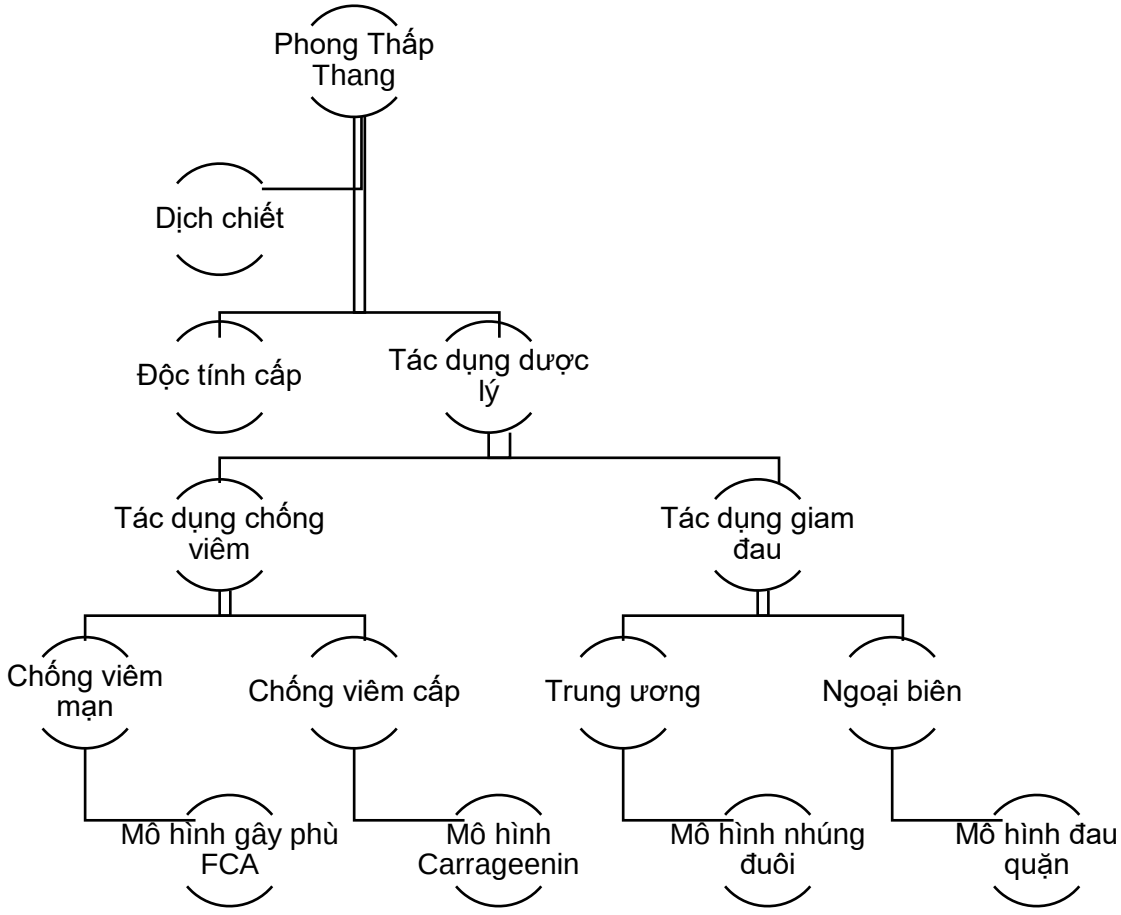
2.5. Phương pháp xử lý số liệu

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu

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

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

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



Sơ đồ 2.1. Quy trình nghiên cứu.

Chương 3
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp

Chuột nhắt trắng được uống bài thuốc "Phong thấp thang" từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25ml/10g chuột, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc nhất có thể cho uống bằng kim chuyên dụng. Sau khi uống thuốc thử, quan sát kỹ toàn bộ các lô chuột không thấy xuất hiện bất cứ dấu hiệu bất thường nào. Theo dõi liên tục trong vòng 72 giờ và theo dõi 7 ngày sau đó không có chuột nào chết.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả độc tính cấp của bài thuốc "Phong Thấp Thang"

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (g dược liệu khô/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	35	149,9	0	Không
Lô 2	10	45	192,8	0	Không
Lô 3	10	55	235,6	0	Không
Lô 4	10	65	278,5	0	Không
Lô 5	10	75	321,4	0	Không

Kết quả bảng 3.1 cho thấy: các lô chuột uống bài thuốc "Phong thấp thang" liều từ 35ml/kg tương đương 149,9 g dược liệu khô/kg đến liều tối đa 75ml/kg tương đương 321,4g dược liệu khô /kg không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 3.1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của bài thuốc "Phong thấp thang" là: 321,4g/kg chuột nhắt.

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm.

3.2.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp

Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenan.

Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang đến mức độ phù chân chuột sau khi gây viêm bằng carragenan được theo dõi ở 1, 2, 4, 6, 24 và 48 giờ sau tiêm. Kết quả cho thấy, diclofenac natri và Phong Thấp Thang có tác dụng giảm mức phù chân chuột rất tốt ở 4 giờ, 6 giờ, 24 giờ và 48 giờ sau khi gây viêm.

Bảng 3.2. Ảnh hưởng Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 1 giờ gây viêm bằng Carrageenan

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 1 giờ (V1, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	p (V0-V1)
Lô chứng	0,144 ± 0,025	0,164 ± 0,016	15,50 ± 11,8		> 0,05 (0,05135)
Lô tham chiếu	0,147 ± 0,013	0,157 ± 0,016	6,74 ± 4,63	56,49	> 0,05 (0,13310)
Lô trị 1	0,143 ± 0,012	0,158 ± 0,013	10,69 ± 5,38	31,06	**< 0,05** (0,01454)
Lô trị 2	0,145 ± 0,156	0,158 ± 0,011	9,52 ± 7,03	38,61	> 0,05 (0,0504)
Lô trị 3	0,137 ± 0,014	0,152 ± 0,010	11,44 ± 7,05	26,20	**< 0,05** (0,1537)
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Trước khi gây viêm bằng carragenan, thể tích chân chuột ở cả 5 lô không khác biệt thống kê ($p > 0,05$). Sau khi tiêm carragenan 1 giờ, thể tích chân chuột ở các lô từ 1-5 đều tăng lên so với trước khi tiêm. Tuy nhiên ở lô trị 3 và lô trị 1, thể tích chân chuột tăng có ý nghĩa thống kê so với trước khi tiêm ($p < 0,05$), còn chuột ở lô uống

diclofenac và lô trị 2 có thể tích chân tăng lên chưa có ý nghĩa thống kê (các giá trị *P* (V0-1) > 0,05). Thể tích chân chuột ở các lô uống diclofenac và Phong Thấp Thang đều có xu hướng thấp hơn so với lô chứng tại cùng thời điểm, nhưng chưa có khác biệt đáng kể (*P* > 0,05).

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 2 giờ gây viêm bằng carrageenan

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 chứng	0,144 ± 0,025	0,199 ± 0,019	40,93 ± 22,21		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,147 ± 0,013	0,176 ± 0,018*	19,62 ± 5,68**	52,06**	**< 0,001**
Lô trị 1	0,143 ± 0,012	0,189 ± 0,022	32,58 ± 15,52	20,39	**< 0,001**
Lô trị 2	0,145 ± 0,156	0,197 ± 0,027	36,32 ± 16,94	14,26	**< 0,001**
Lô trị 3	0,137 ± 0,014	1,191 ± 0,028	39,66 ± 17,86	3,10	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05	> 0,05 *** < 0,05**	> 0,05 **** < 0,01**	> 0,05 **** < 0,01**	

Bảng 3.3 cho thấy, tất cả chuột ở các lô 1-5 đều có phản ứng viêm rõ với carragenan với mức liều đã sử dụng tại thời điểm 2 giờ sau tiêm, thể tích chân chuột ở tất cả các lô đều tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị *p* < 0,001). Lô chuột uống diclofenac có thể tích chân chuột và tỷ lệ tăng thể tích chân chuột thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị *p* tương ứng < 0,05

và < 0,01). Diclofenac làm giảm mức độ viêm tốt hơn Phong Thấp Thang tại thời điểm 2 giờ sau gây viêm, làm giảm mức độ viêm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,01$).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 4 giờ gây viêm bằng carrageenan

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 chứng	0,144 ± 0,025	0,240 ± 0,022	69, 86 ± 23,77		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,147 ± 0,013	0,208 ± 0,024**	41,40 ± 9,09**	40,73**	**< 0,001**
Lô trị 1	0,143 ± 0,012	0,210 ± 0,016**	47,88 ± 16,63*	31,47*	**< 0,001**
Lô trị 2	0,145 ± 0,156	0,208 ± 0,028*	43,60 ± 13,25**	37,59**	**< 0,001**
Lô trị 3	0,137 ± 0,014	0,217 ± 0,021*	59,02 ± 14,63	15,52	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05	*** < 0,05 ** < 0,01**	*** < 0,05 ** < 0,01**	*** < 0,05 ** < 0,01**	

Từ bảng 3.4 ta thấy, ở thời điểm 4 giờ sau gây viêm, chuột ở các lô 1-5 đều có thể tích chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm ($p < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô tham chiếu, lô trị 1 và lô trị 2 thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (tương ứng $p < 0,01$, < 0,05 và < 0,01). Tương tự, tỷ lệ giảm phù chân chuột ở lô tham chiếu, lô trị 1 và lô trị 2 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,01$, < 0,05 và < 0,01). Ở lô trị 3, Phong Thấp Thang có tỷ lệ tăng thể

tích chân chuột và mức độ giảm phù chân chuột không khác biệt so với lô chứng không dùng thuốc ($p > 0,05$).

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 6 giờ gây viêm bằng carrageenan

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 6 giờ (V6, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	p (V0-V6)
Lô chứng	0,144 ± 0,025	0,232 ± 0,034	64,18 ± 28,89		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,147 ± 0,013	0,195 ± 0,027*	32,45 ± 14,03**	49,44**	**< 0,001**
Lô trị 1	0,143 ± 0,012	0,193 ± 0,037*	35,12 ± 23,86*	45,28*	**< 0,01**
Lô trị 2	0,145 ± 0,156	0,171 ± 0,035**	17,97 ± 20,63 ***	71,99***	> 0,05
Lô trị 3	0,137 ± 0,014	0,178 ± 0,020**	30,61 ± 15,45**	52,30**	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05		*** < 0,05 ** < 0,01 *** < 0,001**	*** < 0,05 ** < 0,01 *** < 0,001**	

Sau 6 giờ gây viêm, thể tích chân chuột ở các lô chứng, lô tham chiếu, lô trị 1 và lô trị 3 đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm ($p < 0,001$ hoặc $< 0,01$), trong khi đó, thể tích chân chuột ở lô trị 2 cao hơn trước thời điểm gây viêm nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị $p < 0,01$, $< 0,05$ và $< 0,001$). Tương tự, mức độ giảm phù chân chuột ở các lô dùng thuốc cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Đặc biệt ở lô trị 2, Phong Thấp Thang làm giảm mức phù chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê

so với lô trị 1 và lô trị 3, thậm chí giảm phù cao hơn so với lô uống diclofenac (p < 0,01).

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 24 giờ gây viêm bằng carrageenan

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 24 giờ (V24, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	p (V0-V24)
Lô chứng	0,144 ± 0,025	0,223 ± 0,026	59,39 ± 34,19		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,147 ± 0,013	0,185 ± 0,014**	26,26 ± 9,60*	55,78*	**< 0,001**
Lô trị 1	0,143 ± 0,012	0,189 ± 0,032*	31,90 ± 17,63*	46,28*	**< 0,01**
Lô trị 2	0,145 ± 0,156	0,183 ± 0,021 **	26,64 ± 11,70*	55,12*	**< 0,001**
Lô trị 3	0,137 ± 0,014	0,191 ± 0,027*	39,85 ± 17,47	32,89	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05	*** < 0,05** **** < 0,01**	*** < 0,05**	*** < 0,05**	

Sau 24 giờ gây viêm, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị p < 0,001 hoặc < 0,01). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (59,39 ± 34,19) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và lô trị 1, lô trị 2 (p < 0,05) nhưng không khác biệt thống kê so với lô trị 3. Phong Thấp Thang ở cả 2 lô trị 1 và lô trị 2 làm giảm mức phù chân chuột tương tự như diclofenac và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô trị 3 (p < 0,05). Với lô trị 3, tỷ lệ tăng thể tích chân chuột và mức độ giảm phù chân chuột không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng không dùng thuốc (p > 0,05).

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 48 giờ gây viêm bằng carrageenan

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 48 giờ (V48, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	p (V0-V48)
Lô chứng	0,144 ± 0,025	0,221 ± 0,023	57,18 ± 27,44		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,147 ± 0,013	0,173 ± 0,013 ***	17,93 ± 6,59**	68,64**	**< 0,001**
Lô trị 1	0,143 ± 0,012	0,173 ± 0,023 ***	21,00 ± 11,67 **	63,28**	**< 0,01**
Lô trị 2	0,145 ± 0,156	0,165 ± 0,014 ***	14,41 ± 9,72 ***	74,81***	**< 0,01**
Lô trị 3	0,137 ± 0,014	0,170 ± 0,017 ***	24,55 ± 10,86 **	53,06**	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05	*** **< 0,001**	**** < 0,01** ***** < 0,001**	**** < 0,01** ***** < 0,001**	

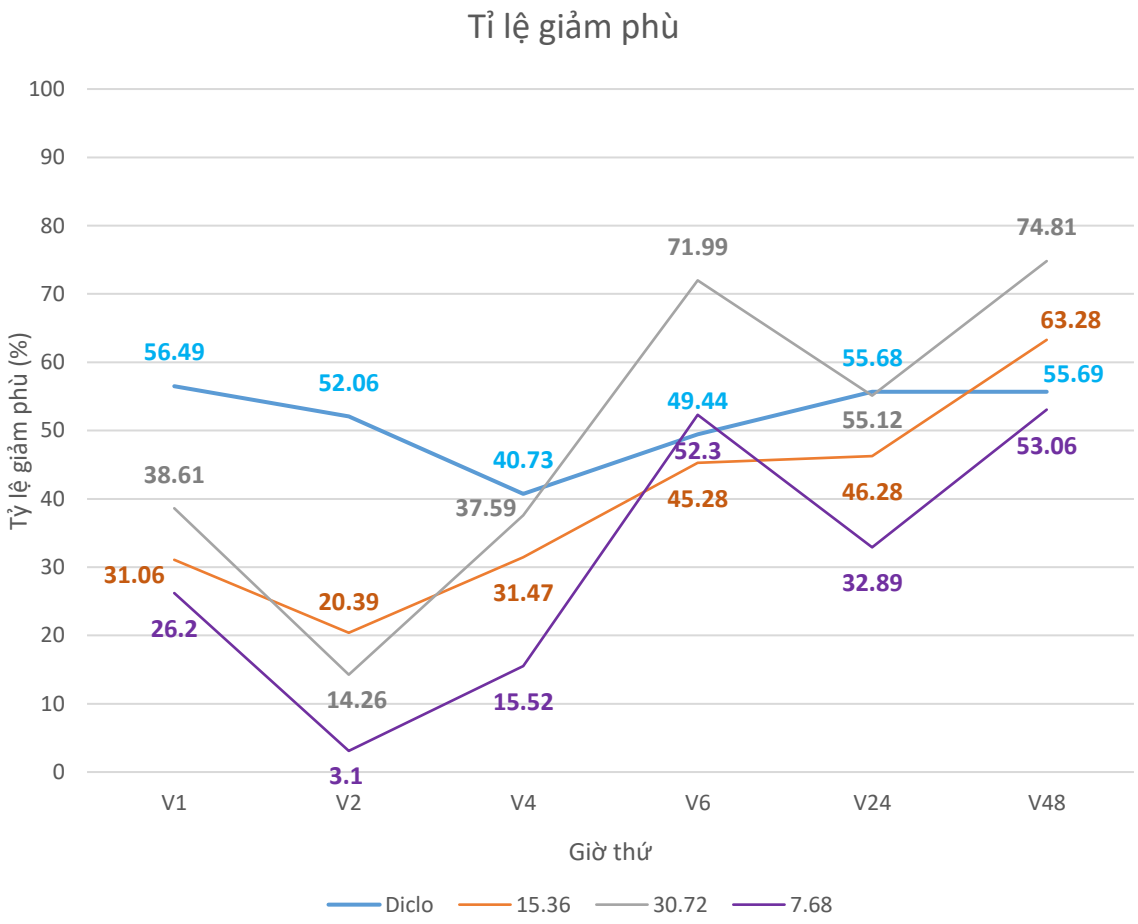
Kết quả từ bảng 3.7 cho thấy, sau 24 giờ gây viêm, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $p <$ 0,001 và < 0,01). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (57,18 ± 27,44) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ($p < 0,01$ và < 0,001). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($p < 0,01$, < 0,001 và < 0,01 tương ứng với các lô 3, 4 và 5). Với lô trị 2, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm phù chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô trị 1 và lô trị 3 ($p < 0,05$).

Kết quả tổng hợp về mức độ ức chế phù viêm cấp bàn chân chuột (%) tại các thời điểm đo được trình bày tại bảng 3.8.

Bảng 3.8. Mức độ giảm phù bàn chân chuột (n=10/lô)

	Mức độ giảm phù bàn chân chuột (I%)			
Thời điểm sau gây phù	Lô trị 1	Lô trị 2	Lô trị 3	Lô tham chiếu
Sau 1 giờ	31,06	38,61	26,20	56,49
Sau 2 giờ	20,39	14,26	3,10	52,06
Sau 4 giờ	31,47	37,59	15,52	40,73
Sau 6 giờ	45,28	71,99	52,30	49,44
Sau 24 giờ	46,28	55,12	32,89	55,78
Sau 48 giờ	63,28	74,81	53,06	68,64

Bảng 3.8 cho thấy, Diclofenac làm giảm rõ rệt thể thích bàn chân chuột, ở lô trị 1 và lô trị 2 có hiệu quả tương tự Diclofenac từ thời điểm 6 giờ và kéo dài đến 48 giờ, trong đó lô trị 2 có tác dụng đạt tỷ lệ cao hơn Diclofenac. Lô trị 3 làm giảm thể tích chân chuột hiệu quả tương tự Diclofenac tốt nhất ở thời điểm 6 và 48 giờ, có ý nghĩa thông kê ($p < 0,05$)



Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ giảm phù ở các nhóm trong mô hình chống viêm cấp

3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn.

Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng FCA.

Tác dụng ức chế viêm mạn tính của Diclofenac và Phong Thấp Thang được thể hiện ở các bảng 3.9-3.14.

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 2 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 2 ngày (V-D2, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	*p (V0-D2)*
Lô chứng	0,152 ± 0,013	0,278 ± 0,022	82,93 ± 19,30		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,153 ± 0,012	0,250 ± 0,241	64,55 ± 31,05	23,09	**< 0,001**
Lô trị 1	0,154 ± 0,012	0,273 ± 0,027	78,60 ± 26,19	6,34	**< 0,001**
Lô trị 2	0,155 ± 0,014	0,275 ± 0,026	78,56 ± 23,31	6,83	**< 0,001**
Lô trị 3	0,156 ± 0,013	0,277 ± 0,020	78,37 ± 16,53	6,62	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 2 ngày gây viêm bằng FCA, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 tăng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $p < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (82,93 ± 19,30) có xu hướng cao hơn so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang làm giảm mức phù chân chuột chưa có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 7 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 7 ngày (V-D7, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	*p (V0-D7)*
Lô chứng	0,152 ± 0,013	0,397 ± 0,040	163,14 ± 35,85		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,153 ± 0,012	0,271 ± 0,034 ***	77,25 ± 18,61 ***	52,65***	**< 0,001**
Lô trị 1	0,154 ± 0,012	0,311 ± 0,023 ***	103,83 ± 30,62 ***	36,35***	**< 0,001**
Lô trị 2	0,155 ± 0,014	0,311 ± 0,031 ***	101,44 ± 21,95 ***	60,83***	**< 0,001**
Lô trị 3	0,156 ± 0,013	0,317 ± 0,028 ***	103,81 ± 17,93 ***	36,38***	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	***< 0,001**	***< 0,001**	***< 0,001**	
p(2-3), p(2-4), p(2-5), p(4-5)			**< 0,05**	**< 0,05**	

Kết quả từ bảng 3.10 cho thấy, sau 7 ngày gây viêm bằng FCA, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $p < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (163,14 ± 35,85) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ở cả 3 mức liều ($p < 0,001$). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($p < 0,001$). Với lô trị 2, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm phù chân chuột tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với lô

trị 1 và lô trị 3 ($p < 0,05$) và tương tự tác dụng của diclofenac. Mức độ giảm phù chân chuột ở lô uống ở lô trị 1 và lô trị 3 khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 14 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 14 ngày (V-D14, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	*p (V0-D14)*
Lô chứng	0,152 ± 0,013	0,410 ± 0,033	164,32 ± 35,33		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,153 ± 0,012	0,283 ± 0,014 ***	85,50 ± 10,57 ***	47,97***	**< 0,001**
Lô trị 1	0,154 ± 0,012	0,277 ± 0,037 ***	81,61 ± 34,71 ***	50,33***	**< 0,001**
Lô trị 2	0,155 ± 0,014	0,290 ± 0,028 ***	88,28 ± 25,24 ***	86,14***	**< 0,001**
Lô trị 3	0,156 ± 0,013	0,271 ± 0,024 ***	74,92 ± 22,89 ***	54,41***	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05	***** < 0,001**	***** < 0,001**	***** < 0,001**	

Ở ngày 14, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị p < 0,001). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (164,32 ± 35,33) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ở cả 3 mức liều (p < 0,001). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng (p < 0,001). Với liều ở lô trị 2, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm phù chân chuột cao hơn

so có ý nghĩa thống kê so với liều ở lô trị 1, lô trị 3 và so với lô uống diclofenac (p < 0,01). Chuột ở lô trị 1 và lô trị 3 có xu hướng giảm mức phù chân chuột cao hơn so với lô uống diclofenac, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 21 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 21 ngày (V-D21, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	*p (V0-D21)*
Lô chứng	0,152 ± 0,013	0,409 ± 0,024	170,94 ± 28,29		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,153 ± 0,012	0,286 ± 0,031***	87,48 ± 21,58***	48,82***	**< 0,001**
Lô trị 1	0,154 ± 0,012	0,274 ± 0,040***	79,36 ± 32,70***	53,58***	**< 0,001**
Lô trị 2	0,155 ± 0,014	0,283 ± 0,028***	81,18 ± 28,77***	103,08***	**< 0,001**
Lô trị 3	0,156 ± 0,013	0,294 ± 0,015***	89,73 ± 19,42***	47,51***	**< 0,001**
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	> 0,05	***** < 0,001**	***** < 0,001**	***** < 0,001**	

Ở ngày 21, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $p < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (170,94 ± 28,29) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ở cả 3 mức liều ($p < 0,001$). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($p < 0,001$). Với liều lô trị 2, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm phù chân chuột tốt hơn so có ý nghĩa thống kê so với liều ở lô trị 1 và lô trị 3, và so với lô uống diclofenac ($p < 0,01$). Khả năng giảm mức phù chân chuột khi uống lô trị 1 và lô trị 3 so với lô uống diclofenac khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 28 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)	Thể tích chân chuột sau gây viêm 28 ngày (V-D28, TB ± SD, ml)	Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)	% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)	*p (V0-D28)*
Lô chứng	0,152 ± 0,013	0,309 ± 0,027	104,41 ± 22,31		**< 0,001**
Lô tham chiếu	0,153 ± 0,012	0,240 ± 0,036 ***	57,03 ± 22,01 **	45,37***	**< 0,001**
Lô trị 1	0,154 ± 0,012	0,266 ± 0,042*	74,53 ± 36,60*	28,62*	**< 0,001**
Lô trị 2	0,155 ± 0,014	0,276 ± 0,031*	79,11 ± 24,35 **	31,97*	**< 0,001**
Lô trị 3	0,156 ± 0,013	0,292 ± 0,034	87,52 ± 19,56	16,18	**< 0,001**
p(1-2), *p*(1-3), *p*(1-4), *p*(1-5)	> 0,05	*** < 0,05 *** < 0,001**	*** < 0,05 ** < 0,01**	*** < 0,05 *** < 0,001**	

Sau 28 ngày gây viêm bằng FCA, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 vẫn duy trì ở mức cao và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $p < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (104,41 ± 22,31) đã giảm đi có ý nghĩa thống kê so với các ngày D7, D14 và D21 ($p < 0,001$) nhưng vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ở lô 3 và lô 4 ($p < 0,01$ và $< 0,05$). Ở lô trị 1 và lô trị 2, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($p < 0,05$), nhưng mức độ giảm kém hơn so với lô uống diclofenac ($p < 0,05$). Với lô trị 3, chuột có xu hướng tăng thể tích bàn chân thấp hơn so với lô chứng, nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Hình 3.1. Chân phải chuột 23 (lô 3) ở ngày 21 sau tiêm FCA

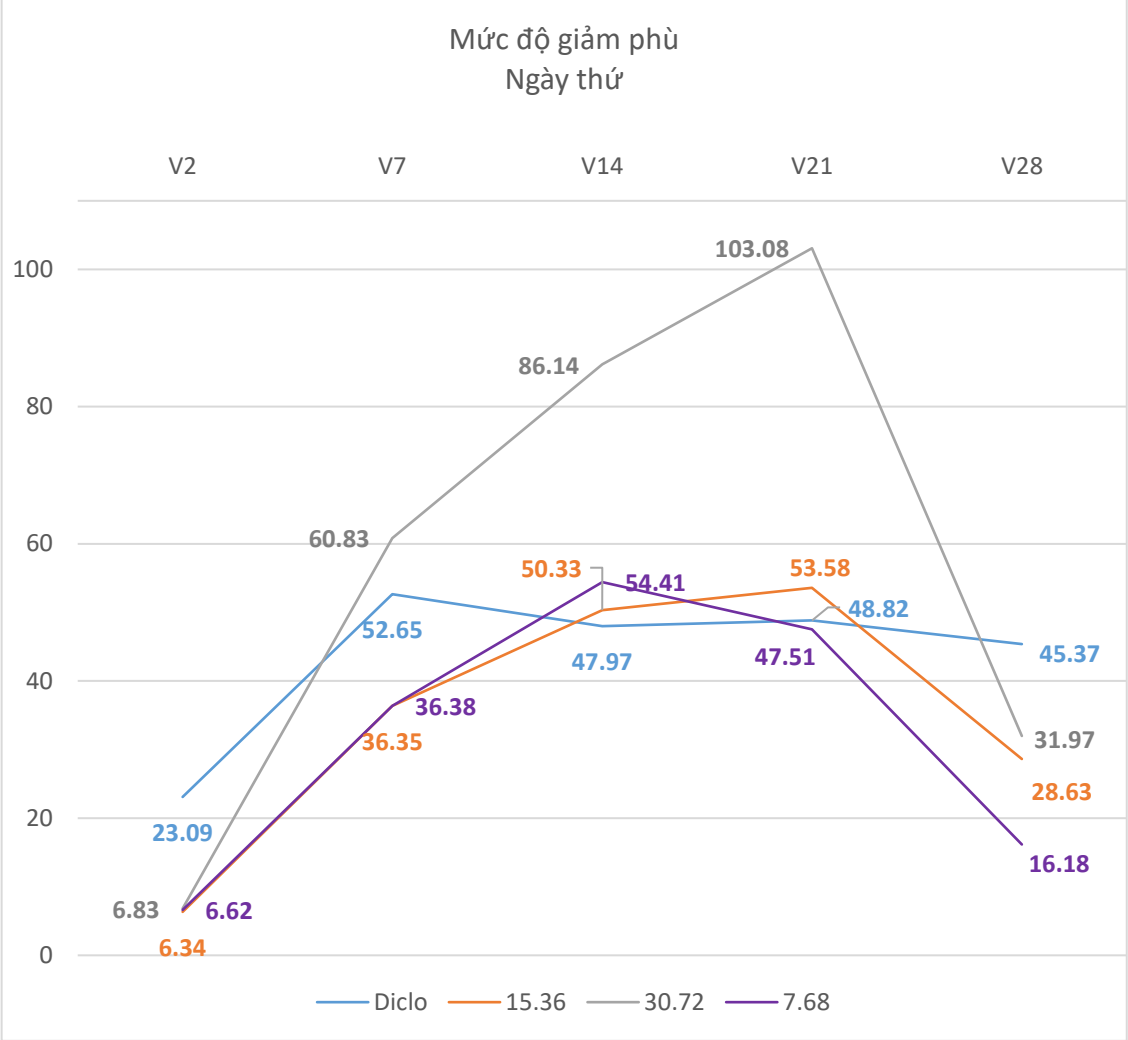
Kết quả tổng hợp về mức độ ức chế phù viêm mạn bàn chân chuột (%) tại các thời điểm đo được trình bày tại bảng 3.14.

Bảng 3.14. Mức độ giảm phù viêm mạn bàn chân chuột (n=10/lô)

	Mức độ giảm phù viêm mạn bàn chân chuột (I%)			
Thời điểm sau gây phù	Lô trị 1	Lô trị 2	Lô trị 3	Lô tham chiếu
Sau 2 ngày	6,34	6,83	6,62	23,09
Sau 7 ngày	36,35	60,83	36,38	52,65
Sau 14 ngày	50,33	86,14	54,41	47,97
Sau 21 ngày	53,58	103,08	47,51	48,82
Sau 28 ngày	28,62	31,97	16,18	45,37

Bảng 3.14 cho thấy, Diclofenac liều 15mg/kg thể trọng có tác dụng làm giảm thể tích chân chuột ở tất cả các thời điểm và giảm rõ rệt nhất ở thời điểm 7 ngày và 21 ngày ($p < 0,001$). Ở lô trị 2 mức độ phù chân chuột giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở các thời điểm và rõ rệt nhất ở các thời điểm 21 ngày là 103% ($p < 0,01$

so với lô Diclefenac). Ở lô trị 1 mức độ phù chân chuột giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở thời điểm 14 ngày và kéo dài tác dụng tới thời điểm 21 ngày (p < 0,001). Ở lô trị 3 thể hiện mức độ ức chế phản ứng phù ở tất cả các thời điểm điều không có ý nghĩa thông kê so với lô Diclofenac.



Biểu đồ 3.2: Mức độ giảm phù ở các nhóm trong mô hình chống viêm mạn

3.3. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau

3.3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau trung ương

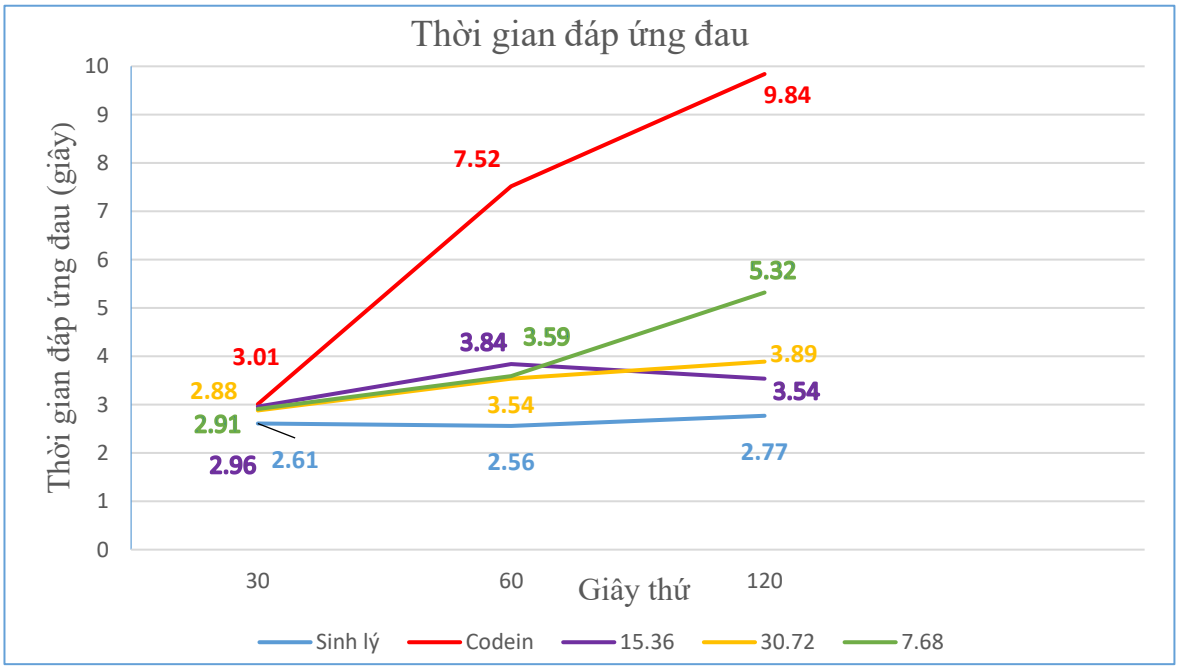
Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình nhúng đuôi.

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.

Bảng 3.15. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang 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 (T0-30), p (T0-60), p(T0-120)
Lô chứng	Trước (T0)	Sau 30 phút	Sau 60 phút	Sau 120 phút	
Lô tham chiếu	2,65 ± 0,60	2,61 ± 0,54	2,56 ± 0,58	2,77 ± 0,61	> 0,05
Lô trị 1	2,62 ± 0,79	3,01 ± 0,78	7,52 ± 1,51 ***	9,84 ± 1,65 ***	***< **0,001**
Lô trị 2	2,98 ± 0,59	2,96 ± 0,35	3,84 ± 0,76* (***)	5,87 ± 2,00** (***)	*< **0,05** **< **0,01**
Lô trị 3	2,78 ± 0,42	2,88 ± 0,26	3,54 ± 0,98*	3,89 ± 1,35*	*< **0,05**
p(1-2), p(1-3), *p*(1-4), p(1-5)	2,85 ± 0,42	2,91 ± 0,20	3,59 ± 0,65**	5,32 ± 2,20**	**< **0,01**
p(2-3), *p*(2-4), p(2-5)	> 0,05	> 0,05	> 0,05 **< **0,01** ***< **0,001**	*< **0,05** **< **0,01** ***< **0,001**	
p(4-5), p(3-5)	> 0,05	> 0,05	**< 0,01**	**< 0,01**	
p(3-4)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Bảng 3.15 cho thấy, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở lô chứng trước và sau khi uống nước cất 7 ngày (tại các thời điểm 30, 60, 120 phút) khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trước khi dùng thuốc hoặc mẫu thử, chuột ở cả 5 lô đều có thời gian phản ứng với nhiệt tương đương nhau (các giá trị $p > 0,05$). Sau khi uống codein phosphat, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở 30 phút thay đổi không khác biệt trước khi uống, nhưng ở 60 và 120 phút, thời gian chịu nhiệt tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc ($p < 0,001$). Ở cả 3 liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang không ảnh hưởng đến khả năng chịu nhiệt của chuột sau 30 phút ($p > 0,05$), nhưng sau 60 và 120 phút, thời gian chịu nhiệt tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống (các giá trị $p < 0,001$, $< 0,01$ hoặc $< 0,05$). Ở lô trị 1 và lô trị 3, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm đau tương tự lô trị 2 ở 60 phút sau uống, nhưng ở 120 phút sau uống thì tác dụng giảm đau tốt hơn liều cao ($p < 0,05$). Phong Thấp Thang có tác dụng giảm đau kém hơn codein phosphat ở 60 cà 120 phút sau uống ($p < 0,01$).



Biểu đồ 3.3: Thời gian đáp ứng đau của các nhóm trong mô hình nhúng đuôi

3.3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau ngoại biên

Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic

Bảng 3.16. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang đến sự giảm 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)				
	0-5 phút	5-10 phút	10-15 phút	15-20 phút	20-25 phút
Lô chứng	2,9 ± 0,99	13,6 ± 3,10	17,7 ± 4,24	13,2 ± 4,32	10,6 ± 3,59
Lô tham chiếu	0,8 ± 0,79	5,4 ± 2,59	8,0 ± 3,16	4,6 ± 3,13	2,1 ± 1,45
Lô trị 1	1,4 ± 0,97	7,0 ± 1,49	11,4 ± 2,76	6,1 ± 1,73	3,6 ± 1,71
Lô trị 2	1,0 ± 0,82	5,1 ± 2,28	7,8 ± 3,43	3,4 ± 1,96	2,1 ± 1,97
Lô trị 3	1,6 ± 0,70	7,9 ± 1,10	12,8 ± 2,44	5,2 ± 1,62	3,2 ± 1,03
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**
p(2-3)	> 0,05	> 0,05	**< 0,05**	> 0,05	**< 0,05**
p(2-5)	**< 0,05**	**< 0,05**	**< 0,05**	> 0,05	> 0,05
p(3-4), p(4-5)	> 0,05	**< 0,05**	**< 0,05**	**< 0,05**	> 0,05
p(2-4), p(3-5)	> 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 ba lô uống Phong Thấp Thang và thuốc tham chiếu diclofenac đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê (các giá trị $p < 0,001$). Lô trị 2 có tác dụng giảm đau quặn tương đương tác dụng của diclofenac (giá trị *p tại* các thời điểm đều > 0,05). Ở các thời điểm 0 – 5 phút, 5 – 10 phút, 15 – 20 phút, chuột ở lô trị 1 thấp hơn có ý nghĩa thống

kê so với lô chứng ($p < 0,001$), có xu hướng cao hơn lô uống diclofenac nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê; tuy nhiên, ở thời điểm 10 – 15 phút và 20 – 25 phút, số cơn đau quặn ở lô này cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô uống diclofenac ($p < 0,05$). Lô trị 1 và lô trị 3 có tác dụng giảm số cơn đau quặn khác nhau không có ý nghĩa thống kê tại các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

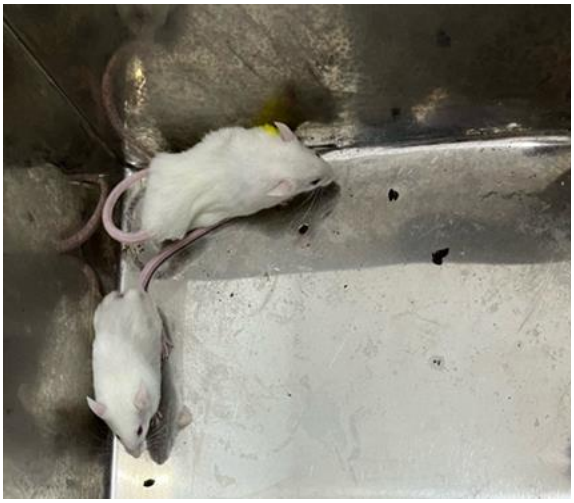
Kết quả đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang đến tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của chuột nhắt trắng đếm được trong 5 phút sau tiêm acid acetic được thể hiện ở bảng 3.17

Bảng 3.17. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang 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 chứng					
Lô tham chiếu	72,41	60,29	54,80	65,15	80,19
Lô trị 1	51,72	48,53	35,59	53,79	66,04
Lô trị 2	65,52	62,5	55,93	74,242	80,19
Lô trị 3	44,83	41,91	27,68	60,61	69,81
p(1-2), p(1-3), p(1-4), p(1-5)	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**
p(2-4), p(3-5)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p(2-3)	> 0,05	> 0,05	**< 0,05**	> 0,05	**< 0,05**
p(2-5)	**< 0,05**	**< 0,05**	**< 0,05**	> 0,05	> 0,05
p(3-4), p(4-5)	> 0,05	**< 0,05**	**< 0,05**	**< 0,05**	> 0,05

So với lô chứng, các chuột uống Phong Thấp Thang và diclofenac đều làm giảm tỷ lệ số cơn đau quặn ở các thời điểm 5 phút tốt hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Lô trị 1 có tác dung làm giảm tỷ lệ cơn đau quặn tương tự diclofenac liều 24 mg/kg/ngày, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Với hai lô trị 1 và lô

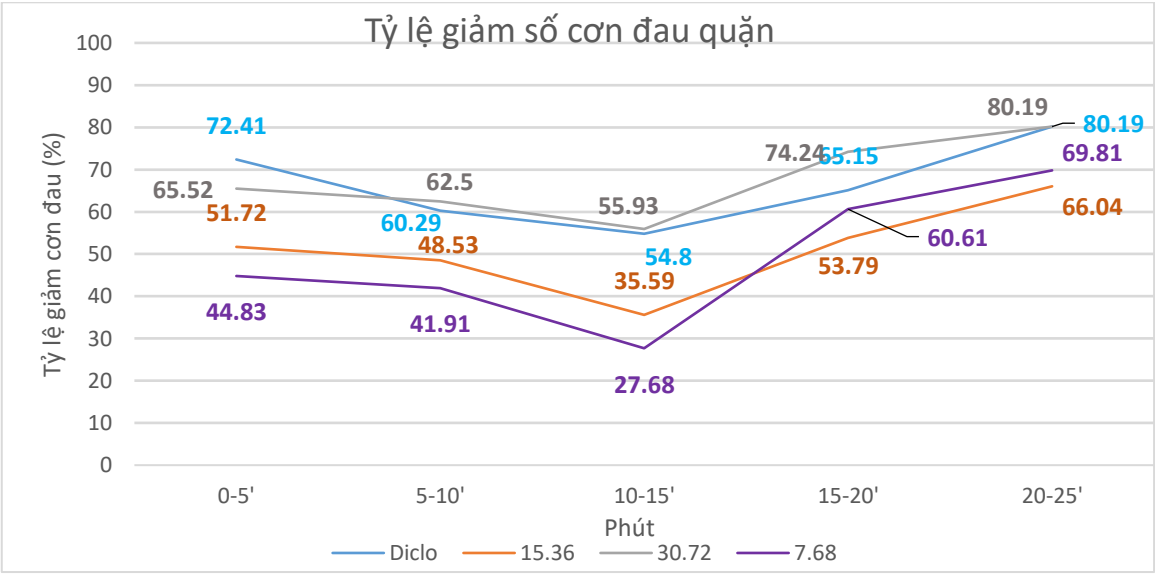
trị 3, Phong Thấp Thang có tác dụng giảm tỷ lệ cơn đau quặn khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) nhưng thấp hơn tác dụng của liều cao và tác dụng của diclofenac ở một số thời điểm ($p < 0,05$).



Hình 3.2. Biểu hiện đau của chuột ở lô uống diclofenac natri sau tiêm acid acetic

Hình 3.3. Biểu hiện đau của chuột ở lô uống Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày sau tiêm acid acteic

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. Phong Thấp Thang và diclofenac natri ở các liều đã sử dụng làm giảm rõ rệt số cơn đau quặn ở chuột.



Biểu đồ 3.4: Tỷ lệ giảm số cơn đau quặn trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic

Chương 4
BÀN LUẬN

4.1. Độc tính cấp của bài thuốc Phong Thấp Thang

Đánh giá độc tính cấp là một bước không thể thiếu trước khi áp dụng bất kỳ dược liệu nào trên lâm sàng. Để cung cấp các bằng chứng an toàn trước khi sử dụng trên người cần xác định độc tính cấp trên động vật thực nghiệm như chuột nhắt trắng thực hiện theo phương pháp Litchfield – Wilcoxon, đây là phương pháp kinh điển được sử dụng để thử độc tính cấp của thuốc.

Trong nghiên cứu này, chuột nhắt đã được uống dịch chiết Phong Thấp Thang với mức liều cao nhất có thể trong 24 giờ là 321,4g dịch chiết/kg thể trọng. Các chuột vẫn khỏe mạnh, mắt trong lông mượt, ăn uống và hoạt động bình thường. So với liều có hiệu quả trên chuột nhắt là 15,36g/kg thể trọng gấp 20,9 lần. Như vậy chuột đã được cho uống mức liều gấp 20 lần mức liều có tác dụng giảm đau, chống viêm, các chuột vẫn khỏe mạnh, lông mượt mắt trong, ăn uống và hoạt động bình thường, không có chuột nào chết. Chứng tỏ dịch chiết Phong Thấp Thang có tính an toàn cao.

Kết quả nghiên cứu trên phù hợp với các vị thuốc đơn lẻ trong bài thuốc Phong Thấp Thang của các tác giả trong nước:

Tác giả Nguyễn Ngọc Thược nghiên cứu độc tính cấp của cao lỏng TK1 trên động vật thực nghiệm bao gồm 10 vị thuốc trong đó có vị thuốc Dây chiều và vị thuốc Cà gai leo (Dây chiều, Cà gai leo, Dây gắm, Thổ Phục Linh, Khí cốt củ, Hà thủ ô, Cẩu tích, Ngưu tất nam, Kê huyết đằng, Quế chi), với liều 19,8g/kg cân nặng, không thấy có biểu hiện độc tính cấp trên cao lỏng TK1 trên chuột nhắt. Chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield – Wilconxon [39].

So sánh kết quả của tác giả Nguyễn Thị Bích Thu – Viện dược liệu đã tiến hành nghiên cứu Độc tính cấp, độc tính bán mạn của cao toàn phần Cà gai leo (*Solanum procumbens Lour*) và độc tính cấp bột glycoalkaloid của Cà gai leo. Kết quả nghiên cứu độc cấp tính cho thấy cao Cà gai leo có thể đưa vào dạ dày mà chuột

không chết với liều lượng tối đa 300g dược liệu/kg thể trọng. Trong nghiên cứu này không xác định được LD50, chứng tỏ vị thuốc Cà gai leo có độ an toàn cao [13].

Trong nghiên cứu độc tính của quả Dứa dại (Pandanus odortatissimus L.f.) trên thực nghiệm của tác giả Hoàng Thái Hoa Cương. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp cho thấy chuột nhắt trắng uống mẫu thử cao chiết toàn phần theo liều tăng dần từ liều tương đương với 207g dược liệu/kg/ngày (gấp 28,75 lần liều có tác dụng tương đương trên người) đến liều cao nhất có thể được là liều tương đương với 103g dược liệu/kg/ngày (gấp 143,75 lần liều có tác dụng tương đương trên người) nhưng không có cá thể chuột nào chết và không có dấu hiệu bất thường. Vì vậy nghiên cứu này chưa xác định được độc tính cấp và chưa tính được LD50 của mẫu thử trên chuột nhắt trắng theo đường uống [40].

So sánh kết quả của tác giả Nguyễn Công Định trong nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng giảm đau và chống viêm của cao chiết lá cây Xáo tam phân (Paramignya Trimera Oliv. Guillaum) trên động vật thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp cho thấy chuột nhắt được uống mức liều cao nhất là 3,5g/kg/ngày (gấp 17,5 lần liều thuốc dự kiến), nhưng không có chuột nào chết và không có biểu hiện bất thường nào [41].

4.2. Tác dụng chống viêm, giảm đau của dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang

4.2.1. Về tác dụng chống viêm

Bài thuốc Phong Thấp Thang được cấu tạo từ 4 vị thuốc: Dây chiều, Cà gai leo, Vỏ cây gạo và Dây xấu hổ. Thành phần hóa học của các vị thuốc được các nhà dược lý học quan tâm và nghiên cứu xác định tác dụng dược lý. Cụ thể như:

Vị thuốc Dây chiều (tên gọi khác Chặc chìu) có thành phần chính là flavonoid là hợp chất với nhiều hoạt tính sinh học đáng quan tâm như có tác dụng chống oxi hóa tốt, chống viêm, chống ung thư được sử dụng nhiều trong đời sống hàng ngày của người dân tỉnh Thái Nguyên. Theo tác giả Nguyễn Trang Thúy, Phương Thiện Thương và cộng sự, nghiên cứu đánh giá tác dụng của Chặc chìu trên mô hình viêm màng bụng ở chuột nhắt và chuột cống thực nghiệm, cho thấy cao Chạc chìu liều 600mg/kg làm giảm rõ rệt lượng dịch rỉ viêm, hàm lượng protein và số lượng bạch

cầu trong dịch rỉ viêm. Điều này xảy ra nhờ tác dụng chống viêm dẫn đến giảm tính thấm thành mạch nên làm giảm sự thoát dịch, giảm sự thoát bạch cầu và dịch rỉ viêm. Nghiên cứu này cũng cho thấy cao Chặc chìu có tác dụng chống viêm cấp, góp phần giải thích việc sử dụng Chặc chìu chữa bệnh sưng đau, sưng khớp trong dân gian [10]. Cùng các tác giả trên trong nghiên cứu tác dụng chống viêm giảm đau của cây thuốc dân gian Chặc chìu cũng đã chứng minh được cao Chặc chìu còn có tác dụng chống viêm mạn bởi làm giảm trọng lượng u hạt và chống viêm cấp trên chuột cống [9].

Trong thành phần hóa học của vị thuốc Cà gai leo cho thấy toàn cây và nhiều nhất ở rễ có ancaloid. Nghiên cứu tác dụng dược lý của vị thuốc có hoạt chất chính là glycoalcaloid, hoạt chất này được tác giả Nguyễn Thị Bích Thu đã chứng minh trong nghiên cứu cây Cà gai leo (Solanum procumbens Lour, Solanacenae) cho thấy: trong cao toàn thần cây Cà gai leo có tác dụng ức chế sự phát triển xơ gan, chống viêm, bảo vệ gan [13]. Thêm vào đó, vị thuốc này cũng được tác giả Vũ Thị Dung trong nghiên cứu đánh giá tác dụng của Cà gai leo trên bệnh nhân viêm kẽ răng. Cho thấy: trong 60 bệnh nhân viêm kẽ răng có 60% đạt tỉ lệ tốt, 33,3% tỉ lệ trung bình và 6,7% tỉ lệ kém [14].

Vị thuốc Cây gạo được sử dụng đa dạng các bộ phận như vỏ, hoa, rễ và nhựa. Thành phần của các bộ phận tương ứng: hoa chứa nhiều acid amin, pectin, tanin…, nhựa chứa acid catechutannic, hạt chứa dầu béo khô với stearin, rễ của cây còn non chứa protein, chất béo phosphatide…Trong quá trình nghiên cứu tác dụng dược lý, tác giả Sunmbal Awais đã chứng minh tác dụng Cây gạo trong bài báo “Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Bombax malabaricum* for antioxidant, antimicrobial and photocatalytic applications”. Cho thấy tính kháng khuẩn của dịch chiết vị thuốc Cây gạo thể hiện hiệu quả tuyệt vời chống lại các chủng vi khuẩn gram dương và gram âm, khi vị thuốc Cây gạo được tổng hợp xanh các hạt nano oxit sắt [15].

Vị thuốc Xấu hổ có tên gọi khác là cây Trinh nữ, vị thuốc được nghiên cứu với thành phần hóa học chính là alcaloid minosin và crocetin; còn có flavonosid, các

loại alcol, acid amin, acid hữu cơ. Các thành phần hóa học này giúp cho vị thuốc Xấu hổ có nhiều tác dụng để ứng dụng như tác dụng bảo vệ gan, chống viêm, kháng khuẩn, chống oxi hóa, giảm đau…Trên thế giới có nhiều tác giả đã nghiên cứu tác dụng chống viêm. Kaur và cộng sự đã đánh giá các đặc tính chống viêm của chiết xuất lá Xấu hổ ở chuột bị viêm tụy hoại tử cấp do L-arginine gây ra. Việc sử dụng chiết xuất làm giảm nồng độ amylase và lipase huyết thanh cùng với ức chế các hoạt động *hoại tử α* (TNF *α*) và giải phóng các cytokine gây viêm [17]. Rahman và cộng sự đã điều tra hiệu quả chống viêm của Xấu hổ với mô hình phù chân do Carrageenan gây ra. Kết quả cho thấy chuột bạch tạng Thụy Sĩ đã tiêm 100 hoặc 200 mg/kg chiết xuất rễ methanolic của Xấu hổ làm giảm đáng kể phù chân trong giai đoạn thứ hai ở chuột, tạo ra khả năng ức chế tổng hợp cyclooxygenase bằng chiết xuất [18]. Azam và cộng sự báo cáo tác dụng ức chế của chiết xuất Ethanolic của *M. pudica* chống phù chân do Carrageenan gây ra ở chuột với liều lượng khác nhau (100, 200 và 300mg/kg) [19].

Trong mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenan, nhóm nghiên cứu đã sử dụng chất gây kích thích viêm Carrageenan có bản chất là Polysaccharide, hoạt chất này có cấu trúc khá giống với vỏ vi khuẩn, vì vậy đáp ứng không đặc hiệu với sự tham gia chủ yếu của đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính là đáp ứng của cơ thể với tác nhân này [42]. Quá trình viêm có các biểu hiện như giãn mạch, bạch cầu xuyên mạch, số lượng các chất trung gian hóa học như prostaglandin, histamin, leucotrien tăng lên, và biểu hiện dễ để quan sát bằng mắt thường là triệu chứng phù [43]. Vì thế khi tiêm Carrageenan 1% vào bàn chân chuột để gây phù chân chuột nhằm đánh giá khả năng ức chế phù của dịch chiết Phong Thấp Thang, thông qua đó ta có thể đánh giá tác dụng chống viêm của bài thuốc. Tác dụng chống viêm của Phong Thấp Thang được so sánh với Diclofenac liều 24mg/kg thể trọng. Diclofenac là thuốc có tác dụng chống viêm, giảm đau thuộc nhóm chống viêm không steroid. Để làm giảm sự tạo thành prostaglandin, prostacyclin và thromboxane là những chất trung gian hóa học của quá trình viêm, người ta dùng Diclofenac để ức chế hoạt tính của cyclooxyganese. Mô hình này dễ áp dụng và có tính đặc hiệu cao để đánh giá về khả năng chống viêm

của một thuốc trong dược lý thực nghiệm. Vì vậy kết quả này sẽ gợi mở cho hướng nghiên cứu của cách mô hình tiếp theo.

Trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, tại thời điểm 4 giờ sau gây viêm, thể tích chân chuột ở lô chứng tăng cao nhất (gần 70%), sau đó độ tăng chân chuột giảm dần. Ở tất cả các lô, chân chuột phù to nhất ở thời điểm sau gây viêm 2 giờ và 4 giờ, sau đó giảm dần ở thời điểm 6, 24 và 48 giờ. So với lô chứng sinh lý, tỷ lệ % thể tích bàn chân chuột của các lô dùng Phong Thấp Thang và lô dùng Diclofenac giảm rõ rệt ở thời điểm 6, 24, 48 giờ ($p < 0,05$). Dịch chiết Phong Thấp Thang ở cả 3 lô trị 1, lô trị 2 và lô trị 3 đều thể hiện rõ ràng tác dụng chống viêm trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenan. Tác dụng chống viêm được đánh giá thông qua mức độ ức chế phù viêm (Biểu đồ 3.1) cho thấy Diclofenac liều 24 mg/kg thể trọng có tác dụng làm giảm thể tích chân chuột ở tất cả các thời điểm và giảm rõ rệt nhất ở thời điểm 4 giờ và 6 giờ ($p < 0,05$). Ở lô trị 2 mức độ giảm phù chân chuột có ý nghĩa thông kê so với lô chứng ở các thời điểm và rõ rệt nhất ở thời điểm 48 giờ ($p < 0,05$). Ở lô trị 1 mức độ phù chân chuột giảm, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở tất cả các thời điểm và rõ rệt nhất ở thời điểm 48 giờ ($p < 0,01$). Ở lô trị 3 thể hiện mức độ ức chế phản ứng phù tốt bắt đầu ở thời điểm 1 giờ sau gây viêm và rõ nhất ở thời điểm 6 và 48 giờ sau gây viêm ($p < 0,05$), ở thời điểm sau 48 giờ, thể tích chân chuột ở lô này vẫn giảm so với lô chứng và có ý nghĩa thống kê. Như vậy, các lô dung dịch chiết Phong Thấp Thang có tác dụng chống viêm cấp rõ rệt trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenan và ở liều thuốc trong lộ trị 1 và lô trị 2 có tác dụng tốt hơn liều ở lô trị 3.

Kết quả nghiên cứu phù hợp với các nghiên cứu công bố trước đây về thành phần hóa học và tác dụng của các vị thuốc.

Trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Ngọc Thược (2017) cũng áp dụng mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenan để đánh giá tác dụng chống viêm cấp của bài thuốc TK1 gồm 10 vị thuốc trong đó có Dây chiều, Cà gai leo (Dây chiều, Cà gai leo, Dây gắm, Thổ phục linh, Cốt khí củ, Hà thủ ô, Cẩu tích, Ngưu tất nam, Kê huyết đằng, Quế chi) cho kết quả cao TK1 liều 11,55g/kg/ngày và liều 23,10g/kg/ngày có

tác dụng ức chế phù bàn chân chuột tương đương nhau và tương đương với lô dùng Diclofenac liều 15mg/kg thể trọng (p > 0,05) [39].

Tác giả Nguyễn Trang Thúy và cộng sự đã đánh giá tác dụng của Chặc chìu trên mô hình viêm màng bụng ở chuột nhắt và chuột cống thực nghiệm. Từ các kết quả thu được, cao MeOH toàn phần chiết từ Chặc chìu liều 0,6g/kg và phân đoạn EtOAc liều 0,3g/kg; 0,6g/kg làm giảm lượng dịch rỉ viêm, giảm số lượng bạch cầu và protein trong dịch rỉ viêm trên mô hình gây tràn dịch màng bụng ở chuột cống và chuột nhắt trắng [10].

Với mô hình gây phù FCA (Freund's complete adjuvant*)*, là một mô hình được coi là mô hình gây viêm khớp điển hình, được áp dụng rộng rãi để đánh giá tình trạng viêm khớp, đặc biệt là trong đánh giá tác dụng giảm đau chống viêm của thuốc.

FCA là một dung dịch kháng nguyên có chứa M.tuberculosis đã giảm động lực. Nó huy động hệ thống miễn dịch bằng cách kích thích các chất trung gian tế bào và tăng cường sản xuất các các globulin miễn dịch dẫn đến tình trạng viêm tục bộ của khớp và phá hủy sụn [44]. FCA gây ra sự phát triển của viêm khớp ở chuột, điều này được đặc trưng bởi sự sưng tấy rõ rệt ở bàn chân sau khi viêm khớp mạn tính khởi phát. Trong phản ứng viêm do FCA gây ra, các chất trung gian prostaglandin sinh ra gây sưng tấy ở bàn chân sau do các tự kháng thể được tạo ra [45]. Đo thể tích chân chuột, kết quả (Biểu đồ 3.4) cho thấy Diclofenac liều 15mg/kg thể trọng có tác dụng làm giảm thể tích chân chuột ở tất cả các thời điểm và giảm rõ rệt nhất ở thời điểm 7 ngày và 21 ngày (p < 0,001). Ở lô dùng dịch chiết Phong Thấp Thang liều 30,72g/kg/ngày mức độ phù chân chuột giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở các thời điểm và rõ rệt nhất ở các thời điểm 21 ngày là 103% (p < 0,01 so với lô Diclefenac). Ở lô dùng dịch chiết Phong Thấp Thang liều 15,36g/kg/ngày mức độ phù chân chuột giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ở thời điểm 14 ngày và kéo dài tác dụng tới thời điểm 21 ngày (p < 0,001). Ở lô dùng dịch chiết Phong Thấp Thang liều 7,68g/kg/ngày thể hiện mức độ ức chế phản ứng phù ở tất cả các thời điểm đều không có ý nghĩa thông kê so với lô Diclofenac. Như vậy, các lô dùng dịch chiết Phong Thấp Thang có tác dụng chống

viêm mạn rõ rệt trên mô hình gây phù bằng FCA và ở lô dùng liều cao có tác dụng mạnh hơn liều thấp.

Kết quả nghiên cứu này có kết quả khá tương đồng với một vài tác giả đã áp dụng mô hình này vào nghiên cứu trên động vật thực nghiệm trước đó.

Trong nghiên cứu của tác giả Trần Thị Phương Dung và cộng sự, nghiên cứu khả năng chống viêm của chiết xuất nước Hành đen bằng mô hình gây phù FCA đã đánh giá chiết xuất nước Hành đen với 3 liều lượng 200, 300 và 400mg/kg thể trọng, cùng thuốc tham chiếu Mobic liều 7,5mg/50kg thể trọng sử dụng mô hình chuột bị viêm khớp do FCA 0,1ml/chuột. Kết quả, chiết xuất nước Hành đen liều 400mg/kg thể trọng cho kết quả về tính ngăn ngừa và chống viêm thông qua việc cải thiện các chỉ tiêu khảo sát, là bằng chứng làm sáng tỏ được chiết xuất nước Hành đen có tác dụng chống viêm [46].

Trong nghiên cứu tác dụng chống viêm, giảm đau của Dây gắm của tác giả Nguyễn Thị Ánh Nguyệt. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trên mô hình gây viêm khớp bằng cao chiết Dây gắm với liều 250 và 500mg/kg/ngày đều có khả năng giảm đường kính phù chân chuột so với lô chứng sinh lý, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Như vậy cao Dây gắm có tác dụng tốt khi sử dụng điều trị viêm khớp trên mô hình động vật thực nghiệm, làm giảm rõ rệt đường kính chân chuột gây viêm bằng FCA [47].

4.2.2. Về tác dụng giảm đau

Để tìm hiểu cơ chế tác dụng giảm đau của bài thuốc Phong Thấp Thang, hai mô hình giảm đau trung ương và ngoại biên đã được tiến hành.

Mô hình Nhúng đuôi:

Đây là mô hình dùng nhiệt tác động để đánh giá tác dụng giảm đau trung ương của thuốc. Kết quả nghiên cứu cho thấy:

So sánh các lô can thiệp và lô sinh lý cho thấy ở các thời điểm 30, 60, 120 phút: thời gian phản ứng với nhiệt của chuột (trước và sau uống nước cất 7 ngày) không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

So sánh giữa các lô tại thời điểm sau khi uống codein phosphate: thời gian đáp ứng đau của chuột ở lô dùng thuốc (cả codein phosphate và dịch chiết bài thuốc Phong

Thấp Thang) trong 30 phút không có ảnh hưởng đến sự chịu nhiệt của chuột. Ở lô trị 1 và lô trị 3, dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang có tác dụng giảm đau tương tự lô trị 2 ở 60 phút sau uống. Nhưng ở 120 phút, tác dụng giảm đau ở lô trị 2 thể hiện rõ rệt hơn. Tuy nhiên, dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang có tác dụng giảm đau kém hơn thuốc thử codein phosphate ở thời điểm 60 và 120 phút sau khi uống ($p < 0,01$).

Như vậy, theo mô hình này ta dùng nhiệt tác động vào đuôi và bộ phận cảm nhận đau gây ra cảm giác đau do cường độ kích thích, cường độ này được cảm nhận bởi các thụ cảm thể 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, làm cho chuột có phản xạ liếm chân sau. Dịch chiết Phong thấp thang có tác dụng ức chế phản xạ dẫn truyền thần kinh từ ngoại vi về não. Vì vậy, dịch chiết Phong Thấp Thang có tác dụng ức chế trung tâm cảm nhận đau theo kiểu codein phosphate hoặc tăng ngưỡng cảm nhận đau tại các bộ phận cảm nhận cảm giác đau.

Một số tác giả cũng sử dụng phương pháp này để nghiên cứu tác dụng giảm đau của các thảo dược khác:

Trong nghiên cứu của tác giả Hoàng Thị Phương Liên, "Đánh giá tác dụng giảm đau của cao chiết từ Dây khai (Coptosapelta flavescens Korth) trên chuột nhắt trắng". Kết quả Cao khai liều 800mg/kg thể hiện hiệu quả giảm đau trung ương yếu hơn ở thời điểm 150 phút trong thử nghiệm nhúng đuôi. Cao Dây khai với liều 400 mg/kg chưa thể hiện hiệu quả giảm đau trung ương trên mô hình này [48].

So sánh với Nghiên cứu của tác giả Châu Đức Hòa, "Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng giảm đau chống viêm của cao chiết lá cây Mãng cầu xiêm (Annona Muricata L.) trên động vật thực nghiệm". Kết quả liều cao chiết lá cây Mãng cầu xiêm liều 35mg/kg và liều 70mg/kg giúp chuột nhắt trắng có thời gian đáp ứng đau ngắn hơn so với lô chuột nhắt dùng Codein, nhưng cao chiết lá Mãng cầu xiêm liều 140mg/kg lại có thời gian đáp ứng kéo dài hơn so với nhóm dùng Codein [49].

Mô hình gây đau quặn:

Theo phương pháp Koster tức là dùng tác nhân gây đau là hóa chất (acid acetic), đây là phương pháp gây đau kinh điển để đánh giá tác dụng giảm đau tại chỗ,

theo cơ chế tác dụng ngoại vi của các thuốc giảm đau như nhóm hạ sốt – giảm đau – chống viêm không steroid. Vì vậy Diclofenac là thuốc giảm đau thuộc nhóm thuốc chống viêm không steroid được làm thuốc đối chứng dương. Tác dụng giảm đau của Diclofanac liều 24mg/kg thể hiện rõ rệt tại các thời điểm nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy:

So với lô chứng, cả 3 lô uống dịch chiết Phong Thấp Thang và thuốc tham chiếu diclofenac có số cơn đau quặn trong mỗi 5 phút (sau khi tiêm acid acetic) đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Dịch chiết Phong Thấp Thang ở lô trị 2 có tác dụng giảm đau quặn tương đương tác dụng của diclofenac. Liều dịch chiết Phong Thấp Thang ở lô trị 1 và lô trị 3 có tác dụng giảm số cơn đau khác nhau nên không có ý nghĩa thống kê tại thời điểm nghiên cứu. Dịch chiết Phong Thấp Thang ở lô trị 1 có tác dụng làm giảm tỷ lệ cơn đau quặn tương tự diclofenac liều 24mg/kg/ngày. Như vậy dịch chiết Phong Thấp Thang và Diclofenac natri ở các liều đã sử dụng làm giảm rõ rệt số cơn đau của chuột.

Acid acetic là nguyên nhân gián tiếp gây giải phóng bradykinin, secrotonin, histamin và các prostaglandin, là các chất trung gian hóa học gây ra đáp ứng đau quặn [50]. 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 - 1ß, IL – 6, và PGE2. Như vậy, trên mô hình gây đau quặn bằng acid acetic để đánh giá tác dụng giảm đau ngoại vi. Dịch chiết Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng khá tốt qua đánh giá tác dụng giảm đau.

Một số tác giả cũng sử dụng phương pháp gây đau này để nghiên cứu tác dụng giảm đau ngoại biên của các thảo được khác.

Kết quả nghiên cứu trong nghiên cứu "Khảo sát tác dụng giảm đau của cao chiết nước từ lá cây Lấu đỏ (Osychtria ruba (Lour.) Pori, Rubiaceae)" của tác giả Hoàng Thị Phương Liên và cộng sự cho thấy lô đối chứng Aspirin và lô dùng cao Lấu đỏ liều 2,5g/kg, liều 1,25g/kg đều có tác dụng giảm đau ngoại biên trên mô hình gây đau bằng acid acetic. Tuy nhiên, so với thuốc đối chứng, cao Lấu đỏ có tác dụng chậm hơn [50].

So sánh với nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Ngọc Anh và cộng sự, nghiên cứu vị thuốc Lá Đắng bằng phương pháp giảm đau này cho thấy cao nước Lá Đắng liều 2500mg/kg, liều 1000mg/kg và liều 500mg/kg làm giảm số lần đau quặn tương đương với paracetamol liều 50 mg/kg trong thí nghiệm giảm đau ngoại biên [51].

Trong nghiên cứu tác dụng giảm đau và chống viêm của cao lỏng Cốt thống Tuệ tĩnh trên thực nghiệm, của tác giả Tô Lê Hồng, Phạm Quốc Sự và Phạm Thị Vân Anh, Vũ Xuân Hải, Nguyễn Việt Tiến và Đinh Thị Thu Hằng. Kết quả Cốt thống Tuệ Tĩnh liều 12 và 24g/kg/ngày uống trong 5 ngày liên tục làm giảm số cơn đau quặn tại tất cả các thời điểm nghiên cứu khi so sánh với lô chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê tại các thời điểm > 15 – 20 phút, > 20 – 25 phút và 25 – 30 phút với $p < 0,05$ [52].

4.3. Tác dụng giảm đau, chống viêm theo Y học cổ truyền

Theo y học cổ truyền viêm và đau được mô tả trong phạm vi Chứng tý là một trong nhưng chứng chủ yếu của y học cổ truyền. Tý đồng âm với Bí, tức bế tắc lại không thông. Không thông mới gây đau nên gọi là thống bất thông. Không thông mới gây ra tắc khí, tắc khí mới dẫn đến ứ huyết ứ dịch gây đau vì khí huyết song hành. Khí tắc thì huyết ứ, huyết ứ dẫn tới khi tắc bế là vậy. Tý vừa được dùng để diễn tả biểu hiện của bệnh như là tình trạng đau, tê mỏi lạnh, nặng, sưng, nhức, buốt… ở da thịt, khớp xương vừa được dùng để diễn tả tình trạng bệnh sinh là sự bế tắc không thông của kinh lạc, khí huyết. Vì vậy khi chữa bệnh về chứng tý các phương pháp chữa đều nhằm lưu thông khí huyết ở cân, cơ, xương, lạc để đưa tà khí (phong-hàn-thấp-nhiệt) ra ngoài, đồng thời bồi bổ khí huyết, bồi bổ can thận [53].

Đau thường với viêm theo y học cổ truyền đau có nghĩa là Thống, trong y học cổ truyền là do “Bất thông” của khí huyết trong kinh mạch. Thống là đau, bao gồm tất cả các loại đau do khí trệ, huyệt ứ, hang ngưng, huyết hư; muốn chữa được chứng đau (chỉ thống) thì phải làm cho khí huyết lưu thông, còn muốn huyết thông (hành huyết) thì phải hành khí (khí hành thì huyết hành, khí không hành thì huyết tắc, huyết tắc thì gây đau) bất vinh ắt thông, bất thống ắt thống tức bất thông, thông tức bất thống. Chính vì vậy khi “Chữa thống” bằng y học cổ truyền thường kèm thuốc hành

khí, hành huyết và phương pháp không dùng thuốc khác như châm cứu, xoa bóp bấm huyệt, vận động nhẹ nhàng làm thông kinh hoạt lạc, điều hòa âm dương, khí huyết [53].

Phong Thấp Thang là một bài thuốc có các vị thuốc Dây chiều, Cà gai leo, Vỏ cây gạo, Dây xấu hổ. Vị thuốc Cà gai leo đã được nghiên cứu và ứng dụng khá rộng rãi trên thực tế, còn vị thuốc Dây chiều, Vỏ gạo, Dây xấu hổ còn khá mới mẻ cả về mặt nghiên cứu trong y học hiện đại cũng như y học cổ truyền. Có một vài thông tin về các vị thuốc được tác giả Võ Văn Chi ghi chép lại trong cuốn "Từ điển cây thuốc Việt Nam" [12]. Hiện tại các vị thuốc trên được dùng chủ yếu theo kinh nghiệm dân gian để chữa bệnh theo đó các vị thuốc có những tác dụng như:

Vị thuốc Dây chiều vị chua, chát, tính bình có công năng thu liễm chỉ tả, tiêu thũng chỉ thống, vị thuốc này chủ trị chữa các bệnh viêm xương khớp, gout, tê thấp, ứ huyết, phù thũng, lở loét...

Vị thuốc Cà gai leo có công năng phát tán phong thấp, tiêu độc, trừ ho, giảm đau, cầm máu. Chủ trị về các chứng phong thấp, đau nhức các đầu gân xương, xơ gan, viêm nhiễm quanh răng…

Vị thuốc Vỏ cây gạo vị hơi đắng, tính mát có công năng khu phong trừ thấp, thông huyết tiêu thũng. Chủ trị các bệnh thấp khớp, đụng giập gãy xương, đôi khi vị thuốc này kết hợp cùng rễ non và hạt cây Ươi để cầm máu trong chữa băng huyết…

Vị thuốc Dây xấu hổ vị ngọt se, tính hơi hàn có công năng tiêu viêm, thanh nhiệt, an thần. Vị thuốc này được người dân ứng dụng để trị các chứng bệnh như: Suy nhược thần kinh, mất ngủ, viêm phế quản, suy nhược thần kinh ở trẻ em, viêm kết mạc cấp, viêm gan viêm ruột non, sỏi niệu, phong thấp tê bại, huyết áp cao…

Qua những công dụng và cách dùng của các vị thuốc trong bài thuốc Phong Thấp Thang theo kinh nhiệm dân gian cho thấy bài thuốc Phong Thấp Thang chủ yếu dùng để ức chế hoặc giảm tình trạng viêm, đau như thanh nhiệt tiêu viêm nên có thể thấy thuốc có tính trầm giáng lớn hơn tính thăng. Điều này có nghĩa bài thuốc này có tính âm nhiều hơn tính dương nên khả năng ức chế lớn hơn khả năng kích thích. Trong khi đó đau và viêm là 2 thể dù do bế tắc nhưng bản chất là sự rối loạn chuyển

hóa, tích nhiệt nên tính kích thích mạnh hơn tính ức chế. Phong Thấp Thang có tác dụng khu phong trừ thấp hoạt huyết thông kinh lạc kèm với thanh nhiệt, giải độc, tiêu thũng, tiêu viêm. Do đó dịch chiết Phong Thấp Thang sẽ giúp cơ thể giải tỏa kích thích cùng các chứng viêm và đau. Vì vậy, dịch chiết bài thuốc Phong Thấp Thang có tác dụng giảm đau chống viêm hiệu quả tốt.

KẾT LUẬN

1. Về độc tính cấp

Bài thuốc "Phong Thấp Thang" không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 321,4 g /kg/ngày trên chuột nhắt dùng đường uống.

Bài thuốc "Phong Thấp Thang" nghiên cứu trên chuột nhắt trắng theo đường uống ở liều gấp 251 lần liều dùng dự kiến trên người, gấp 20,9 lần liều dự kiến tương đương trên chuột nhắt (với hệ số ngoại suy 12) nhưng không có biểu hiện độc tính cấp (liều dự kiến 64g dược liệu/ngày/người lớn trưởng thành cân nặng trung bình 50 kg).

Chưa xác định được LD50 trên chuột nhắt trắng của bài thuốc "Phong thấp thang" trên đường uống.

2. Về tác dụng chống viêm, giảm đau

Tác dụng chống viêm:

Tác dụng chống viêm cấp và mạn tính: Ở cả 3 lô trị trên chuột nhắt trắng, dịch chiết Phong Thấp Thang có tác dụng chống viêm cấp tính trên mô hình gây phù chân chuột bằng Carrageenan và chống viêm mạn tính trên mô hình gây phù chân chuột bằng FCA. Tác dụng này của dịch chiết Phong Thấp Thang liều lô trị 2 tương đương Diclofenac sodium 24mg/kg và đạt hiệu quả tối ưu nhất trong 3 mức liều.

Tác dụng giảm đau:

Ở cả 3 lô trị, dịch chiết Phong Thấp Thang có tác dụng giảm đau trong thử nghiệm nhúng đuôi chuột, làm tăng thời gian đáp ứng quắp đuôi chuột nhắt trắng khi nhúng đuôi vào nước nóng. Tác dụng này của dịch chiết Phong Thấp Thang lô trị 1 kém hơn với Codein liều 20mg/kg và lô trị 2 là liều đạt hiểu quả tối ưu nhất trong 3 mức liều.

Dịch chiết Phong Thấp Thang trong cả 3 lô trị có tác dụng giảm đau trên mô hình đau quặn trên chuột nhắt trắng; trong đó, lô trị 2 có tác dụng tương đương Diclofenac sodium 24mg/kg và đạt hiệu quả tốt nhất trong 3 mức liều.

KHUYẾN NGHỊ

- Tiếp tục nghiên cứu độc tính bán trường diễn.

- Tiếp tục nghiên cứu các bộ phận dùng khác của các vị thuốc bài thuốc Phong Thấp Thang.

- Tiếp tục nghiên cứu các bài thuốc có ứng dụng bài trong điều trị viêm khớp.

- Tiếp tục nghiên cứu tác dụng của bài thuốc Phong Thấp Thang 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 bài thuốc Phong Thấp Thang 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. **Bộ môn miễn dịch - Sinh lý bệnh – Trường Đại học y Hà Nội** (2012). "Sinh lý bệnh viêm", *Sinh lý bệnh học*, NXB Y học, tr 209.
2. **Srinivasa N. Rajaa,*, Daniel B. Carrb** (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *S.N. Raja et al.*·00 (2020) 1–7.
3. **Bộ môn Nội y học cổ truyền – Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam** (2015). " Viêm khớp dạng thấp", NXB Y học, tr 214-216.
4. **Bộ môn Nội y học cổ truyền – Học viện Y – Dược học cổ truyền Việt Nam (2015).** " Chứng tý", NXB Y học, tr 200,203-207.
5. **Phạm Vũ Khánh, Phạm Thuốc Bình, Nguyễn Tiến Chung, Nguyễn Thị Lan** (2023). Công năng, chủ trị của một số bài thuốc Nam thường dùng, *Tạp chí Y học Việt Nam số 1B tháng 12/2023*.
6. **Nguyễn Đức Đoàn** (2004). *Nam y nghiệm phương*, Nhà xuất bản y học, tr 56,74,78.
7. **Bộ môn Sinh lý bệnh - miễn dịch - Trường Đại học Y Hà Nội** (2022). "Sinh lý bệnh quá trình viêm", *Sinh lý bệnh học*, NXB Y học, tr 209-229.
8. **Chen JS, Kandle PF, Murray I, et al**. (2023). Physiology, Pain, *StatPearls Publishing.*
9. **Nguyễn Trang Thúy, Phương Thiện Thương và cộng sự** (2012). "Nghiên cứu tác dụng chống viêm giảm đau của cây thuốc dân gian Chặc chìu (Tetracre scandes)", *Báo cáo Hội nghị các nhà khoa học trẻ toàn quốc trong lĩnh vực Khoa học tự nhiên và công nghệ lần thứ 2*, ngày 3,4-11/2012. Trường Đại học khoa học tự nhiên. Đại học Quốc gia Hà Nội.
10. **Nguyễn Trang Thúy, Phương Thiện Thương và cộng sự** (2013). "Đánh giá tác dụng của Chặc chìu trên mô hình viêm màng bụng ở chuột nhắt và chuột cống thực nghiệm", *Tạp chí Dược liệu*, tập 18, số 2/2013, 71-76.

11. **PGS. TS. Phương Thiện Thương**(2019). Nghiên cứu tác dụng chống viêm và chống ung thư của một số cây thuốc dân gian Việt Nam. *Viện Dược Liệu*.
12. **Võ Văn Chi** (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập II, Nhà xuất bản y học, Hà Nội, tr 1006, 1080
13. . **Nguyễn Thị Bích Thu** (2002). Nghiên cứu cây cà gai leo làm thuốc chống viêm gan và ức chế xơ gan . *Viện dược liệu.*
14. **Vũ Thị Dung** (2011). "Đánh giá tác dụng của Cà gai leo trên bệnh nhân viêm kẽ răng", Khóa luận tốt nghiệp, Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam.
15. **Sunmbal Awais, Hira Munir, Jawayria Najeeb, Fozia Anjum, Khalida Naseem, Naghmana Kausar, Muhammad Shahid Muhammad Irfan, Nayra Najeeb** (2023). "Green synthesis of iron oxide nanoparticles using Bombax malabaricum for antioxidant, antimicrobial and photocatalytic applications", *Tạp chí Journal of Cleaner Production* số 406 năm 2023.
16. **Võ Văn Chi** (2012) *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập I, Nhà xuất bản y học, Hà Nội, tr 288,773
17. **J. Kaur, S. Sidhu, K. Chopra, M.U. Khan** (2016). "Tác dụng bảo vệ của Mimosa pudica L.in một mô hình L-arginine của viêm tụy hoại tử cấp tính ở chuột" J.Nat.Med.70 3/2016 423–434.
18. **H. Rahman, S. Yesmin, A.R. Chowdhury, H.M. Ashrafudoulla** (2016). "Đánh giá dược lý và độc tính của Mimosa pudica", Int. J. Innov *Tạp chí Khoa học học*. Res. 4 2/2016 75–86.
19. **S. Azam, A. F. Huda, K. Shams** (2015). "Nghiên cứu chống viêm và chống oxy hóa về chiết xuất ethano-lic của Mimosa pudica", J. Young Pharm.7 3/2015 234–240.
20. **Đỗ Trung Đàm** (2017). *Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý*, NXB Y học, Hà Nội, tr.358,359, 367,368, 373, 374, 407, 408, 433, 434, 441, 526.
21. **Viện Dược Liệu** (2006). *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 140-143.

22. **Jill C. Fehrenbacher,1 Michael R. Vasko,1 and Djane B. Duarte** (2012). Models of Inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant (CFA)–Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat, *Current Protocols in Pharmacology* 5.4.1-5.4.7.

23. **Nguyễn Thị Thu Hiền, Trịnh Thị Thu Hằng và cộng sự** (2021). Nghiên cứu hoạt tính kháng viêm và giảm đau của cao chiết cây hoàng tinh đỏ trên mô hình động vật thực nghiệm, *Báo Nông nghiệp và phát triển nông thôn kỳ 1+2 Tháng 2/202.*

24. **Bộ Y tế** (2007). Quyết định số 01/QĐ-BYT về việc ban hành "quy định về thuốc thử trên lâm sàng". "Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu" của Bộ y tế ban hành theo quyết 18 định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27 tháng 10 năm 2015.

25. **Đỗ Trung Đàm** (2014). *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, NSB Y học, tr 16-24.

26. ***Yeo D, et al.*** (2012). Acute and subacute toxic study of aqueous leaf extract of combretum molle. *Tropical Journal of Pharmaceutical, Research April,* 11(2): 217-223.

27. **Frédéri NK, et al.** (2013). Acute Toxicity in Mice and Eff ects of a Butanol Extract from the Leaves of Blighia Unijugata Bak (Sapindaceae) Electrocardiogram of Rabbits. *Sch Acad J Pharm,* 2(6):429-435.

28. **Traore A, et al.** (2014). The acute toxicity in mice and the in vitro anthelminthic effects on Haemonchus contortus of the extracts from three plants (Cassia ieberiana, Guiera senegalensis and Sapium grahamii) used in traditional medicine in Burkina Faso. *Annals of Biological Research,* 5 (2):41-46.

29. **Akhila JS, Deepa S, Alwar MC** (2007). Acute toxicity studies and determination of median lethal dose. *Curr Sci,* 93: 917-920.

30. Winter, C. A., Risley, E. A., and Nuss, G. W. (1962). Carrageenan- induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatoryj drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol*. 111, 544-547.

31. Di Rosa, M., Giroud, J. P., and Willoughby, D. A. (1971). Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J. Pathol*. 104, 15-29.

32. Đỗ Trung Đàm (1997). "Đánh giá mô hình gây phù thực nghiệm 1 bằng cao lanh và carrageenan để nghiên cứu tác dụng chống viêm của thuốc", *Tạp chí Dược học*, 12, tr.18-20.

33. Senthamil Selvan Perumal, Sanmuga Priya Ekambaram & T. Dhanam (2016). In vivo antiarthritic activity of the ethanol extracts of stem bark and seeds of Calophyllum inophyllum in Freund's complete adjuvant induced arthritis, *Pharmaceutical Biology*.

34. McCarson, K.E. (2015). Models of inflammation: Carrageenan- or complete freund's adjuvant (CFA)-induced edema and hypersensitivity in the rat. *Curr. Protoc. Pharmacol*. 70:5.4.1-5.4.9.

35. Đỗ Trung Đàm (2017). *Thuốc giảm đau chống viêm và các phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý*, NXB Y học, Hà Nội, tr. 17-246.

36. Katherine E. Hanlon, et al (2001). Chapter One - Constitutive Activity at the Cannabinoid CB1 Receptor and Behavioral Responses, Methods in 4 Enzymology, Academic Press, 484, pp.3-30.

37. Gawade, Shivaji P. (2012). "Acetic acid induced painful endogenous infliction in writhing test on mice." *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics vol*. 3,4: 348. doi:10.4103/0976-500X.103699.

38. J.P. Dzoyem, et al. (2017). Chapter 9 - Anti-inflammatory and Anti- nociceptive Activities of African Medicinal Spices and Vegetables, Medicinal Spsices and Vegetables from Africa, *Academic Press*, Pages 239-270.

39. Nguyễn Ngọc Thược (2017). "Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm, giảm đau của cao lỏng TK1 trên thực nghiệm", luận văn Thạc sĩ Y học, Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam.

40. Hoàng Thái Hoa Cương (2021). "Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm gan, xơ gan của quả Dứa dại (Pandamus odoratissimus L.f.) trên thực nghiệm", luận án Tiến sĩ Y học, trường Đại học Y Hà Nội.

41. Nguyễn Công Định (2022). "Nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng giảm đau và chống viêm của cao chiết lá cây Xáo tam phân (Paramignya Trimera Oliv. Guillaum) trên động vật thực nghiệm", luận văn Thạc sĩ Y học, Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam.

42. C A Winter (1962). "Carradenin-induced edema in hind pă og the rat as an assay for antiiflammatory drugs", Proc. Soc. Exp Biol Med, 111, 544-547.

43. Mitul Patel (2012). "Invivo animal models in preclinical evaluation of anti-inflammatory activity – a rewiew", *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 1, pp.1-5.

44. R. Mythilypriya, P. Shanthi, P. Sachdanandam (2008). "Salubrious effect of Kalpaamruthaa, a modified indigenous preparation in adjuvant-induced arthritis in rats-A biochemical approach", *Chemico-Biological Interactions*, 173/2008, 148-158.

45. M. V. K. Patil, A. D Kandhare, S. D. Bhise (2012). "Anti-arthritic and anti-inflammatory activity of Xanthium srtumarium L. thanolic extract in Friend's complete ahjuvant induced arthritis" *Biomedicine & Aging Pathology* 2/2012,6-15.

46. Trần Thị Phương Nhung và cộng sự (2022). "Khả năng ngăn ngừa và chống viêm của chiết xuất nước Hành đen trên mô hình chuột được gây viêm khớp dạng thấp với FCA", *Tạp chí Khoa học và công nghệ*, số 55, 2022.

47. Nguyễn Thị Ánh Nguyệt (2022). "Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng chống viêm, giảm đau của dây Gắm (Gnetum Montanum Markgr) trên động vật thực nghiệm", Luận văn thạc sĩ Y học, Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam

48. Hoàng Thị Phương Liên và Cộng sự (2020). "Đánh giá tác dụng giảm đau của cao chiết từ Dây khai (Coptosapelta flavescens Korth.) trên chuột nhắt trắng", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Số 13* (4/2021), 56-62.

49. Châu Đức Hòa (2022). "Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng giảm đau chống viêm của cao chiết lá cây Mãng cầu xiêm (Annona Muricata L.) trên động vật thực nghiệm". luận văn Thạc sĩ Y học, Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam.

50. B. B. Newbould (1963). chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant, Brit. J. Pharmacol. 21, 127-136.

51. Hoàng Thị Phương Liên và cộng sự (2019). "Khảo sát tác dụng giảm đau của cao chiết nước từ lá cây Lấu đỏ (Osychtria ruba (Lour.) Pori, Rubiaceae)", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Số 6*, 67-70.

52. Phạm Thị Ngọc Anh, Trần Ngọc Kim Cương, Đoàn Văn Viên và Ngô Văn Cường (2020). "Khảo sát tác động giảm đau ngoại biên và kháng viêm của cây Lá Đắng (Vernonia Amygdalina Del) trên chuột nhắt trắng", *Tạp chí khoa học Lạc Hồng*, 2020, 9,024-028.

53. Tô Lê Hồng, Phạm Quốc Sự và Phạm Thị Vân Anh, Vũ Xuân Hải, Nguyễn Việt Tiến và Định Thị Thu Hằng (2023). "Nghiên cứu tác dụng giảm đau và chống viêm của cao lỏng Cốt thống Tuệ Tĩnh trên thực nghiệm", *Tạp chí nghiên cứu Y học Số 167* (6/2023), 35-38.

54. Coria-Tesllez, Ana V., et al. (2018). "Annoma muricata: A comprehensive review on it traditional medicinal ues, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity" *Arabian Journal of chemistry* 11.5: 662-691.

PHỤ LỤC

PHỤ LỤC 1: Hình ảnh dụng cụ thí nghiệm, hóa chất, thuốc II
PHỤ LỤC 2: Quy trình sắc thuốc thang IV
PHỤ LỤC 3: Một số hình ảnh nghiên cứu..... V
PHỤ LỤC 4: Kết quả đánh giá độc tính cấp.....IVII
PHỤ LỤC 5: Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau VIII
PHỤ LỤC 6: Kết quả thử nghiệm tiêu chuẩn cơ sở các vị thuốc IX

PHỤ LỤC 1: Hình ảnh dụng cụ thí nghiệm, hóa chất, thuốc

Dụng cụ thí nghiệm

Cân điện Precisa XB 320C

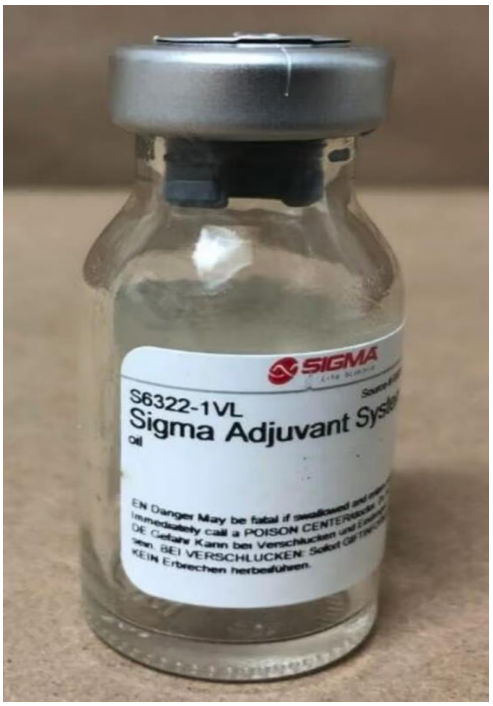
Bể ổn định nhiệt

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

Đồng hồ bấm giây

III

Hình ảnh hoá chất



CFA

Carageenan

Hình ảnh thuốc

Codein Phosphate

Diclofenac sodium

PHỤ LỤC 2: Quy trình sắc thuốc thang

QUYẾT ĐỊNH

CỦA BỘ Y TẾ SỐ 26/2008/QĐ-BYT NGÀY 22 THÁNG 07 NĂM 2008

VỀ VIỆC BAN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT Y HỌC CỔ TRUYỀN

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

LuatVietnam.vn
Hiệu lực: Đã biết
Tình trạng: Đã biết

Căn cứ Nghị định số 188/2007/NĐ-CP ngày 27/12/2007 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức Bộ Y tế;

Theo đề nghị của Vụ trưởng Vụ Y Dược cổ truyền – Bộ Y tế,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này 94 Quy trình kỹ thuật Y học cổ truyền (Có danh mục kèm theo).

Điều 2. Quy trình kỹ thuật Y học cổ truyền là tài liệu áp dụng cho các cơ sở khám chữa bệnh của nhà nước, tư nhân và các cơ sở khám chữa bệnh có vốn đầu tư nước ngoài tại Việt Nam.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực sau 15 ngày kể từ ngày đăng công báo.

Điều 4. Các ông, bà: Vụ trưởng Vụ Y Dược cổ truyền, Chánh Văn phòng Bộ, Chánh Thanh tra Bộ, Vụ trưởng các Vụ, Cục trưởng các Cục thuộc Bộ Y tế, Giám đốc các bệnh viện, viện có giường bệnh thuộc Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương và Thủ trưởng y tế ngành chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

KT. BỘ TRƯỞNG

THỨ TRƯỞNG

Nguyễn Thị Xuyên

5.7. Cách sắc thuốc thang

Mỗi thang thuốc đều sắc 3 lần, mỗi lần cho hai bát lấy 1/2 bát (cũng có thể cho 3 bát lấy 1 bát), hai lần sau mỗi lần cho 3 bát còn một bát. Trộn đều chia 3 lần trong ngày để uống lúc thuốc còn ấm, thuốc bổ uống sau ăn 1 tiếng.

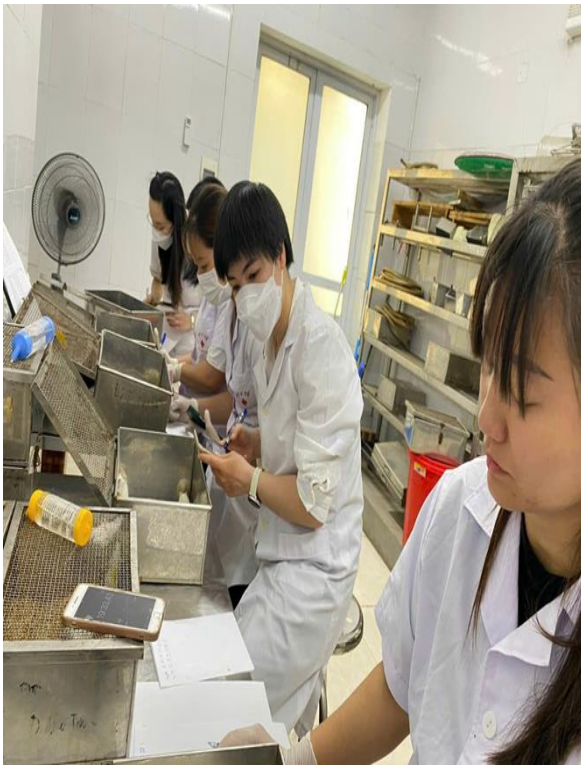
Vị thuốc tân tán (cay thơm) cho sau các vị thuốc khác không sắc lâu.

Quy trình số 7: Kê đơn thuốc Y học cổ truyền

PHỤ LỤC 3: Một số hình ảnh nghiên cứu

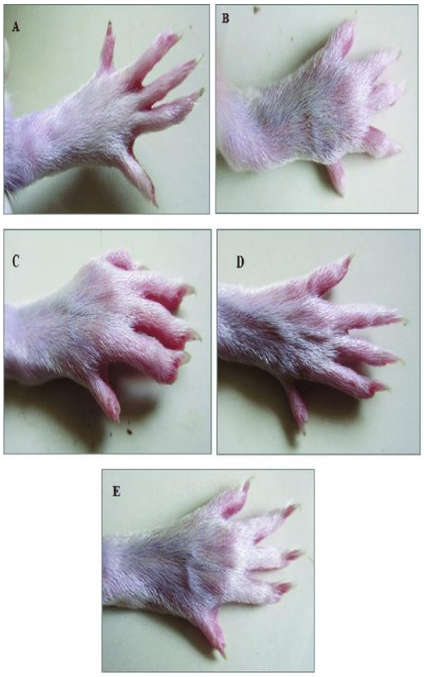
Tiêm màng bụng

Cho chuột uống thuốc

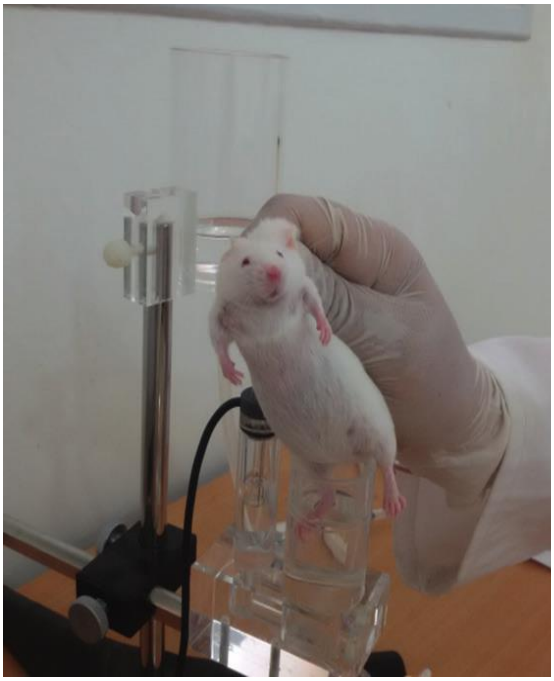


Đếm số cơn đau

Chuột biểu hiện đau



Gây phù bàn chân chuột



Đo thể tích chân chuột

PHỤ LỤC 4: Kết quả đánh giá độc tính cấp

PHỤ LỤC 5: Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm giảm đau

PHỤ LỤC 6: Kết quả thử nghiệm tiêu chuẩn cơ sở các vị thuốc

PHỤ LỤC 4: Kết quả đánh giá độc tính cấp

HỌC VIỆN YDHCT VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU YDHCT TUỆ TĨNH

Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ
ĐỘC TÍNH CẤP CỦA BÀI THUỐC "PHONG THẤP THANG" TRÊN THỰC NGHIỆM

Nơi tiến hành nghiên cứu: **Viện nghiên cứu YDHCT Tuệ Tĩnh - Học viện YDHCT Việt Nam**

Hà Nội – 2024

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Chất liệu nghiên cứu

1.1.1. Thuốc nghiên cứu:

Thành phần bài thuốc "Phong thấp thang"

Thành phần	Tên khoa học	Hàm lượng (gam)
Dây chiều	*Tetracera scandens*	20 gam
Cà gai leo	*Solanum procumbens Lour*	12 gam
Vỏ cây gạo	*Bombax ceiba*	12 gam
Dây xấu hổ	*Mimosa pudica*	20 gam

Bài thuốc được bào chế dưới dạng dịch chiết toàn phần trong nước theo tỉ lệ 1:1 (1g dược liệu/1 ml nước) dùng phương pháp sắc thường.

Liều dùng dự kiến trên người là 1 thang/24 giờ, mỗi thang chứa 64 gam dược liệu, một người trung bình cân nặng 50kg. Như vậy liều dùng trung bình trên người là: 1,28 g/kg thể trọng/24 giờ. Liều dùng dự kiến tương đương trên chuột nhắt là 15,36 g/kg thể trọng chuột/24 giờ (hệ số ngoại suy là 12).

- Chuẩn bị mẫu làm nghiên cứu:

Cô đặc 300ml cao lỏng (1:1) tương đương 300g dược liệu khô thu được vừa đủ 70 ml. Đây là dung dịch đậm đặc nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống bằng kim chuyên dụng. Dung dịch đậm đặc này dùng để nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD_{50} của bài thuốc "Phong thấp thang".

1.1.2. Dụng cụ, hóa chất nghiên cứu

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

- Kim đầu tù cho chuột uống.

- Cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml, chày cối sứ, đũa thuỷ tinh.

1.2. Đối tượng nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 20 – 25g, do Trung tâm cung cấp động vật thí nghiệm Đan Phượng - Hà Nội cung cấp.

- Động vật thí nghiệm được nuôi trong điều kiện đầy đủ thức ăn và nước uống tại phòng thí nghiệm Viện nghiên cứu Tuệ Tĩnh- Học viện Y dược học Cổ truyền Việt Nam từ 7 ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu.

1.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu độc tính cấp và xác định LD_{50} của bài thuốc "Phong thấp thang" trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cho chuột nhịn ăn qua đêm.

Chuột được chia thành các lô khác nhau, mỗi lô 10 con. Cho chuột uống bài thuốc "Phong thấp thang" với liều tăng dần trong cùng một thể tích để xác định liều thấp nhất gây chết 100% chuột và liều cao nhất không gây chết chuột (gây chết 0% chuột). Theo dõi tình trạng chung của chuột, quá trình diễn biến bắt đầu có dấu hiệu nhiễm độc (như nôn, co giật, kích động, bài tiết…) và số lượng chuột chết trong vòng 72 giờ sau khi uống thuốc. Tất cả chuột chết được mổ để đánh giá tổn thương đại thể, từ đó xây dựng đồ thị để xác định LD_{50} của thuốc thử. Sau đó tiếp tục theo dõi tình trạng của chuột đến hết ngày thứ 7 sau khi uống bài thuốc "Phong thấp thang".

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Chuột nhắt trắng được uống bài thuốc "Phong thấp thang" từ liều thấp nhất đến liều cao nhất. Lô chuột đã uống đến liều 0,25 ml/10g chuột, 3 lần trong 24 giờ dung dịch đậm đặc nhất có thể cho uống bằng kim chuyên dụng. Sau khi uống thuốc thử, quan sát kỹ toàn bộ các lô chuột không thấy xuất hiện bất cứ dấu hiệu bất thường nào. Theo dõi liên tục trong vòng 72 giờ và theo dõi 7 ngày sau đó không có chuột nào chết.

Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả độc tính cấp của bài thuốc "Phong thấp thang"

Lô chuột	n	Liều (ml/kg)	Liều (g dược liệu khô/kg)	Tỷ lệ chết (%)	Dấu hiệu bất thường khác
Lô 1	10	35	149,9	0	Không
Lô 2	10	45	192,8	0	Không
Lô 3	10	55	235,6	0	Không
Lô 4	10	65	278,5	0	Không
Lô 5	10	75	321,4	0	Không

Nhận xét: Kết quả bảng 1 cho thấy: các lô chuột uống bài thuốc "Phong thấp thang" liều từ 35 ml/kg tương đương 149,9 g dược liệu khô/kg đến liều tối đa 75 ml/kg tương đương 321,4 g dược liệu khô /kg không có biểu hiện độc tính cấp.

Từ bảng 1 tính được liều dung nạp tối đa (Luôn nhỏ hơn liều chết 50%) của bài thuốc "Phong thấp thang" là: 321,4g/kg chuột nhắt.

III. KẾT LUẬN

- Chưa xác định được LD_{50} trên chuột nhắt trắng của bài thuốc "Phong thấp thang" trên đường uống.
- Bài thuốc "Phong thấp thang" không có biểu hiện độc tính cấp ở liều 321,4 g /kg/ngày trên chuột nhắt dùng đường uống.
- Bài thuốc "Phong thấp thang" nghiên cứu trên chuột nhắt trắng theo đường uống ở liều gấp 251 lần liều dùng dự kiến trên người, gấp 20,9 lần liều dự kiến tương đương trên chuột nhắt (với hệ số ngoại suy 12) nhưng không có độc tính cấp (liều dự kiến 64g dược liệu/ngày/người lớn trưởng thành cân nặng trung bình 50 kg).

Hà Nội, ngày 10 tháng 5 năm 2024

Đại diện nhóm nghiên cứu

TS. Phạm Thanh Tùng

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: ..... quyển số: ..... SCT/BS
Ngày: 21-02-2025

VIỆN NGHIÊN CỨU Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

Xác nhận chữ ký của TS. Phạm Thanh Tùng là đúng

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

PHÓ VIỆN TRƯỞNG PHỤ TRÁCH

PGS.TS. Vũ Đức Lợi

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4

CÔNG CHỨNG VIÊN

Lê Thị Thanh Nhã

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gerhard Vogel H. (2016), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays*, Springer.
2. World Health Organization (2013), *Working group on the safety and efficacy of herbal medicine*, Report of regional office for the western pacific of the World Health Organization.
3. De Jong WH, Carraway JW and Geertsma RE. In vivo and in vitro testing for the biological safety evaluation of biomaterials and medical devices. *Biocompatibility and Performance of Medical Devices*. 2012;120-158.
4. SAGANUWAN SA. Toxicity studies of drugs and chemicals in animals: an overview. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 2017;4(20):291-318.
5. OECD, Guidelines for the testing of chemicals repeated dose oral toxicity study in rodents. *Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assesment No 407*; 2008.

PHỤ LỤC 5: Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm giảm đau

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

BÁO CÁO KẾT QUẢ

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CHỐNG VIÊM VÀ GIẢM ĐAU CỦA BÀI THUỐC "PHONG THẤP THANG" TRÊN THỰC NGHIỆM

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5926 Quyển số: 02 -SCT/BS
Ngày: 21 -02- 2025

TRƯỞNG NHÓM NGHIÊN CỨU **LÃNH ĐẠO VIỆN NGHIÊN CỨU**

TS. Phạm Thanh Tùng **PGS. TS. Vũ Đức Lợi**

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

Hà Nội, 2024

1. NHÓM NGHIÊN CỨU

1. BS. Hoàng Thị Vân
2. TS. Nguyễn Thị Minh Thu
3. TS. Phạm Thanh Tùng
4. TS. Nguyễn Tiến Trung
5. Một số KTV

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu

Công thức bài thuốc

- Chất liệu nghiên cứu: Bài thuốc "Phong Thấp thang"

Bảng 2.1. Thành phần bài thuốc "Phong Thấp thang"

Thành phần	Tên khoa học	Hàm lượng (gam)	Tiêu chuẩn
Dây chiều	*Tetracera scandens*	20 gam	TCCS
Cà gai leo	*Solanum procumbens Lour*	12 gam	TCCS
Vỏ cây gạo	*Bombax ceiba*	12 gam	TCCS
Dây xấu hổ	*Mimosa pudica*	20 gam	DĐVN V

Dạng bào chế

Thuốc được sắc theo phương pháp YHCT bằng máy sắc thuốc bán tự động, được dịch chiết toàn phần trong nước, tỉ lệ 1:1. Như vậy nồng độ dược liệu trong dịch chiết là 1g/ml.

Liều dùng thông thường trên người là 1 thang/24 giờ, mỗi thang chứa 64 gam dược liệu, một người trung bình cân nặng 50 kg. Như vậy liều dùng trung bình trên người là: 1,26 g/kg thể trọng/24 giờ. Liều dùng trên chuột nhắt bằng 12 lần liều dùng trên người, tức là 15,36 g/kg thể trọng chuột/24 giờ.

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

+ Nước cất 2 lần

+ Diclofenac sodium nguyên chất (100,0%), 150 mg/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.

+ Dung dịch acid acetic tinh khiết, hàm lượng ≥ 96%, CTCP Tập đoàn Hóa chất Đức Giang, lô 01022024, TCCS 31:2008/HCĐG.

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

+ Freund's Completed Adjuvant tinh khiết (Sigma Aldrich), F5881-10M.

2.1.3. Phương tiện và trang thiết bị trong nghiên cứu

+ Cân điện Precisa XB 320C, độ chính xác d = 1 mg

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

+ Bể ổn nhiệt của Sheldon Manufacturing (USA), model SWB15-2.

+ 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 Trung tâm nhân giống chuột J10 - Học viện Quân Y cung cấp. Chuột cái không mang thai, không nuôi con bú và chưa sinh sản lần nào. Chuột được nuôi ổn định 2 - 3 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.3.1. Địa điểm nghiên cứu

Các thử nghiệm 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

Từ tháng 5/2024.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Nghiên cứu tác dụng chống viêm

2.4.1.1. *Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp*

Mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenan [1], [2].

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

- Lô 1 (chứng): uống nước cất 0,2 ml/10g.
- Lô 2 (tham chiếu): uống diclofenac natri liều 24 mg/kg/ngày.
- Lô 3 (lô trị 1): uống Phong Thấp Thang liều 15,36 g/kg/ ngày (tương đương liều dùng trên lâm sàng).
- Lô 4 (lô trị 2): uống Phong Thấp Thang liều 30,72 g/kg/ngày.
- Lô 5 (lô trị 3): uống Phong Thấp Thang liều 7,68 g/kg/ngày.

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 0,025 mL/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột.

Sau đó đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng máy do viêm Plethysmometer No 7250 vào các thời diểm: trước khi gây viêm (V_0); sau khi gây viêm 1 giờ (V1), 2 giờ (V_2); 4 giờ (V_4); 6 giờ (V_6), 24 giờ (V_{24}) và 48 giờ (V48). 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 dánh giá bằng khả năng ức chế phản ứng phù (Y%).

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

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.

2.4.1.2. Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn

Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn bằng FCA trên chuột nhắt trắng. Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên làm 5 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (lô chứng): uống nước cất

+ Lô 2 (lô tham chiếu): uống diclofenac sodium liều 24 mg/kg

+ Lô 3 (lô trị 1): uống Phong Thấp Thang liều 15,36 g/kg/ngày (tương đương liều lâm sàng).

+ Lô 4 (lô trị 2): uống Phong Thấp Thang liều 30,72 g/kg/ ngày.

+ Lô 5 (lô trị 3): Uống Phong Thấp Thang liều 7,68 g/kg/ngày.

Gây viêm mạn bằng cách tiêm FCA. Chuột được uống thuốc thử hoặc nước cất 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm FCA (1 mg/ml) 0,02 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên trái của chuột, nước uống tự do.

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng Máy đo thể tích bàn chân chuột (Plethysmometer) vào các thời điểm: Trước khi gây viêm (V0); sau khi gây viêm cách 2-7-14-21-28 ngày (V-D2), (V-D7), (V-D14), (V-D21), (V-D28).

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

$$X\% = \frac{Vt - V0}{Vo} \times 100$$

Trong đó:

+ X% là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột

+ V0 là thể tích bàn chân chuột ngay sau khi tiêm FCA

+ Vt là thể tích bàn chân chuột ở các thời điểm sau tiêm FCA

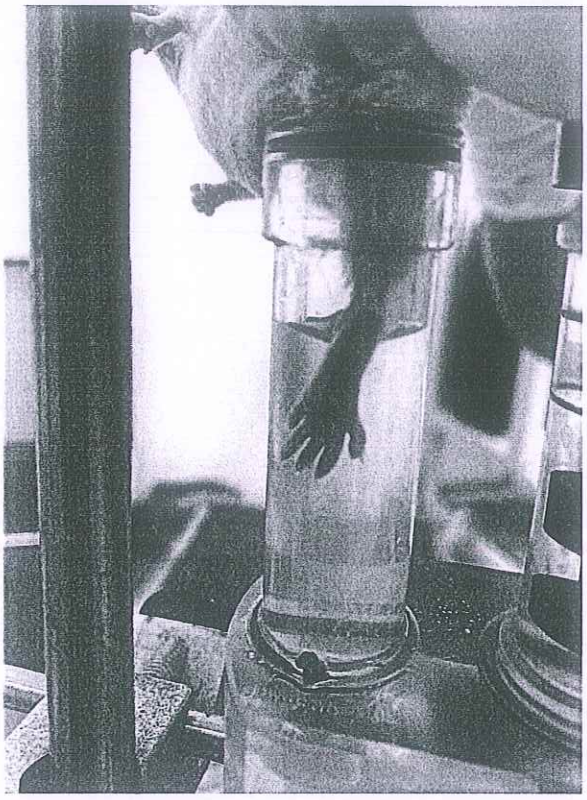
Tác dụng ức chế phù được biểu thị bằng % giảm mức độ tăng thể tích bàn chân chuột của lô dùng thuốc nghiên cứu do với mức độ tăng của lô chứng sinh lý và được tính theo công thức:

$$Y\% = \frac{Mc - Mt}{Mc} \times 100$$

Trong đó:

+ Y% là tỷ lệ % giảm mức độ phù bàn chân chuột

+ Mc là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột lô đối chứng và Mt là tỷ lệ % tăng thể tích bàn chân chuột ở lô dùng thuốc nghiên cứu [3], [4].



Hình 2.1. Xác định thể tích bàn chân chuột

2.4.2. Nghiên cứu tác dụng giảm đau

2.4.2.1. Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương với phương pháp tail - immersion (nhúng đuôi)

Chia chuột nhắt thành 5 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 codein phosphat 20 mg/kg/ngày, tương đương liều có tác dụng giảm đau ở người.
- Lô 3 (n=10): uống Phong Thấp Thang liều 15,36 g/kg/ngày (tương đương liều dùng trên người) × 7 ngày liên tiếp.
- Lô 4 (n=10): uống Phong Thấp Thang liều 30,72 g /kg/ngày × 7 ngày liên tiếp.
- Lô 5 (n=10): uống Phong Thấp Thang liều 7,68 g /kg/ngày × 7 ngày liên tiếp.

Đánh giá phản ứng đau của chuột tại thời điểm trước uống (T0), 30 phút (T1), 60 phút (T2), 120 phút (T3) sau khi uống. Phương pháp tail – immersion để đo ngưỡng đau được thực hiện như sau: Đưa đuôi chuột tiếp xúc với nguồn nước nóng ổn định 58^{0}C. Khoảng cách đo được xác định giống nhau cho mọi chuột là khoảng 5 cm tính từ đầu mút đuôi chuột. Ta tính: T= Thời điểm bắt đầu nhúng đuôi chuột đến thời điểm chuột xuất hiện phản xạ nhúng đuôi [1], [5].

2.4.2.2. *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 10 ml/kg trọng lượng chuột.

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

+ Lô 3 (lô trị 1): Uống Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày (tương đương liều lâm sàng).

+ Lô 4 (lô trị 2): Uống Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày (gấp 3 lần liều lâm sàng).

+ Lô 5 (lô trị 3): Uống Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày (1/2 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. Đếm số cơn đau quặn trong từng khoảng thời gian 5 phút từ sau khi tiêm acid acetic cho đến khi kết thúc 20 phút. 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 [6], [7].

2.5. Các chỉ tiêu nghiên cứu

Tác dụng chống viêm của Phong Thấp Thang

- Mức độ tăng thể tích chân chuột.
- Tỷ lệ % giảm phù chân chuột.

Tác dụng giảm đau của Phong Thấp Thang

- Thời gian phản ứng với nhiệt (giây).
- Số cơ đau quặn trong mỗi 5 phút từ sau khi tiêm đến hết 20 phút.
- Tỷ lệ giảm số cơn đau quặn của lô dùng mẫu thử so với lô chứng.

2.6. Kỹ thuật phân tích số liệu

Các kết quả nghiên cứu về giảm đau, chống viêm được biểu trị số trung bình +/- độ lệch chuẩn (M ± 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 exart 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.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm của Phong Thấp Thang

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

Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang đến mức độ phù chân chuột sau khi gây viêm bằng carragenan được theo dõi ở 1, 2, 4, 6, 24 và 48 giờ sau tiêm. Kết quả cho thấy, diclofenac natri và Phong Thấp Thang có tác dụng giảm mức phù chân chuột rất tốt ở 4 giờ, 6 giờ, 24 giờ và 48 giờ sau khi gây viêm (bảng 3.1 - 3.6).

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 1 giờ gây viêm bằng carragenan

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 1 giờ (V1, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-V1)***
Lô 1: Uống nước cất	0,144 ± 0,025	0,164 ± 0,016	15,50 ± 11,8		> 0,05 (0,05135)
Lô 2 (uống diclofenac)	0,147 ± 0,013	0,157 ± 0,016	6,74 ± 4,63	56,49	> 0,05 (0,13310)
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,143 ± 0,012	0,158 ± 0,013	10,69 ± 5,38	31,06	**< 0,05** (0,01454)
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,145 ± 0,156	0,158 ± 0,011	9,52 ± 7,03	38,61	> 0,05 (0,0504)
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,137 ± 0,014	0,152 ± 0,010	11,44 ± 7,05	26,20	**< 0,05** (0,1537)
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Trước khi gây viêm bằng carragenan, thể tích chân chuột ở cả 5 lô không khác biệt thống kê ($P > 0,05$). Sau khi tiêm carragenan 1 giờ, thể tích chân chuột ở các lô từ 1-5 đều tăng lên so với trước khi tiêm. Tuy nhiên ở lô uống Phong Thấp Thang liều 7,68 và 15,36 g/kg/ngày, thể tích chân chuột tăng có ý nghĩa

thống kê so với trước khi tiêm ($P < 0,05$), còn chuột ở lô uống diclofenac và Phong Thấp Thang liều cao 30,72 g/kg/ngày có thể tích chân tăng lên chưa có ý nghĩa thống kê (các giá trị P (V0-1) > 0,05). Thể tích chân chuột ở các lô uống diclofenac và Phong Thấp Thang đều có xu hướng thấp hơn so với lô chứng tại cùng thời điểm, nhưng chưa có khác biệt đáng kể ($P > 0,05$).

Bảng 3.2. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 2 giờ gây viêm bằng carragenan

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	0,144 ± 0,025	0,199 ± 0,019	40,93 ± 22,21		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,147 ± 0,013	0,176 ± 0,018*	19,62 ± 5,68**	52,06**	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,143 ± 0,012	0,189 ± 0,022	32,58 ± 15,52	20,39	**< 0,001**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,145 ± 0,156	0,197 ± 0,027	36,32 ± 16,94	14,26	**< 0,001**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,137 ± 0,014	1,191 ± 0,028	39,66 ± 17,86	3,10	**< 0,001**
P(1-2), P(1-3), P(1-4), P(1-5)	> 0,05	> 0,05 *** < 0,05**	> 0,05 **** < 0,01**	> 0,05 **** < 0,01**	

Bảng 3.2 cho thấy, tất cả chuột ở các lô 1-5 đều có phản ứng viêm rõ với carragenan với mức liều đã sử dụng tại thời điểm 2 giờ sau tiêm, thể tích chân

chuột ở tất cả các lô đều tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $P < 0,001$). Lô chuột uống diclofenac có thể tích chân chuột và tỷ lệ tăng thể tích chân chuột thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị P tương ứng $< 0,05$ và $< 0,01$). Diclofenac làm giảm mức độ viêm tốt hơn Phong Thấp Thang tại thời điểm 2 giờ sau gây viêm, làm giảm mức độ viêm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($P < 0,01$).

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 4 giờ gây viêm bằng carragenan

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	0,144 ± 0,025	0,240 ± 0,022	69, 86 ± 23,77		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,147 ± 0,013	0,208 ± 0,024**	41,40 ± 9,09**	40,73**	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,143 ± 0,012	0,210 ± 0,016**	47,88 ± 16,63*	31,47*	**< 0,001**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,145 ± 0,156	0,208 ± 0,028*	43,60 ± 13,25**	37,59**	**< 0,001**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,137 ± 0,014	0,217 ± 0,021*	59,02 ± 14,63	15,52	**< 0,001**
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	*** < 0,05 ** < 0,01**	*** < 0,05 ** < 0,01**	*** < 0,05 ** < 0,01**	

Từ bảng 3.3 ta thấy, ở thời điểm 4 giờ sau gây viêm, chuột ở các lô 1-5 đều có thể tích chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm ($P < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô 2, 3 và 4 thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (tương ứng $P < 0,01$, $< 0,05$ và $< 0,01$). Tương tự, tỷ lệ giảm phù chân chuột ở lô 2, 3 và 4 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($P < 0,01$, $< 0,05$ và $< 0,01$). Ở liều 7,68 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang có tỷ lệ tăng thể tích chân chuột và mức độ giảm phù chân chuột không khác biệt so với lô chứng không dùng thuốc ($P > 0,05$).

Bảng 3.4. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 6 giờ gây viêm bằng carragenan

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 6 giờ (V6, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-V6)***
Lô 1: Uống nước cất	0,144 ± 0,025	0,232 ± 0,034	64,18 ± 28,89		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,147 ± 0,013	0,195 ± 0,027*	32,45 ± 14,03**	49,44**	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,143 ± 0,012	0,193 ± 0,037*	35,12 ± 23,86*	45,28*	**< 0,01**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,145 ± 0,156	0,171 ± 0,035**	17,97 ± 20,63***	71,99***	> 0,05
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,137 ± 0,014	0,178 ± 0,020**	30,61 ± 15,45**	52,30**	**< 0,001**
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05		*** < 0,05 ** < 0,01 *** < 0,001**	*** < 0,05 ** < 0,01 *** < 0,001**	

Sau 6 giờ gây viêm, thể tích chân chuột ở các lô 1, 2, 3 và 5 đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm ($P < 0,001$ hoặc $< 0,01$), trong khi đó, thể tích chân chuột ở lô uống Phong Thấp Thang liều cao 30,72 g/kg/ngày cao hơn trước thời điểm gây viêm nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (các giá trị $P < 0,01$, $< 0,05$ và $< 0,001$). Tương tự, mức độ giảm phù chân chuột ở các lô dùng thuốc cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Đặc biệt ở liều 30,72 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang làm giảm mức phù chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê so với liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày, thậm chí giảm phù cao hơn so với lô uống diclofenac ($P < 0,01$).

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 24 giờ gây viêm bằng carragenan

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 24 giờ (V24, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-V24)***
Lô 1: Uống nước cất	0,144 ± 0,025	0,223 ± 0,026	59,39 ± 34,19		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,147 ± 0,013	0,185 ± 0,014**	26,26 ± 9,60*	55,78*	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,143 ± 0,012	0,189 ± 0,032*	31,90 ± 17,63*	46,28*	**< 0,01**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,145 ± 0,156	0,183 ± 0,021**	26,64 ± 11,70*	55,12*	**< 0,001**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,137 ± 0,014	0,191 ± 0,027*	39,85 ± 17,47	32,89	**< 0,001**
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	*** < 0,05 ** < 0,01**	*** < 0,05**	*** < 0,05**	

Sau 24 giờ gây viêm, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $P < 0,001$ hoặc $< 0,01$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (59,39 ± 34,19) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử liều 15,36 và 30,72 g/kg/ngày ($P < 0,05$) nhưng không khác biệt thống kê so với lô uống Phong Thấp Thang liều 7,68 g/kg/ngày. Phong Thấp Thang ở cả 2 liều 15,36 và 30,72 g/kg/ngày làm giảm mức phù chân chuột tương tự như diclofenac và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô uống 7,68 g/kg/ngày ($P < 0,05$). Với liều Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày, tỷ lệ tăng thể tích chân chuột và mức độ giảm phù chân chuột không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng không dùng thuốc ($P > 0,05$).

Bảng 3.6. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 48 giờ gây viêm bằng carragenan

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 48 giờ (V48, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-V48)***
Lô 1: Uống nước cất	0,144 ± 0,025	0,221 ± 0,023	57,18 ± 27,44		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,147 ± 0,013	0,173 ± 0,013***	17,93 ± 6,59**	68,64**	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,143 ± 0,012	0,173 ± 0,023***	21,00 ± 11,67**	63,28**	**< 0,01**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,145 ± 0,156	0,165 ± 0,014***	14,41 ± 9,72***	74,81***	**< 0,01**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,137 ± 0,014	0,170 ± 0,017***	24,55 ± 10,86**	53,06**	**< 0,001**
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	***** < 0,001**	**** < 0,01** ***** < 0,001**	**** < 0,01** ***** < 0,001**	

Kết quả từ bảng 3.6 cho thấy, sau 24 giờ gây viêm, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $P < 0,001$ và $< 0,01$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (57,18 ± 27,44) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ($P < 0,01$ và $< 0,001$). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($P < 0,01$, $< 0,001$ và $< 0,01$ tương ứng với các lô 3, 4 và 5). Với liều 30,72 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm phù chân chuột cao hơn có ý nghĩa thống kê so với liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày ($P < 0,05$).

3.1.2. Tác dụng chống viêm mạn tính trên mô hình gây viêm bằng FCA

Tác dụng ức chế viêm mạn tính của Diclofenac và Phong Thấp Thang được thể hiện ở các bảng 3.7-3.11.

Bảng 3.7. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 2 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 2 ngày (V-D2, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-D2)***
Lô 1: Uống nước cất	0,152 ± 0,013	0,278 ± 0,022	82,93 ± 19,30		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,153 ± 0,012	0,250 ± 0,241	64,55 ± 31,05	23,09	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,154 ± 0,012	0,273 ± 0,027	78,60 ± 26,19	6,34	**< 0,001**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,155 ± 0,014	0,275 ± 0,026	78,56 ± 23,31	6,83	**< 0,001**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,156 ± 0,013	0,277 ± 0,020	78,37 ± 16,53	6,62	**< 0,001**
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Sau 2 ngày gây viêm bằng FCA, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 tăng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $P < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (82,93 ± 19,30) có xu hướng cao hơn so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang làm giảm mức phù chân chuột chưa có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($P > 0,05$).

Bảng 3.8. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 7 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 7 ngày (V-D7, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-D7)***
Lô 1: Uống nước cất	0,152 ± 0,013	0,397 ± 0,040	163,14 ± 35,85		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,153 ± 0,012	0,271 ± 0,034***	77,25 ± 18,61***	52,65***	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,154 ± 0,012	0,311 ± 0,023***	103,83 ± 30,62***	36,35***	**< 0,001**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,155 ± 0,014	0,311 ± 0,031***	101,44 ± 21,95***	60,83***	**< 0,001**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,156 ± 0,013	0,317 ± 0,028***	103,81 ± 17,93***	36,38***	**< 0,001**
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	*****< 0,001**	*****< 0,001**	*****< 0,001**	
P(2-3), *P*(2-4), *P*(2-5), *P*(4-5)			**< 0,05**	**< 0,05**	

Kết quả từ bảng 3.8 cho thấy, sau 7 ngày gây viêm bằng FCA, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $P < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (163,14 ± 35,85) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ở cả 3 mức liều ($P < 0,001$). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($P < 0,001$). Với liều 30,72 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm phù chân chuột tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày ($P < 0,05$) và tương tự tác dụng của diclofenac. Mức độ giảm phù chân chuột ở lô uống Phong Thấp Thang liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Bảng 3.9. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 14 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 14 ngày (V-D14, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-D14)***
Lô 1: Uống nước cất	0,152 ± 0,013	0,410 ± 0,033	164,32 ± 35,33		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,153 ± 0,012	0,283 ± 0,014***	85,50 ± 10,57***	47,97***	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,154 ± 0,012	0,277 ± 0,037***	81,61 ± 34,71***	50,33***	**< 0,001**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,155 ± 0,014	0,290 ± 0,028***	88,28 ± 25,24***	86,14***	**< 0,001**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,156 ± 0,013	0,271 ± 0,024***	74,92 ± 22,89***	54,41***	**< 0,001**
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	***** < 0,001**	***** < 0,001**	***** < 0,001**	

Ở ngày 14, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $P < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (164,32 ± 35,33) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ở cả 3 mức liều ($P < 0,001$). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($P < 0,001$). Với liều 30,72 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm phù chân chuột cao hơn so có ý nghĩa thống kê so với liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày và so với lô uống diclofenac ($P < 0,01$). Chuột ở lô uống Phong Thấp Thang liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày có xu hướng giảm mức phù chân chuột cao hơn so với lô uống diclofenac, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 21 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 21 ngày (V-D21, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-D21)***
Lô 1: Uống nước cất	0,152 ± 0,013	0,409 ± 0,024	170,94 ± 28,29		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,153 ± 0,012	0,286 ± 0,031***	87,48 ± 21,58***	48,82***	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,154 ± 0,012	0,274 ± 0,040***	79,36 ± 32,70***	53,58***	**< 0,001**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,155 ± 0,014	0,283 ± 0,028***	81,18 ± 28,77***	103,08***	**< 0,001**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,156 ± 0,013	0,294 ± 0,015***	89,73 ± 19,42***	47,51***	**< 0,001**
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	***** < 0,001**	***** < 0,001**	***** < 0,001**	

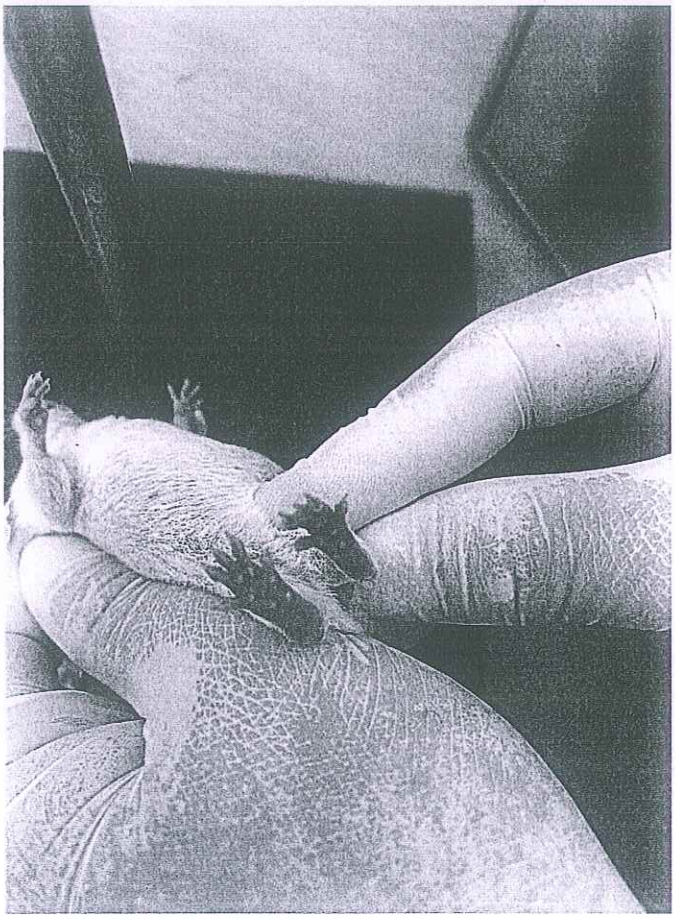
Ở ngày 21, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $P < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (170,94 ± 28,29) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ở cả 3 mức liều ($P < 0,001$). Ở cả ba liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($P < 0,001$). Với liều 30,72 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm phù chân chuột tốt hơn so có ý nghĩa thống kê so với liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày và so với lô uống diclofenac ($P < 0,01$). Khả năng giảm mức phù chân chuột khi uống Phong Thấp Thang liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày so với lô uống diclofenac khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Bảng 3.11. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang tới độ phù chân chuột sau 28 ngày gây viêm bằng FCA

Lô thử nghiệm (n = 10)	**Thể tích chân chuột trước gây viêm (V0, TB ± SD, ml)**	**Thể tích chân chuột sau gây viêm 28 ngày (V-D28, TB ± SD, ml)**	**Tỷ lệ % tăng thể tích chân chuột (TB ± SD, %)**	**% mức độ giảm phù chân chuột so với chứng (TB)**	***P(V0-D28)***
Lô 1: Uống nước cất	0,152 ± 0,013	0,309 ± 0,027	104,41 ± 22,31		**< 0,001**
Lô 2 (uống diclofenac)	0,153 ± 0,012	0,240 ± 0,036***	57,03 ± 22,01**	45,37***	**< 0,001**
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	0,154 ± 0,012	0,266 ± 0,042*	74,53 ± 36,60*	28,62*	**< 0,001**
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	0,155 ± 0,014	0,276 ± 0,031*	79,11 ± 24,35**	31,97*	**< 0,001**
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	0,156 ± 0,013	0,292 ± 0,034	87,52 ± 19,56	16,18	**< 0,001**

P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	> 0,05	*** < 0,05 *** < 0,001**	*** < 0,05 ** < 0,01**	*** < 0,05 *** < 0,001**	

Sau 28 ngày gây viêm bằng FCA, thể tích chân chuột ở các lô 1-5 vẫn duy trì ở mức cao và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trước khi gây viêm (các giá trị $P < 0,001$). Tỷ lệ tăng thể tích chân chuột ở lô chứng (104,41 ± 22,31) đã giảm đi có ý nghĩa thống kê so với các ngày D7, D14 và D21 ($P < 0,001$) nhưng vẫn cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô dùng thuốc tham chiếu và mẫu thử ở lô 3 và lô 4 ($P < 0,01$ và $< 0,05$). Ở hai liều 15,36 và 30,72 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang đều làm giảm mức phù chân chuột có ý nghĩa khác biệt so với lô chứng ($P < 0,05$), nhưng mức độ giảm kém hơn so với lô uống diclofenac ($P < 0,05$). Với liều Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày, chuột có xu hướng tăng thể tích bàn chân thấp hơn so với lô chứng, nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).



Hình 3.1. Chân phải chuột 23 (lô 3) ở ngày 21 sau tiêm FCA

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng giảm đau của Phong Thấp Thang

3.2.1. Tác dụng giảm đau bằng phương pháp nhúng đuôi

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 3.12.

Bảng 3.12. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang 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* (T0-30), *P* (T0-60), *P*(T0-120)**
	Trước (T0)	**Sau 30 phút**	**Sau 60 phút**	**Sau 120 phút**	
Lô 1: Uống nước cất	2,65 ± 0,60	2,61 ± 0,54	2,56 ± 0,58	2,77 ± 0,61	> 0,05
Lô 2 (uống codein phosphat 20 mg/kg)	2,62 ± 0,79	3,01 ± 0,78	7,52 ± 1,51***	9,84 ± 1,65***	***< 0,001
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	2,98 ± 0,59	2,96 ± 0,35	3,84 ± 0,76*(***)	5,87 ± 2,00**(***)	*< 0,05 **< 0,01
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	2,78 ± 0,42	2,88 ± 0,26	3,54 ± 0,98*	3,89 ± 1,35*	*< 0,05
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	2,85 ± 0,42	2,91 ± 0,20	3,59 ± 0,65**	5,32 ± 2,20**	**< 0,01
***P*(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)**	> 0,05	> 0,05	> 0,05 **< 0,01 ***< 0,001	*< 0,05 **< 0,01 ***< 0,001	
***P*(2-3), *P*(2-4), *P*(2-5)**	> 0,05	> 0,05	< 0,01	< 0,01	
***P*(4-5), *P*(3-5)**	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
***P*(3-4)**	> 0,05	> 0,05	> 0,05	< 0,05	

Bảng 3.12 cho thấy, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở lô chứng trước và sau khi uống nước cất 7 ngày (tại các thời điểm 30, 60, 120 phút) khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Trước khi dùng thuốc hoặc mẫu thử, chuột ở cả 5 lô đều có thời gian phản ứng với nhiệt tương đương nhau (các giá trị $P > 0,05$). Sau khi uống codein phosphat, thời gian phản ứng với nhiệt của chuột ở 30 phút thay đổi không khác biệt trước khi uống, nhưng ở 60 và 120 phút, thời gitungan chịu nhiệt tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi dùng thuốc ($P < 0,001$). Ở cả 3 liều đã thử nghiệm, Phong Thấp Thang không ảnh hưởng đến khả năng chịu nhiệt của chuột sau 30 phút ($P > 0,05$), nhưng sau 60 và 120 phút, thời gian chịu nhiệt tăng lên có ý nghĩa thống kê so với trước khi uống (các giá trị $P < 0,001$, $< 0,01$ hoặc $< 0,05$). Ở liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang thể hiện tác dụng giảm đau tương tự liều cao 30,72 g/kg/ngày ở 60 phút sau uống, nhưng ở 120 phút sau uống thì tác dụng giảm đau tốt hơn liều cao ($P < 0,05$). Phong Thấp Thang có tác dụng giảm đau kém hơn codein phosphat ở 60 cà 120 phút sau uống ($P < 0,01$).

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

Kết quả tác dụng giảm đau của Phong Thấp Thang trên mô hình gây đau quặn ở chuột nhắt trắng bởi acid acetic được thể hiện ở bảng 3.13 – 3.14 và hình 3.2 – 3.3.

Bảng 3.13. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang đến sự giảm 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, mg)**				
	0-5 phút	**5-10 phút**	**10-15 phút**	**15-20 phút**	**20-25 phút**
Lô 1: Uống nước cất	2,9 ± 0,99	13,6 ± 3,10	17,7 ± 4,24	13,2 ± 4,32	10,6 ± 3,59
Lô 2 (uống diclofenac 24 mg/kg)	0,8 ± 0,79	5,4 ± 2,59	8,0 ± 3,16	4,6 ± 3,13	2,1 ± 1,45
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	1,4 ± 0,97	7,0 ± 1,49	11,4 ± 2,76	6,1 ± 1,73	3,6 ± 1,71
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	1,0 ± 0,82	5,1 ± 2,28	7,8 ± 3,43	3,4 ± 1,96	2,1 ± 1,97
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	1,6 ± 0,70	7,9 ± 1,10	12,8 ± 2,44	5,2 ± 1,62	3,2 ± 1,03
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**
P(2-3)	> 0,05	> 0,05	**< 0,05**	> 0,05	**< 0,05**
P(2-5)	**< 0,05**	**< 0,05**	**< 0,05**	> 0,05	> 0,05
P(3-4), P(4-5)	> 0,05	**< 0,05**	**< 0,05**	**< 0,05**	> 0,05
P(2-4), *P*(3-5)	> 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 ba lô uống Phong Thấp Thang và thuốc tham chiếu diclofenac đều thấp hơn có ý nghĩa thống kê (các giá trị $P < 0,001$). Phong Thấp Thang ở liều cao 30,72

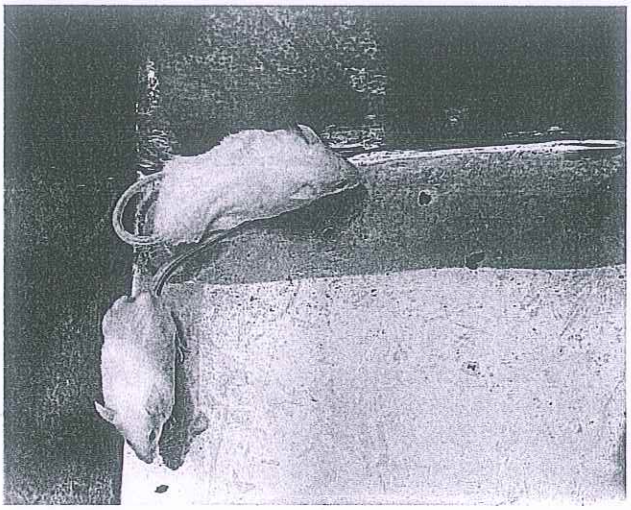
g/kg/ngày có tác dụng giảm đau quặn tương đương tác dụng của diclofenac (giá trị *P tại* các thời điểm đều > 0,05). Ở các thời điểm 0 – 5 phút, 5 – 10 phút, 15 – 20 phút, chuột ở lô uống Phong Thấp Thang liều tương đương liều lâm sàng (15,36 g/kg/ngày) thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($P < 0,001$), có xu hướng cao hơn lô uống diclofenac nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê; tuy nhiên, ở thời điểm 10 – 15 phút và 20 – 25 phút, số cơn đau quặn ở lô này cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô uống diclofenac ($P < 0,05$). Liều Phong Thấp Thang 15,36 và 7,68 g/kg/ngày có tác dụng giảm số cơn đau quặn khác nhau không có ý nghĩa thống kê tại các thời điểm nghiên cứu ($P > 0,05$).

Bảng 3.14. Ảnh hưởng của Phong Thấp Thang đến tỷ lệ giảm số cơn đau quặn ở chuột nhắt trắng trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic

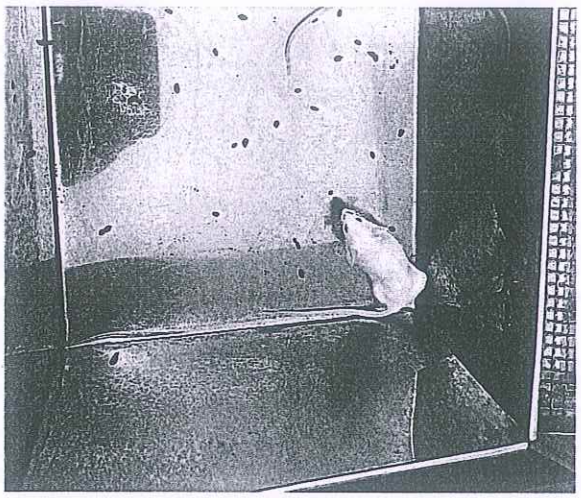
Lô (n = 10)	**Tỷ lệ giảm cơn đau quặn trong mỗi 5 phút sau tiêm acid acetic so với lô chứng (%)**				
	0-5 phút	**5-10 phút**	**10-15 phút**	**15-20 phút**	**20-25 phút**
Lô 1: Uống nước cất					
Lô 2 (uống diclofenac 24 mg/kg)	72,41	60,29	54,80	65,15	80,19
Lô 3 (Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày)	51,72	48,53	35,59	53,79	66,04
Lô 4 (Phong Thấp Thang 30,72 g/kg/ngày)	65,52	62,5	55,93	74,242	80,19
Lô 5 (Phong Thấp Thang 7,68 g/kg/ngày)	44,83	41,91	27,68	60,61	69,81
P(1-2), *P*(1-3), *P*(1-4), *P*(1-5)	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**	**< 0,001**

P(2-4), *P*(3-5)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
P(2-3)	> 0,05	> 0,05	**< 0,05**	> 0,05	**< 0,05**
P(2-5)	**< 0,05**	**< 0,05**	**< 0,05**	> 0,05	> 0,05
P(3-4), P(4-5)	> 0,05	**< 0,05**	**< 0,05**	**< 0,05**	> 0,05

So với lô chứng, các chuột uống Phong Thấp Thang và diclofenac đều làm giảm tỷ lệ số cơn đau quặn ở các thời điểm 5 phút tốt hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$). Phong Thấp Thang ở liều cao 15,36 g/kg/ngày có tác dung làm giảm tỷ lệ cơn đau quặn tương tự diclofenac liều 24 mg/kg/ngày, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Với hai liều 15,36 và 7,68 g/kg/ngày, Phong Thấp Thang có tác dụng giảm tỷ lệ cơn đau quặn khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) nhưng thấp hơn tác dụng của liều cao và tác dụng của diclofenac ở một số thời điểm ($P < 0,05$).



Hình 3.2. Biểu hiện đau của chuột ở lô uống diclofenac natri sau tiêm acid acteic



Hình 3.3. Biểu hiện đau của chuột ở lô uống Phong Thấp Thang 15,36 g/kg/ngày sau tiêm acid acteic

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. Phong Thấp Thang và diclofenac natri ở các liều đã sử dụng làm giảm rõ rệt số cơn đau quặn ở chuột.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. 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.
2. 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.
3. Senthamil Selvan Perumal, Sanmuga Prriya Ekambaram & T.Dhanam (2016) : In vivo antiarthritic activity of the ethanol extracts of stem bark and seeds of Calophyllum inophyllum in Freund's complete adjuvant induced arthritis , *Pharmaceutical Biology.*
4. McCarson, K.E. (2015) . Models of inflammation : Carrageenan – or complete freund's adjuvant (CFA) –induced edema and hypersensitivity in the rat. *Curr. Protoc. Pharmaco*l. 70 : 5.4-1-5.4.9.
5. **Katherine E. Hanlon, et al** (2001), Chapter One – Constitutive Activity at the Cannabinoid CB1 Receptor and Behavioral Responses, Methods in Enzymology, *Academic Press*, 484, pp.3-30.
6. Deuis J.R., Dvorakova L.S., and Vetter I. (2017). Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Front Mol Neurosci*, 10, 271711.
7. Gawade, Shivaji P. (2012) "Acetic acid induced painful endogenous infliction in writhing test on mice". *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics* vol. 3,4:348, doi:10.4103/0976-500X.103699.
8. J.P. Dzoyem, et al. (2017), Chapter 9 – Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Activities of African Medicinal Spices and Vegetables, *Medicinal Spices and Vegetables from Africa,* Academic Press, Pages 239 - 270.

PHỤ LỤC 6: Kết quả thử nghiệm tiêu chuẩn cơ sở các vị thuốc

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ
VỊ THUỐC DÂY CHIỀU
(*Caulis Tetracerae scandens*)
Số tiêu chuẩn: 01TC-04/24

Hà Nội, năm 2024

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

VỊ THUỐC DÂY CHIÊU

(Caulis Tetracerae scandens)

Số tiêu chuẩn: 01TC-04/24

Hà Nội, năm 2024

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VỊ THUỐC DÂY CHIỀU
(Caulis Tetracerae scandens)

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM	**VỊ THUỐC DÂY CHIỀU** *(Caulis Tetracerae scandens)*	Số: 01TC-04/24
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH		Có hiệu lực từ ngày ký

1. THÔNG TIN CHUNG

1.1. Bộ phận dùng

Dược liệu là thân leo đã phơi hoặc sấy khô, chặt từng đoạn 3-5cm của cây Dây chiều (*Tetracera scandens* (L.) Merr.*)*, họ Sổ (Dilleniaceae).

1.2. Cách dùng, liều dùng

Cách dùng: Sắc nước dùng uống.

Liều dùng: 20-30g /ngày.

1.3. Công năng, chủ trị

Công năng: Tán ứ, hoạt huyết, thu liễm, cố tinh.

Chủ trị: Chữa tê thấp, ứ huyết, đau bụng, phù thũng, gan lách sưng to, bạch đới…

1.4. Bảo quản

Nơi khô mát, đựng trong bao bì kín, tránh ẩm, mốc mọt.

2. YÊU CẦU KỸ THUẬT

2.1. Mô tả

Thân đã thái thành phiến, khô, dày 0,3 cm đến 0,5 cm, đường kính 2-3cm. Mặt ngoài màu nâu. Lớp bần mỏng. Mặt ngoài nhiều lông nhám. Mặt cắt ngang màu trắng ngà hoặc vàng nhạt. Mô mềm vỏ mỏng.

2.2. Bột

Màu nâu, vị hơi đắng. Quan sát trên kính hiển vi thấy: hạt tinh bột có hình chuông. Tinh thể calci oxalat hình kim. Tế bào mô cứng thành dày. Mảnh mạch điểm, mạch mạng.

2.3. Độ ẩm: Không quá 13%

2.4. Tạp chất: Không quá 1,0 %.

2.5. Tro toàn phần: Không quá 8,0 %

2.6. Định tính:

Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol (TT). Đun sôi trong 3 min, để nguội, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng với 10 ml ethanol 90 % (TT) rồi chia vào 3 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 5 giọt acid hydrocloric (TT) và ít bột magnesi (TT), dung dịch chuyển dần từ màu vàng nhạt sang màu hồng rồi tím đỏ.

Ống 2: Thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT), xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.

Ống 3: Thêm 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

2.7. Chất chiết được trong dược liệu: Không thấp hơn 12,0 %.

3. PHƯƠNG PHÁP THỬ

3.1. Mô tả

Kiểm tra hình thái, màu sắc, mùi vị bằng cảm quan.

3.2. Bột

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.18.

Quan sát dưới kính hiển vi trong 1 giọt dung dịch soi, phải thấy các đặc điểm như đã mô tả.

3.3. Độ ẩm

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.6:

Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu, sấy trong tủ sấy ở 105^0C trong 4 giờ, áp suất thường đến khối lượng không đổi).

3.4. Tạp chất

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.11:

Cân một lượng mẫu vừa đủ theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng hoặc trong ghi chú dưới đây, dàn mỏng trên tờ giấy, quan sát bằng mắt thường hoặc kính lúp, khi cần có thể dùng rây để phân tách tạp chất và dược liệu.

Cân phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

$$X\% = (a/p) \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng tạp chất tính bằng gam;

p là khối lượng mẫu thử tính bằng gam.

Ghi chú:

1. Trong một số trường hợp nếu tạp chất rất giống với thuốc, có thể phải làm các phản ứng định tính hoá học, phương pháp vật lý hoặc dùng kính hiển vi để phát hiện tạp chất. Tỷ lệ tạp chất được tính bao gồm cả tạp chất được phát hiện bằng phương pháp này.

2. Lượng mẫu lấy để thử nếu chuyên luận riêng không quy định thì lấy như sau:

Hạt và quả rất nhỏ (như hạt Mã đề): 10 g.

Hạt và quả nhỏ: 20 g.

Dược liệu thái thành lát: 50 g

3.5. Tro toàn phần

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.8, phương pháp 2:

Lấy một chén sứ hoặc chén platin nung tới đỏ trong 30 min. Để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn gì khác thì lấy 1 g mẫu thử rải đều vào chén nung, sấy 1h ở 100 °C đến 105 °C rồi đem nung trong lò nung ở 600 °C ± 25 °C. Sau mỗi lần nung, lấy chén nung cùng cắn tro đem làm nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Trong quá trình thao tác không được để tạo thành ngọn lửa. Nếu sau khi đã nung lâu mà vẫn chưa loại hết carbon của tro thì dùng nước nóng để lấy cắn ra, lọc qua giấy lọc không tro rồi lại nung cắn và giấy lọc trong chén nung. Tập trung dịch lọc vào tro ở trong chén, làm bốc hơi cẩn thận tới khô rồi nung đến khối lượng không đổi.

3.6. Định tính

Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol (TT). Đun sôi trong 3 min, để nguội, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng với 10 ml ethanol 90 % (TT) rồi chia vào 3 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 5 giọt acid hydrocloric (TT) và ít bột magnesi (TT), dung dịch chuyển dần từ màu vàng nhạt sang màu hồng rồi tím đỏ.

Ống 2: Thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT), xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.

Ống 3: Thêm 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

3.7. Chất chiết được trong dược liệu

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.10. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng, dung môi là nước.

Cân chính xác khoảng 2,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 ml. Thêm chính xác 50,0 ml nước, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 1h, sau đó đun

sôi nhẹ trên cách thuỷ 1 h, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng nước để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cắn khô, cắn thu được sấy ở 105^{0}C trong 3h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cân. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô.

Hà Nội, ngày 05 tháng 04 năm 2024

Phụ trách Phòng nghiên cứu TT	**Phó Viện trưởng phụ trách**
TS. Phạm Thanh Tùng	**PGS. TS. Vũ Đức Lợi**

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5931 Quyển số: 02
Ngày: 21-02-2025

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

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

Hà Nội, ngày 19 tháng 04 năm 2024

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

1. **Tên mẫu:** Vị thuốc Dây chiều (*Caulis Tetracerae scandens)*
2. **Ngày nhận mẫu:** 15/04/2024
3. **Số hiệu mẫu:** TV01/150424
4. **Yêu cầu:** Đánh giá các chỉ tiêu chất lượng của vị thuốc Dây chiều (*Caulis Tetracerae scandens)* theo tiêu chuẩn cơ sở số 01TC-04/24 do Viện Nghiên cứu Y dược Cổ truyền Tuệ Tĩnh ban hành ngày 05/ 04/ 2024
5. **Người gửi mẫu:** Hoàng Thị Vân, Học viên cao học, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam
6. **Kết quả phân tích:**

STT	Chỉ tiêu	Kết quả	Đánh giá
1	Mô tả	Thân đã thái thành phiến, khô, dày 0,3 cm đến 0,5 cm, đường kính 2-3cm. Mặt ngoài màu nâu. Lớp bần mỏng. Mặt ngoài nhiều lông nhám. Mặt cắt ngang màu trắng ngà hoặc vàng nhạt. Mô mềm vỏ mỏng.	Đạt
2	Bột	Màu nâu, vị hơi đắng. Quan sát trên kính hiển vi thấy: hạt tinh bột có hình chuông. Tinh thể calci oxalat hình kim. Tế bào mô cứng thành dày. Mảnh mạch điểm, mạch mạng.	Đạt
3	Độ ẩm	10,4 %	Đạt
4	Tạp chất	0,52 %	Đạt
5	Tro toàn phần	5,3 %	Đạt
6	Định tính	Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol (TT). Đun sôi trong 3 min, để nguội, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau:	Đạt

		Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng với 10 ml ethanol 90 % (TT) rồi chia vào 3 ống nghiệm: Ống 1: Thêm 5 giọt acid hydrocloric (TT) và ít bột magnesi (TT), dung dịch chuyển dần từ màu vàng nhạt sang màu hồng rồi tím đỏ. Ống 2: Thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT), xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử. Ống 3: Thêm 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.	
7	Chất chiết được trong dược liệu	14,3 %	Đạt

Kết luận: Mẫu vị thuốc Dây chiều (*Caulis Tetracerae scandens)* ký hiệu TV01/150424, đạt các chỉ tiêu chất lượng theo tiêu chuẩn cơ sở số 01TC-04/24.

Phụ trách Phòng nghiên cứu TT **Phó Viện trưởng phụ trách**

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5935 02
Ngày: 21-02-2025

TS. Phạm Thanh Tùng **PGS. TS. Vũ Đức Lợi**

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ
VỊ THUỐC CÀ GAI LEO
(*Herba Solani procumbensis*)
Số tiêu chuẩn: 02TC-04/24

Hà Nội, năm 2024

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

VỊ THUỐC CÁ GAI LEO

(Herba Solani procumbensis)

Số tiêu chuẩn: 02TC-04/24

Hà Nội, tháng 2024

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VỊ THUỐC CÀ GAI LEO
(*Herba Solani procumbensis*)

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM	VỊ THUỐC CÀ GAI LEO (*Herba Solani procumbensis*)	Số: 02TC-04/24
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH		Có hiệu lực từ ngày ký

1. THÔNG TIN CHUNG

1.1. Bộ phận dùng

Dược liệu là phần trên mặt đất được phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 60 °C của cây Cà Gai Leo (*Solanum procumbens* Lour.), họ Cà (Solanaceae).

1.2. Cách dùng, liều dùng

Cách dùng: Sắc, dùng uống.

Liều dùng: 16-20g /ngày.

1.3. Công năng, chủ trị

Công năng: Phát tán phong thấp, tiêu độc, trừ ho, giảm đau, cầm máu.

Chủ trị: Phong thấp, đau nhức các đầu gân xương, ho khan, ho gà, dị ứng, xơ gan, viêm nhiễm quanh răng.

1.4. Bảo quản

Nơi khô mát, đựng trong bao bì kín, tránh ẩm, mốc mọt.

2. YÊU CẦU KỸ THUẬT

2.1. Mô tả

Dược liệu là những đoạn thân lá dài từ 2 cm đến 5 cm, màu xanh nhạt hoặc nâu xám hoặc vàng nâu. Lá nguyên có hình trứng hoặc thuôn. Gốc lá hình rìu hoặc hơi tròn, mép nguyên hoặc hơi lượn và có khía thùy. Phiến lá dài từ 2 cm đến 4 cm, rộng 1,2 cm đến 2,0 cm; cuống dài 0,3 cm đến 0,8 cm, mặt trên sẫm, mặt dưới nhạt phủ đầy lông tơ màu trắng; hai mặt đều có gai ờ gân chính, nhất là mặt trên; cuống lá cũng có gai.

2.2. Bột

Bột có màu xám, mùi thơm đặc trưng, vị hơi đắng. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì phiến lá mang lông che chở và lỗ khí, có nhiều mảnh mạch xoắn, nhiều lông che chở hình sao, lông che chở đa bào một dãy, nhiều lông đơn bào và lông tiết; sợi thành dày đứng riêng lẻ, mảnh biểu bì thân, mảnh mô mềm có tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm ngoài hoặc trong tế bào.

***2.3. Độ ẩm*:** Không quả 11,0 %

2.4. Tạp chất: Không quá 1,0 %.

2.5. Tro toàn phần: Không quá 9,0 %

2.6. Định tính:

A.Lấy khoảng 3g bột dược liệu, thêm 2 ml amoniac (TT), trộn cho thấm đều, để yên 30 min. Thêm 20 ml cloroform (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 5 ml dung dịch acid sulfuric 1 % (TT) bằng cách lắc siêu âm trong 5 min, để nguội, lọc, chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Nhỏ một giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tủa trắng.

Ống 2: Nhỏ một giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tủa vàng cam.

Ống 3: Nhỏ một giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tủa nâu

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

Bản mỏng: Silica gel GF254

Dung môi triển khai: Cloroform – methanol – ammoniac (50:9:1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 2,0 g bột dược liệu cho vào bình cầu dung tích 100 ml. Thêm 30 ml dung dịch acid acetic 5 % trong methanol (TT), đun hồi lưu trong cách thủy trong 1 h. Lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn 50 ml, thêm 15 ml n-hexan (TT), lắc kỹ và để phân lớp, lấy phần dịch chiết methanol, cô trên cách thủy đến cắn. Dùng khoảng 5 ml dung dịch amoniac 5 % (TT) để hòa cắn và chuyển sang bình gạn. Thêm 10 ml cloroform (TT), lắc kỹ, gạn lấy lớp cloroform và làm khan bằng natri Sulfat khan (TT), cô trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn bằng 1 ml methanol (TT) được dung dịch thử. Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2,0 g bột (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt trên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch ceric sulfat 1 % trong acid sulfuric 10 % (TT), sấy bản mỏng ở nhiệt độ 120 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị Rf với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

2.7. Định lượng

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,05 g solasodin chuẩn, cho vào bình định mức 100 ml, thêm một ít methanol (TT), lắc cho tan hết solasodin, thêm tiếp methanol (TT) đến vạch và lắc đều.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 3,0 g bột dược liệu (qua rây có cỡ mắt rây 1,25 mm), đun hồi lưu trong cách thủy trong 3 h với 50 ml dung dịch acid acetic 5 % trong methanol (TT). Để nguội, lọc qua phễu thủy tinh xốp số 4, rửa bình và phễu lọc bằng 30 ml dung dịch acid acetic 5% trong methanol (TT), gộp dịch lọc và dịch rửa, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn bằng lắc siêu âm với methanol (TT), chuyển vào bình định mức 10 ml, thêm methanol (TT) đến vạch. Đậy nút và lắc đều.

Cách tiến hành: Lần lượt cho vào 3 bình gạn dung tích 50 ml các dung dịch sau:

	Bình 1	Bình 2	Bình 3
Dung dịch sử dụng	Dung dịch chuẩn (ml)	Dung dịch thử (ml)	Mẫu trắng (ml)
Dung dịch đệm phosphat 0,1M pH 8,0 (TT)	5	5	5
Dung dịch xanh bromothymol 0,2 % (Hoà tan 0,2 g xanh bromthymol (TT) trong ethanol 20 % (TT), thêm ethanol 20 % (TT) vừa đủ 100 ml).	0,5	0,5	0,5
Dung dịch solasodin chuẩn (0,5 mg/ml)	0,5	0	0
Dung dịch thử	0	0,5	0
Methanol (TT)	0	0	0,5
Cloroform (TT)	10	10	10

Lắc kỹ 3 bình trên trong 15 min, sau đó để yên khoảng 30 min cho phân lớp. Gạn lấy lớp cloroform vào 3 bình gạn khác. Lắc lớp cloroform với 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,05 N (TT). Để yên 30 min cho phân lớp. Gạn lấy dung dịch kiềm màu xanh.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 616 nm (Phụ lục 4.1) của các dung dịch kiềm thu được.

Tính hàm lượng glycoalcaloid trong mẫu thử theo solasodin dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của solasodin chuẩn.

Hàm lượng glycoalcaloid toàn phần trong dược liệu không được thấp hơn 0,1 % tính theo solasodin ($C_{27}H_{43}NO_2$), tính trên dược liệu khô kiệt.

3. PHƯƠNG PHÁP THỬ

3.1. Mô tả

Kiểm tra hình thái, màu sắc, mùi vị bằng cảm quan.

3.2. Bột

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.18.

Quan sát dưới kính hiển vi trong 1 giọt dung dịch soi, phải thấy các đặc điểm như đã mô tả.

3.3. Độ ẩm

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.6:

Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu, sấy trong tủ sấy ở 105^{0}C trong 4 giờ, áp suất thường đến khối lượng không đổi.

3.4. Tạp chất

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.11:

Cân một lượng mẫu vừa đủ theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng hoặc trong ghi chú dưới đây, dàn mỏng trên tờ giấy, quan sát bằng mắt thường hoặc kính lúp, khi cần có thể dùng rây để phân tách tạp chất và dược liệu.

Cân phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

$$X\% = (a/p) \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng tạp chất tính bằng gam;

p là khối lượng mẫu thử tính bằng gam.

Ghi chú:

1. Trong một số trường hợp nếu tạp chất rất giống với thuốc, có thể phải làm các phản ứng định tính hoá học, phương pháp vật lý hoặc dùng kính hiển vi để phát hiện tạp chất. Tỷ lệ tạp chất được tính bao gồm cả tạp chất được phát hiện bằng phương pháp này.

2. Lượng mẫu lấy để thử nếu chuyên luận riêng không quy định thì lấy như sau:

Hạt và quả rất nhỏ (như hạt Mã đề): 10 g.

Hạt và quả nhỏ: 20 g.

Dược liệu thái thành lát: 50 g

3.5. Tro toàn phần

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.8, phương pháp 2:

Lấy một chén sứ hoặc chén platin nung tới đỏ trong 30 min. Để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn gì khác thì lấy 1 g mẫu thử rải đều vào chén nung, sấy 1h ở 100 °C đến 105 °C rồi đem nung trong lò nung ở 600 °C ± 25 °C. Sau mỗi lần nung, lấy chén nung cùng cắn tro đem làm nguội trong bình hút ẩm

rồi cân. Trong quá trình thao tác không được để tạo thành ngọn lửa. Nếu sau khi đã nung lâu mà vẫn chưa loại hết carbon của tro thì dùng nước nóng để lấy cắn ra, lọc qua giấy lọc không tro rồi lại nung cắn và giấy lọc trong chén nung. Tập trung dịch lọc vào tro ở trong chén, làm bốc hơi cẩn thận tới khô rồi nung đến khối lượng không đổi.

3.6. Định tính

Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol (TT). Đun sôi trong 3 min, để nguội, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng với 10 ml ethanol 90 % (TT) rồi chia vào 3 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 5 giọt acid hydrocloric (TT) và ít bột magnesi (TT), dung dịch chuyển dần từ màu vàng nhạt sang màu hồng rồi tím đỏ.

Ống 2: Thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT), xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.

Ống 3: Thêm 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

3.7. Định lượng

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,05 g solasodin chuẩn, cho vào bình định mức 100 ml, thêm một ít methanol (TT), lắc cho tan hết solasodin, thêm tiếp methanol (TT) đến vạch và lắc đều.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 3,0 g bột dược liệu (qua rây có cỡ mắt rây 1,25 mm), đun hồi lưu trong cách thủy trong 3 h với 50 ml dung dịch acid acetic 5 % trong methanol (TT). Để nguội, lọc qua phễu thủy tinh xốp số 4, rửa bình và phễu lọc bằng 30 ml dung dịch acid acetic 5% trong methanol (TT), gộp dịch lọc và dịch rửa, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn bằng lắc siêu âm với methanol (TT), chuyển vào bình định mức 10 ml, thêm methanol (TT) đến vạch. Đậy nút và lắc đều.

Cách tiến hành: Lần lượt cho vào 3 bình gạn dung tích 50 ml các dung dịch sau:

	Bình 1	Bình 2	Bình 3
Dung dịch sử dụng	Dung dịch chuẩn (ml)	Dung dịch thử (ml)	Mẫu trắng (ml)
Dung dịch đệm phosphat 0,1M pH 8,0 (TT)	5	5	5
Dung dịch xanh bromothymol 0,2 % (Hoà tan 0,2 g xanh bromthymol (TT) trong ethanol 20 % (TT), thêm ethanol 20 % (TT) vừa đủ 100 ml).	0,5	0,5	0,5

Dung dịch solasodin chuẩn (0,5 mg/ml)	0,5	0	0
Dung dịch thử	0	0,5	0
Methanol (TT)	0	0	0,5
Cloroform (TT)	10	10	10

Lắc kỹ 3 bình trên trong 15 min, sau đó để yên khoảng 30 min cho phân lớp. Gạn lấy lớp cloroform vào 3 bình gạn khác. Lắc lớp cloroform với 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,05 N (TT). Để yên 30 min cho phân lớp. Gạn lấy dung dịch kiềm màu xanh. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 616 nm (Phụ lục 4.1) của các dung dịch kiềm thu được. Tính hàm lượng glycoalcaloid trong mẫu thử theo solasodin dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của solasodin chuẩn. Hàm lượng glycoalcaloid toàn phần trong dược liệu không được thấp hơn 0,1 % tính theo solasodin ($C_{27}H_{43}NO_2$), tính trên dược liệu khô kiệt.

Hà Nội, ngày 05 tháng 04 năm 2024

Phụ trách Phòng nghiên cứu TT **Phó Viện trưởng phụ trách**

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5930 Quyển số: 01
Ngày: 21-02-2025

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TS. Phạm Thanh Tùng **PGS. TS. Vũ Đức Lợi**

SỞ TƯ PHÁP THÀNH PHỐ HÀ NỘI
PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

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

Hà Nội, ngày 19 tháng 04 năm 2024

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

1. **Tên mẫu:** Vị thuốc Cà gai leo (*Herba Solani procumbensis*)
2. **Ngày nhận mẫu:** 15/04/2024
3. **Số hiệu mẫu:** TV02/150424
4. **Yêu cầu:** Đánh giá các chỉ tiêu chất lượng của vị thuốc Cà gai leo (*Herba Solani procumbensis*) theo tiêu chuẩn cơ sở số 02TC-04/24 do Viện Nghiên cứu Y dược Cổ truyền Tuệ Tĩnh ban hành ngày 05/04/2024
5. **Người gửi mẫu:** Hoàng Thị Vân, Học viên cao học, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam
6. **Kết quả phân tích:**

STT	Chỉ tiêu	Kết quả	Đánh giá
1	Mô tả	Dược liệu là những đoạn thân lá dài từ 2 cm đến 5 cm, màu xanh nhạt hoặc nâu xám hoặc vàng nâu. Lá nguyên có hình trứng hoặc thuôn. Gốc lá hình rìu hoặc hơi tròn, mép nguyên hoặc hơi lượn và có khía thùy. Phiến lá dài từ 2 cm đến 4 cm, rộng 1,2 cm đến 2,0 cm; cuống dài 0,3 cm đến 0,8 cm, mặt trên sẫm, mặt dưới nhạt phủ đầy lông tơ màu trắng; hai mặt đều có gai ờ gân chính, nhất là mặt trên; cuống lá cũng có gai.	Đạt
2	Bột	Bột có màu xám, mùi thơm đặc trưng, vị hơi đắng. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì phiến lá mang lông che chở và lỗ khí, có nhiều mảnh mạch xoắn, nhiều lông che chở hình sao, lông che chở đa bào một dãy, nhiều lông đơn bào và lông tiết; sợi thành dày đứng riêng lẻ, mảnh biểu bì thân, mảnh mô mềm có tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm ngoài hoặc trong tế bào.	Đạt
3	Độ ẩm	9,5 %	Đạt

4	Tạp chất	0,37 %	Đạt
5	Tro toàn phần	5,5 %	Đạt
6	Định tính	A.Lấy khoảng 3g bột dược liệu, thêm 2 ml amoniac (TT), trộn cho thấm đều, để yên 30 phút. Thêm 20 ml cloroform (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 30 phút, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 5 ml dung dịch acid sulfuric 1 % (TT) bằng cách lắc siêu âm trong 5 phút, để nguội, lọc, chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau: Ống 1: Nhỏ một giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tủa trắng. Ống 2: Nhỏ một giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tủa vàng cam. Ống 3: Nhỏ một giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tủa nâu. B. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị Rf với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.	Đạt
7	Định lượng	Hàm lượng glycoalcaloid toàn phần: 0,18% tính theo solasodin ($C_{27}H_{43}NO_2$)	Đạt

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5934 quyển số: 02-SCT/BS
Ngày: 21-02-2025

Kết luận: Mẫu vị thuốc thuốc Cà gai leo (*Herba Solani procumbensis*) ký hiệu TV02/150424, đạt các chỉ tiêu chất lượng theo tiêu chuẩn cơ sở số 02TC-04/24.

Phụ trách Phòng nghiên cứu TT | **Phó Viện trưởng phụ trách**

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TS. Phạm Thanh Tùng | **PGS. TS. Vũ Đức Lợi**

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ
VỊ THUỐC VỎ CÂY GẠO
(*Cortex Bombacis ceiba*)
Số tiêu chuẩn: 03TC-04/24

Hà Nội, năm 2024

BẢN SAO
COPY

VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH
HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

VỊ THUỐC VỎ CÂY GẠO

(Cortex Bombacis ceiba)

Số tiêu chuẩn: 03TC-04/24

Hà Nội, năm 2024

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VỊ THUỐC VỎ CÂY GẠO
(Cortex Bombacis ceiba)

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM	VỊ THUỐC VỎ CÂY GẠO *(Cortex Bombacis ceiba)*	Số: 03TC-04/24
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH		Có hiệu lực từ ngày ký

1. THÔNG TIN CHUNG

1.1. Bộ phận dùng

Dược liệu là vỏ cây được phơi hoặc sấy khô của cây Gạo (*Bombax ceiba* L.), họ Gạo (Bombacaceae)

1.2. Cách dùng, liều dùng

Cách dùng: Sắc dùng uống hoặc giã nát dùng ngoài.

Liều dùng: 15 – 20g /ngày.

1.3. Công năng, chủ trị

Công năng: Khu phong trừ thấp, hoạt huyết tiêu thũng.

Chủ trị: Thấp khớp, đụng dập gãy xương, cầm máu trong các trường hợp băng huyết

1.4. Bảo quản

Nơi khô mát, đựng trong bao bì kín, tránh ẩm, mốc mọt.

2. YÊU CẦU KỸ THUẬT

2.1. Mô tả

Miếng vỏ hơi cong, dài ngắn không đều, dày 0,2 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu đỏ. Mặt trong nhẵn, màu vàng nhạt hay vàng nâu. Dễ bẻ gãy, mặt bẻ lởm chởm, nhìn thấy rõ nhiều lớp chồng lên nhau. Mặt cắt có mô mềm mỏng, màu vàng nâu.

2.2. Bột

Bột màu nâu đỏ, mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng. Quan sát trên kính hiển vi thấy: tinh thể calci oxalat hình lăng trụ và hình cầu gai. Tế bào mô mềm màu vàng hoặc nâu. Lông che chở đơn bào. Hạt tinh bột riêng lẻ hoặc kép đôi, kép ba, đường kính 6–25 µm.

***2.3. Độ ẩm*:** Không quá 11,0 %

2.4. Tạp chất: Không quá 1,0 %.

2.5. Tro toàn phần: Không quá 9,0 %

2.6. Định tính:

Lấy khoảng 3g bột dược liệu, thêm 2 ml amoniac (TT), trộn cho thấm đều, để yên 30 min. Thêm 20 ml cloroform (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 5 ml dung dịch acid sulfuric 1 % (TT) bằng cách lắc siêu âm trong 5 min, để nguội, lọc, chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Nhỏ một giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tủa trắng.

Ống 2: Nhỏ một giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tủa vàng cam.

Ống 3: Nhỏ một giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tủa nâu

2.7. Chất chiết được trong dược liệu: Không thấp hơn 13,0 %.

3. PHƯƠNG PHÁP THỬ

3.1. Mô tả

Kiểm tra hình thái, màu sắc, mùi vị bằng cảm quan.

3.2. Bột

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.18.

Quan sát dưới kính hiển vi trong 1 giọt dung dịch soi, phải thấy các đặc điểm như đã mô tả.

3.3. Độ ẩm

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.6:

Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu, sấy trong tủ sấy ở 105^0C trong 4 giờ, áp suất thường đến khối lượng không đổi.

3.4. Tạp chất

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.11:

Cân một lượng mẫu vừa đủ theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng hoặc trong ghi chú dưới đây, dàn mỏng trên tờ giấy, quan sát bằng mắt thường hoặc kính lúp, khi cần có thể dùng rây để phân tách tạp chất và dược liệu.

Cân phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

$$X\% = (a/p) \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng tạp chất tính bằng gam;

p là khối lượng mẫu thử tính bằng gam.

Ghi chú:

1. Trong một số trường hợp nếu tạp chất rất giống với thuốc, có thể phải làm các phản ứng định tính hoá học, phương pháp vật lý hoặc dùng kính hiển vi để phát hiện tạp chất. Tỷ lệ tạp chất được tính bao gồm cả tạp chất được phát hiện bằng phương pháp này.

2. Lượng mẫu lấy để thử nếu chuyên luận riêng không quy định thì lấy như sau:

Hạt và quả rất nhỏ (như hạt Mã đề): 10 g.

Hạt và quả nhỏ: 20 g.

Dược liệu thái thành lát: 50 g

3.5. Tro toàn phần

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.8, phương pháp 2:

Lấy một chén sứ hoặc chén platin nung tới đỏ trong 30 min. Để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn gì khác thì lấy 1 g mẫu thử rải đều vào chén nung, sấy 1h ở 100 °C đến 105 °C rồi đem nung trong lò nung ở 600 °C ± 25 °C. Sau mỗi lần nung, lấy chén nung cùng cắn tro đem làm nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Trong quá trình thao tác không được để tạo thành ngọn lửa. Nếu sau khi đã nung lâu mà vẫn chưa loại hết carbon của tro thì dùng nước nóng để lấy cắn ra, lọc qua giấy lọc không tro rồi lại nung cắn và giấy lọc trong chén nung. Tập trung dịch lọc vào tro ở trong chén, làm bốc hơi cẩn thận tới khô rồi nung đến khối lượng không đổi.

3.6. Định tính

Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol (TT). Đun sôi trong 3 min, để nguội, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng với 10 ml ethanol 90 % (TT) rồi chia vào 3 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 5 giọt acid hydrocloric (TT) và ít bột magnesi (TT), dung dịch chuyển dần từ màu vàng nhạt sang màu hồng rồi tím đỏ.

Ống 2: Thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT), xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.

Ống 3: Thêm 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

3.7. Chất chiết được trong dược liệu

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.10. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng, dung môi là nước.

Cân chính xác khoảng 2,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 ml. Thêm chính xác 50,0 ml nước, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 1h, sau đó đun

sôi nhẹ trên cách thuỷ 1 h, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng nước để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cắn khô, cắn thu được sấy ở 1050C trong 3h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cân. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô.

Hà Nội, ngày 05 tháng 04 năm 2024

Phụ trách Phòng nghiên cứu TT	**Phó Viện trưởng phụ trách**
TS. Phạm Thanh Tùng	**PGS. TS. Vũ Đức Lợi**

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5929 Quyển số: 02-SCT/BS
Ngày: 21-02-2025

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

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

Hà Nội, ngày 19 tháng 04 năm 2024

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

1. **Tên mẫu:** Vị thuốc Vỏ cây gạo (*Cotex Bombacis ceiba*)
2. **Ngày nhận mẫu:** 15/04/2024
3. **Số hiệu mẫu:** TV03/150424
4. **Yêu cầu:** Đánh giá các chỉ tiêu chất lượng của vị thuốc Vỏ cây gạo (*Cotex Bombacis ceiba*) theo tiêu chuẩn cơ sở số 03TC-04/24 do Viện Nghiên cứu Y dược Cổ truyền Tuệ Tĩnh ban hành ngày 05/ 04/ 2024
5. **Người gửi mẫu:** Hoàng Thị Vân, Học viên cao học, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam
6. **Kết quả phân tích:**

STT	Chỉ tiêu	Kết quả	Đánh giá
1	Mô tả	Miếng vỏ hơi cong, dài ngắn không đều, dày 0,2 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu đỏ. Mặt trong nhẵn, màu vàng nhạt hay vàng nâu. Dễ bẻ gãy, mặt bẻ lởm chởm, nhìn thấy rõ nhiều lớp chồng lên nhau. Mặt cắt có mô mềm mỏng, màu vàng nâu.	Đạt
2	Bột	Bột màu nâu đỏ, mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng. Quan sát trên kính hiển vi thấy: tinh thể calci oxalat hình lăng trụ và hình cầu gai. Tế bào mô mềm màu vàng hoặc nâu. Lông che chở đơn bào. Hạt tinh bột riêng lẻ hoặc kép đôi, kép ba, đường kính 6–25 µm	Đạt
3	Độ ẩm	10,1 %	Đạt
4	Tạp chất	0,64 %	Đạt
5	Tro toàn phần	5,7 %	Đạt
6	Định tính	Lấy khoảng 3g bột dược liệu, thêm 2 ml amoniac (TT), trộn cho thấm đều, để yên 30 min. Thêm 20 ml cloroform (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc	Đạt

		trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 5 ml dung dịch acid sulfuric 1 % (TT) bằng cách lắc siêu âm trong 5 min, để nguội, lọc, chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau: Ống 1: Nhỏ một giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tủa trắng. Ống 2: Nhỏ một giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tủa vàng cam. Ống 3: Nhỏ một giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tủa nâu	
7	Chất chiết được trong dược liệu	14,51 %	Đạt

Kết luận: Mẫu vị thuốc Vỏ cây gạo (*Cotex Bombacis ceiba*) ký hiệu TV03/150424, đạt các chỉ tiêu chất lượng theo tiêu chuẩn cơ sở số 03TC-04/24.

Phụ trách Phòng nghiên cứu TT **Phó Viện trưởng phụ trách**

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5933 Quyển số: 02
Ngày: 21-02-2025

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TS. Phạm Thanh Tùng **PGS. TS. Vũ Đức Lợi**

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4 THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ
VỊ THUỐC CÂY XẤU HỔ
(*Herba Mimosae pudicae*)
Số tiêu chuẩn: 04TC-04/24

Hà Nội, năm 2024

BẢN SAO

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM

VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

VỊ THUỐC CÂY XẤU HỔ

(Herba Mimosae pudicae)

Số tiêu chuẩn: 04TC-04/24

Hà Nội, tháng 2024

TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VỊ THUỐC CÂY XẤU HỔ
(*Herba Mimosae pudicae*)

HỌC VIỆN Y DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM	**VỊ THUỐC CÂY XẤU HỔ** (*Herba Mimosae pudicae*)	Số: 04TC-04/24
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH		Có hiệu lực từ ngày ký

1. THÔNG TIN CHUNG

1.1. Bộ phận dùng

Dược liệu là phần trên mặt đất được phơi hoặc sấy khô của cây Xấu hổ (*Mimosa pudica* L.), họ Đậu (Fabaceae)

1.2. Cách dùng, liều dùng

Cách dùng: Sắc, dùng uống.

Liều dùng: 6-12 g /ngày.

1.3. Công năng, chủ trị

Công năng: An thần, giảm đau, hạ nhiệt, tiêu viêm, hạ sốt, lợi tiểu.

Chủ trị: Suy nhược thần kinh, viêm phế quản, mất ngủ, viêm kết mạc cấp tính, viêm gan, đau dạ dày, sỏi đường tiết niệu, huyết áp cao, phong thấp.

1.4. Bảo quản

Nơi khô mát, đựng trong bao bì kín, tránh ẩm, mốc mọt.

2. YÊU CẦU KỸ THUẬT

2.1. Mô tả

Thân có gai hình móc. Lá hai lần kép lông chim, cuống chung mỏng, mang nhiều lông.

2.2. Bột

Bột có màu vàng nâu, vị hơi đắng. Nhìn dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần cấu tạo bởi những tế bào hình chữ nhật hay đa giác. Lông che chở đa bào. Mảnh mô mềm hình trứng hay chữ nhật, thành mỏng. Mảnh biểu bì mang lỗ khí, đôi khi có lông che chở. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn, mạch điểm. Mô cứng cấu tạo bởi các tế bào thành dày hóa gỗ, có khoang rộng.

2.3. Độ ẩm: Không quá 12,0 %

2.4. Tạp chất: Không quá 1,0 %.

2.5. Tro toàn phần: Không quá 10,0 %

2.6. Định tính:

Lấy khoảng 3g bột dược liệu, thêm 2 ml amoniac (TT), trộn cho thấm đều, để yên 30 min. Thêm 20 ml cloroform (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 5 ml dung dịch acid sulfuric 1 % (TT) bằng cách lắc siêu âm trong 5 min, để nguội, lọc, chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Nhỏ một giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tủa trắng.

Ống 2: Nhỏ một giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tủa vàng cam.

Ống 3: Nhỏ một giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tủa nâu

2.7. Chất chiết được trong dược liệu: Không thấp hơn 12,0 %.

3. PHƯƠNG PHÁP THỬ

3.1. Mô tả

Kiểm tra hình thái, màu sắc, mùi vị bằng cảm quan.

3.2. Bột

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.18.

Quan sát dưới kính hiển vi trong 1 giọt dung dịch soi, phải thấy các đặc điểm như đã mô tả.

3.3. Độ ẩm

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.6:

Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu, sấy trong tủ sấy ở 105^0C trong 4 giờ, áp suất thường đến khối lượng không đổi.

3.4. Tạp chất

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.11:

Cân một lượng mẫu vừa đủ theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng hoặc trong ghi chú dưới đây, dàn mỏng trên tờ giấy, quan sát bằng mắt thường hoặc kính lúp, khi cần có thể dùng rây để phân tách tạp chất và dược liệu.

Cân phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

$$X\% = (a/p) \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng tạp chất tính bằng gam;

p là khối lượng mẫu thử tính bằng gam.

Ghi chú:

1. Trong một số trường hợp nếu tạp chất rất giống với thuốc, có thể phải làm các phản ứng định tính hoá học, phương pháp vật lý hoặc dùng kính hiển vi để phát hiện tạp chất. Tỷ lệ tạp chất được tính bao gồm cả tạp chất được phát hiện bằng phương pháp này.

2. Lượng mẫu lấy để thử nếu chuyên luận riêng không quy định thì lấy như sau:

Hạt và quả rất nhỏ (như hạt Mã đề): 10 g.

Hạt và quả nhỏ: 20 g.

Dược liệu thái thành lát: 50 g

3.5. Tro toàn phần

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 9.8, phương pháp 2:

Lấy một chén sứ hoặc chén platin nung tới đỏ trong 30 min. Để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn gì khác thì lấy 1 g mẫu thử rải đều vào chén nung, sấy 1h ở 100 °C đến 105 °C rồi đem nung trong lò nung ở 600 °C ± 25 °C. Sau mỗi lần nung, lấy chén nung cùng cắn tro đem làm nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Trong quá trình thao tác không được để tạo thành ngọn lửa. Nếu sau khi đã nung lâu mà vẫn chưa loại hết carbon của tro thì dùng nước nóng để lấy cắn ra, lọc qua giấy lọc không tro rồi lại nung cắn và giấy lọc trong chén nung. Tập trung dịch lọc vào tro ở trong chén, làm bốc hơi cẩn thận tới khô rồi nung đến khối lượng không đổi.

3.6. Định tính

Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol (TT). Đun sôi trong 3 min, để nguội, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng với 10 ml ethanol 90 % (TT) rồi chia vào 3 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 5 giọt acid hydrocloric (TT) và ít bột magnesi (TT), dung dịch chuyển dần từ màu vàng nhạt sang màu hồng rồi tím đỏ.

Ống 2: Thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT), xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.

Ống 3: Thêm 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

3.7. Chất chiết được trong dược liệu

Thử theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 12.10. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng, dung môi là nước.

Cân chính xác khoảng 2,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 ml. Thêm chính xác 50,0 ml nước, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 1h, sau đó đun

sôi nhẹ trên cách thuỷ 1 h, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng nước để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cắn khô, cắn thu được sấy ở 1050C trong 3h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cân. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô.

Hà Nội, ngày 05 tháng 03 năm 2024

Phụ trách Phòng nghiên cứu TT

TS. Phạm Thanh Tùng

Phó Viện trưởng phụ trách

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

PGS. TS. Vũ Đức Lợi

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5921 quyển 02
Ngày: 21-02-2025

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 1

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN Y-DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

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

Hà Nội, ngày 19 tháng 04 năm 2024

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

1. **Tên mẫu:** Vị thuốc Cây xấu hổ (*Herba Mimosae pudicae*)
2. **Ngày nhận mẫu:** 15/04/2024
3. **Số hiệu mẫu:** TV04/150424
4. **Yêu cầu:** Đánh giá các chỉ tiêu chất lượng của vị thuốc Cây xấu hổ (*Herba Mimosae pudicae*) theo tiêu chuẩn cơ sở số 04TC-04/24 do Viện Nghiên cứu Y dược Cổ truyền Tuệ Tĩnh ban hành ngày 05/ 04/ 2024
5. **Người gửi mẫu:** Hoàng Thị Vân, Học viên cao học, Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam
6. **Kết quả phân tích:**

STT	Chỉ tiêu	Kết quả	Đánh giá
1	Mô tả	Thân có gai hình móc. Lá hai lần kép lông chim, cuống chung mỏng, mang nhiều lông.	Đạt
2	Bột	Bột có màu vàng nâu, vị hơi đắng. Nhìn dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần cấu tạo bởi những tế bào hình chữ nhật hay đa giác. Lông che chở đa bào. Mảnh mô mềm hình trứng hay chữ nhật, thành mỏng. Mảnh biểu bì mang lỗ khí, đôi khi có lông che chở. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn, mạch điểm. Mô cứng cấu tạo bởi các tế bào thành dày hóa gỗ, có khoang rộng.	Đạt
3	Độ ẩm	9,1 %	Đạt
4	Tạp chất	0,52 %	Đạt
5	Tro toàn phần	6,6 %	Đạt
6	Định tính	Lấy khoảng 3g bột dược liệu, thêm 2 ml amoniac (TT), trộn cho thấm đều, để yên 30 min. Thêm 20 ml cloroform (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 5 ml dung dịch acid	Đạt

		sulfuric 1 % (TT) bằng cách lắc siêu âm trong 5 min, để nguội, lọc, chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau: Ống 1: Nhỏ một giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tủa trắng. Ống 2: Nhỏ một giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tủa vàng cam. Ống 3: Nhỏ một giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tủa nâu	
7	Chất chiết được trong dược liệu	14,22 %	Đạt

Kết luận: Mẫu vị thuốc Cây xấu hổ (*Herba Mimosae pudicae*) ký hiệu TV04/150424, đạt các chỉ tiêu chất lượng theo tiêu chuẩn cơ sở số 04TC-04/24.

Phụ trách Phòng nghiên cứu TT **Phó Viện trưởng phụ trách**

VIỆN NGHIÊN CỨU DƯỢC CỔ TRUYỀN THÁI TĨNH

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5932 02
Ngày 21 -02- 2025

TS. Phạm Thanh Tùng **PGS. TS. Vũ Đức Lợi**

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

BẢN SAO
COPY

HỌC VIỆN YDHCT VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU YDCT TUỆ TĨNH

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

Hà Nội, ngày 18 tháng 11 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: **Hoàng Thị Vân**

Lớp cao học: K15 ngành Y học cổ truyền

Mã học viên: 22CHY0028

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

Đã tham gia nghiên cứu và thực hiện đề tài: **Đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau và độc tính cấp trên thực nghiệm của bài thuốc "Phong Thấp Thang".**

Tại: Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, với sự giúp đỡ của nghiên cứu viên và kỹ thuật viên viện nghiên cứu.

Nội dung thực hiện: Phần đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau và độc tính cấp trên thực nghiệm của bài thuốc "Phong Thấp Thang".

Thời gian từ: tháng 04/2024 đến tháng 09/2024

Cán bộ hướng dẫn khoa học: 1. TS. Nguyễn Tiến Chung

2. TS. Trần Thế Linh

CHỨNG THỰC BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Số chứng thực: 5936 quyển số: 02 SCT/BS
Ngày: 21-02-2025

VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

PHÒNG CÔNG CHỨNG SỐ 4

CÔNG CHỨNG VIÊN
Lê Thị Thanh Nhã

VIỆN NGHIÊN CỨU Y - DƯỢC CỔ TRUYỀN TUỆ TĨNH

PHÓ VIỆN TRƯỞNG PHỤ TRÁCH
PGS.TS. Vũ Đức Lợi

BẢN SAO

HỌC VIỆN Y DƯỢC VIỆT NAM
VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC TỰ TÍNH

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

Hà Nội, ngày 18 tháng 11 năm 2024

GIẤY XÁC NHẬN

Viện Nghiên cứu Y – Dược cổ truyền Tự Tính, Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam xác nhận:

Học viên cao học: **Hoàng Thị Vân**

Lớp cao học: K15 ngành Y học cổ truyền

Mã học viên: 22CHY0028

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

Đã tham gia nghiên cứu và thực hiện đề tài: **Đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau và độc tính cấp trên thực nghiệm của bài thuốc "Phong Thấp Thang".**

Tại: Học viện Y dược học cổ truyền Việt Nam, với sự giúp đỡ của nghiên cứu viên và kỹ thuật viên nghiên cứu.

Nội dung thực hiện: Phần đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau và độc tính cấp trên thực nghiệm của bài thuốc "Phong Thấp Thang".

Thời gian từ: tháng 04/2024 đến tháng 09/2024

Cán bộ hướng dẫn khoa học: 1. TS. Nguyễn Tiến Chung

5936 02

VIỆN NGHIÊN CỨU Y DƯỢC CỔ TRUYỀN TỰ TÍNH

CÔNG CHỨNG VIÊN

Lê Tiến Thanh Mai